

**STUDI AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI
ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 DENGAN
PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL
GLISEROL DAN MANITOL**

(Skripsi)

Oleh

RANI RASMANI



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

STUDI AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 DENGAN PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL GLISEROL DAN MANITOL

Oleh

RANI RASMANI

Enzim yang dihasilkan oleh mikroba menjadi pilihan terbaik untuk kebutuhan industri. Salah satu enzim mikroba yang potensial adalah enzim lipase. Namun, stabilitas lipase sering menjadi kendala dalam aplikasi industri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan senyawa polioliol gliserol dan manitol terhadap aktivitas dan kestabilan enzim lipase dari isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1. Metode penelitian ini meliputi ekstraksi enzim lipase dari isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1, pemurnian enzim dengan amonium sulfat dan dialisis, penambahan gliserol dan manitol konsentrasi 0,3 M; 0,4 M; dan 0,5 M dengan parameter pH dan suhu kemudian diuji aktivitas dan stabilitasnya dengan metode Spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian diperoleh aktivitas ekstrak kasar enzim 1474,82 U/mL dan meningkat pada hasil pemurnian sebesar 3484,35 U/mL, penambahan gliserol maupun manitol mampu meningkatkan aktivitas lipase dibandingkan enzim tanpa penambahan gliserol maupun manitol. Pada penambahan gliserol 0,5 M diperoleh aktivitas sebesar 353,16 U/mL dengan pH optimum 7,0. Sedangkan penambahan manitol 0,4 M diperoleh aktivitas sebesar 349,33 U/mL pada pH optimum 7,0. Pada variasi suhu, enzim dengan penambahan polioliol tidak mengalami perubahan suhu. Namun, terjadi peningkatan aktivitas pada gliserol 0,5 M dengan pH 7,0 sebesar 359,83 U/mL. Sedangkan manitol 0,4 M dengan pH 7,0 aktivitas tertinggi sebesar 351,41 U/mL. Pada uji stabilitas termal enzim penambahan gliserol dan manitol mampu meningkatkan kestabilan enzim sampai menit ke 90, dengan nilai aktivitas sisa enzim pada penambahan gliserol sebesar 93% dan penambahan manitol 96%.

Penambahan senyawa polioliol (gliserol dan manitol) mampu meningkatkan aktivitas dan stabilitas enzim lipase dari bakteri isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1.

Kata kunci: Gliserol, Lipase, *L.boronitolerans* LKM G1, Manitol, Stabilitas enzim

ABSTRACT

STUDY OF LIPASE ENZYME ACTIVITY AND STABILITY FROM LOCAL BACTERIAL ISOLATE *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 WITH THE ADDITION OF POLYOL COMPOUNDS GLYCEROL AND MANNITOL

By

RANI RASMANI

Enzymes produced by microbes are considered the best option for industrial needs. One of the promising microbial enzymes is lipase. However, the stability of lipase often becomes a limitation in industrial applications. This study aims to determine the effect of adding polyol compounds glycerol and mannitol on the activity and stability of lipase enzyme derived from a local isolate of *L.boronitolerans* LKM G1. The research methods included the extraction of lipase enzyme from the local isolate, enzyme purification using ammonium sulfate and dialysis, and the addition of glycerol and mannitol at concentrations of 0.3 M, 0.4 M, and 0.5 M. The enzyme activity and stability were then evaluated under various pH and temperature conditions using the UV-Vis spectrophotometry method. The results showed that the crude enzyme extract had an activity of 1474.82 U/mL, which increased to 3484.35 U/mL after purification. The addition of glycerol or mannitol enhanced the lipase activity compared to the enzyme without polyol addition. With 0.5 M glycerol, the activity reached 353.16 U/mL at the optimum pH of 7.0, while 0.4 M mannitol resulted in 349.33 U/mL at the same pH. In the temperature variation tests, no change in the optimum temperature was observed, but activity increased with 0.5 M glycerol at pH 7.0 to 359.83 U/mL. The highest activity with mannitol was 351.41 U/mL at 0.4 M and pH 7.0. In the thermal stability test, the addition of glycerol and mannitol improved enzyme stability up to 90 minutes, with residual activity of 93% for glycerol and 96% for mannitol. The addition of polyol compounds (glycerol and mannitol) successfully enhanced the activity and stability of lipase enzyme from the local bacterial isolate *L.boronitolerans* LKM G1.

Keywords: Glycerol, Lipase, *L.boronitolerans* LKM G1, Mannitol, Enzyme Stability

**STUDI AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI
ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 DENGAN
PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL
GLISEROL DAN MANITOL**

Oleh

RANI RASMANI

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmi Pengetahuan Alam**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: STUDI AKTIVITAS DAN STABILITAS
ENZIM LIPASE DARI BAKTERI
Lysinibacillus boronitolerans LKM G1
ISOLAT LOKAL DENGAN PENAMBAHAN
SENYAWA POLIOL GLISEROL DAN
MANITOL

Nama Mahasiswa

: **Rani Rasmani**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117011031

Jurusan/Orogram/Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

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

Dr. Agung Abadi Kiswandono. S.Si., M.Sc.
NIP. 197007052005011003

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

Prof. Dr. Mita Rilyanti. S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

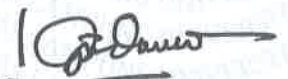
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

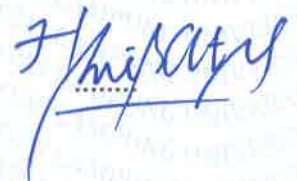
Ketua : Dr. Nurhasanah. S.Si., M.Si.



Sekretaris : Dr. Agung Abadi Kiswandono. S.Si., M.Sc.



Anggota : Dr. Eng. Heri Satria. S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria. S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011000

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 Juli 2025

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rani Rasmani
NPM : 2117011031
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan sesungguhnya bahwa skripsi saya berjudul **“STUDI AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 DENGAN PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL GLISEROL DAN MANITOL”** adalah benar karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis tercantum dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. .

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 12 Agustus 2025

Yang Menyatakan,





Rani Rasmani
NPM. 2117011031

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Natar, pada tanggal 07 Januari 2003, sebagai anak kedua dari 4 bersaudara, putri dari Bapak Rasmani dan Ibu Sriyani Sarbini. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 1 Natar, Lampung Selatan tahun 2009-2015. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di MTs. Guppi Natar, Lampung Selatan tahun 2015-2018. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 1 Natar,

Lampung Selatan tahun 2018-2021. Pada tahun 2021, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (UNILA) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) dan penulis mendapat beasiswa Kartu Indonesia Pintar Kuliah (KIPK) selama 8 semester. Penulis melaksanakan kuliah di perguruan tinggi hingga meraih Sarjana Sains pada tahun 2025.

Selama menjadi mahasiswa jurusan kimia FMIPA Unila, penulis aktif dalam Organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Unila sebagai anggota Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO) Periode 2021-2022 dan Periode 2022-2023. Selain itu juga penulis menjadi anggota UKM Koperasi Mahasiswa (Kopma) Unila Periode 2021-2023. Penulis mengikuti Organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fmipa Unila Periode 2022-2023. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen untuk kegiatan Praktikum tiga mata kuliah, yakni Praktikum Biokimia Jurusan Kimia, Praktikum Jurusan Biologi dan Praktikum Kimia Dasar jurusan Biologi Terapan. Pada tahun 2023 tepatnya pada 01 September 2023-20 Desember 2023, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di UPTD Laboratorium Lingkungan Dinas Lingkungan Hidup Provinsi Lampung

dengan judul laporan “Penentuan Kadar Nitrit (NO_2) Dalam Air Untuk Keperluan Higiene Dan Sanitasi Secara Spektrofotometer UV-Vis”. Pada awal tahun 2024, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di desa Rejomulyo dusun 5, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan.

MOTTO

“Maka nikmat Allah yang manakah yang kau dustakan?”

(Ar-rahman: 13)

“Siapa yang menempuh jalan untuk mencari ilmu, maka Allah SWT akan mudahkan baginya jalan menuju surga”

(HR. Muslim: 2699)

“Ubah pikiranmu dan kau akan mengubah duniamu”

(Norman Vincent Peale)

“Entah akan berkarir atau mejadi ibu rumah tangga, seorang wanita wajib berpendidikan tinggi, karena ia akan menjadi ibu”

(Dian Sastrowardoyo)

“Tidak ada kesuksesan melainkan dengan pertolongan Allah SWT”

(QS. Huud: 88)

PERSEMBAHAN

Segala Puji hanya milik Allah SWT, atas rahmat dan nikmat yang selalu dilimpahkan. Sholawat serta salam selalu tucurahkan kepada Rasulullah SAW.

Kupersembahkan karya ini sebagai tanda bakti dan cinta kasihku tulus kepada :

Ayahandaku tercinta Rasmani dan Ibundaku tercinta Sriyani Sarbini yang senantiasa mengucap namaku di setiap do`a dalam sujudnya, mencurahkan kasih sayangnya untukku dan terimakasih atas jerih payah dan kerja kerasnya yang tidak pernah terlupakan.

Kakak kesayanganku Risma Rasmani dan kedua adik kesayanganku Muhammad Aldi Rasmani, Muhammad Aji Rasmani yang selalu memberikan semangat serta dukungan dan do`a kepadaku.

Orang istimewa dalam hidupku Boy Satria Hutabarat yang telah mendukung, melakukan banyak hal luar biasa untukku, dan memberikan semangat kepadaku disaat keadaan apapun termasuk saat mengerjakan penulisan skripsi ini.

Sahabat-sahabatku serta orang-orang terdekatku yang selalu memberikan do`a, semangat dan menemani selama menjalankan pendidikan.

Almamater tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil a`lamin puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lampung. Skripsi ini berjudul “Studi Aktivitas Dan Stabilitas Enzim Lipase Dari Bakteri Isolat Lokal *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 Dengan Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol”.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, masukan, arahan, nasehat, curahan waktu dan motivasi yang tiada henti selama dalam penelitian, penulisan serta proses menyelesaikan studi. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang tinggi kepada Ibu **Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.** selaku Pembimbing I dan kepada Bapak **Dr. Agung Abadi Kiswandono, S.Si., M.Sc.** selaku Pembimbing II. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari peranan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tuaku tercinta Bapak Rasmani dan Ibu Sriyani Sarbini yang telah memberikan kasih sayang, membimbing, memotivasi, menasehatiku dan membiayai sekolahku serta do`a yang diberikan untuk setiap langkah penulis.
2. Ibu Dr. Nurhasanah S.Si., M.Si. selaku Pembimbing I yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, motivasi, saran dan kritik kepada penulis hingga skripsi ini terselesaikan.
3. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono S.Si., M.Sc. selaku Pembimbing II yang telah bimbingan, arahan, dukungan, saran dan kritik hingga skripsi ini terselesaikan.

4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria S.Si., M.Si. selaku Pembahas atas kesediaan memberikan arahan, koreksi, saran dan kritik untuk pelaksanaan dan penyusunan skripsi ini.
5. Prof. Drs. Andi Setiawan. M.Sc., Ph. D. Selaku Pembimbing Akademik atas bimbingan dan saran kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti. S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik dan memberikan ilmu kepada penulis selama menempuh pendidikan.
8. Seluruh karyawan dan staff Jurusan Kimia atas bantuan-bantuannya selama penulis menempuh pendidikan di Jurusan Kimia.
9. Kakak kesayanganku Risma Rasmani dan kedua adik kesayanganku Muhammad Aldi Rasmani, Muhammad Aji Rasmani yang selalu memberikan semangat serta dukungan dan do`a kepadaku.
10. Orang istimewa dalam hidupku Boy Satria Hutabarat yang telah mendukung, melakukan banyak hal luar biasa untukku, dan memberikan semangat kepadaku disaat keadaan apapun termasuk saat mengerjakan penulisan skripsi ini.
11. Adelia Renta Marito Tampubolon yang telah membersamai penulis sejak mahasiswa baru sampai mendapatkan gelar untuk penulis, memberikan bantuan, semangat, dukungan, saran dan kritik penulis.
12. Teman-teman seperjuangan Harry, Anam, Titis, Nur, Lansa, Agnes, Sayyid yang telah mendukung dan memberikan semangat penulis.
13. Rekan Tim Penelitianku tersayang Adelia Renta Marito Tampubolon, Ni Luh Indrya Kusuma Dewi, Siti Nurkholisoh, Debora Luciana Manik, dan Alif Zidane Nugraha yang selalu menemani di setiap momen, memberikan semangat, motivasi, dan bantuan selama melaksanakan penelitian.
14. Sahabat-sahabatku Muhammad Yusuf Kurniawan, , Suci Rahayu, Feby Katelina Situmorang, yang telah mendukung, menemani, selalu siap mendengarkan banyak keluh kesah, dan memberikan semangat penulis.

15. Seluruh angkatan 2021 Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan semangat, dukungan, bantuan, dan terima kasih atas kekeluargaannya yang telah terjalin selama ini.
16. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu secara tulus memberikan bantuan moril dan materil kepada penulis.
17. Serta Almamater kebanggaan Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 12 Agustus 2025
Penulis,

Rani Rasmani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Enzim.....	6
2.2 Penggolongan Enzim.....	6
2.3 Sifat-Sifat Enzim	7
2.4 Mekanisme Kerja Enzim	7
2.5 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim	9
2.5.1 Temperatur.....	9
2.5.2 Tingkat Keasaman (pH).....	9
2.5.3 Konsentrasi substrat.....	10
2.6 Enzim Lipase	11
2.7 Poliol	13
2.7.1 Gliserol	14
2.7.2 Manitol.....	15
III. METODE PERCOBAAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.3.1 Tahapan Persiapan.....	18

3.3.2 Peremajaan isolat <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	19
3.3.3 Produksi Enzim Lipase.....	19
3.3.4 . Pemurnian Enzim Lipase	20
3.3.5 Uji Aktivitas Enzim.....	21
3.3.6 Uji Kadar Protein	21
3.3.7 Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol	22
3.3.8 Pengaruh Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol	
Aktivitas Lipase dari Bakteri Isolat <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	23

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN..... 26

4.1 Isolat Lokal <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	26
4.2 Ekstrak Kasar Enzim Lipase	27
4.2. Pemurnian Enzim Lipase.....	28
4.3 Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol terhadap	
Lipase dari Bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	30
4.3.1. Aktivitas Enzim pada Variasi pH.....	30
4.3.1.1 Pengaruh Variasi pH terhadap Aktivitas Enzim Hasil	
Pemurnian dan Penambahan Gliserol berbagai	
Konsentrasi.....	30
4.3.1.2 Pengaruh Variasi pH terhadap Aktivitas Enzim Hasil	
Pemurnian dan Penambahan Manitol berbagai	
Konsentrasi.....	32
4.3.2. Aktivitas Enzim pada Variasi Suhu	33
4.3.2.1. Pengaruh Variasi Suhu terhadap Aktivitas Enzim Hasil	
Pemurnian dan Penambahan Gliserol berbagai	
Konsentrasi.....	33
4.3.2.2. Pengaruh Variasi Suhu terhadap Aktivitas Enzim Pemurnian	
dan Penambahan Manitol berbagai Konsentrasi.....	35
4.3.3. Stabilitas Termal Enzim	37
4.3.3.1. Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan	
Penambahan Gliserol	37
4.3.3.2. Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan	
Penambahan Manitol.....	39

V. SIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Simpulan.....	41
5.2 Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47
Lampiran 1. Pembuatan Buffer Fosfat 0,5 M pH 6	48
Lampiran 2. Pembuatan Buffer Tris-HCl 50 mM pH 8.....	50
Lampiran 3. Kurva Standar <i>p-Nitrofenol</i>	51
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Protein Enzim.....	52
Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim	53
Lampiran 6. Penentuan pH Optimum Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol	54
Lampiran 7. Perhitungan Penentuan pH Optimum Enzim Hasil Pemurnian dalam Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol.....	55
Lampiran 8. Perhitungan Penentuan Suhu Optimum Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol.....	56
Lampiran 9. Perhitungan Penentuan Suhu Optimum Enzim Hasil Pemurnian Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol.....	57
Lampiran 10. Stabilitas Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol	58
Lampiran 11. Perhitungan Penentuan Stabilitas Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Kerja Enzim.....	8
2. Hubungan Suhu dengan Aktivitas Enzim.	9
3. Hubungan pH terhadap Aktivitas Enzim.....	10
4. Hubungan antara Konsentrasi dengan Laju Reaksi Enzim.	11
5. Reaksi Umum Hidrolisis Enzim Lipase.....	13
6. Struktur Gliserol.....	15
7. Struktur Manitol	15
8. Skema Penelitian.....	25
9. Isolat lokal <i>L.boronitolerans</i> LKM G1 yang telah diremajakan.....	27
10. Perbandingan Aktivitas Spesifik Lipase.....	29
11. Pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan gliserol berbagai konsentrasi.....	31
12. Pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan manitol berbagai konsentrasi.....	32
13. Pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan gliserol berbagai konsentrasi.....	34
14. Pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan manitol berbagai konsentrasi	35
15. Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Gliserol.....	37
16. Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Manitol	39
17. Kurva Standar <i>p-Nitrofenol</i> (<i>p-NP</i>).....	52
18. Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumine</i> (BSA)	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penggolongan Enzim Berdasarkan <i>Commision on Enzymes of the International Union of Biochemistry</i> (IUBMB)	7
2. Aktivitas Lipase dari Bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1.....	30
3. Hasil Absorbansi <i>p-Nitrofenol</i> (<i>p-NP</i>) pada Pembuatan Kurva Standar.....	52
4. Hasil Absorbansi BSA pada Pembuatan Kurva Standar.....	53
5. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi pH dengan Penambahan Gliserol	55
6. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi pH dengan Penambahan Manitol	55
7. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi Suhu dengan Penambahan Gliserol.....	57
8. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi Suhu dengan Penambahan Manitol.....	57
9. Data Stabilitas Termal Enzim Lipase dengan Penambahan Gliserol pada Variasi Waktu.....	59
10. Data Stabilitas Termal Enzim Lipase dengan Penambahan Gliserol pada Variasi Waktu.....	60

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim yang dihasilkan dari mikroba menjadi pilihan yang menarik untuk kebutuhan industri karena kemampuan katalitiknya yang tinggi dibandingkan dengan enzim dari tumbuhan atau hewan. Enzim mikroba menawarkan keuntungan seperti stabilitas tinggi dan kemampuan untuk diproduksi dalam skala besar, membuatnya cocok untuk berbagai aplikasi bioteknologi, termasuk farmasi dan industri deterjen (Gupta *et al.*, 2022). Enzim mikroba mudah diperoleh dari berbagai mikroorganisme seperti bakteri, kapang, dan ragi. Mikroba memiliki kecepatan pertumbuhan yang tinggi, mampu beradaptasi pada berbagai kondisi lingkungan, dan menghasilkan enzim dengan aktivitas katalitik yang tinggi dan konsisten. Keunggulan lainnya adalah biaya yang lebih ekonomis dalam penyediaan media nutrisinya. Salah satu enzim mikroba yang sangat potensial adalah enzim lipase (Sayın *and* Kaban, 2024).

Enzim lipase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis lemak, menguraikannya menjadi asam lemak dan gliserol. Enzim ini memiliki peran penting dalam pencernaan lemak dan ditemukan dalam berbagai organisme, termasuk manusia, hewan, dan mikroorganisme (Gupta *et al.*, 2014). Penggunaan lipase memungkinkan proses yang lebih ramah lingkungan dibanding katalis kimia (Verma *et al.*, 2013). Lipase dalam industri makanan, digunakan untuk meningkatkan rasa dan aroma produk susu dan keju, serta memperbaiki tekstur adonan roti dan kue. Lipase dalam industri deterjen, membantu menghilangkan noda lemak pada pakaian, memungkinkan pencucian pada suhu rendah. Lipase di sektor farmasi, digunakan untuk sintesis senyawa farmasi kompleks melalui reaksi enantioselektif. Selain itu, lipase berperan dalam produksi biodiesel melalui reaksi

transesterifikasi antara trigliserida dan alkohol. Lipase dalam pengolahan limbah, digunakan untuk menguraikan lemak dan minyak dalam air limbah, serta dalam bioremediasi untuk membersihkan tumpahan minyak dan kontaminasi tanah oleh hidrokarbon. Berbagai mikroorganisme, seperti *Candida rugosa*, *Rhizopus niveus*, dan *Thermomyces lanuginosus*, telah diidentifikasi sebagai sumber lipase yang efektif untuk aplikasi industri karena stabilitasnya dalam berbagai kondisi (Chandra *et al.*, 2020).

Lipase di Indonesia terus mengalami peningkatan di dalam bidang industri, namun ketergantungan pada impor masih tinggi. Karena itu, banyak penelitian berfokus pada eksplorasi sumber lipase baru, termasuk dari bakteri yang mampu menghasilkan enzim dengan spesifikasi dan aktivitas enzimatis yang konsisten. Penelitian lipase terus berkembang, dengan fokus pada pemanfaatan sumber-sumber baru seperti bakteri. Bakteri penghasil lipase, seperti *L.boronitolerans*, menunjukkan spesifikasi yang tinggi dan aktivitas yang stabil pada berbagai substrat, serta mampu beradaptasi dalam kondisi ekstrim (Sedijani *et al.*, 2022). Enzim lipase yang dihasilkan oleh *L.boronitolerans* memiliki aktivitas optimal pada suhu 45-55 °C dan pH 8-9, yang menjadikannya berpotensi untuk aplikasi di industri seperti deterjen dan pengolahan lemak. Enzim ini menunjukkan stabilitas tinggi pada kondisi basa dan suhu tinggi (Sharma *et al.*, 2020). Lipase aktif dalam pelarut organik seperti heksana dan berfungsi secara efektif dalam reaksi hidrolisis (Hashim *et al.*, 2019). Lipase dari *L.boronitolerans* dijadikan sebagai isolat untuk meningkatkan stabilitas enzim dalam proses industri (Xu *et al.*, 2018).

Enzim lipase dalam bentuk alamnya memiliki beberapa keterbatasan, seperti rendahnya aktivitas enzim atau stabilitas terhadap perubahan suhu dan pH serta aktivitasnya berkurang di lingkungan organik atau pelarut non air. Hal ini menghambat aplikasinya secara lebih luas dan efisien pada berbagai industri (Sukohidayat *et al.*, 2018). Oleh karena itu dibutuhkan metode modifikasi enzim dengan penambahan bahan aditif kimia (Fatimah, 2021)

Modifikasi enzim merupakan suatu proses yang digunakan untuk perubahan struktur atau fungsi dari enzim yang terjadi melalui adanya penambahan poliol,

(gliserol atau manitol) atau penghilangan gugus kimia tertentu, (fosfat, asetil atau metil). Proses ini dapat untuk mempengaruhi aktivitas enzim, baik dengan mengubah laju reaksi maupun mengarahkan enzim ke lokasi spesifik di dalam sel (Amanda, 2023). Polioliol merupakan salah satu senyawa yang sering digunakan dalam modifikasi yaitu seperti gliserol dan manitol. Polioliol diketahui dapat meningkatkan stabilitas atau aktivitas enzim tanpa mengubah struktur aktifnya secara signifikan. Gliserol dan manitol telah terbukti sebagai senyawa stabilisator yang efektif, mampu meningkatkan stabilitas enzim terhadap perubahan suhu dan pH. Gliserol memiliki fungsi dapat melindungi struktur enzim agar tidak mengalami denaturasi yang disebabkan oleh suhu tinggi atau lingkungan yang bebas terhadap air sehingga dapat meningkatkan aktivitas dari pada katalitik enzim lipase pada reaksi gliserolisis. Selain itu manitol juga biasanya digunakan sebagai agen polioliol yang dapat menyebabkan meningkatnya stabilitas enzim dalam kondisi yang tidak mendukung seperti lingkungan yang bebas terhadap air dan pelarut organik. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa manitol ini dapat untuk meningkatkan daya tahan suatu enzim dengan faktor-faktor eksternal dan dapat memperpanjang masa pakaiannya sehingga, menyebabkan efisiensi pada produksi yang tinggi dengan biaya yang lebih rendah (Fu and Lu, 2013)

Enzim lipase dimodifikasi dengan polioliol seperti gliserol dan manitol untuk meningkatkan stabilitasnya di pelarut organik (Jha *et al.*, 2017). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa polioliol seperti gliserol dan manitol berperan dalam meningkatkan aktivitas dan stabilitas enzim lipase. Winther *et al.* (2021) menunjukkan bahwa penambahan gliserol hingga 40% (v/v) secara signifikan meningkatkan stabilitas termal lipase lipoprotein manusia (hLPL) atau termal lipase lipoprotein (mLPL), yang ditandai dengan peningkatan suhu leleh (T_m) sekitar 11 °C. Sementara itu, Bhosale *et al.* (2016) melaporkan bahwa penambahan manitol pada konsentrasi 60 mM mampu meningkatkan stabilitas termal lipase dari *Bacillus sonorensis* 4R dengan mempertahankan 100% aktivitas residual setelah inkubasi selama 60 menit pada suhu 80 °C. Temuan ini mengindikasikan bahwa polioliol, khususnya manitol dan gliserol, memiliki potensi sebagai agen penstabil enzim lipase terhadap kondisi termal ekstrem melalui mekanisme perlindungan konformasi protein.

Enzim Lipase dari bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 telah diteliti dan memiliki sejumlah karakteristik unggul yang mendukung aplikasinya dalam bioteknologi. Enzim ini stabil pada pH dan suhu tertentu, dengan pH optimal sekitar 6 dan suhu optimal 40 °C. Lipase ini juga menunjukkan daya tahan yang cukup baik terhadap pelarut organik seperti heksana. Melalui proses purifikasi, kemurnian lipase berhasil ditingkatkan hingga empat kali lipat dibandingkan dengan bentuk ekstrak kasarnya (Nurhasanah *et al.*, 2023). Penelitian Sari (2023) telah mempelajari kestabilan lipase dari bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 terhadap variasi pH, suhu dan pelarut. Namun, aktivitas dan stabilitas enzim lipase dengan penambahan poliol seperti gliserol dan manitol belum dipelajari lebih lanjut.

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan pengujian untuk memodifikasi enzim lipase dari isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1 dengan penambahan senyawa poliol, seperti gliserol dan manitol. Sehingga dapat mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas enzim dan kondisi tertentu, seperti variasi suhu, pH, dan stabilitas enzim.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui aktivitas enzim lipase dari isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1 pada fraksi ekstrak kasar enzim dan hasil pemurnian.
2. Mempelajari pengaruh aktivitas dan stabilitas enzim akibat penambahan senyawa poliol gliserol dan manitol pada variasi pH.
3. Mempelajari pengaruh aktivitas dan stabilitas akibat penambahan senyawa poliol gliserol dan manitol pada variasi suhu.
4. Mempelajari pengaruh senyawa poliol gliserol dan manitol terhadap aktivitas dan kestabilan termal enzim lipase dari isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh variasi pH, variasi suhu dan stabilitas termal dengan penambahan senyawa poliol gliserol dan manitol terhadap peningkatan aktivitas enzim lipase yang diproduksi oleh isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Enzim adalah biomolekul berupa protein berbentuk bulat (globular), yang terdiri atas satu rantai polipeptida atau lebih dari satu rantai polipeptida. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator atau senyawa yang dapat mempercepat proses reaksi tanpa ikut bereaksi. Enzim yang awalnya disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk. Keunggulan enzim sebagai biokatalisator antara lain memiliki spesifitas tinggi, mempercepat reaksi kimia tanpa pembentukan produk samping, produktivitas tinggi, dan dapat menghasilkan produk akhir yang tidak terkontaminasi sehingga mengurangi biaya purifikasi. Penelitian tentang sifat dan fungsi enzim membuka peluang untuk aplikasi inovatif dalam bioteknologi dan pengobatan (Nelson *and* Cox, 2017).

2.2 Penggolongan Enzim

Enzim dapat digolongkan berdasarkan reaksinya sedangkan masing-masing dari enzim diberikan nama sesuai dengan substratnya. Berdasarkan *Commision on Enzymes of the International Union of Biochemistry* (IUBMB) membagi enzim menjadi enam golongan seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Penggolongan Enzim Berdasarkan *Commision on Enzymes of the International Union of Biochemistry* (IUBMB) (Wibowo dkk., 2020).

No.	Kelas Enzim	Tipe Reaksi
1.	Oksidoreduktase	Oksidasi/Reduksi
2.	Transferase	Transfer atom/gugus
3.	Hidrolase	Hidrolisis
4.	Liase	Penghilangan gugus
5.	Isomerase	Isomerisasi
6.	Ligase	Penggabungan antara molekul yang berkaitan dengan perusakan ikatan pirofosfat

2.3 Sifat-Sifat Enzim

Enzim dijadikan sebagai katalisator pada reaksi-reaksi kimia. Ciri-ciri enzim sebagai katalis diantaranya adalah :

- Enzim yang bersifat tidak dapat diubah oleh reaksi yang dikatalisnya.
- Enzim sebagai biokatalisator yang konsentrasinya kecil dan dapat memacu laju reaksi.
- Enzim begitu peka terhadap faktor-faktor yang menyebabkan denaturasi, seperti pH dan suhu (Isnaeni, 2020).

2.4 Mekanisme Kerja Enzim

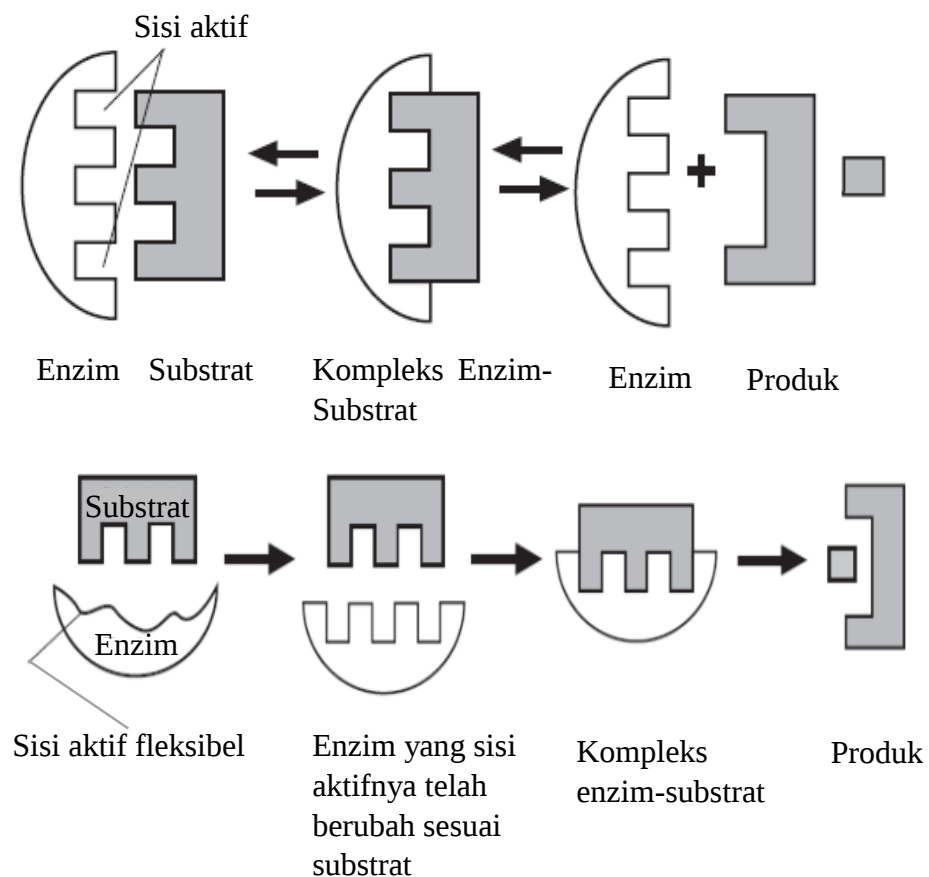
- Teori kunci dan gembok (*Lock and key theory*)

Secara umum enzim bekerja seperti, maka hal ini dikatakan teori kunci dan gembok karena keduanya memiliki peran yang sama seperti dapat dibuka dan dikunci. Teori ini memiliki kelemahan yaitu tidak dapat menjelaskan kestabilan suatu enzim pada saat berpindah ke tempat reaksi enzim.

- Teori ketepatan induksi kunci dan gembok yang dimana enzim memiliki

tempat aktif sehingga substrat tertentu dapat bergantung ke dalamnya dan bekerja secara spesifik. Pada teori ini enzim dapat saling berikatan dengan substrat dalam bentuk yang sama atau bentuk yang spesifik pada bagian sisi aktif enzim. Enzim dikatakan sebagai kunci karena memiliki makna seperti dapat membuka substrat. Sebelumnya telah dijelaskan bahwa enzim merupakan suatu protein katalitik. Katalis biasa digunakan untuk mengubah laju reaksi tanpa bisa mengubah reaksinya sendiri. Hal ini dapat terjadi karena adanya energi aktivasi yang digunakan untuk reaksi enzim. Enzim berfungsi untuk menurunkan ambang batas energi aktivasi yang

c) biasanya dipakai untuk awal terjadinya suatu reaksi. Karena terdapat banyak proses molekul yang terlibat sangat sensitif terhadap suhu yang tinggi (Campbell *et al.*, 2017). Mekanisme kerja enzim ditunjukkan pada Gambar 1.

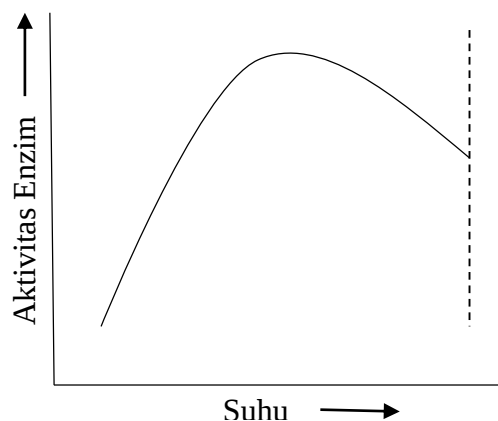


Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim (Campbell *et al.*, 2017).

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

2.5.1 Temperatur

Enzim merupakan protein yang memiliki sifat akan terdenaturasi jika terkena panas. Hal ini terjadi karena enzim memiliki suhu optimum yang berbeda untuk proses kerja enzim. Suhu memiliki peran yang penting di dalam enzim karena jika suhu nya berada di bawah atau di atas suhu optimum yang dimiliki oleh enzim tersebut maka akan mempengaruhi kerja enzim. Sehingga, akan menyebabkan kerja enzim akan berkurang atau tidak dapat bekerja sama sekali. Karena suhu yang tidak sesuai atau suhu yang terlalu rendah tidak dapat mendorong kerja dari enzim secara efektif dan akan menyebabkan denaturasi sedangkan pada suhu yang tinggi akan dapat merusak sisi aktif pada enzim (Gomez *et al.*, 2021). Hubungan suhu dengan aktivitas enzim ditunjukkan pada Gambar 2.

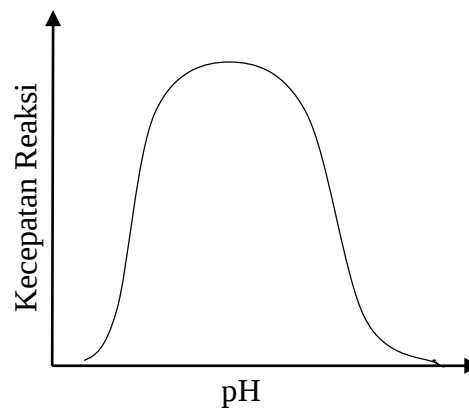


Gambar 2. Hubungan Suhu dengan Aktivitas Enzim (Wibowo dkk., 2020).

2.5.2 Tingkat Keasaman (pH)

Struktur ion bergantung terhadap pH lingkungannya. pH pada enzim ini memiliki optimumnya sendiri yang jika berada di lingkungan yang terlalu asam atau terlalu basa akan menyebabkan enzim akan mengalami denaturasi.

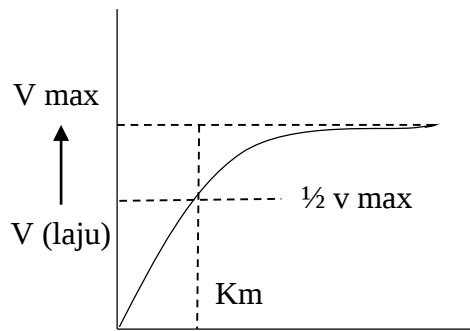
Biasanya pH optimum suatu enzim yaitu sekitar keadaan netral dengan nilai pH nya 7. Perubahan dari pada pH akan dapat mempengaruhi efektivitas bagian aktif enzim dalam dapat membentuk kompleks enzim-substrat, pH yang tinggi akan menyebabkan enzim mengalami denaturasi sehingga akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim. Aktivitas maksimum enzim yaitu sekitar pH 4,5 sampai pH 8,0 (Gomez *et al.*, 2021). Hubungan pH terhadap aktivitas enzim ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan pH terhadap Aktivitas Enzim (Winarno, 1989).

2.5.3 Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat yang digunakan dapat untuk mempengaruhi aktivitas kerja dari enzim. Aktivitas enzim berbanding lurus dengan konsentrasi substrat yang dimana jika konsentrasi substrat tinggi maka aktivitas enzim dan kecepatan reaksi juga akan semakin tinggi. Kondisi ini, bertambahnya konsentrasi enzim-substrat akan mempengaruhi jumlah hasil reaksi dan tidak bertambah (Gomez *et al.*, 2021). Hubungan antara konsentrasi dengan laju reaksi enzim ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hubungan antara Konsentrasi dengan Laju Reaksi Enzim (Winarno, 1986).

2.6 Enzim Lipase

Enzim lipase (EC 3.1.1.3) adalah enzim yang memiliki kemampuan untuk dapat larut di dalam air dan menghidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Enzim ini memiliki fleksibilitas reaksi yang memungkinkan untuk terjadinya sintesis ester dari asam lemak bebas dan gliserol di bawah kondisi tertentu, sehingga dijadikan sebagai alat biokatalis yang sangat bernilai. Lipase adalah bagian dari kelompok besar enzim yang dapat digunakan secara luas dalam berbagai macam industri, termasuk pada makanan, produk tekstil dan kertas, farmasi, kosmetik, dan pengolahan minyak. Keunggulan dari lipase dalam katalisis reaksi transesterifikasi, hidrolisis, dan sintesis yang menjadikan enzim ini sangat berharga di dalam aplikasi yang memerlukan proses spesifik dan efisien.

Berikut merupakan ciri khas yang dimiliki enzim lipase diantaranya adalah :

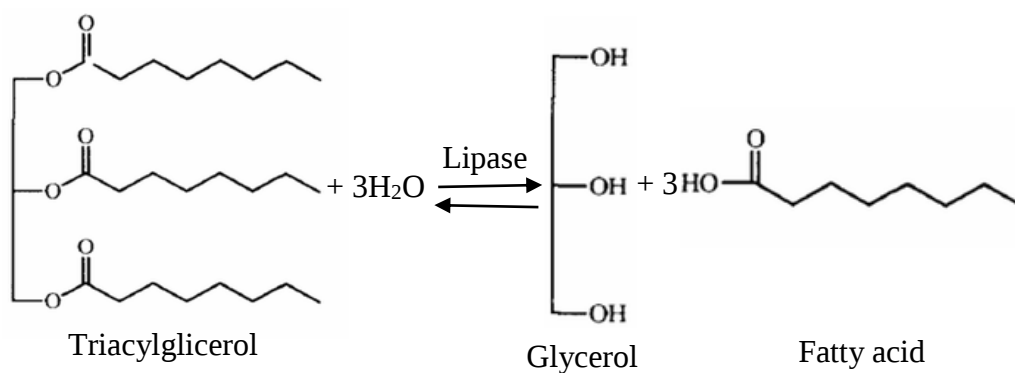
- a) Biokatalisator : Enzim lipase berperan penting sebagai katalis dalam proses hidrolisis lemak, yang dapat mengubahnya menjadi asam lemak dan gliserol karena enzim lipase memiliki kemampuannya untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi, dan perhidrolisis.
- b) Bersifat termolabil : Enzim lipase adalah protein yang cukup sensitif dengan

suhu, sehingga aktivitasnya sangat tergantung pada kondisi suhu tertentu yang digunakan untuk menghasilkan produk katalisis yang optimal, enzim lipase membutuhkan suhu yang tepat. Karena jika suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan enzim ini akan mengalami denaturasi, yaitu kerusakan pada struktur protein lipase.

- c) Bekerja secara spesifik dan selektif : Terdapat beberapa enzim yang hanya dapat mengubah zat tertentu. Enzim lipase memiliki sifat spesifik yang unik dalam hal dan kemampuannya yang dapat menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol, yaitu regioselektivitas (Nelson *and* Cox, 2017)

Lipase dapat dihasilkan dari berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri seperti *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Burkholderia*. Lipase bakteri ini memiliki manfaat yang cukup banyak karena memiliki hasil produksi yang tinggi, berbagai aktivitas katalitik, tidak tergantung pada iklim, bahan yang murah dan pertumbuhan yang cepat. Selain itu lipase bakteri juga memiliki tingkat stabilitas yang tinggi. Mikroorganisme ini sering dipilih karena kemampuannya untuk memproduksi lipase dengan kapasitas tinggi dan aktivitas yang bervariasi, tergantung pada kondisi pertumbuhannya (Sukohidayat *et al.*, 2018). Contoh lain aplikasi lipase yang banyak diperhatikan yaitu sehubungan dengan pembuatan obat - obatan murni enansiomer, karena lipase memiliki sejumlah karakteristik unik yaitu; spesifisitas substrat, spesifisitas regio, dan selektivitas kiral. Banyak reaksi dilakukan efisien pada suhu tinggi dan dalam pelarut organik, upaya konvergen telah dilakukan untuk menemukan lipase termostabil yang akan memiliki keunggulan dibandingkan enzim lipase tidak stabil dalam aplikasi obat enansiomer (Hussain *et al.*, 2023).

Sejumlah mikroorganisme termofilik yang memproduksi lipase dan esterase termoaktif telah dimurnikan dan dikarakterisasi. Lipase termofilik menunjukkan termostabilitas yang lebih tinggi, aktivitas yang lebih tinggi pada suhu tinggi, dan sering menunjukkan lebih banyak ketahanan terhadap denaturasi kimia, menjadikannya ideal dalam proses industri dan kimia di mana suhu reaksi atau pelarut organik yang relatif tinggi digunakan. Karena setiap aplikasi industri mungkin memerlukan sifat khusus dari biokatalis, untuk menemukan lipase baru yang dapat membuat aplikasi baru. Reaksi umum hidrolisis enzim lipase ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi Umum Hidrolisis Enzim Lipase (Sholeha *and* Agustini, 2021).

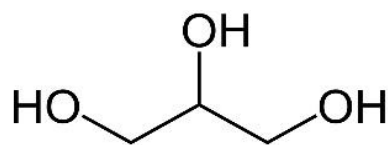
2.7 Polioliol

Polioliol merupakan suatu senyawa organik yang dijadikan sebagai bahan *intermediet* maupun bahan aditif. Polioliol ini biasanya dikenal sebagai gula alkohol atau pengganti dari gula dengan pemanis yang cukup rendah dan diklasifikasikan menjadi 2 yaitu monosakarida seperti manitol, sorbitol, xylitol, eritritol dan untuk polisakarida sendiri seperti laktitol, maltitol, isomaltitol dan trehalosa (Arias *et al.*, 2024). Produksi polioliol dengan cara fermentasi mikroba mendapat perhatian yang signifikan karena kemajuannya dalam bidang biologi sintesis maupun dalam rekayasa metabolik (Sayin *and* Kaban, 2024).

Poliol memiliki lebih dari satu gugus hidroksil dan banyak digunakan dalam bidang industri. Poliol dapat diperoleh secara langsung dengan melakukan reaksi asetilasi pada senyawa poliol. Poliol juga dapat ditemukan dari bahan alam seperti amilum, sukrosa, selulosa dan lignin ataupun hasil dari olahan industri-industri kimia. Senyawa poliol ini mengalami pengolahan yang banyak mengandalkan hasil olahan dari industri petrokimia yang bahan bakunya berasal dari minyak bumi dan gas alam yang terbatas dan tidak dapat diperbaharui. Senyawa poliol ini sudah banyak digunakan dalam berbagai industri. Contohnya seperti untuk bahan pengelastis dalam matriks polimer untuk menghasilkan material lain. Dapat juga digunakan untuk penguat material atau pelunak sehingga material dapat dengan lebih mudah dibentuk menjadi jenis barang sesuai dengan kebutuhannya masing-masing (Said *et al.*, 2017).

2.7.1 Gliserol

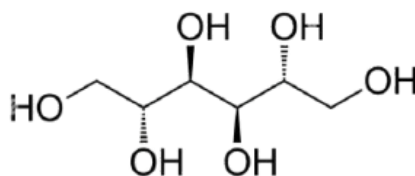
Gliserol, atau poliol gliserol adalah senyawa organik dengan rumus kimia $C_3H_8O_3$ yang terdiri dari tiga kelompok hidroksil, menjadikannya higroskopis dan larut dalam air. Senyawa ini secara luas digunakan dalam berbagai industri karena sifatnya yang unik. Gliserol juga menjadi bahan baku penting dalam produksi berbagai senyawa kimia dan bioteknologi, serta digunakan sebagai produk sampingan dalam pembuatan biodiesel. Dengan sifat fisik yang mendukung kestabilan produk dan potensi untuk aplikasi yang berkelanjutan, gliserol terus mendapatkan perhatian dalam penelitian dan inovasi industri. Gliserol yang sering disebut gliserin adalah alkohol organik yang merupakan campuran dari gula dan alkohol, dan dapat larut sepenuhnya dalam air. Karena sifatnya yang serbaguna, gliserol digunakan dalam berbagai aplikasi industri. Senyawa poliol ini adalah molekul sederhana yang memiliki tiga gugus hidroksil (OH-) terikat padanya. Gliserol umumnya diperoleh dari sumber tumbuhan dan hewan dalam bentuk trigliserida, yaitu ester gliserin dengan asam karboksilat rantai panjang (Prasetyo *et al.*, 2012). Struktur gliserol ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Gliserol (Pratiwi dan Sinaga, 2018).

2.7.2 Manitol

Manitol adalah gula poliol yang memiliki enam karbon yang paling banyak berada di alam. Manitol dapat menguntungkan yang digunakan secara luas dalam industri makanan, kesehatan dan farmasi. Manitol ini dapat diperoleh dengan proses hidrogenisasi dari mannosa yaitu suatu komponen dari mannan dan hemiselulosa, tetapi di dalam industri dapat untuk diproduksi melalui hidrogenasi dari fruktosa (Suprahman *et al.*, 2022). Manitol ini bisa disebut sebagai salah satu gula alkohol ataupun senyawa poliol. Manitol biasanya digunakan sebagai penghambat atau mengurangi tekanan intraokular yang mengandung sekitar 60% lebih kalori jika dibandingkan dengan gula yang lain. Manitol ini terdiri dari 6 karbon yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada tablet, pemanis, dan juga berguna untuk diuretik osmotik. Manitol biasanya diproduksi secara sintesis kimia yaitu dengan reaksi hidrogenasi fruktosa dengan katalis nikel yang dapat menghasilkan manitol 48-50%. Selain itu manitol sering digunakan di dalam biokimia karena efek spesifik dari manitol sendiri, sehingga banyak peneliti yang ingin mengetahui lebih lanjut mengenai penambahan manitol akan mempercepat atau menghambat aktivitas pada enzim lipase (Novi *et al.*, 2024). Struktur manitol ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Manitol (Suprahman *et al.*, 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Azizi *et al.* (2011) menunjukkan bahwa penambahan poliol seperti sorbitol dan trehalosa dapat meningkatkan aktivitas enzim lipase dari *Pseudomonas cepacia* serta mempertahankan struktur sekundernya, sebagaimana ditunjukkan melalui analisis spektrofotometer uv-vis. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Pratiwi (2023) terhadap enzim α -amilase dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148, yang menunjukkan bahwa penambahan gliserol sebagai poliol mampu meningkatkan stabilitas termal enzim tersebut. Meskipun enzim lipase dan α -amilase memiliki karakteristik yang berbeda, hasil-hasil tersebut mengindikasikan bahwa poliol secara umum memiliki potensi sebagai agen penstabil yang efektif bagi berbagai jenis enzim. Penggunaan poliol dalam enzim lipase diantaranya yaitu untuk mengetahui berbagai dampak yang terjadi akibat dari proses penambahan poliol pada reaksi enzimatik. Banyak peneliti yang menyarankan agar peningkatan ini dapat dilakukan lebih lanjut dalam jumlah gugus hidroksil yang dimana peningkatan ini tidak mengalami peningkatan yang signifikan untuk meningkatkan stabilitas dari enzim. Konsentrasi gugus hidroksil saja tidak cukup jika digunakan untuk memprediksi efek dari perlindungan poliol pada enzim. Sifat dari poliol sendiri termasuk ke dalam sifat hidrofobisitasnya, panjang karbon, dan konfigurasi sterik. gugus hidroksil juga dapat berperan penting (Liow *et al.*, 2024).

III. METODE PERCOBAAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025 sampai bulan April 2025 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *ultra low temperature freezer* (lab freez), *autoclave GEA LS-35 L EDWN 63*, *Water bath (Mammert W 350)*, oven (T60 Heraeus), *shaker Labtech LSI EDAM 97*, pH METER (pH mobile 827 Metrohm), *magnetic stirrer CB161 Stuart*, *sentrifuse Hermle Z327K*, neraca analitik DJ-V220A Lucky, inkubator Precistern P' selecta, *laminar air flow* Airtech HVS-1300, gelas kimia 1000 mL, gelas beaker 100 mL, gelas beaker 10 mL, gelas ukur 1000 mL, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 10 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 10 mL, erlenmeyer 2000 mL, erlenmeyer 100 mL, corong gelas, batang pengaduk, tabung reaksi, pipet tetes, rak tabung, mikropipet, tip, *hot plate*, neraca analitik, bunsen, termometer 100 °C, jarum ose, pH meter, dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1780).

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat *L.boronitolerans* LKM-G1 dari pengomposan limbah domestik *biochemistry laboratory collection*, *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), akuades, minyak zaitun, tween 80, *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP), isopropanol, gum arab, tris-HCl, triton-X 100, Na₂CO₃, triton-X 100, Na-K tartat, reagen *folin-Ciocalteu*, akuades, NaH₂PO₄, Na₂H₂PO₄, buffer fosfat, aseton, ethanol, *p*- nitrofenol (*p*-NP), *p*-

nitrofenil palmitat (*p*-NPP), n-heksana, kapas, kertas, alumunium foil, kasa, plastik wrap, spiritus, gliserol, dan manitol.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1 Tahapan Persiapan

a. Persiapan Alat

Peralatan gelas yang digunakan dicuci bersih dikeringkan dan disetrerilkan 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 menit. Semua kegiatan secara aseptik pada penelitian ini harus dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).

b. Pembuatan Media Padat

Media padat yang digunakan adalah medium *Nutrient Agar* (NA) untuk media pertumbuhan bakteri. Media padat dibuat dengan cara menimbang 2,8 gr *Nutrient Agar* (NA), lalu ditambahkan kedalam akuades 100 mL dan dipanaskan hingga larut. Setelah itu media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

c. Pembuatan Media Cair

Media cair yang digunakan adalah medium *Nutrient Broth* (NB) dengan cara ditimbang 8 gram *Nutrient Broth* (NB) dilarutkan dengan 1000 mL akuades, disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media cair ini akan digunakan untuk media kultur dan media fermentasi.

d. Pembuatan Poliol Gliserol dan Manitol

Larutan gliserol dengan konsentrasi 0,3 M, 0,4 M, dan 0,5 M masing-masing disiapkan dalam volume total 2 mL. Gliserol cair ditambahkan sebanyak 43,8 μ L (konsentrasi 0,3 M); 58,4 μ L (konsentrasi 0,4); dan 73,0 μ L (konsentrasi 0,5 M), kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat 0,1 M hingga mencapai volume akhir 2 mL.

Larutan manitol dengan konsentrasi 0,3 M, 0,4 M, dan 0,5 M masing-masing disiapkan dalam volume total 2 mL. Manitol padat ditimbang sebanyak 0,108 g (konsentrasi 0,3 M); 0,147 g (konsentrasi 0,4 M); dan 0,184 g (konsentrasi 0,5 M), kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat 0,1 M hingga mencapai volume akhir 2 mL.

3.3.2 Peremajaan isolat *L.boronitolerans* LKM G1

Isolat LKM G1 diambil 1 ose digores ke media NA miring dalam tabung reaksi secara zig-zag secara aseptik di *Laminar Air Flow* (LAF), lalu dibiakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30 °C dan disimpan sebagai isolat stok (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.3 Produksi Enzim Lipase

Isolat LKM G1 dalam media agar miring diambil sebanyak 3 ose dimasukkan dalam 20 mL starter kemudian diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Media starter 2% dipindahkan ke dalam 1000 mL media kultur (medium fermentasi) kemudian ditambahkan 3% n-hexsan, 2% tween 80, dan 2% minyak zaitun lalu di inkubasi dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Setelah proses inkubasi selesai, media kultur yang berisi bakteri di sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Filtrat hasil sentrifugasi disebut ekstrak kasar enzim, kemudian ditentukan aktivitas lipasenya menggunakan metode spektrofotometri dengan substrat *p*-

nitrofenil palmitat (*p*-NPP) dan kadar protein enzim menggunakan metode Lowry dengan panjang gelombang 750 nm (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.4 . Pemurnian Enzim Lipase

Pemurnian enzim lipase hasil produksi dilakukan dengan tahapan fraksi amonium sulfat dan dialisis. Pemurnian sampel ekstrak kasar enzim lipase yang diawali dengan tingkat fraksinasi bertingkat menggunakan garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20-80%. Fraksinasi dengan ammonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan secara perlahan ammonium sulfat kedalam larutan ekstrak kasar enzim yang telah diperoleh di dalam gelas beaker sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Pengadukan diusahakan tidak menimbulkan busa selama kurang lebih 20 menit. Setiap endapan protein enzim yang didapat lalu dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, kemudian dilarutkan ke dalam larutan buffer fosfat pH 7 dengan konsentrasi 0,25 M. Setiap fraksi diuji aktivitas lipasenya menggunakan metode spektrofotometri dengan substrat *p*- nitrofenil palmitat (*p*-NPP) dan kadar protein dengan metode lowry dengan panjang gelombang 750 nm (Nurhasanah *et al.*, 2023).

Dialisis dilakukan pada suhu dingin menggunakan pengaduk magnet enzim yang telah dimurnikan dengan fraksi amonium sulfat dimasukkan ke dalam kantong selofan. Lalu kantong selofan tersebut dimasukkan ke dalam wadah yang berisi buffer fosfat pH 7 0,01 M dan diletakkan di atas pengaduk magnet selama dialisis dilakukan pergantian buffer setiap 4 jam. Agar konsentrasi ion-ion dalam kantong dialisis dapat berkurang proses ini dilakukan secara berulang terus sampai ion-ion dalam kantong dialisis dapat diabaikan untuk mengetahui bahwa sudah tidak ada ion garam dan kantong. Diuji dengan menambah larutan BaOH₂ atau BaCl₂ bila masih ada ion sulfat dan kantong maka akan terbentuk endapan putih BaSO₄ (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.5 Uji Aktivitas Enzim

a. Pembuatan Kurva Standar

Kurva Standar *p*-nitrofenol (*p*-NP) dibuat dengan cara larutan *p*-nitrofenol (*p*-NP) 0,01 M dilarutkan 14 mg serbuk *p*-nitrofenol (*p*-NP) dengan akuades sebanyak 10 mL. Larutan *p*-nitrofenol (*p*-NP) merupakan larutan stok untuk pembuatan larutan dengan konsentrasi lebih kecil. Deret konsentrasi standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah 300 nm, 500 nm, 700 nm, 900 nm, 1100 nm, dan 1300 nm (Nurhasanah *et al.*, 2023).

b. Uji Aktivitas Enzim Lipase

Uji Aktivitas Lipase Aktivitas lipase diukur dengan menggunakan substrat *p*-nitrophenyl palmitat dengan cara berikut:

Larutan A (15 mg *p*-nitrophenyl palmitat dilarutkan dalam 5 mL isopropanol) dicampurkan kedalam larutan B (0,05 gr Gum Arabic dan 0,2 mL triton X-100 lalu dilarutkan dalam 50 mM buffer Tris-HCL pH 8), kemudian dihomogenkan seluruh bahan hingga volume akhir 50 mL. Aktivitas lipase diukur dengan mencampur 1,8 mL larutan substrat dengan 0,2 mL larutan enzim dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 15 menit. Lalu larutan kontrol disiapkan sebanyak 0,2 mL larutan enzim lalu ditambahkan aseton: etanol (1:1) untuk menginaktivasi enzim dan dilakukan perlakuan yang sama seperti sampel. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 410 nm (Ertugrul *et al.*, 2007).

3.3.6 Uji Kadar Protein

Uji kadar protein protein enzim di tentukan dengan menggunakan metode lowry. Adapun pereaksi yang digunakan dalam pengujian kadar protein antara lain:

Pereaksi A: 2 gr Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 M

Pereaksi B: 5 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan 3 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 BSA (Bovine Serum Albumin)

Sebanyak 0,1 mL enzim lipase ditambahkan 0,9 mL akuades lalu ditambahkan 5 mL pereaksi C kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar, lalu ditambahkan dengan cepat 0,5 mL pereaksi D kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Setelah itu diukur pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai larutan kontrol 0,1 mL enzim diganti dengan 0,1 mL akuades dengan perlakuan yang sama seperti sampel, untuk menentukan konsentrasi protein enzim digunakan kurva standar Bovine Serum Albumin (BSA) menggunakan deret konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm (Nurhasanah *et al.*, 2023)

3.3.7 Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol

Larutan gliserol dan manitol dengan konsentrasi 0,3 M; 0,4 M; dan 0,5 M masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan enzim hasil pemurnian dengan perbandingan 1:1 (enzim : gliserol dan manitol), menghasilkan enzim hasil pemurnian dan enzim gliserol, manitol 0,3 M; enzim hasil pemurnian dan enzim gliserol, manitol 0,4 M; dan enzim hasil pemurnian dan enzim gliserol, manitol 0,5 M. Setelah dilakukan penambahan, enzim hasil penambahan dari gliserol dan manitol akan dikarakterisasi dengan beberapa tahapan.

3.3.8 Pengaruh Penambahan Senyawa Poliol Gliserol dan Manitol terhadap Aktivitas Lipase dari Bakteri Isolat *L.boronitolerans* LKM G1

a. Uji Aktivitas Enzim pada Variasi pH

pH optimum enzim dapat diketahui melalui pengukuran aktivitas enzim lipase dengan penambahan larutan substrat sebanyak 1,8 mL dan 0,2 mL larutan (0,1 mL enzim + 0,1 mL gliserol/manitol) digunakan penambahan buffer fosfat 0,1 M dengan variasi pH antara lain : 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5; dan 8. Setelah itu ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol. Selanjutnya aktivitas enzim diukur dengan metode spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 410 nm (Ertugrul *et al.*, 2007).

b. Uji Aktivitas Enzim pada Variasi Suhu

Suhu optimum enzim dapat diketahui melalui pengukuran aktivitas enzim lipase dengan penambahan larutan substrat sebanyak 1,8 mL dan 0,2 mL larutan (0,1 mL enzim + 0,1 mL gliserol/manitol) dengan memvariasikan suhu saat inkubasi variasi suhu 30 °C; 35 °C; 40 °C; 45 °C; 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 (Ertugrul *et al.*, 2007).

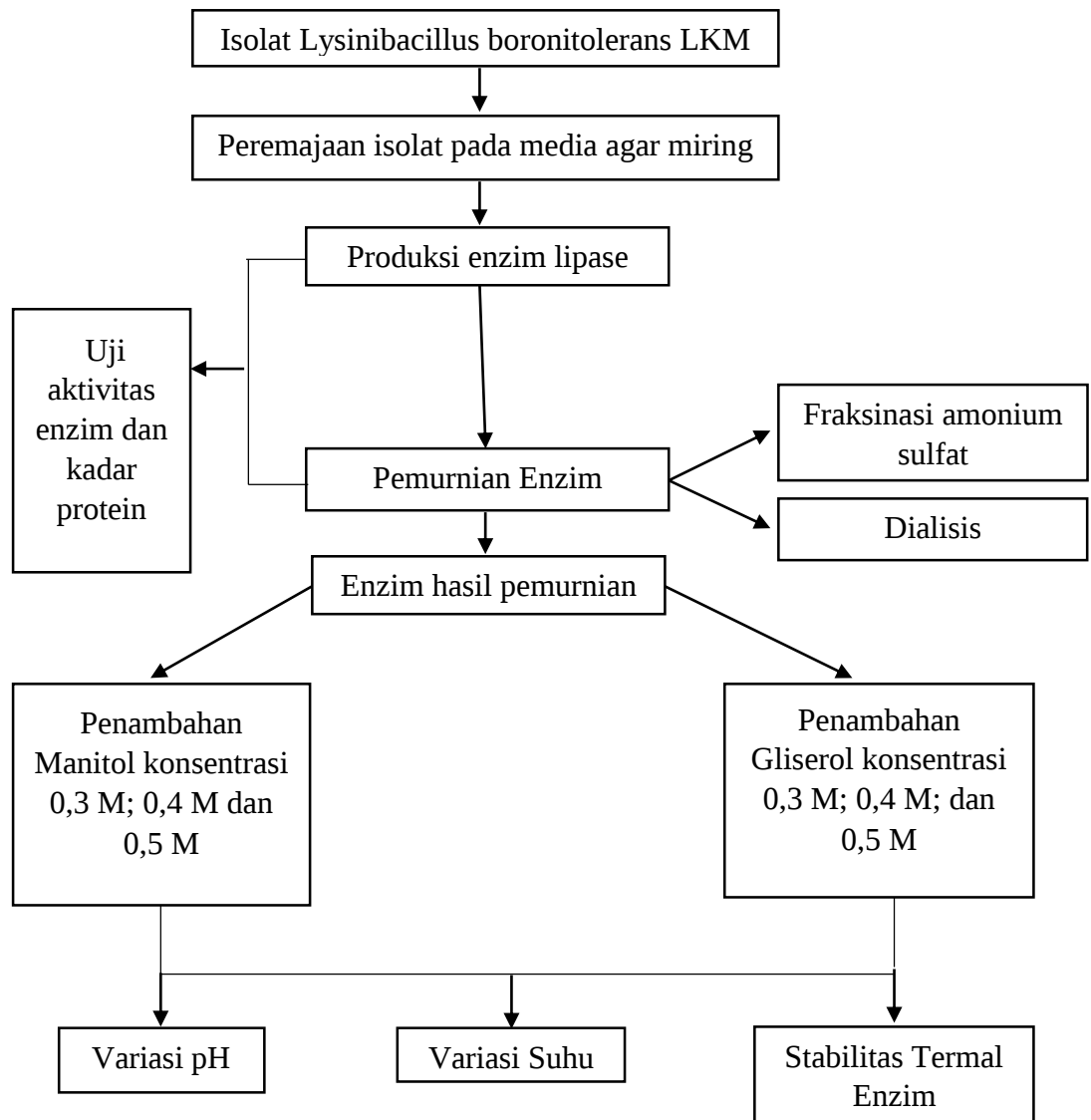
c. Uji Stabilitas Termal Enzim

Uji stabilitas termal enzim lipase dari hasil pemurnian sebelum dan setelah penambahan poliol dapat ditentukan dengan memvariasikan waktu inkubasi. Waktu inkubasi dibutuhkan oleh enzim untuk bereaksi dengan substrat secara optimum. Pada penelitian ini pengukuran aktivitas sisa enzim lipase sebelum dan setelah dapat diinkubasi selama 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 menit. Aktivitas awal enzim (tanpa pemanasan) diberi nilai 100%. Sehingga aktivitas sisa enzim dapat ditentukan dengan Persamaan 1.

$$\text{Aktivitas sisa} = \frac{\text{Aktivitas enzim setelah perlakuan}}{\text{Aktivitas enzim awal (tanpa perlakuan)}} \times 100\% \quad (1)$$

(Pratiwi, 2023).

Adapun skema penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Skema Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Adapun kesimpulan dalam penelitian ini yaitu :

1. Aktivitas spesifik enzim lipase ekstrak kasar enzim dengan aktivitas spesifik sebesar 1.474,82 U/mg dan meningkat pada hasil pemurnian sebesar 3.484,35 U/mg.
2. Pada variasi pH, terjadi perubahan pH dari pH 6 menjadi pH 7 pada penambahan gliserol 0,5 M dengan aktivitas sebesar 353,16 U/mL. Sedangkan, setelah penambahan manitol pH 7 konsentrasi 0,4 M memperoleh aktivitas tertinggi sebesar 349,33 U/mL.
3. Pada variasi suhu, enzim dengan penambahan poliol tidak mengalami perubahan suhu. Namun, terjadi peningkatan aktivitas pada gliserol 0,5 M dengan pH 7 sebesar 359,83 U/mL. Sedangkan pada manitol 0,4 M dengan pH 7 aktivitas tertinggi sebesar 351,41 U/mL.
4. Pada uji stabilitas termal diperoleh penambahan gliserol dan manitol juga meningkatkan kestabilan enzim berdasarkan uji aktivitas sisa. Aktivitas meningkat secara progresif hingga menit ke-90, dengan puncak aktivitas sisa gliserol sebesar 93% sedangkan manitol 96%.

5.2 Saran

Adapun saran penelitian ini yaitu dilakukan pengujian terhadap jenis poliol lain seperti maltitol dan laktitol untuk meningkatkan aktivitas dan stabilitas enzim lipase.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelaziz, A. A., Kamar, A. M. A., Elkotb, E. S., and Madboly, L. A. A. 2025. Microbial Lipases: Advances in Production, Purification, Biochemical Characterization, and Multifaceted Applications in Industry and Medicine. *Journal Microbial Cell Factories*. 4(2): 24-40.
- Ali, S., Khan, S. A., Hamayun, M., and Lee, I. J. 2023. The Recent Advances in the Utility of Microbial Lipases. *Journal Microorganisms*. 2(11): 510-522.
- Amanda, V. N. R. 2023. Modifikasi Enzim α -amilase dari *Apergillus fumigatus* menggunakan Nitrofenol Karbonat Polietilen Glikol (NPC-PEG). *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Arias, A. C., Bobadilla, C. A. F., and Dominguez, C. M. Z. 2024. Cryoprotectants for Frozen Dough. *Journal Food Biophysics*. 19(1): 18-28.
- Azizi, A., Ranjbar, B., Khajeh, K., Ghodselahi, T., Hoornam, S., Mobasheri, H., and Ganjalikhany, M. R. 2011. Effects of Trehalose and Sorbitol on the Activity and Structure of *Pseudomonas Cepacia* Lipase: Spectroscopic Insight. *International Journal of Biological Macromolecules*. 49(11): 652-656.
- Bankeeree, W., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Chaiareekij, S., Eveleigh, E. D., 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. *J.Biortech*. 3(1): 37-48.
- Bhosale, H., Shaheen, U., and Kadam, T. 2016. Characterization of a Hyperthermostable Alkaline Lipase from *Bacillus sonorensis* 4R. *Enzyme Research*. 2(3): 1-11.
- Campbell., Neil, A., Jane, B. R., Lisa, A., Urry., Michael, L. C., Steven, A., Wasserman., and Peter, V. M. 2017. *Biology*. Eleventh Edition. New York: Pearson Education, Inc.
- Chandra, P., Enespa., Singh, R., and Arora, P. K. 2020. Microbial Lipases and their Industrial Applications. *Journal Microbial Cell Factories*. 10(9): 19-169.

- Chen, G., Zhang, 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 Biological Macromolecules*. 127(19): 555-562.
- Ertugrul, S., Donmez, G., and Takac, S. 2007. Isolation of Lipase Producing *Bacillus* sp. From Olive Mill Wasterwater and Improving its Enzyme Activity. *Journal of Hazardous Material*. 149(12): 720-724.
- Fatimah, E. 2021. Karakteristik dan Peranan Enzim Lipase pada Produksi Diacylglycerol (DAG) from Virgin Coconut Oil (VCO). *Unesa Journal of Chemistry*. 10(3): 246-256.
- Fathi, F., Kermanshahi, R. K., Nejad, Z. M., Qamsari, E. M. 2021. Partial Purification, Characterization and Immobilization of a Novel Lipase from a Native Isolate of *Lactobacillus fermentum*. *Iranlan Journal of Microbiology*: 12(7): 871-877.
- Fu, K. L., and Lu, D. 2013. Polyols Effect on Thermal Stabillity of Lipase and its Application in Cotton Fabries Enzymatic Treatment. *Journal of the Textile Institute*. 104(11): 1206-1212.
- Gomez, E. J., Delgado, J. A ., and Gonzalez, J. M. 2021. Influence of Water Availability and Temperature on Estimates of Microbial Extracellular Enzyme Activity. *PeerJ Computer Science*. 9(5): 1-19.
- Gupta, R., Beg, Q. K., dan Lorenz, P. 2022. Bacterial Alkaline: Molecular Approaches and Industrial Applications. *Journal Applied Microbiology and Biotechnology*. 59(1): 15-32.
- Gupta, R., Gupta, N., dan Rathi, P. 2014. Bacterial Lipases: An Overview of Production, Purification, and Biochemical Properties. *Journal Applied Microbiology and Biotechnology*. 64(6): 763-781.
- Hashim, A. B., Mansur, S., and Yunus, R. M. 2019. Application of *Lysinibacillus boronitolerans* Lipase in Hydrolysis of Palm Oil for Free Fatty Acids Production. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 96(11): 1213-1220.
- Hersanti., Rasiska, S., dan Sari, R. S. 2023. Uji Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Lysinibacillus* sp. dalam Campuran Carbon Fiber dan Silica Nano untuk Mengendalikan Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* sp) pada Tanaman Tomat. *Jurnal Agrosains dan Teknologi*. 8(1): 29-38.
- Hussain, M., Khan, I., Jiang, B., Zheng, L., Pan, Y., Hu, J., Ashraf, A., Din, A. S. U., Ansi, W., Khan, A., and Zou, X. 2023. Lipases: Sources, Immobilization Techniques, and Applications. *International Journal of Enviromental, Agriculture and Biotechnology*. 8(6): 94-121.

- Isnaeni, N. 2020. *Enzim*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Universitas Indonesia. Jawa Barat.
- Jha, R. K., Shah, S., and Shrestha, B. 2017. Enhanced Stability of Immobilized Lipase with Polyol Modification for Organic Synthesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 140(15): 14-21.
- Jose, J., Khandelwal, A., and Siddique, R. 2021. Qualitative Assessment of the Surface Topographic Changes of XP-endo Shaper and Trunatomy Files After Exposure to Sodium Hypochlorite and Ethylenediaminetetraacetic Acid. *EUR Endod J*. 6(2): 197–204.
- Kang, M. D., Choi, G. E., Jang, J. H., Hong, S. C., Park, H. S., Kim, D. H., Kim, W. C., Murphy, N. P., and Jung, Y. H. 2024. a Lipase from *Lactocaseibacillus Rhamnosus* IDCC 3201 with Thermostability and pH Resistance for use as a Detergent Additive. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 108(365): 1-12.
- Kazlauskas, R. 2024. *Engineering More Stable Proteins*. The Royal Society of Chemistry. 47(24): 9026-9045.
- Kendrick, B. S., Li, T., and Chang, B. S. 2002. *Physical Stabilization of Proteins in Aqueous Solution in Rationale Design of Stable Protein Formulations-Theory and Practice*. Pharm Biotechnol. 13(3): 61-84.
- Kiti, A. A., Jamilah, I., dan Rusmarlin, H. 2020. Studi Kualitatif Aktivitas Amilolitik Bakteri Asam Laktat yang di Isolasi dari Pangan Tradisional Aceh Pilek U. *Health and Contemporary Technology Journal*. 1(1): 5-9.
- Liow, M. Y., Chan, E. S., Ang, W. Z., and Song, C. P. 2024. Stabilization of Eversa Transform 2.0 Lipase with Sorbitol to Enhance the Efficiency of Ultrasound-Assisted Biodiesel Production. *International Journal of Biological Macromolecules*. 276(10): 1-9.
- Nelson, D. L., and Cox, M. M. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry*. WH Freeman and Company. New York (US).
- Novi., Siswanto, A., and Rahayu, W. S. 2024. Optimasi Formula Fast Disintegrating Tablet Domperidon Kombinasi Filler Binder Strach 1500 Manitol dan Avicel pH 102 with Simplex Littice Design. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 21(1): 61-66.
- 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 Pressw International*. 20-29.
- Osherovich, L. 2017. *Engineering Protein Stability*. Whitehead Institute for Biomedical Research. Cambridge. Mass.

- Prasetyo, A. E., Widhi, A., dan Widayat. 2012. Potensi Gliserol dalam Pembuatan Turunan Gliserol melalui Proses Esterifikasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 10(1): 26-31.
- Pratiwi, D. I. 2023. Penambahan Xilitol pada Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dari *Aspergillus fumigatus*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pratiwi, E., dan Sinaga, F. M. 2018. Konversi Gliserol dari Biodiesel Minyak Jelantah dengan Katalisator KOH. *Jurnal Chemurgy*. 1(1): 1-9.
- Sahu, R. K., and Prakash, V. 2008. Mechanism of Prevention of Aggregation of Proteins: a Case Study of Aggregation of α -Globulin in Glycerol. *International Journal of Food Properties*. 11(2): 613–623.
- Said, M., Fita, M. S., dan Sugiarti, R. A. 2017. Sintesis Senyawa Poliol melalui Reaksi Hidroksilasi Senyawa Epoksi Minyak Jagung. *Jurnal Teknik Kimia* 23(3): 183-191.
- Sari, V. I. 2023. Studi Kestabilan Lipase dari Bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 terhadap Variasi pH, Suhu, dan Pelarut Organik. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sayin, B., and Kaban. 2024. *Biotechnological Innovations Unleashing the Potential of Olive Mill Wastewater in Added-Value Bioproducts*. *Foods*. 14(13): 2245-2255.
- Sedijani, P., Rasmi, D. A. C., Kusmiyati., Eniarti, M., and Rohimah. 2022. Isolation and Activity Test of Lipolytic Bacteria on Different pH and Temperature. *Jurnal Biologi Tropis*. 22(3): 1084-1091.
- Sharma, P., Kumar, R., and Rana, S. 2020. Isolation and Characterization of Lipase-Producing Bacteria from Soil and Its Application in Detergent Industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 24(9): 1014-1029.
- Sholeha, R., and Agustini, R. 2021. Seed Lipases and its Characterization. *Journal of Chemistry*. 10(2): 21-45.
- Silviana, E. G. 2024. Peningkatan Kestabilan Enzim α -Amilase dari *Aspergillus fumigatus* dengan Penambahan Zat Aditif Manitol dan Imobilisasi menggunakan Matriks Hibrid Zeolit-Kitin. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Suharyanto., Panji, T., dan Perwitasari, U. 2011. Optimasi Produksi Diasilgliserol dari Crude Palm Oil menggunakan Lipase Spesifik 1,3-gliserida dari *Rhizopus Oryzae* TP-2. *Menara Perkebunan*. 79(1): 23-29.
- 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): 2-17.*
- Suprahman, N. Y., Basyar, K., dan Suryadi, H. 2022. *Mannitol Production from Fructose by Using Resting Cells of Methylophilic Yeasts. 12(3): 272-278.*
- Tangtua, J., Techapun, C., Pratanaphon, R., Kuntiya, A., Sanguanchaipaiwong, V., Chaiyaso, T., Hanmoungjai, P., Seesuriyachan P., and Leksawasdi, N. 2017. Partial Purification and Comparison of Precipitation Techniques of Pyruvate Decarboxylase Enzyme. *Chiang Mai J. 44(1): 2-15.*
- Popoola, B. M., and Olateru, C. T. 2021. Purification and Kinetics of Lipase of *Pseudomonas fluorescens* from Vegetable Oil Polluted Soil. *J. Biol. 21(1): 29-37.*
- Verma, M. L., Barrow, C. J., and Puri, M. 2013. Nanobiotechnology as a Novel Paradigm for Enzyme Immobilization and Stabilization with Potential Applications in Biodiesel Production. *Applied Microbiology and Biotechnology. 97(1) : 23-39.*
- Wibowo, R. L. M. S. A., Yuliamto, R., Maryati, T., dan Pahlawan, I. F. 2020. *Enzyme For Leather*. PT Sepadan Putra Mandiri. Yogyakarta.
- Winarno, F. G. 2010. *Enzim Pangan* (Edisi Revisi). M-Brio Press, Jakarta.
- Winther, A. M. L., Kristensen, K. K., Kumari, A., and Ploug, M. 2021. Expression and One-Step Purification of Active LPL Contemplated by Biophysical Considerations. *J. Lipid Res. 5(7): 1-13.*
- Wingfield, P. T. 2016. Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. *Curr Protoc Protein*. M-Brio Press, Jakarta.
- Xu, L., Ma, Y., and Zhou, Q. 2018. Enhancement of Lipase Stability by Immobilization on Chitosan Beads for Industrial Applications. *International Journal of Biological Macromolecules. 115(15): 923-928.*