

**BIODEGRADASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT* (POME)
MENGUNAKAN BAKTERI DAN LIPASE DARI *Lysinibacillus*
boronitolerans LKM G1**

(Skripsi)

Oleh

DEBORA LUCIANA MANIK

2117011105



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

ABSTRAK

BIODEGRADASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT* (POME) MENGUNAKAN BAKTERI DAN LIPASE DARI *Lysinibacillus* *boronitolerans* LKM G1

Oleh

DEBORA LUCIANA MANIK

Industri pengolahan kelapa sawit di Indonesia memberikan kontribusi besar bagi perekonomian nasional, namun menghasilkan limbah cair seperti *Palm Oil Mill Effluent* (POME) yang mengandung senyawa organik kompleks yang berpotensi mencemari lingkungan. Salah satu pendekatan ramah lingkungan untuk mengatasi masalah ini melalui proses biodegradasi menggunakan mikroorganisme lipolitik penghasil enzim lipase. Enzim lipase mampu menguraikan lemak menjadi senyawa sederhana dan aman bagi lingkungan.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi bakteri lipolitik dan enzim lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 dalam mendegradasi POME. Tahapan yang dilakukan meliputi peremajaan isolat *L. boronitolerans* LKM G1, produksi dan pemurnian parsial enzim lipase, serta uji biodegradasi POME oleh kultur bakteri dan enzim lipase. Penentuan kadar POME sisa dan persen biodegradasi dilakukan dengan metode gravimetri, sedangkan identifikasi perubahan senyawa kimia dilakukan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri lipolitik *L. boronitolerans* LKM G1 memiliki efektivitas rendah dalam mendegradasi POME dengan persentase biodegradasi sebesar 5,69% pada rasio 1:3. Sebaliknya, enzim lipase hasil pemurnian parsial menunjukkan efektivitas tertinggi dengan persentase biodegradasi mencapai 62,89% pada rasio 1:4. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa perlakuan dengan enzim hasil pemurnian parsial mampu menghilangkan senyawa utama dalam POME seperti asam oleat, asam palmitat, dan metil ester rantai panjang. Hasil ini membuktikan bahwa enzim lipase dari bakteri lipolitik *L. boronitolerans* berpotensi sebagai agen biodegradasi yang efektif dan ramah lingkungan.

Kata kunci: Bakteri lipolitik, biodegradasi, enzim lipase, *L. boronitolerans* LKM G1, *gas chromatography-mass spectrometry*

ABSTRACT

BIODEGRADATION OF PALM OIL MILL EFFLUENT (POME) USING BACTERIES AND LIPASE FROM *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1

By

DEBORA LUCIANA MANIK

The palm oil processing industry in Indonesia contributes significantly to the national economy, but it also produces liquid waste such as Palm Oil Mill Effluent (POME) containing complex organic compounds that have the potential to pollute the environment. One environmentally friendly approach to addressing this issue is through biodegradation using lipolytic microorganisms that produce lipase enzymes. Lipase enzymes are capable of breaking down fats into simple compounds that are safe for the environment. This study aims to investigate the potential of lipolytic bacteria and lipase enzymes from *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 in degrading POME. The steps involved include the rejuvenation of the *L. boronitolerans* LKM G1 isolate, the production and partial purification of lipase enzymes, and the biodegradation of POME by bacterial cultures and lipase enzymes. The determination of residual POME levels and biodegradation percentage was performed using the gravimetric method, while the identification of chemical compound changes was conducted using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The results showed that the lipolytic bacterium *L. boronitolerans* LKM G1 had low effectiveness in degrading POME, with a biodegradation percentage of 5.69% at a ratio of 1:3. Conversely, the partially purified lipase enzyme demonstrated the highest effectiveness, achieving a biodegradation percentage of 62.89% at a ratio of 1:4. GC-MS analysis showed that treatment with partially purified enzymes was able to remove the main compounds in POME, such as oleic acid, palmitic acid, and long-chain methyl esters. These results prove that lipase enzymes from the lipolytic bacterium *L. boronitolerans* have the potential to be effective and environmentally friendly biodegradation agents.

Keywords: Biodegradation, lipase enzymes, lipolytic bacteria, , *L. boronitolerans* LKM G1, gas chromatography-mass spectrometry

**BIODEGRADASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT* (POME)
MENGUNAKAN BAKTERI DAN ENZIM LIPASE DARI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1**

Oleh:

DEBORA LUCIANA MANIK

Skripsi

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

Pada

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



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

Judul Skripsi : **BIODEGRADASI LIMBAH PALM OIL MILL
EFFLUENT (POME) MENGGUNAKAN
BAKTERI DAN ENZIM LIPASE DARI
Lysinibacillus boronitolerans LKM G1**

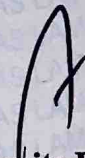
Nama Mahasiswa : **Debora Luciana Manik**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2117011105**

Program Studi : **Kimia**

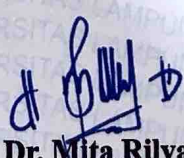
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Dra. Aspita Laila, M.S.
NIP. 196009091988112001


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

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung


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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Dra. Aspita Laila, M.S.



Sekretaris

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



Anggota

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



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 07 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Debora Luciana Manik
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011105
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul Biodegradasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Menggunakan Bakteri dan Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, metode, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan dan sepanjang nama saya disebutkan.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2025

Menyatakan,



Debora Luciana Manik
NPM. 2117011105

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Debora Luciana Manik, lahir di Jakarta, 18 Mei 2003 dan merupakan anak dari Bapak Tonny Cortis Manik (+) dan Ibu Rugun Tio Tobing. Penulis memulai Pendidikan di Taman Kanak-kanak Generasi Harapan, Bekasi pada tahun 2008 dan lulus pada tahun 2009. Kemudian, Penulis melanjutkan pendidikan di SD Negeri XIV Kota Bekasi pada tahun 2009 dan lulus pada tahun 2015. Pada tahun 2015, Penulis melanjutkan pendidikannya pada jenjang pertama di SMP Negeri 3 Kota Bekasi dan lulus pada tahun 2018. Kemudian, Penulis melanjutkan pendidikannya pada sekolah menengah atas di SMA Negeri 18 Kota Bekasi pada tahun 2018 dan lulus pada tahun 2021.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, Penulis aktif dalam berorganisasi mulai dari Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) pada tahun 2021. Pada tahun 2022-2023 Penulis aktif di HIMAKI sebagai anggota bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO). Pada tahun 2022 Penulis aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa Kristen Universitas Lampung (UKM Kristen UNILA) sebagai anggota Divisi Pelayanan dan Doa. Kemudian pada tahun 2023 Penulis aktif di UKM Kristen sebagai Sekretaris Divisi Pelayanan dan Doa. Penulis pernah mengikuti kegiatan sosial seperti Karya Wisata Ilmiah yang diselenggarakan oleh BEM-FMIPA Universitas Lampung tahun 2021. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Biokimia pada tahun 2024.

Pada bulan Januari-Februari 2024, Penulis mengikuti program MBKM Membangun Desa di Desa Hanura, Kabupaten Pesawaran. Penulis juga melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada bulan Juli-Agustus 2024 di Balai Veteriner Lampung. Saat ini, penulis telah menyelesaikan tugas akhir dengan judul **"Biodegradasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Menggunakan Bakteri dan Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1"**.

PERSEMBAHAN

Tuhan Yesus Kristus yang dengan segala kasih-Nya dan berkat-Nya hingga karya ini bisa tercipta untuk diriku dan orang-orang yang tersayang.

Orang Tua Tercinta

Terima kasih sebanyak-banyaknya kepada Bapak Tonny Manik (+) dan Ibu Rugun Lumban Tobing atas semua dukungannya, baik itu secara materiil dan doa-doa tersiratnya. Terima kasih juga atas kepercayaannya untuk memberikan pendidikan sampai saat ini.

Kakak - Kakakku Tercinta

Untuk kak Dewi Manik dan kak Devi Manik yang sudah memberikan dukungan, motivasi, semangat, materiil, dan tenaganya yang sangat membantu dalam perjalanan pendidikan ini.

Devanand Sihombing

Untuk pacar saya yang telah menemani segala tahap pengerjaan skripsi ini dari awal sampai akhir tanpa ada absen dalam mendukung semua proses yang telah saya lalui sampai skripsi ini selesai.

Rasa Hormat Saya kepada:

Ibu Dra. Aspita Laila, M.S.
Ibu Dr. Nurhasannah, S.Si., M.Si.

Terima kasih atas waktu, bimbingan, arahan, ilmu, serta dukungan dalam proses penyusunan skripsi ini.

Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia

Terima kasih telah mengajarkan dan menanamkan ilmu serta nilai-nilai berharga selama masa perkuliahan.

MOTTO

“ Janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu, Aku akan meneguhkan, bahkan menolong engkau, Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan. “

(Yesaya 41 : 10)

“ Sebab bagi Allah tidak ada yang mustahil “

(Lukas 1 : 37)

“ Kita semua mempunyai terang dan gelap di dalam diri kita. Yang penting adalah sisi mana yang kita pilih, itu yang menentukan diri kita.“

(Sirius Black)

“ Bertahan sejauh ini bukanlah kebetulan, melainkan bukti bahwa aku lebih kuat daripada setiap ketakutan dan keraguan “

(Debora)

SANWACANA

Puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus yang telah memberikan karunia dan anugerah-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul “Biodegradasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Menggunakan Bakteri dan Enzim Lipase dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1”.

Penulisan skripsi ini selain dimaksud sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian sarjana (Strata-1), Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada Universitas Lampung Jurusan Kimia, juga dimaksudkan untuk mengetahui sampai sejauh mana kemampuan penulis menganalisa dan mengekspresikan pengetahuan yang diperoleh selama kuliah.

Pada penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan, dukungan, bimbingan, dan pengarahan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus yang selalu memberikan petunjuk, kekuatan, kesabaran, dan pertolongan yang tiada henti serta senantiasa memberikan berkah ilmu kepada setiap anak-Nya.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
4. Ibu Dra. Aspita Laila, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama serta Dosen Pembimbing Akademik yang sudah meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan pengarahan dalam proses penyelesaian skripsi ini. Diucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas pengetahuan, ide, inspirasi, dan petunjuk yang sangat berharga dalam proses penyelesaian

skripsi ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih atas kebaikan hati, pemahaman, dan kesabaran yang telah diberikan selama proses penulisan skripsi ini. Penulis berharap semua kebaikan yang telah Ibu berikan akan selalu membawa berkah bagi Ibu dan seluruh keluarga.

5. Ibu Dr. Nurhasannah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang sudah meluangkan waktunya dalam memberikan bimbingan dan pengarahan dalam proses penyelesaian skripsi ini. Diucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas pengetahuan, ide, inspirasi, dan petunjuk yang sangat berharga dalam proses penyelesaian skripsi ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih atas kebaikan hati, pemahaman, dan kesabaran yang telah diberikan selama proses penulisan skripsi ini. Penulis berharap semua kebaikan yang telah Ibu berikan akan selalu membawa berkah bagi Ibu dan seluruh keluarga.
6. Bapak Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembahas yang selalu memberikan masukan, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat baik dalam proses perkuliahan maupun dalam proses penyusunan skripsi ini. Semoga segala kebaikan Bapak akan selalu membawa keberkahan bagi Bapak dan seluruh keluarga.
7. Seluruh Dosen, Staff, dan Tenaga Pendidik Jurusan Kimia Universitas Lampung.
8. Kedua orang tua tersayang, Bapak Tonny Manik (+) dan Ibu Rugun Lumban Tobinng yang sudah memberikan dorongan materil dan spiritual dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Kak Dewi dan Kak Devi tersayang tercinta terunyu-unyu yang selalu memberikan dorongan materil (donatur hidup), semangat, dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Devanand Sihombing karena sudah menemani suka dan duka dalam penyelesaian Skripsi ini.
11. Rekan-rekan *BNH's Research*, Adelia Renta, Alif Zidane, Rani Rasmani, Ni Luh Indri, Siti Nurkholisoh yang saling memberikan semangat, bantuan, dan keceriaan sehingga proses penelitian dapat berjalan dengan lancar dan menyenangkan. Kebersamaan dan dukungan kalian menjadi bagian yang sangat berarti dalam perjalanan ini.

12. Seluruh rekan mahasiswa Kimia angkatan 2021 yang tidak mungkin disebutkan satu per satu.
13. Sahabat-sahabat tersayang, Aca, Adel, Elis, Hurin, Lupi, Sovia. Terima kasih untuk setiap hari yang kita lewati bersama, untuk ruang yang selalu menerima, dan untuk tawa yang tak pernah gagal menghapus lelah. Terima kasih telah menjadi sandaran dalam masa sulit, semoga jalan yang kita tempuh masing-masing akan membawa kita pada kesuksesan. Namun, tetap saling menemukan satu sama lain dikemudian hari.
14. Untuk teman-teman se-iman, Andaran Simbolon, Ari Tarigan, David Sinaga, Renjon Ketumbul, Sonia Sembiring, dan Yesika Banjarnahor, terima kasih untuk setiap waktu yang kita lewati bersama, serta telah menjadi tempat melepaskan lelah dalam masa perkuliahan maupun penyelesaian skripsi ini.
15. *Finally*, Penulis mengucapkan banyak terima kasih untuk sosok perempuan hebat yang telah bekerja keras, tidak kenal waktu serta tetap bertahan ketika ingin menyerah selama menyelesaikan masa perkuliahan ini. Terima kasih sudah percaya bahwa semua ini akan membawa hasil yang baik. Terima kasih diriku, aku bangga pada diriku **Debora Luciana Manik**.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, karena keterbatasan-keterbatasan yang ada pada penulis. Walaupun demikian penulis berusaha semaksimal mungkin agar skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2025

Penulis

Debora Luciana Manik

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Biodegradasi	4
2.2. Limbah Industri Kelapa Sawit	5
2.2.1. Limbah Padat	5
2.2.2. Limbah Cair	5
2.2.3. Limbah Gas	6
2.3. Limbah Cair Industri Minyak Kelapa Sawit.....	6
2.4. Enzim	7
2.5. Lipase.....	7
2.6. Aktivitas Enzim	10
2.7. Pemurnian Enzim.....	10
2.8. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry	12
2.9. Spektrofotometri UV-Vis	12
2.10. <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	14
III. METODE PENELITIAN	15
3.1. Waktu dan Tempat	15
3.2. Alat dan Bahan	15
3.3. Prosedur Kerja	16
3.3.1. Tahap Persiapan	16
3.3.2. Pembuatan Media.....	16
3.3.3. Peremajaan Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1.....	17
3.3.4. Pembuatan Inokulum	17
3.3.5. Produksi Enzim Lipase	17
3.3.6. Pemurnian Enzim	17
3.3.7. Uji Aktivitas Enzim Lipase	18
3.3.8. Uji Kadar Protein	18
3.3.9. Uji Biodegradasi	19
3.3.10. Pengamatan Kurva pH Medium.....	19
3.3.11. Penentuan Kadar POME Sisa	19
3.3.12. Penentuan Persen Biodegradasi	20

3.3.13. Analisis Produk Biodegradasi Limbah POME Dengan Metode Kromatografi Gas Spektrometri (GC-MS)	20
3.3.14. Diagram Alir Prosedur Penelitian	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1. Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	23
4.2. Suspensi Bakteri Bakteri <i>L. boronitolerans</i>	24
4.3. Ekstrak Kasar Enzim Lipase	25
4.4. Fraksi Enzim Hasil Pemurnian dengan Amonium Sulfat	26
4.5. pH Medium Selama Proses Biodegradasi POME	27
4.5.1. pH Medium Selama 15 Hari Proses Biodegradasi POME.....	27
4.5.2. pH Medium Selama 15 Hari Proses Biodegradasi POME Pada Rasio Optimum	30
4.6. Kadar Sisa POME.....	33
4.7. Persen Biodegradasi.....	36
4.8. Karakterisasi <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	38
V. SIMPULAN DAN SARAN	45
5.1. Simpulan	45
5.2. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	53
Lampiran 1. Pembuatan buffer fosfat 0,5 M pH 6	54
Lampiran 2. Pembuatan buffer Tris-HCl 50 mM pH 8.....	55
Lampiran 3. Kurva Standar <i>p</i> -Nitrofenol	55
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Protein Enzim	56
Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim	58
Lampiran 6. Perhitungan kadar POME Sisa Setelah inkubasi 30 Hari	59
Lampiran 7. Perhitungan Biodegradasi POME Setelah Inkubasi 30 Hari.	60
Lampiran 8. Hasil Analisis GC-MS.	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Limbah POME.	7
2. Contoh Kromatogram Gas POME didegradasi oleh <i>Bacillus subtilis</i>	14
3. Diagram Alir.	22
4. Hasil Peremajaan Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1 pada.....	24
5. Kurva Perubahan pH Selama 15 Hari Proses Biodegradasi POME oleh Bakteri <i>L. boronitolerans</i> dengan Variasi Rasio 1:3, 1:4, 1:5.	27
6. Kurva Perubahan pH Selama 15 Hari Proses Biodegradasi POME oleh Enzim Ekstrak Kasar dengan Variasi Rasio 1:3, 1:4, 1:5.	28
7. Kurva Perubahan pH Selama 15 Hari Proses Biodegradasi POME oleh Enzim Hasil Pemurnian Parsial dengan Variasi Rasio 1:3, 1:4, 1:5.....	28
8. Kurva Perubahan pH Selama Proses Biodegradasi POME oleh Bakteri <i>L. boronitolerans</i> dengan Rasio 1:3.	31
9. Kurva Perubahan pH Selama Proses Biodegradasi POME oleh Enzim Ekstrak Kasar dengan Rasio 1:4.....	32
10. Kurva Perubahan pH Selama Proses Biodegradasi POME oleh Enzim Hasil Pemurnian Parsial dengan Rasio 1:4.	33
11. Kadar Sisa POME Setelah Inkubasi 15 Hari.....	34
12. Persen Biodegradasi POME Setelah Inkubasi 15 Hari pada Rasio Optimum.....	37
13. Hasil Kromatogram POME.....	39
14. Hasil Kromatogram POME dengan Perlakuan oleh Bakteri <i>L. boronitolerans</i> Rasio 1:3.	39
15. Hasil Kromatogram POME dengan Perlakuan oleh Enzim Ekstrak Kasar Lipase Rasio 1:4.....	40
16. Hasil Kromatogram POME dengan Perlakuan oleh Enzim Hasil Pemurnian Parsial Rasio 1:4.	40

17. Kurva Standar <i>p</i> -nitrofenol (<i>p</i> -NP).	56
18. Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA).	57
19. Pengujian Kadar Protein Enzim.	57
20. Pengujian Aktivitas Enzim.	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kadar Sisa POME Setelah Inkubasi 15 Hari.....	34
2. Persen Biodegradasi POME Setelah Inkubasi 15 Hari Pada Rasio Optimum.....	36
3. Hasil Analisis Puncak GC-MS dari Berbagai Perlakuan.	41
4. Hasil pengukuran absorbansi p-nitrofenol pada pembuatan kurva standar....	55
5. Hasil pengukuran absorbansi BSA pada pembuatan kurva standar.	56
6. Kadar Sisa POME.	59
7. Persen Biodegradasi POME.	60
8. Hasil Analisis GC-MS.....	61

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Industri pengolahan kelapa sawit merupakan sektor penting di Indonesia yang memberikan kontribusi besar terhadap perekonomian, namun juga menghasilkan limbah cair dalam jumlah besar, salah satunya yaitu *Palm Oil Mill Effluent* (POME). Limbah ini dihasilkan selama proses perebusan, pengepresan, dan klasifikasi tandan buah segar kelapa sawit, serta mengandung berbagai senyawa organik seperti minyak, lemak, protein, dan serat kasar. Selain itu, POME memiliki nilai *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) yang sangat tinggi, sehingga berpotensi mencemari lingkungan apabila tidak diolah dengan tepat (Putri, 2023).

POME dapat menyebabkan pencemaran pada lingkungan jika tidak dikelola dengan baik, terutama pada sumber air dan tanah, serta menimbulkan bau tidak sedap akibat proses fermentasi anaerob. Dampak pencemaran ini tidak hanya berpengaruh pada kualitas lingkungan, tetapi juga bisa membahayakan kehidupan biota air dan kesehatan masyarakat di sekitarnya (Siammukaromah *et al.*, 2025). Pengolahan limbah secara efektif dan ramah lingkungan menjadi langkah penting dalam menekan dampak negatif yang muncul.

Saat ini, upaya untuk menemukan alternatif bioteknologi baru dalam pengolahan limbah yang juga dapat mengurangi dampak negatif telah menjadi fokus utama. Salah satu pendekatan alternatif yang digunakan adalah menggunakan teknik biodegradasi. Biodegradasi merupakan proses biologis yang digunakan untuk memanfaatkan kemampuan lipolitik organisme hidup untuk menghilangkan limbah dengan kandungan lemak tinggi dari ekosistem perairan (Dunoyer *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa mikroba lipolitik seperti *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, dan *Pseudomonas diminuta* memiliki

kemampuan dalam menurunkan kadar lemak dalam limbah sawit.

Mikroorganisme ini menghasilkan enzim lipase, yang berfungsi memecah molekul lemak menjadi komponen yang lebih sederhana, sehingga mendukung proses biodegradasi secara efektif di lingkungan tercemar (Kawuri dan Darmayasa, 2022).

Lipase atau triasilgliserol asil ester hidrolase termasuk dalam kelompok serin hidrolase dan dikenal sebagai esterase asam karboksilat (EC 3.1.1.3). Lipase adalah enzim yang umum ditemukan dan memiliki peran penting baik dalam fungsi fisiologis maupun aplikasi industri, karena enzim ini mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis dan sintesis. Pada lingkungan berair, lipase mengkatalisis pemecahan ikatan ester pada lemak, minyak dan ester, menghasilkan asam lemak bebas, digliserida, monogliserida dan gliserol atau alkohol (Welz *et al.*, 2021). Enzim lipase digunakan dalam berbagai bidang seperti bioteknologi, pengolahan protein, tekstil, produk susu, minyak, produksi surfaktan, serta sintesis obat kimia (Khezeli *et al.*, 2023). Bakteri lipolitik yang menghasilkan enzim lipase berperan penting dalam mendegradasi lemak pada air limbah. Selain itu juga enzim lipase berpotensi untuk mengatasi suatu masalah teknis dalam industri seperti masalah suhu yang tinggi (Royanti *et al.*, 2023).

Studi pendahuluan terhadap mikroba-mikroba indigen lokal yang memiliki aktivitas lipase telah dilaporkan diantaranya *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 dan isolat LKM A3, dilaporkan memiliki aktivitas lipase sebesar 0,1666 U/mL yang menunjukkan potensi besar dalam menguraikan senyawa lipid dari limbah berminyak dan menyatakan bahwa mikroba ini memiliki aktivitas lipase yang kuat serta adaptif terhadap kondisi lingkungan yang beragam (Fransiska, 2019). Penelitian terbaru oleh Zahra (2024) juga melaporkan bahwa *L. boronitolerans* LKM G1 dapat mendegradasi minyak jelantah menggunakan enzim lipase dalam enzim ekstrak kasar maupun hasil pemurnian enzim.

Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian ini bertujuan untuk menilai efektifitas biodegradasi limbah POME dengan memanfaatkan bakteri lipolitik dan enzim lipase dari isolat lokal *L. boronitolerans* LKM G1, sebagai alternatif yang efisien dan berkelanjutan dalam pengelolaan limbah.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mempelajari potensi bakteri dan enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 dalam biodegradasi limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME).
2. Mengetahui kadar sisa dan persen degradasi POME oleh bakteri dan enzim lipase dari mikroba lokal *L. boronitolerans* LKM G1.
3. Mengidentifikasi perubahan senyawa kimia dalam limbah POME setelah perlakuan biodegradasi melalui analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui efektivitas bakteri dan enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 dalam mendegradasi limbah POME, serta memberikan data degradasi dan perubahan senyawa kimia untuk pengolahan limbah yang efisien dan ramah lingkungan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biodegradasi

Biodegradasi adalah proses alami dimana mikroorganisme, seperti bakteri, fungi, dan protozoa, menguraikan bahan organik menjadi bahan organik yang lebih sederhana. Proses ini sangat penting untuk ekosistem karena membantu mengurangi akumulasi limbah dan mengembalikan nutrisi ke dalam tanah. Ketersediaan nutrisi, kelembaban, pH, dan suhu biasanya meningkatkan aktivitas mikroorganisme, sedangkan kelembapan yang cukup diperlukan untuk mendukung pertumbuhan (Levis dan Martinez, 2020). Biodegradasi adalah proses degradasi enzimatik oleh berbagai mikroorganisme termasuk bakteri. Proses biodegradasi terjadi di lingkungan bioaktif, seperti di tanah, laut, dan lingkungan perairan lainnya, atau di lingkungan padat selama proses pengomposan dan pencernaan anaerobik. Proses ini mencakup mineralisasi bahan secara keseluruhan dalam senyawa seperti karbon dioksida (CO_2), air (H_2O), amonium (NH_4^+), nitrogen (N_2), dan biomassa melalui tindakan mikroorganisme seperti bakteri, alga, dan jamur. Senyawa yang dihasilkan terdapat secara alami dalam ekosistem, sehingga proses biodegradasi tidak menimbulkan bahaya bagi lingkungan (Folino *et al.*, 2020).

Proses biodegradasi terdiri dari dua tahap utama, yaitu dekomposisi yang dimana mikroorganisme menguraikan bahan organik menjadi senyawa lebih sederhana, sedangkan mineralisasi adalah senyawa sederhana yang diubah menjadi mineral seperti karbondioksida dan air (de Vries *et al.*, 2019). Bahan organik seperti sisa makanan, limbah pertanian, dan hewan, serta polimer alami seperti selulosa, pati, dan protein, serta plastik *biodegradable* yang dirancang untuk terurai lebih cepat oleh mikroorganisme. Biodegradasi memiliki banyak keuntungan, seperti mengurangi limbah, mengembalikan nutrisi ke tanah, dan menghasilkan energi

terbarukan melalui biogas yang diproduksi secara anaerobik (Mohanty *et al.*, 2021). Proses biodegradasi memiliki banyak keuntungan, tetapi juga beberapa masalah. Contohnya termasuk waktu yang lama untuk beberapa bahan terurai, pencemaran yang dapat menghambat mikroorganisme, dan kebutuhan untuk memastikan bahwa bahan tidak terkontaminasi (de Vries *et al.*, 2019).

2.2. Limbah Industri Kelapa Sawit

Limbah kelapa sawit merupakan sisa hasil tanaman kelapa sawit yang tidak termasuk ke dalam produk utama atau dapat juga disebut juga hasil ikatan dari pengolahan kelapa sawit. Limbah cair kelapa sawit yang terbuang ke lingkungan perairan nantinya dapat menimbulkan pencemaran. Pencemaran yang terjadi merupakan akibat dari terbentuknya lapisan lemak di permukaan air sehingga dapat menghambat kelarutan oksigen yang terdapat di dalam air dan dapat mengganggu organisme yang ada di sekitar (Elystia *et al.*, 2021). Limbah ini digolongkan dalam tiga jenis, yaitu limbah padat, limbah cair, dan limbah gas.

2.2.1. Limbah Padat

Salah satu jenis limbah padat industri kelapa sawit adalah tandan kosong kelapa sawit. Pemanfaatan limbah padat tandan kosong kelapa sawit berupa pulp kertas, papan partikel energi. Limbah padat mempunyai ciri khas pada komposisinya, salah satunya adalah tinggi kandungan bahan organik yang lambat terurai secara alami (Chairunnisa, 2018).

2.2.2. Limbah Cair

Limbah cair kelapa sawit merupakan nutrisi yang kaya akan senyawa organik dan karbon dekomposisi dari senyawa-senyawa organik dari bakteri aerob yang dapat menghasilkan biogas. Gas-gas tersebut jika tidak dikelola dan dibiarkan lepas ke udara bebas, maka dapat menjadi salah satu penyebab pemanasan global saat ini (Chairunnisa, 2018).

2.2.3. Limbah Gas

Limbah gas kelapa sawit umumnya berasal dari proses pembakaran dan fermentasi dalam industri pengolahan kelapa sawit, terutama pada proses pembangkitan energi dan pengolahan limbah cair seperti POME. Limbah gas ini memiliki ciri khas tersendiri baik dari segi komposisi kimia maupun dampaknya terhadap lingkungan, seperti mengandung gas rumah kaca yang menyebabkan pemanasan global saat ini (Chairunnisa, 2018).

2.3. Limbah Cair Industri Minyak Kelapa Sawit

Salah satu limbah cair utama yang dihasilkan dari industri pengolahan minyak kelapa sawit adalah POME. POME merupakan limbah cair yang terbentuk setelah proses ekstraksi minyak kelapa sawit mentah (CPO) dari tandan buah segar (TBS). Proses ini diawali dengan pemanenan buah kelapa sawit, kemudian dilanjutkan dengan pengolahan untuk mengekstraksi minyaknya. Selama proses tersebut dihasilkan empat jenis limbah sampingan salah satunya adalah POME. Limbah ini berasal dari berbagai tahapan, seperti proses perebusan (*sterilisasi*), pengepresan (*pressing*), pemurnian untuk memisahkan kotoran dan air termasuk buangan dari hidrosiklon, serta kondensat yang dihasilkan selama ekstraksi minyak (Widiastuti *et al.*, 2019). POME umumnya berbentuk bubur kental berwarna coklat gelap dengan karakteristik pH antara 4-5 dan kandungan minyak serta lemak 3.546 mg/L, yang menunjukkan tingginya jumlah bahan organik di dalamnya. Kondisi ini menyebabkan tingginya tingkat pencemaran sehingga diperlukan proses degradasi bahan organik secara efektif (Ahmad *et al.*, 2015). Secara umum, dampak yang ditimbulkan oleh air limbah industri minyak kelapa sawit adalah tercemarnya badan air penerima yang umumnya sungai karena hampir setiap industri minyak kelapa sawit berlokasi di dekat sungai. Umumnya limbah industri minyak kelapa sawit diolah secara fisika, kimia, dan biologi, namun pengolahan tersebut memerlukan waktu yang cukup lama (Alpandari dan Prakoso, 2021).



Gambar 1. Limbah POME.

Sumber: <https://www.kompasiana.com/image/holyevi17366/65584a0796b68005c260b912/seluruh-limbah-sawit-dapat-dimanfaatkan?page=1>

2.4. Enzim

Enzim adalah biokatalis yang memainkan peran penting dalam berbagai reaksi biokimia yang terjadi di dalam sel. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa protein mempercepat laju reaksi tanpa mengubah sifatnya secara permanen. Enzim sangat penting untuk kelangsungan hidup organisme, selain itu enzim dapat menurunkan energi aktivasi yang diperlukan untuk memulai reaksi, yang memungkinkan reaksi berjalan pada kecepatan yang lebih tinggi. Spesifisitas substrat adalah properti unik dari setiap enzim, yang berarti bahwa enzim hanya dapat mengikat pada substrat tertentu dan melakukan reaksi tertentu dengannya. Metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak membutuhkan enzim (Nelson dan Cox, 2021).

2.5. Lipase

Lipase merupakan kelompok utama biokatalis yang memiliki aplikasi bioteknologi yang luas. Kemampuan enzim hidrolase lipase, yang dikenal sebagai IUPAC triasilgliserol ester hidrolase (EC3.1.1.3) adalah menghidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak. Alkoholisis, esterifikasi, interesterifikasi, dan sintesis dalam reaksi organik adalah reaksi lain yang dapat dikatalisis oleh lipase. Selain itu, lipase mempunyai peran lain yaitu dapat memproses asam lemak dan

pelarutan minyak dalam peralatan industri agar tercampur dengan air (Rait dan Bahri, 2022).

Lipase dapat dimurnikan dan diisolasi dari jamur, khamir, bakteri, tumbuhan, dan hewan. Enzim lipase yang berasal dari bakteri lebih baik untuk aplikasi industri, karena lebih stabil bahkan dalam pelarut organik dengan biaya rendah (Hosseinpour *et al.*, 2012). Saat ini, lipase digunakan dalam produksi biodiesel, yaitu dalam reaksi transesterifikasi. Lipase adalah salah satu biokatalisator yang sedang dikembangkan yang memiliki kemampuan katalitik terhadap lemak dan minyak. Penggunaan enzim lipase sebagai biokatalis memiliki banyak keuntungan, termasuk menjadi lebih ramah lingkungan, hemat energi, dan menghasilkan produk yang lebih murni. Selain itu, enzim sangat efektif dan spesifik, tidak menghasilkan produk sampingan, dan produk akhir yang dihasilkan biasanya lebih murni karena tidak terkontaminasi, sehingga biaya produksi dapat dikurangi dan dampak negatif terhadap lingkungan dapat dikurangi (Bestari dan Suharjono, 2015).

Lipase dapat dihasilkan oleh tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme; mikroorganisme adalah sumber utama lipase yang saat ini digunakan. Kemampuan mikroorganisme untuk menghasilkan lipase berbeda-beda tergantung pada jenis lipase yang dimiliki, keadaan lingkungan, dan media yang digunakan saat produksi enzim (Nabilasani *et al.*, 2019). Enzim lipase berfungsi untuk mengkatalisis banyak reaksi yang berbeda. Lipase juga adalah jenis enzim yang paling umum digunakan dalam bioteknologi dan kimia organik. Beragam jenis organisme dapat menghasilkan lipase, seperti mikroorganisme, tumbuhan, dan hewan. Lipase mikroba memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan sumber enzim lain, yaitu stabilitas yang lebih tinggi, spesifisitas substrat yang baik, serta biaya produksi yang lebih rendah (Indriawan *et al.*, 2022).

Lipase dibangun di atas lipatan hidrolase α/β , yang terdiri dari inti yang diduga terdiri dari delapan untai paralel yang membentuk lembaran pusat yang dipilin secara super-heliks yang dikelilingi oleh sejumlah heliks yang berbeda. Selain itu, beberapa lipase menunjukkan lipatan α/β yang berbeda, yang terdiri dari perbedaan jumlah heliks atau lembaran dan panjang loop. Penutup, kantong

pengikat, lubang oksianion, dan ikatan disulfida adalah komponen struktural utama lipase. Penutupnya terdiri dari satu atau lebih heliks α , yang diikat ke struktur utama enzim melalui struktur fleksibel. Penutup sebagai elemen bergerak dalam reaksi sistem bifasik berperan dalam membuka situs aktif enzim, memungkinkan substrat menjangkau area tersebut untuk bereaksi (Pangan *et al.*, 2021).

Trigliserida dipecah menjadi gliserol dan asam lemak bebas melalui proses lipase. Selama proses ini, emulsi lipid dibentuk, yang memudahkan akses enzim ke substrat. Peningkatan laju biodegradasi dan aktivitas lipase memungkinkan mikroorganisme lain untuk mengurai produk hidrolisis yang lebih banyak. Lipase memiliki kemampuan untuk berfungsi dengan baik dalam kondisi anaerob, yang menjadikannya penting dalam banyak aplikasi bioremediasi (Jain *et al.*, 2021).

Pada bidang bioremediasi, lipase memiliki banyak manfaat, terutama dalam pengolahan limbah minyak dan lemak. Salah satu manfaatnya adalah dalam pengolahan limbah minyak industri, yang sering kali menjadi masalah serius bagi lingkungan. Lipase dapat digunakan untuk menghidrolisis limbah minyak ini dan lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana, yang memudahkan mikroorganisme untuk menguraikannya lebih lanjut. Degradasi limbah minyak dapat dilakukan dengan cara yang lebih efektif dan ramah lingkungan (Kumar dan Singh, 2021). Lipase juga digunakan untuk biodegradasi limbah makanan yang mengandung lemak. Menggunakan lipase memungkinkan proses fermentasi anaerobik berjalan lebih cepat, yang pada akhirnya menghasilkan lebih banyak biogas sebagai sumber energi terbarukan (Zhang *et al.*, 2021). Selain itu, lipase memainkan peran penting dalam pengolahan limbah susu, yang kaya akan lemak. Lipase membantu memecah lemak dalam limbah, yang membuat pengolahan limbah lebih mudah dan meningkatkan kualitas pupuk organik yang dihasilkan dari limbah, yang menghasilkan manfaat ganda bagi pertanian dan lingkungan (Sharma, 2019).

2.6. Aktivitas Enzim

Enzim lipase memiliki aktivitas untuk menghidrolisis banyak lemak dan minyak sekaligus. Setiap unit per mililiter (U/mL) aktivitas enzim lipase dapat mengeluarkan 1 μmol asam lemak bebas per menit. Pengukuran aktivitas enzim lipase pada perubahan suhu dan pH menentukan kondisi ideal di mana enzim lipase berfungsi. Beberapa metode, seperti metode kromatografi, konduktometri, titrimetri, dan spektrofotometri, dapat digunakan untuk mengukur aktivitas enzim lipase. Karakterisasi berdasarkan pH dan temperatur optimal dapat digunakan untuk mengukur aktivitas enzim lipase. Umumnya dengan konsentrasi induser 8% dengan penambahan kofaktor Na^+ , yaitu 478,5026 $\mu\text{mol/mL/menit}$, enzim lipase memiliki aktivitas tertinggi. Setiap enzim lipase dengan konsentrasi induser 8% serta penambahan kofaktor Na^+ dan Co^{2+} memiliki suhu ideal 40°C dan pH ideal 7. Studi tambahan menunjukkan bahwa enzim lipase ekstraseluler yang diperoleh dari ekstraksi *Yarrowia lipolytica* berfungsi dengan baik pada suhu 40°C (Fatimah, 2021).

2.7. Pemurnian Enzim

Enzim lipase sangat penting untuk banyak industri, seperti makanan, farmasi, dan biodiesel. Karena kestabilan dan aktivitas tingginya, pemurnian lipase dari sumber mikroba seperti bakteri dan jamur menjadi fokus penelitian. Untuk meningkatkan aktivitas enzim dan kemurniannya, berbagai teknik pemurnian telah dikembangkan. Ini sangat penting untuk aplikasinya di industri. Pemurnian terdiri dari beberapa metode yaitu diantaranya:

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah tahap awal pemurnian enzim, di mana lipase dikeluarkan dari sel sumbernya. Tahapan ini enzim dilarutkan dari sel dengan menggunakan pelarut air, seperti buffer fosfat atau tris. Sel digiling dan dicampur dengan buffer, di mana enzim larut dalam fase cair. Selain itu, menggunakan pelarut organik, seperti etanol atau metanol, dapat untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Pilihan

buffer yang tepat dapat meningkatkan hasil ekstraksi lipase *Pseudomonas aeruginosa* (Gupta, 2018).

2. Presipitasi

Presipitasi adalah ketika enzim dipisahkan dari larutan melalui penambahan garam atau pelarut. Presipitasi dengan ammonium sulfat adalah salah satu teknik yang paling umum digunakan. Garam ini ditambahkan ke larutan dengan konsentrasi tertentu, menyebabkan lipase dan protein lain mengendap. Proses ini dilakukan dengan menggunakan fenomena bahwa enzim berbeda dalam kelarutan pada konsentrasi garam tertentu. Penelitian yang dilakukan oleh (Sharma *et al.*, 2019) menunjukkan bahwa tahap ini memiliki kemampuan untuk meningkatkan kemurnian lipase secara signifikan.

3. Dialisis

Dalam proses pemurnian yang dikenal sebagai dialisis, tujuan dari proses ini adalah untuk menghilangkan garam dan kontaminan kecil dari larutan enzim. Tahapan ini larutan enzim dialirkan melalui membran semipermeabel, yang memungkinkan molekul kecil seperti garam untuk melewati sementara enzim yang lebih besar tetap terperangkap. Tergantung pada ukuran molekul dan jumlah kontaminan, prosedur ini dapat berlangsung selama beberapa jam hingga hari. Dialisis memainkan peran penting dalam meningkatkan kualitas enzim (Khan, 2021).

4. Kromatografi

Metode pemisahan yang dikenal sebagai kromatografi memanfaatkan interaksi khusus antara lipase dan material di dalam kolom untuk meningkatkan kemurnian enzim. Kromatografi afinitas, ion exchange, dan gel filtrasi adalah beberapa jenis kromatografi yang dapat digunakan. Kromatografi afinitas menggunakan ligan tertentu yang berikatan dengan lipase, sedangkan kromatografi ion exchange memisahkan enzim berdasarkan muatannya. Teknik ini dapat menghasilkan lipase dengan kemurnian yang tinggi (Zhang, 2022).

5. Ultrafiltrasi

Metode pemisahan yang dikenal sebagai ultrafiltrasi menggunakan membran semipermeabel untuk membedakan lipase dari kontaminan yang lebih besar. Tahapan ini, larutan enzim yang telah dipurifikasi dialirkan melalui membran, tempat molekul kecil hanya dapat melewati. Meningkatkan kemurnian lipase, proses ini membantu menghilangkan molekul besar seperti protein lain yang tidak diinginkan. Ultrafiltrasi adalah metode yang berguna untuk mendapatkan enzim dari sumber mikroba (Jamil, 2020).

2.8. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry

Metode Lowry merupakan salah satu metode kuantifikasi protein yang paling banyak digunakan dalam analisis sampel biologis karena sensitivitasnya yang tinggi. Metode ini bekerja berdasarkan reaksi protein dengan ion tembaga dalam larutan alkali yang membentuk kompleks tembaga tetradentat, kemudian reagen *Folin-Ciocalteu* direduksi oleh residu aromatik protein seperti triptofan dan tirosin, menghasilkan warna biru yang intens dan dapat diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang sekitar 750nm (Rejeki *et al.*, 2023). Metode ini terdiri dari dua tahap inkubasi, yaitu reaksi protein dengan larutan alkali tembaga sulfat dan tartrat, diikuti penambahan reagen *Folin-Ciocalteu* dengan waktu total inkubasi sekitar 40 menit, sehingga memberikan hasil yang lebih sensitif dibandingkan metode biuret dan spektroskopi UV-Vis (Satpathy *et al.*, 2020).

2.9. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah teknik pengukuran absorbansi sampel secara kuantitatif atau kualitatif yang bergantung pada interaksi antara cahaya elektromagnetik dan materi (senyawa organik). Jenis cahaya elektromagnetik termasuk cahaya visibel, cahaya ultraviolet, dan cahaya inframerah. Spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran berdasarkan sinar tampak yang menggunakan radiasi elektromagnetik ultraviolet sebagai sumbernya. Prinsipnya adalah penyerapan sinar tampak untuk

sinar ultraviolet oleh molekul, yang menyebabkan eksitasi molekul meningkat dari tingkat energi rendah ke tingkat energi tinggi. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengukur serapan pada daun. Kelebihan metode spektrofotometri UV-Vis adalah bahwa analisisnya lebih mudah, cepat, ekonomis, dan sensitif dibandingkan dengan metode lainnya, yang memerlukan instrumentasi yang lebih mahal dan kompleks (Abriyani *et al.*, 2023).

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah bahwa ketika cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), sebagian diserap (I), dipantulkan (I_r), dan dipancarkan (I_t). Penggunaan rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif, kurva kalibrasi dari hubungan konsentrasi deret larutan alat digunakan untuk menganalisis suatu unsur yang berkadar rendah secara kualitatif dan kuantitatif. Penentuan kualitatif didasarkan pada puncak spektrum suatu unsur pada panjang gelombang tertentu, sedangkan penentuan kuantitatif didasarkan pada nilai absorbansi suatu unsur pada panjang gelombang tertentu. Hukum *Lambert-Beer*, yang menyatakan bahwa ketika suatu cahaya monokromatis dilewatkan melalui suatu media yang transparan, intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan tebal dan kepekaan media larutan yang digunakan berdasarkan persamaan berikut:

$$A = \log I/I_0 \text{ atau } A = a.b.c$$

Dimana :

A = absorbansi

a = koefisien serapan molar

b = tebal media cuplikan yang dilewati sinar

c = konsentrasi unsur dalam larutan cuplikan

I_0 = intensitas sinar mula-mula

I = intensitas sinar yang diteruskan

$$Y = ax - b$$

Dimana :

Y = absorbansi

a = konstanta

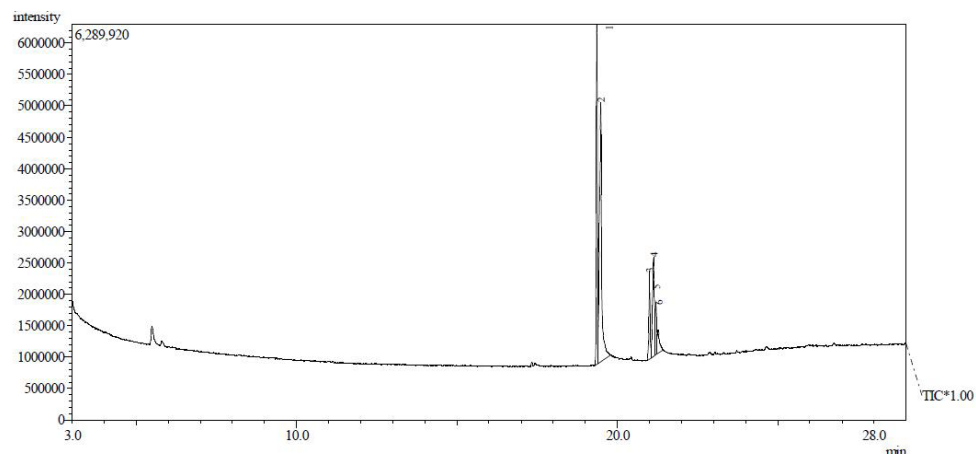
x = konsentrasi

b = kemiringan/slope

(Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

2.10. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Analisis spektrometri massa dengan kromatografi gas (GC-MS) merupakan alat yang efektif untuk mengidentifikasi dan mengukur bahan kimia dalam campuran yang kompleks, serta digunakan untuk pengujian dan pemecahan masalah. GC dan MS memberikan hasil yang berbeda namun saling melengkapi, sementara GC memisahkan komponen-komponen dari suatu campuran, MS dapat menganalisis dan mengidentifikasi komponen-komponen tersebut. Kromatografi gas memisahkan komponen-komponen campuran dalam waktu, dan spektrometer memberikan informasi yang berguna tentang identifikasi struktural setiap komponen dan mengukur kuantitas bahan kimia. Tujuan kualitatif dapat dicapai melalui pemisahan campuran kompleks, dengan spektrum massa dari senyawa individu yang menampilkan pola fragmentasi khas atau "sidik jari kimia." Selain itu, informasi kuantitatif mengenai senyawa dapat dikumpulkan secara bersamaan berdasarkan massa nominalnya (Haritha, 2023).



Gambar 2. Contoh Kromatogram Gas POME didegradasi oleh *Bacillus subtilis*
(Sumber: Okwute et al, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Januari s.d. Juni 2025, dan analisis GC-MS dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Bogor.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu *shaker* Stuart SSL2, *autoclave* model S-90N, lemari pendingin, *laminar air flow* CURMA, model 9005-FL, pH meter *Mobile* 862 *Methorm*, Agilent Cary 100 spektrofotometer UV-Visible Agilent Cary 100, Agilent 19091s-433 *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), alat-alat gelas, *ose loop*, pembakar spritus, neraca analitik, spatula, batang pengaduk, botol semprot, corong pisah, alat sentrifus, oven, dan botol vial.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu bahan utama berupa bakteri lokal *L. boronitolerans* LKM G1 dan limbah POME yang didapatkan dari PT Sinarmas, Lampung Selatan, akuades, kain kasa, aluminium foil, kapas steril, reagen *Folin-Ciocalteu*, *p*-nitrofenil palmitat, isopropanol, *Nutrient Agar* (NA) Merck, *Nutrient Broth* (NB) Merck, NaOH, CuSO₄.5H₂O, Na₂CO₃, buffer Tris-HCl, Triton X-100, Na₂SO₄, dan *n*-heksana.

3.3. Prosedur Kerja

3.3.1. Tahap Persiapan

Persiapan Alat

Alat-alat gelas yang digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 menit.

Tujuan sterilisasi agar alat-alat tersebut terhindar dari kontaminan mikroorganisme yang tidak diinginkan.

3.3.2. Pembuatan Media

1. Pembuatan Media Padat

Media padat yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri yaitu media padat NA. Media padat 2 gram NA ditambahkan ke 100 mL akuades dan dipanaskan hingga larut. *Autoclave* digunakan selama 15 menit untuk membersihkan media pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Kemudian, media dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan didinginkan hingga mengeras. Media siap digunakan.

2. Pembuatan Media Cair

Media NB digunakan sebagai media cair. Media cair dibuat dengan cara 8 gram NB ditimbang ditambahkan ke dalam 1000 mL akuades. *Autoclave* digunakan untuk membersihkan media selama lima belas menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Setelah itu, media didinginkan dan siap digunakan.

3. Pembuatan Substrat Uji Aktivitas Lipase

Adapun substrat uji yang digunakan adalah *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP).

Membuat larutan A (15 mg *p*-NPP dilarutkan dalam 5 mL isopropanol) dimasukkan ke dalam 45 mL larutan B (0,05 gram gum arabic dan 0,2 mL Triton X-100 dilarutkan kedalam buffer Tris-HCl 50 mM pH 8), seluruh bahan dihomogenkan hingga volume akhir sebanyak 50 mL (Ertuğrul *et al.*, 2007).

4. Pembuatan Pereaksi

Pereaksi yang digunakan pada penelitian ini adalah pereaksi Lowry (Suhendi *et al.*, 2023). Pereaksi ini digunakan untuk pengujian kadar protein enzim lipase.

Pereaksi yang digunakan ada 4, yaitu: a. Pereaksi A: 2 gram Na₂CO₃ dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 N. b. Pereaksi B: 5 mL larutan CuSO₄·5H₂O 1% (b/v)

ditambahkan 5 mL larutan Na-K tartrat 1% (b/v). c. Pereaksi C: 2 mL pereaksi B ditambahkan 100 mL pereaksi A. d. Pereaksi D: reagen *Folin-Ciocalteu* diencerkan dengan akuades 1:1

3.3.3. Peremajaan Bakteri *L. boronitolerans* LKM G1

Isolat bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 diremajakan pada media NA. Sebanyak 1 ose isolat digoreskan ke cawan petri yang telah berisi media NA secara aseptik lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Selanjutnya isolat dipindahkan ke media NA miring sebagai isolat stok.

3.3.4. Pembuatan Inokulum

Isolat bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 dalam media NA diambil sebanyak empat ose dan dimasukkan ke dalam 40 mL media *starter* yang merupakan NB. Media *starter* kemudian diinkubasi dalam *shaker* inkubator dengan kecepatan 110 rpm selama 24 jam.

3.3.5. Produksi Enzim Lipase

Starter inokulum sebanyak 2% (v/v) dipindahkan ke 1000 mL media fermentasi NB, kemudian ditambahkan 2% (v/v) induser berupa minyak kelapa sawit dan 3% (v/v) *n*-heksana. Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi dalam *shaker* inkubator dengan kecepatan 110 rpm selama 48 jam pada pH 6. (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.6. Pemurnian Enzim

Enzim ekstrak kasar lipase hasil produksi dimurnikan parsial dengan fraksinasi ammonium sulfat, dengan tahapan sebagai berikut: Proses pemurnian sampel ekstrak kasar lipase diawali dengan fraksinasi bertingkat menggunakan garam amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20%- 80%. Fraksinasi dengan amonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan amonium sulfat sedikit demi sedikit ke dalam larutan enzim ekstrak kasar dalam erlenmeyer sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Pengadukan diusahakan sedemikian rupa sehingga tidak menimbulkan busa. Setiap endapan protein enzim yang didapat lalu dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 15 menit.

Endapan dibilas dengan larutan buffer fosfat 0,25 M pH 7 (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.7. Uji Aktivitas Enzim Lipase

Aktivitas lipase diukur dengan mencampur 1,8 mL larutan substrat dengan 0,2 mL enzim dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 15 menit, kemudian ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1). Larutan kontrol negatif dibuat dengan menambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1) ke dalam 0,2 mL enzim untuk menginaktivasi enzim sebelum diinkubasi, lalu dilakukan perlakuan yang sama dengan sampel.

Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm. Aktivitas unit (U) pada lipase ditunjukkan dalam 1 μmol *p*-NP per menit dalam kondisi perlakuan (Vitisant *et al.*, 2013). Untuk menentukan konsentrasi *p*-NP digunakan kurva standar *p*-NP, dengan deret konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 300 μM , 500 μM , 700 μM , 900 μM , 1100 μM , dan 1300 μM . Aktivitas lipase dihitung dengan persamaan sebagai berikut (Gupta *et al.*, 2002):

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

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

Keterangan:

$\mu\text{mol p-NP}$: Konsentrasi *p*-NP

t : waktu reaksi

FP : faktor pengenceran

$$\text{Status aktivitas enzim} : \frac{\mu\text{mol/ menit}}{\text{mL}}$$

a : slope

b : intersep

3.3.8. Uji Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan metode Lowry (Suhendi *et al.*, 2023). Sebanyak 0,1 enzim lipase ditambahkan 0,9 mL akuades dan 5 mL pereaksi C lalu

dihomogenkan dan didiamkan 10 menit pada suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan dengan cepat 0,5 mL pereaksi D, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai kontrol, 0,1 mL enzim digantikan dengan 0,1 mL akuades dan diperlakukan sama seperti sampel. Konsentrasi 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.

3.3.9. Uji Biodegradasi

Uji biodegradasi diawali dengan optimasi kondisi menggunakan enzim lipase dari isolat *L. boronitolerans* dan kultur bakteri yang ditambahkan limbah POME dengan rasio masing-masing enzim dengan limbah POME 1:3, 1:4, dan 1:5 (v/v). Sebagai kontrol, digunakan limbah POME tanpa penambahan enzim lipase dan sel. Campuran enzim dan limbah POME diinkubasi pada suhu ruang dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 15 hari, serta diamati perubahan pH setiap 3 hari selama periode tersebut. Percobaan dilakukan pengulangan kembali pada masing-masing perlakuan.

3.3.10. Pengamatan Kurva pH Medium

Pengamatan nilai pH medium dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari, pengukuran pH tersebut dilakukan menggunakan pH meter. Setiap kali selesai pengukuran pH larutan, elektrode dicuci dengan akuades. Perubahan pH medium ini menjadi indikator akan adanya reaksi hidrolisis yang menghasilkan senyawa asam-asam organik.

3.3.11. Penentuan Kadar POME Sisa

Penentuan kadar POME sisa setelah proses biodegradasi dilakukan menggunakan metode ekstraksi pelarut dengan *n*-heksana. Sampel POME yang telah melewati proses inkubasi dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan *n*-heksana sebanyak 30 mL dengan perbandingan 1:1 terhadap volume sampel. Hasil campuran dikocok selama beberapa menit, sambil sesekali membuka keran corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk. Setelah didiamkan,

campuran akan memisah menjadi tiga lapisan, yaitu lapisan air (paling bawah), *n*-heksana (tengah), dan minyak (atas). Lapisan dibuang, sementara lapisan minyak dan *n*-heksana disaring menggunakan kertas saring yang telah diolesi 0,5 gram natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4) ke dalam gelas piala (*beaker glass*) 200 mL yang sebelumnya telah ditimbang kosong. Na_2SO_4 berfungsi menyerap sisa air dari campuran. Selanjutnya, gelas piala yang berisi campuran minyak dan *n*-heksana dipanaskan menggunakan *hot plate* pada suhu $\pm 69^\circ\text{C}$ (titik didih *n*-heksana) hingga seluruh pelarut menguap dan hanya tersisa minyak. Gelas piala kemudian didinginkan hingga suhu ruang dan ditimbang ulang, dicatat beratnya, dan dihitung menggunakan rumus persamaan berikut.

$$\text{Kadar POME sisa} = \frac{A}{B} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

A = Berat akhir sampel POME (g)

B = Berat awal sampel POME (g)

3.3.12. Penentuan Persen Biodegradasi

Penentuan persen biodegradasi setelah proses biodegradasi dilakukan dengan membandingkan kadar minyak sebelum dan sesudah perlakuan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\%B = \frac{B_{mo} - B_{mn}}{B_{mo}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan :

%B = Biodegradasi

B_{mo} = Bobot minyak awal (g) (sebelum dilakukan biodegradasi).

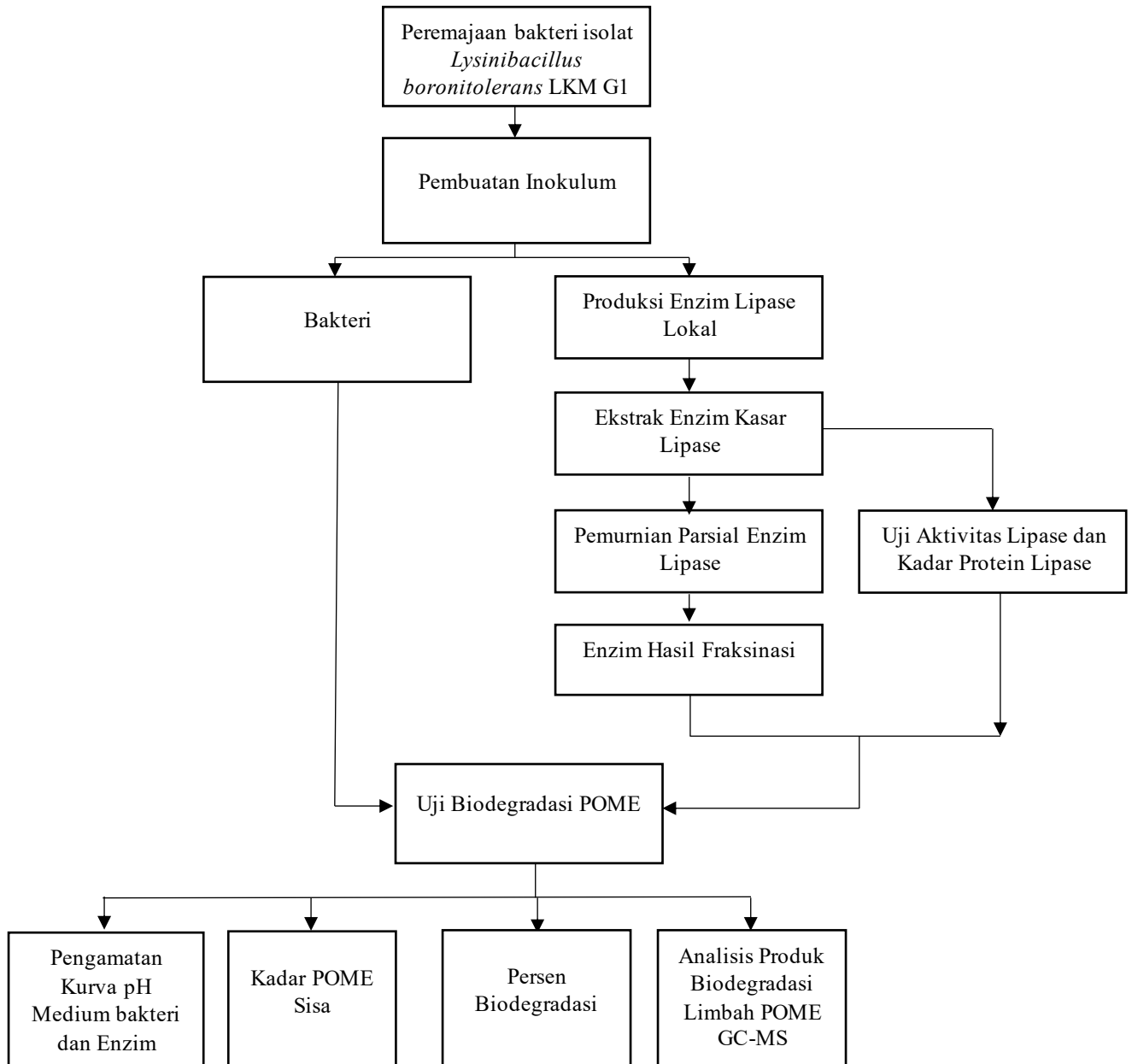
B_{mn} = Bobot minyak akhir (g) (setelah dilakukan biodegradasi).

3.3.13. Analisis Produk Biodegradasi Limbah POME Dengan Metode Kromatografi Gas Spektrometri (GC-MS)

Sampel hasil perlakuan biodegradasi limbah POME sebanyak 25 mL diekstraksi dengan menggunakan *n*-heksana hingga terbentuk dua lapisan, kemudian larutan *n*-heksana dihomogenkan hingga larut sepenuhnya. Selanjutnya, larutan *n*-

heksana yang diperoleh diambil menggunakan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam botol vial bersih dan kering yang bebas air, lalu ditutup rapat untuk analisis lebih lanjut. Sampel kemudian diinjeksikan ke dalam alat GC-MS Agilent 19091s-433 yang dilengkapi dengan kolom HP-5MS, di mana suhu oven diprogram pada 60 °C selama 2 menit, dinaikkan menjadi 70 °C, dan kemudian dinaikkan hingga 290 °C dengan laju 15 °C/menit dan ditahan selama 30 menit. Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju aliran 1 mL/menit, sementara suhu injektor dan jalur transfer dijaga pada suhu 290 °C, di mana 1 µL sampel diinjeksi dengan rasio split 50:1 untuk deteksi spektrometri massa (MS). Tahap ini menghasilkan puncak-puncak yang diidentifikasi dan dibandingkan dengan standar untuk menentukan jumlah residu setelah proses biodegradasi, sehingga memberikan informasi penting mengenai komponen yang ada dalam sampel limbah POME pasca perlakuan biodegradasi.

3.3.14. Diagram Alir Prosedur Penelitian



Gambar 3. Diagram Alir.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Simpulan yang didapat berdasarkan hasil biodegradasi limbah POME menggunakan bakteri dan lipase dari isolat lokal *L. boronitolerans* LKM G1 adalah sebagai berikut:

1. Bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 mampu mendegradasi limbah POME, namun efektivitasnya rendah dengan persentase biodegradasi hanya 5,69% akibat keterbatasan aktivitas mikroba dalam beradaptasi dengan lingkungan. Sebaliknya, enzim lipase hasil pemurnian parsial menunjukkan efektivitas tertinggi, mencapai 62,89%, yang ditandai oleh penurunan pH signifikan dan aktivitas enzim tinggi dalam menguraikan senyawa lemak kompleks menjadi bentuk sederhana.
2. Kadar sisa POME didapatkan oleh sampel bakteri *L. boronitolerans* dengan rasio 1:3 yaitu sebesar 94,31%. Persen biodegradasi tertinggi didapatkan oleh sampel enzim hasil pemurnian parsial dengan rasio 1:4 yaitu sebesar 62,89%.
3. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa enzim lipase hasil pemurnian parsial dengan rasio 1:4 lebih efektif dalam menghilangkan senyawa lemak utama dalam POME, seperti asam oleat, asam palmitat, dan senyawa metil ester rantai panjang, dibandingkan dengan perlakuan bakteri maupun enzim ekstrak kasar. Hasil ini membuktikan bahwa lipase hasil pemurnian parsial paling optimal dalam mendegradasi senyawa lipid kompleks dalam limbah.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil dan perhitungan penelitian ini, terdapat saran yang dapat diberikan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan identifikasi dan analisis komponen utama dalam POME secara lebih detail, seperti kandungan bahan organik, nutrien, logam berat, serta senyawa toksik lainnya, untuk memperoleh gambaran menyeluruh mengenai karakteristik limbah sebelum menentukan metode pengolahan yang tepat.
2. Perlu dilakukan imobilisasi pada enzim lipase hasil pemurnian parsial untuk menguji kestabilan serta kemampuannya digunakan secara berulang dalam proses biodegradasi POME, terutama pada kondisi lingkungan yang bervariasi.
3. Perlu dilakukan analisis lanjutan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) untuk mengidentifikasi senyawa organik kompleks atau senyawa toksik yang tidak terdeteksi melalui uji konvensional.

DAFTAR PUSTAKA

- Adegbola, G. M., Adekunle, O. A., dan Simeon, K. O. 2020. A Review of Biodegradation as a Panacea for Palm Oil mill Effluents (POME) Pollution. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (ISSN) Vol. 9 No. 11*, 2319-7706.
- Adi Rohmanna, N., Azizah, N., dan Hidayat, N. 2021. Teknologi penanganan limbah cair industri pengolahan susu sapi secara biologis: Artikel Review. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 9(2), 121–130.
- Ahmad, A., Shah, S. M., Othman, M. F., dan Abdullah, M. A. 2015. Aerobic and anaerobic co-cultivation of *Nannochloropsis oculata* with oil palm empty fruit bunch for enhanced biomethane production and palm oil mill effluent treatment. *Desalination and Water Treatment*, 2055-2065.
- Alpandari, H., dan Tangguh, P. 2021. Tindakan Pengembalian Limbah Pabrik Kelapa Sawit Sebagai Upaya Memaksimalkan Zero Waste. *Journal of Agribusiness and Agrotechnology Vol. 2, No. 2*, 48-58.
- Andareas, P. 2019. Biodegradasi Minyak Solar Menggunakan Isolat Bakteri Indigenous Mangrove Tritih Kulon, Cilacap. *Jurnal KRIDATAMA Sains dan Teknologi Vol. 1 No. 1*, 18-27.
- Bahndri, S., Poudel, D. K., Marahatha, R., Dawadi, S., dan Khadayat, K. 2021. Microbial Enzymes Used in Bioremediation. *Journal of Chemistry 21(1)*, 1-17.
- Bestari, N. C., dan Suharjono. 2015. Uji kualitatif dan kuantitatif isolat bakteri lipolitik dari limbah cair pabrik pengolahan ikan kecamatan muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*, 3(3), 151–155.
- Capasso, C. 2024. Enzymes in Life - Multiple physiological activities and pathological manifestations. *International Journal of Molecular Sciences, Special Issue*.
- Chairunnisa. 2018. *Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasikan Minyak pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat, Pematang Siantar*. Skripsi, Universitas Medan Area.
- Copeland, R.A. 2023. *Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis*. Wiley Online Books.

- de Vries, P. J. J. L., Schouten, M. A. F., dan van der Meer, K. M. H. T. 2019. Factors influencing the biodegradation of organic materials. *Bioresource Technology Reports*, 7, 100-112.
- Elystia, S., Vonny, M. R., dan Sri, R. M. 2021. Penyisihan Polutan pada *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Menggunakan Konsorsium Mikroalga-Bakteri dengan Sistem High Rate Algae Reactor (HRAR). *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan Vol. 7, No 1*, 146-159.
- Ertuğrul, S., Dönmez, G., and Takaç, S. 2007. Isolation of plipase roduding *bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal of Hazardous Materials*, 149(3), 720–724.
- Folino, A., Karageorgiou, A., Calabrò, P. S., dan Komilis, D. 2020. Biodegradation of wasted bioplastics in natural and industrial environments: A review. *Sustainability (Switzerland)*, 12(15).
- Fransiska, L. 2019. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Lipolitik Pada Proses Pengomposan Limbah Domestik. *Skripsi*.
- Ganapathy, B., Adibah, Y., dan Norahim, I. 2019. Bioremediation of palm oil mill effluent (POME) using indigenous. *Environmental Science and Pollution Research*, 11113-11125.
- García, M. Á., Rojas, S., dan Cañadas, M. 2020. Dairy wastewater treatment: a review of current technologies and future trends. *Journal of Environmental Management*, 273, 111145.
- Gupta, R., Gupta, N., dan Rathi, P. 2004. Bacterial Lipase: an Overview of Production, Purification and Biochemical Properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64 (6), 763-781.
- Gupta, R. 2018. Isolation and characterization of lipase from *pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*.
- Gupta, N., Rathi, P., and Gupta, R. 2002. Simplified para-nitrophenyl palmitate assay for lipases and esterases. *Analytical Biochemistry*, 311(1), 98–99.
- Haritha, K. 2023. Indonesian journal of multidisciplinary research. *Indonesian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(2), 171-206.
- Hosseinpour, M. N., Najafpour, G. D., Khorrami, M., dan Vaseghi, Z. 2012. Lipase Production in Solid State Fermentation Using *Aspergillus niger*. Response Surface Methodology. *International Journal of Engineering*, Vol. 25, No.3; 151-159.
- Jain, S., Kumar, A., dan Kaur, R. 2021. Role of lipases in environmental biotechnology: a review. *Journal of Environmental Management*, 260, 110-120.
- Jamil, M. 2020. Microbial lipases: an overview. *International Journal of Biological Macromolecules*.

- Kanmani, P., Kumaresan, K., dan Aravind, J. 2015. Utilization of coconut oil mill waste as a substrate for optimized lipase production, oil biodegradation and enzyme purification studies in *Staphylococcus pasteurii*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 18(1), 20–28.
- Karlgar, C. S., dan Shwetha, S. R. 2011. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants. *Enzyme Research*, 1-11.
- Karso, Wuryanti, dan Sriatun. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Kitinase Isolat Jamur Akuatik Kitinolitik KC3 dari Kecoa (*Orthopetra*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 17 (2), 51-57.
- Kawuri, R., dan Ida, B. G. 2022. Potensi Bakteri Sebagai Biodegradasi Lemak Dan Minyak Pada Lingkungan Yang Tercemar Limbah Domestik. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 9(1): 184-189.
- Khan, M. I. 2021. Biochemical Characterization of Lipase: A Comprehensive Review. *Biotechnology Advances*.
- Kumar, P., Kumar, S., dan Yadav, R. 2021. Management of dairy waste: current trends and future perspectives. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 18920-18932.
- Kumar, P., dan Singh, S. 2021. Role of lipases in bioremediation: current trends and future perspectives. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 18920-18932.
- Kumar, S., Mathur, A., Singh, V., Nandy, S., Khare, S. K., dan Negi, S. 2012. Bioremediation of Waste Cooking Oil Using a Novel Lipase Produced by *Pennicillium chrysogenum* SMP5 Grown in Solid Medium Containing Waste Grease. *Bioresource Technology* 120(1), 300-304.
- Levis, J. A., dan Martínez, E. A. B. 2020. Biodegradation of organic pollutants: microbial and environmental aspects. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(17), 21450-21467.
- Matinja, A. I., Nor, A. M., dan Mohd, S. S. 2019. Optimization of biodiesel production from palm oil mill effluent using lipase immobilized in PVA-alginate-sulfate beads. *Renewable Energy* 135, 1178-1185.
- Mohanty, T. K., Mishra, R. C., dan Sahu, S. K. 2021. Biodegradation of plastics: a review of current status and future prospects. *Waste Management*, 120, 115-129.
- Nabilasani, G. C., Siswodarsono, T., Suhendar, D., dan Mubarik, N. R. 2019. Produksi lipase dari isolat kapang hasil mutasi untuk transesterifikasi. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 6(1), 20.
- Nadea, N. S. W. P., Indrayati, A., dan Leviana, F. 2023. Potensi ekstrak kasar enzim dari tempe kedelai hitam (*Glycine soja* (L.) Merr.) sebagai obat fibrinolitik alami dengan metode clot lysis in vitro. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(2), 115–125.

- Nurhasanah, L. A., Satria, H., dan Juliasih, N. L. 2023. Characterization of Organic Solvent Tolerance Lipase from Compost Indigenous Bacteria. *Proceedings of the 1st Nusa Tenggara International Conference on Chemistry (NITRIC 2022)*, 20-29.
- Okwute, O. L., Stephen, E., dan Anyanwu, P. I. 2015. Biodegradation of Palm Oil Mill Effluent (POME) and Lipase Activity by *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*. *British Microbiology Research Journal* 9 (5), 1-10.
- Pangan, P., Szymczak, T., Cybulska, J., dan Podlesny, M. 2021. Pertanian Berbagai Perspektif Produksi Lipase Mikroba Menggunakan Limbah.
- Porwal, H. J., Mane, A. V., dan Velhal, S. G. 2015. Biodegradation of dairy effluent by using microbial isolates obtained from activated sludge. *Water Resources and Industry*, 9, 1–15.
- Prasetyani, Y., dan Suryono, S. 2023. Identifikasi dan pengolahan limbah industri susu pada sektor peternakan. *Buletin Peternakan Tropis*, 4(2), 158–165.
- Putri, N. M. 2023. Studi Bioremediasi Limbah POME (Palm Oil Mill Effluent) Menggunakan Mikroba Lipolitik Isolat Lokal. *Skripsi*, Universitas Lampung.
- Ratnasari, S. 2020. Perubahan Paramater Fisika pada Proses Biodegradasi Limbah Ttenun Oleh Bakteri Inigenous. *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia.
- Ravindran, B., Muthukumaran, S., dan Nirmal, K. 2020. Anaerobic digestion of dairy waste: a review on current trends and future perspectives. *Waste Management*, 102, 86-96.
- Razak, I. B., Nor, H. B., dan Elya, M. M. 2022. Aerobic Degradation Process in Palm Oil Mill-Issues, Challenges and Upsurging Its Efficiency through Bioremediation. *Journal of Water Resource and Protection*, 515-530.
- Rejeki, D. S., Agung, N. C., dan Sintiya, A. M. 2023. Pengaruh Metode Pengemasan terhadap Kadar Protein pada Tempe. *KUNIR : Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol. 1 No.2 10-17.
- Riadi, S., Chriswahyudi, Kurnia, T. E., dan Fahmi, F. 2021. Analisa pengaruh penambahan polydon terhadap ketahanan fisik dan perbedaan kualitas supplier polydon di pt x. *Jurnal Teknologi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 13(2), 179–192.
- Ridtibur, S., Nuttika, S., dan Apichaya, S. 2024. Selection of White-Rot Fungi for Decolorization of Palm Oil Mill Effluent and Evaluation of Biodegradation and Biosorption Processes. *Nature Environment and Pollution Technology*, 235-243.
- Royanti, V., Handayani, K., dan Nugroho Ekowati, C. 2023. Isolasi dan karakterisasi bacillus lipolitik dari tanah kebun raya liwa. *Gunung Djati Conference Series*.

- Saputra, A. I., dan Jubaidi. 2023. Percepatan Biodegradasi POME (Palm Oil Mill Effluent) dengan Penambahan Senyawa Nitrogen dan Phosphate untuk Merangsang Percepatan Metabolisme Bakteri Pemakan Minyak. *Journal of Nursing and Public Health Vol. 11 No. 1*, 11-17.
- Satpathy, L., Dash, D., Sahoo, P., Anwar, T., dan Parida, S. 2020. Quantitation of Total Protein Content in Some Common Edible Food Sources by Lowry Protein Assay. *Letters in Applied NanoBioScience*, 9(3). 1275-1283.
- Shafwah, O. M., Suhendar, D., dan Hudiyono, S. 2021. Pretreatment of Palm Oil Mill Effluent (POME) Using Lipase and Xylanase to Improve Biogas Production. *Proceedings of the 10th International Seminar and 12th Congress of Indonesian Society for Microbiology (ISISM)*, 2468-5747.
- Sharma, A., Kumar, A., Meena, K. R., Rana, S., Singh, M., dan Kanwar, S. S. 2017. Fabrication and Functionalization of Magnesium Nanoparticle for Lipase Immobilization in n-Propyl Gallate Synthesis. *Journal of King Saud University-Science*, 29(4), 536-546.
- Sharma, R. 2019. Purification and Characterization of Lipase from *Candida rugosa*. *Enzyme and Microbial Technology*.
- Sharma, R., Choudhary, R., dan Gupta, A. 2019. Microbial lipases: a review on biotechnological applications. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 7(3), 29-37.
- Sheira Rait, A., Nurhasanah., dan Bahri, S. 2022. Pemurnian parsial enzim lipase dari bakteri isolat lokal LKM A3 dan penentuan aktivitasnya dengan metode spektrofotometri. *Prosiding SN-SMIAP VI*, 1–5.
- Siammukaromah, J. B., Noor, H., dan Nurul, S. 2025. Studi Biodegradasi Limbah Cair Kelapa Sawit: Identifikasi Dan Uji Kemampuan Bakteri Indigenous Dominan Dalam Mendegradasi Lemak. *Jurnal Pendidikan Dan Sains Biologi*, Volume 8 (1); 8-18.
- Simamora, C. J., dan Sukmawati, S. 2020. Identifikasi dan Karakterisasi Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase Isolat Bakteri Lipolitik Lptk 19 Asal Tempe Biji Karet. *Median*, volume 12 Nomor 1.
- Singh, R., Kumar, M., Miftal, A., dan and Mehta, P. K. 2016. Microbial Enzymes: Industrial Progress In 21st Century. *3 Biotech*, 6(2). 174.
- Sousa, S. F. 2022. Enzymes as biocatalysts: current research trends and applications. *International Journal of Molecular Sciences, Special Issue*.
- Suhendi, A., Rohman, A., and Cahyaningrum, S. 2023. Validasi metode analisis penetapan kadar protein ekstrak ikan gabus dengan metode lowry dan bromocresol green. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 13(1), 50–58.
- Su'i, M., dan Suprihana. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out. *Agritech, Vol. 33, No. 4*, 377-383.
- Sujana, I. M. 2020. *Biokimia Dasar: Konsep dan Aplikasi*. Jakarta: Salemba Humanika.

- Taylor dan Francis Group. 2024. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, Volume 39, Issue 1.
- Wahyuni, S. 2017. *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Universitas Malikussaleh.
- Welz, P., Swanepoel, G., dan Le, M. 2021. *Limbah Industri Minyak Nabati Sebagai Sumber Potensial Aktinobakteri Penghasil Lipase dan Surfaktan*. 1–18.
- Yanlinastuti, dan Fatimah, S. 2016. Pengaruh konsentrasi pelarut untuk menentukan kadar zirkonium dalam paduan U-Zr dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. *Pusat Teknologi Bahan Nuklir*, 9(17), 22–33.
- Zahra, N. S. 2024. Studi biodegradasi *waste cooking oil* (WCO) menggunakan lipase dari mikroba isolat lokal *lysiniabacillus boronitolerans* LKM G1. *Skripsi*.
- Zhang, Y. 2022. Applications of Microbial Lipases in Biodiesel Production. *Renewable Energy*.
- Zhang, Y., Wang, Z., dan Liu, S. 2021. Biodegradation of lipid waste using lipase enzymes: Current Trends and Future Perspectives. *Bioresource Technology Reports*, 15, 100-110.
- Zhang, Y., Wang, Z., dan Liu, S. 2021. Environmental impact of dairy wastewater and treatment technologies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(3), 2251-2266.