

**STUDI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI BAKTERI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1 DENGAN METODE ADSORPSI
MENGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT ALAM**

(Skripsi)

Oleh

**SITI NURKHOLISOH
NPM 2117011092**



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

ABSTRAK

STUDI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI BAKTERI *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 DENGAN METODE ADSORPSI MENGGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT ALAM

Oleh

Siti Nurkholisoh

Enzim lipase merupakan salah satu enzim hidrolase yang banyak dimanfaatkan di bidang industri karena kemampuannya dalam mengkatalisis hidrolisis triasilgliserol, transesterifikasi dan esterifikasi. Penggunaan enzim lipase dalam bentuk bebas sering kali terkendala oleh stabilitas operasional yang rendah serta sulitnya pemisahan dan penggunaan ulang. Salah satu pendekatan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui proses imobilisasi enzim.

Penelitian ini bertujuan meningkatkan stabilitas enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 melalui imobilisasi menggunakan matriks zeolit alam. Tahapan penelitian meliputi produksi enzim, pemurnian (fraksinasi dan dialisis), serta imobilisasi enzim menggunakan matriks zeolit alam. Karakterisasi dilakukan untuk menentukan aktivitas, pH dan suhu optimum, serta stabilitas penggunaan ulang enzim imobil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas spesifik enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 setelah proses pemurnian hingga tahap dialisis mencapai 3.484,35 U/mg, dengan peningkatan tingkat kemurnian sebesar 2,36 kali lipat dibandingkan ekstrak kasar. Enzim lipase telah diimobilisasi pada matriks zeolit alam pada kondisi optimum pada pH 7,5 dan suhu 55 °C. Uji penggunaan berulang menunjukkan bahwa enzim lipase terimobilisasi dapat digunakan sebanyak tiga kali siklus reaksi dengan aktivitas sisa sebesar 53,8%.

Kata kunci: imobilisasi, lipase, *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1, zeolit alam

ABSTRACT

STUDY OF LIPASE ENZYME IMMOBILIZATION FROM BACTERIA *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 WITH ADSORPTION METHOD USING NATURAL ZEOLITE MATRIX

By

Siti Nurkholisoh

Lipase enzyme is one of the hydrolase enzymes that is widely utilized in the industrial field due to its ability to catalyze triacylglycerol hydrolysis, transesterification, and esterification. The use of lipase enzymes in free form is often constrained by low operational stability and the difficulty of separation and reuse. One approach to overcome these problems is through the process of enzyme immobilization. This study aims to increase the stability of lipase enzyme from *L. boronitolerans* LKM G1 through immobilization using natural zeolite matrix. The research stages included enzyme production, purification (fractionation and dialysis), and enzyme immobilization using natural zeolite matrix. Characterization was carried out to determine the activity, optimum pH and temperature, as well as the stability of the reuse of immobilized enzymes. The results showed that the specific activity of lipase enzyme from *L. boronitolerans* LKM G1 after the purification process until the dialysis stage reached 3.484,35 U/mg, with an increase in purity level by 2,36 times compared to the crude extract. The lipase enzyme was immobilized on natural zeolite matrix under optimum conditions at pH 7,5 and 55 °C. Repeated use test showed that the immobilized lipase enzyme could be used for three reaction cycles with residual activity of 53,8%.

Keywords: immobilization, lipase, *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1, natural zeolite

**STUDI IMOBILISASI ENZIM LIPASE DARI BAKTERI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1 DENGAN METODE ADSORPSI
MENGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT ALAM**

Oleh

SITI NURKHOLISOH

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk 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

: **STUDI IMOBILISASI ENZIM LIPASE
DARI BAKTERI *Lysinibacillus
boronitolerans* LKM G1 DENGAN
METODE ADSORPSI
MENGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT
ALAM**

Nama Mahasiswa

: **Siti Nurkholisoh**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **21170111092**

Program Studi

: **Kimia**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

**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**

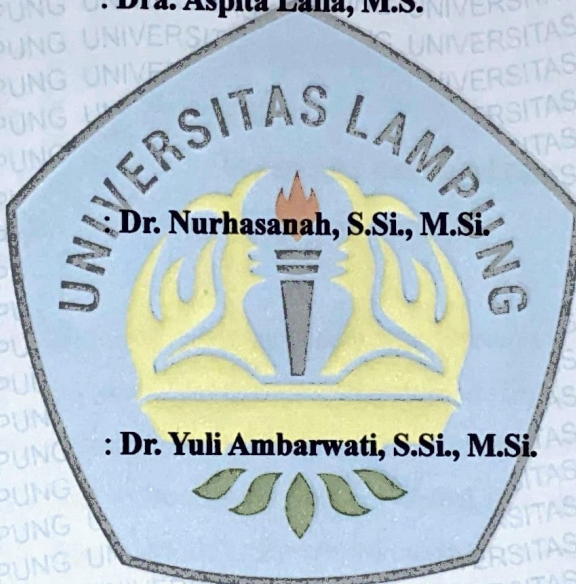
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dra. Aspita Laila, M.S.

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

Anggota : Dr. Yuli Ambarwati, 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: 30 Juli 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Nurkholisoh
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011092
Program Studi : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul Studi Imobilisasi Enzim Lipase Dari *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 dengan Metode Adsorpsi Menggunakan Matriks Zeolit Alam 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



Siti Nurkholisoh
NPM. 2117011092

RIWAYAT HIDUP



Penulis Bernama lengkap Siti Nurkholisoh, lahir di Pandeglang, 29 Maret 2003 dan merupakan anak dari Bapak Arjawi dan Ibu Jumriah. Saat ini penulis bertempat tinggal di Kp. Cibongkok RT 002 RW 005, Kec. Menes, Kab. Pandeglang, Banten. Penulis memulai Pendidikan di Taman Kanak-Kanak RA Muslimat MA Cibongkok pada tahun 2008 dan lulus pada tahun 2009. Kemudian, Penulis melanjutkan pendidikan di Madrasah Ibtidaiyah Mathla'ul Anwar Cibongkok pada tahun 2009. Pada tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan di Madrasah Tsanawiyah Mathla'ul Anwar Pusat Menes dan lulus pada tahun 2018. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri Pandeglang dan selesai pada tahun 2021.

Penulis diterima di Jurusan S1 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 berorganisasi mulai dari Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) pada tahun 2021. Pada tahun 2022-2023 penulis aktif di HIMAKI sebagai anggota bidang Sosial Kemasyarakatan (Sosmas). Kemudian pada tahun 2022-2024 penulis aktif sebagai staff kementrian Sosial Kemasyarakatan (Sosmas) BEM Universitas Lampung. Penulis pernah mengikuti kegiatan sosial seperti Karya Wisata Ilmiah yang diselenggarakan oleh BEM-FMIPA Universitas Lampung tahun 2021.

Pada bulan Januari-Februari 2024 penulis mengeksplor diri dengan mengikuti program MBKM Membangun Desa di Desa Rejomulyo, Kabupaten Lampung Selatan. Penulis juga melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Veteriner Lampung pada bulan Juli-Agustus 2024, serta menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung dengan judul **“Imobilisasi Enzim Lipase dari Bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 dengan Metode Adsorpsi menggunakan Matriks Zeolit Alam”**.

MOTTO HIDUP

“Don't be sad that Allah is with us”
(QS. At-Taubah : 40)

“Menuntut ilmu itu wajib agar kita mampu mengelola apa yang dianugerahkan Allah dan menjadi petunjuk hidup agar tidak tersesat”
(Mama)

“Hanya kau yang tau semua pengorbananmu, tuk hal yang kau cinta, tanyakan pada dirimu”
(Hindia)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil Alamin, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, karya sederhana ini kupersembahkan untuk :

Orang tua tercinta

Terima kasih karena selalu memberikan doa, kasih sayang, dukungan, dan pengorbanan tanpa batas.

Rasa hormat saya kepada :

Ibu Dra. Aspita Laila, M.S.
Ibu Dr. Nurhasanah, 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.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, hidayah dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Imobilisasi Enzim Lipase dari Bakteri *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1 dengan Metode Adsorpsi menggunakan Matriks Zeolit Alam”** sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains pada jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan berupa dorongan, bimbingan, semangat, nasehat, dan kerja sama dari berbagai pihak antara lain:

1. Panutan dan pintu surga penulis yakni Bapak Arjawi dan Ibu Jumriah. Terima kasih atas setiap tetes keringat dalam setiap langkah pengorbanan dan kerja keras yang dilakukan untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, mengusahakan segala kebutuhan penulis, mendidik, membimbing, dan selalu memberikan kasih sayang yang tulus, motivasi, serta dukungan dan mendoakan penulis dalam keadaan apapun agar penulis mampu bertahan untuk melangkah setapak demi setapak dalam meraih mimpi di masa depan.
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 selaku komisi pembimbing I skripsi. Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.

5. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku komisi pembimbing II skripsi. Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. selaku pembahas yang telah memberikan masukan dan saran yang membantu sehingga skripsi ini menjadi lebih baik dan terarah.
7. Ibu Devi Nur Anisa, S.Pd., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan nasihat, dan membantu penulis selama menempuh studi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu Dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas segala ilmu, pengalaman, dan motivasi yang telah diberikan selama masa perkuliahan.
9. Rekan-rekan *BNH Research*, Rani, Indri, dan Alif 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.
10. Adelia Renta Marito Tampubolon yang senantiasa menemani, membantu, mendorong, memberi semangat, serta hadir dan menghibur di saat penulis terpuruk. Terima kasih telah menjadi pribadi yang begitu baik dan bersedia berjalan bersama-sama. Semoga Tuhan senantiasa melindungi di mana pun berada.
11. Rekan-rekan Kimia angkatan 2021 terutama teman teman Kimia 21B terimakasih atas kebersamaannya dan segala bantuan selama masa kuliah.
12. Sahabat dari masa kecil, Ikis, terima kasih telah menjadi saksi setiap cerita, setiap perjuangan, dan setiap mimpi. Kehadiran beliau adalah pengingat bahwa jarak dan waktu tak pernah memisahkan hati yang tulus.
13. Kakak-kakak sekaligus teman cerita penulis, Dewi dan Vina yang senantiasa memberi dukungan dan menjadi tempat berkeluh kesah. Terima kasih karena telah mengajarkan untuk selalu berusaha kuat dan bertahan di setiap keadaan apapun.
14. Keluarga tercinta, terima kasih atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang tak pernah putus selama penulis menempuh pendidikan. Terima kasih untuk setiap

motivasi, pengorbanan, dan kepercayaan yang diberikan. Kalian adalah alasan terkuat penulis untuk terus berjuang dan tidak menyerah. Semoga Allah selalu memberikan kesehatan, kebahagiaan, dan keberkahan untuk keluarga kita.

15. Sahabat-sahabat tersayang Sovia, Aca, Lupi, Hurin, Debora dan Adel. 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 sudah menjadi keluarga di perantauan, menjadi sandaran di masa sulit, dan teman berbagi mimpi. Semoga jalan yang kita tempuh masing-masing akan membawa kita pada kesuksesan, namun tetap saling menemukan satu sama lain di setiap persimpangan hidup.
16. *Last*, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada satu sosok yang selama ini sudah berjuang, seorang perempuan sederhana dengan impian tinggi, namun sering terjebak oleh isi pikiran dan hati. Terima kasih sudah menepikan ego dan memilih untuk kembali bangkit dan menyelesaikan semua ini. Terima kasih telah mengendalikan diri dari berbagai tekanan di luar keadaan dan tak pernah mau memutuskan untuk menyerah. Kamu hebat, Elis.

Bandar Lampung, Agustus 2025
Penulis

Siti Nurkholisoh

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Enzim	5
2.2. Sifat-Sifat Enzim.....	6
2.3. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim	6
2.4. Pemurnian Enzim.....	8
2.5. Enzim Lipase	10
2.5.1. Aktivitas Enzim Lipase.....	11
2.5.2. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry	11
2.5.3. Aplikasi Lipase	12
2.6. Imobilisasi.....	13
2.6.1. Metode Imobilisasi	13
2.6.2. Faktor yang Memengaruhi Kinerja Imobilisasi	16
2.7. Zeolit Alam	16
2.8. Spektrofotometri UV-Vis.....	18
III. METODE PENELITIAN	20
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.2. Alat dan Bahan.....	20
3.3. Prosedur Penelitian	21
3.3.1. Tahap Persiapan	21
3.3.2. Peremajaan Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	22
3.3.3. Produksi Enzim.....	22

3.3.4. Pemurnian Enzim.....	22
3.3.5. Uji Aktivitas Lipase	23
3.3.6. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry	24
3.3.7. Aktivasi Zeolit	25
3.3.8. Imobilisasi Enzim	25
3.3.9. Uji Penggunaan Berulang	26
3.4. Skema Alur Penelitian.....	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	28
4.2. Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari <i>L. Boronitolerans</i> LKM G1	30
4.3. Fraksi Enzim Lipase dengan Amonium Sulfat	30
4.4. Dialisis	32
4.5. Zeolit Alam Teraktivasi.....	34
4.6. pH Buffer Pengikatan Enzim Hasil Pemurnian dengan Matriks Zeolit...35	
4.7. Suhu Optimum Enzim Hasil Imobilisasi pada Matriks Zeolit Alam	37
4.8. Pemakaian Berulang Enzim Hasil Imobilisasi.....	39
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1. Simpulan	42
5.2. Saran	42
DAFTAR PUSTAKA.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur zeolit alam	17
2. Skema alur penelitian	27
3. Hasil peremajaan bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	29
4. a. zeolit alam sebelum diaktivasi; b. zeolit alam teraktivasi	35
5. Grafik aktivitas enzim lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1 hasil imobilisasi dan hasil pemurnian dalam berbagai pH buffer pengikatan	36
6. Grafik suhu optimum enzim lipase dari <i>L. boronitolerans</i> LKM G1 hasil pemurnian dan hasil imobilisasi pada matriks zeolit alam.....	38
7. Grafik pemakaian berulang enzim hasil imobilisasi pada matriks zeolit alam .	40
8. Kurva standar <i>p</i> -nitrofenol (<i>p</i> -NP)	52
9. Kurva standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)	53
10. Pengujian kadar protein enzim	54
11. Pengujian aktivitas enzim.....	55
12. Imobilisasi enzim lipase pada matriks zeolit alam.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Aplikasi enzim lipase	12
2. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kinerja imobilisasi enzim.....	16
3. Rangkuman hasil pemurnian enzim lipase dari bakteri <i>L. boronitolerans</i> LKM G1	33
4. Hasil pengukuran absorbansi <i>p</i> -nitrofenol pada pembuatan kurva standar	52
5. Hasil pengukuran absorbansi BSA pada pembuatan kurva standar	53
6. Hubungan antara absorbansi dan aktivitas unit enzim lipase terimobil dalam berbagai pH pengikatan.....	56
7. Hubungan antara absorbansi dan aktivitas unit enzim lipase hasil pemurnian dalam berbagai pH.....	56
8. Hubungan antara absorbansi dan aktivitas unit enzim lipase terimobil dalam berbagai suhu.....	56
9. Hubungan antara absorbansi dan aktivitas unit enzim lipase hasil pemurnian dalam berbagai suhu.	57
10. Hubungan antara absorbansi, aktivitas unit, dan aktivitas sisa enzim hasil imobilisasi pada matriks zeolit saat pemakaian berulang	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Buffer Fosfat 0,5 M pH 6	50
2. Pembuatan Buffer Tris-HCl 50 mM pH 8.....	51
3. Kurva Standar <i>p</i> -Nitrofenol.....	52
4. Perhitungan Kadar Protein Enzim.....	53
5. Perhitungan Aktivitas Enzim.....	54
6. Data pH Pengikatan Enzim-Matriks dan pH Enzim Hasil Pemurnian	56
7. Data Suhu Optimum Enzim Imobil dan Enzim Hasil Pemurnian.....	56
8. Data Pemakaian Berulang Enzim Hasil Imobilisasi	57

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Lipase menjadi salah satu enzim yang paling banyak dipelajari karena signifikansinya yang luas. Lipase digunakan untuk mengkatalisis proses hidrolisis triasilgliserol menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Lipase juga mampu mengkatalisis reaksi lain seperti esterifikasi (pembentukan ester dari asam lemak dan alkohol) dan transesterifikasi (reaksi antara ester dan alkohol yang sering digunakan dalam produksi biodiesel). Lipase merupakan hidrolase serin, yang berarti menunjukkan aktivitas minimal apabila digunakan dalam larutan air yang mengandung substrat yang larut dalam air, karena lipase lebih efektif bekerja di antara lapisan air dan minyak. Lipase terlibat dalam proses metabolisme lipid pada eukariota seperti pencernaan lemak, penyerapan, dan metabolisme lipoprotein, sedangkan pada tumbuhan, lipase disimpan dalam jaringan cadangan energi (Khan *et al.*, 2019). Sifat selektif lipase yang unggul membuatnya menjadi katalis yang sangat fleksibel dalam bioteknologi industri. Enzim lipase digunakan dalam produksi biodiesel, farmasi, kosmetik, perasa, dan wewangian, serta dalam sintesis berbagai antioksidan organik dan lipofilik. Lipase juga diterapkan dalam pengolahan awal air limbah yang kaya lipid (Ismail *and* Baek, 2020).

Enzim lipase memiliki banyak karakteristik yang diinginkan dan digunakan secara luas dalam industri, namun penggunaannya sering terhambat oleh keterbatasan stabilitas operasional jangka panjang, umur simpan, dan kemampuan pemulihannya. Salah satu strategi untuk mengatasi masalah ini adalah dengan melakukan imobilisasi enzim (Maghraby *et al.*, 2023). Imobilisasi enzim merupakan teknik yang dilakukan untuk memodifikasi enzim dengan cara

memasangkan atau mengikatkan enzim dengan suatu padatan tanpa menghilangkan aktivitas katalitiknya. Kestabilan enzim dalam imobilisasi baik dari segi termal maupun kemampuan penggunaannya secara berulang, sangat dipengaruhi oleh metode imobilisasi dan jenis bahan pendukung yang digunakan. Proses imobilisasi harus dilakukan dengan kuat agar enzim tidak terlepas dari permukaan bahan pendukung. Pemilihan metode imobilisasi dan bahan pendukung yang tepat sangat penting untuk memastikan imobilisasi yang stabil dengan aktivitas katalitik yang optimal, karena keduanya berperan besar dalam menentukan aktivitas enzim yang diimobilisasi (Wardoyo dan Kartika, 2018). Imobilisasi dapat menjadikan enzim mampu untuk mempertahankan aktivitasnya, lebih mudah dipisahkan dari campuran reaksi, dan dapat digunakan kembali sehingga dapat mengurangi limbah dan biaya produksi (Mahargyani dkk., 2017).

Metode imobilisasi yang umum digunakan antara lain metode adsorpsi, ikatan kovalen, penjebakan, dan ikatan silang (Sardar *and* Ahmad, 2015). Menurut Khan *et al.* (2019) metode adsorpsi termasuk salah satu metode yang efektif dan merupakan metode imobilisasi non-kovalen, metode adsorpsi dapat memberikan aktivitas yang lebih tinggi karena enzim terikat secara fisik pada matriks serta mampu mempertahankan struktur konformasi enzim yang diimobilisasi. Enzim yang teradsorpsi pada permukaan matriks cenderung tetap mempertahankan aktivitasnya, bahkan ketika jumlah enzim yang terikat cukup tinggi. Imobilisasi enzim meningkatkan ketahanannya terhadap denaturasi termal.

Bahan pendukung metode imobilisasi enzim salah satunya dapat berupa suatu padatan. Padatan pendukung yang dapat digunakan dalam imobilisasi enzim harus memiliki area permukaan yang luas, dapat ditembus, tidak dapat larut, memiliki stabilitas kimia, stabilitas termal, kekakuan yang tinggi, mempunyai bentuk dan ukuran pori yang cocok, tahan terhadap serangan mikrobial dan dapat diregenerasi (Wardoyo dan Kartika, 2017). Zeolit merupakan media yang sangat baik untuk imobilisasi enzim karena memiliki kepadatan rendah dan struktur kristal aluminosilikat mikropori. Zeolit memiliki berbagai sifat unggul, seperti kapasitas pertukaran ion yang tinggi, situs asam yang kuat, luas permukaan yang besar, serta stabilitas termal dan mekanis yang tinggi (Qayoudi *and* Al-zuhair, 2022). Zeolit digunakan sebagai matriks untuk imobilisasi lipase karena merupakan

bahan berpori mikro dengan spesifikasi luas dan kemampuan adsorpsi tinggi, serta memiliki pusat aktif (Moentamaria dkk., 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Naseri *et al.* (2018), lipase dari *Pseudomonas fluorescens* diimobilisasi pada matriks zeolit imidazolat, menunjukkan tingkat penggunaan ulang yang optimal. Enzim tersebut mempertahankan 40% dari aktivitas awalnya setelah digunakan dalam lima siklus reaksi, menandakan stabilitas yang baik selama proses imobilisasi dan reaksi berulang. Moentamaria dkk. (2018) juga melaporkan bahwa lipase terimobilisasi memiliki kemampuan yang lebih baik daripada lipase bebas dalam menghidrolisis trigliserida dalam minyak sawit menghasilkan asam lemak bebas.

Salah satu bakteri yang dapat memproduksi enzim lipase adalah *L. boronitolerans* LKM G1. Beberapa studi pendahuluan telah dilakukan terhadap isolat lokal bakteri ini, mencakup karakterisasi, ketahanannya terhadap pelarut organik serta kestabilan enzim lipase yang dihasilkannya pada variasi pH, suhu, dan pelarut organik. Nurhasanah *et al.* (2023) melaporkan bahwa *L. boronitolerans* LKM G1 relatif tahan terhadap pelarut organik n-heksana. Sari (2023) juga melaporkan bahwa enzim lipase dari bakteri tersebut relatif stabil dalam pelarut heksana, dengan pH optimum 6 dan suhu optimum 40 °C. Menurut Zahra (2024), enzim lipase dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa lipid, namun ketahanan enzim tersebut untuk digunakan berulang kali masih perlu diteliti lebih lanjut. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini akan dipelajari imobilisasi enzim lipase dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 menggunakan matriks zeolit alam.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mendapatkan enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1.
2. Mendapatkan kondisi optimum enzim lipase dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 setelah imobilisasi.
3. Menilai kemampuan enzim lipase hasil imobilisasi untuk digunakan secara berulang pada reaksi hidrolisis.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai keefektifan matriks zeolit alam dalam mengimobilisasi enzim lipase dari bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 serta dengan adanya imobilisasi enzim, enzim lipase dapat digunakan berulang, sehingga mengurangi biaya untuk pembelian atau produksi enzim baru setiap kali proses dilakukan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Enzim

Enzim adalah biokatalis yang sangat spesifik dan terlibat dalam reaksi kimia di dalam sel hidup. Enzim pada umumnya berupa molekul protein dan sering mengandung komponen non-protein yang disebut kofaktor yang diperlukan untuk aktivitas katalitiknya. Spesifisitas enzim berasal dari afinitas stereokimia dan kimia terhadap substrat, yang dicapai melalui interaksi di tiga titik berbeda antara substrat dan enzim. Substrat mengikat enzim pada lokasi tertentu, membentuk kompleks enzim-substrat. Daerah pada enzim yang mengandung ikatan substrat dan situs katalitik dikenal sebagai situs aktif (Arsalan *and* Younus., 2018).

Enzim banyak diaplikasikan di berbagai bidang karena keunggulannya, seperti aktivitas, selektivitas, spesifisitas, dan kemudahan produksi. Enzim digunakan dalam pembuatan berbagai produk dalam kondisi yang ramah lingkungan, serta mengurangi jumlah langkah reaksi dan penggunaan pelarut berbahaya. Hal ini tidak hanya membuat proses lebih aman bagi lingkungan, tetapi juga lebih ekonomis, sehingga biomolekul ini sangat diminati dalam berbagai aplikasi praktis, mulai dari industri makanan hingga farmasi (Spasojevic *et al.*, 2020).

Mekanisme kerja enzim didasarkan pada interaksi antara enzim dan substrat yang menjelaskan spesifisitas reaksi katalis biologis. Situs aktif atau katalitik enzim terdiri dari beberapa asam amino yang terletak berjauhan dalam rantai peptida, tetapi disatukan oleh pelipatan yang membentuk struktur sekunder dan tersier enzim. Rantai samping dari residu asam amino di situs katalitik menyediakan gugus kimia yang berinteraksi dengan gugus tertentu dari substrat. Kofaktor berperan dalam membantu proses katalisis. Substrat mengikat residu asam amino

di domain pengikatan substrat pada situs aktif yang memicu perubahan konformasi di situs tersebut. Selama reaksi berlangsung, enzim membentuk kompleks dalam keadaan transisi. Setelah produk reaksi terbentuk dan terlepas, enzim kembali ke bentuk awalnya (Bhatia, 2018).

2.2. Sifat-Sifat Enzim

Sifat-sifat enzim menurut Bhatia (2018) :

- a. Enzim sangat spesifik baik dalam reaksi yang dikatalisisnya maupun dalam pemilihan reaktannya, yang dikenal sebagai substrat.
- b. Enzim merupakan katalis koloid dan organik yang larut yang diproduksi oleh sel hidup, tetapi mampu bekerja secara independen dari sel.
- c. Enzim tidak beracun, dapat diurai secara hayati dan dapat diproduksi dalam jumlah yang cukup oleh mikroorganisme untuk aplikasi industri.
- d. Aktivitas katalitik enzim dapat hilang pada suhu ekstrem atau pH ekstrem.
- e. Tingkat aktivitas katalitik bergantung pada integritas struktur enzim sebagai protein.
- f. Enzim memiliki berat molekul berkisar antara sekitar 12.000 hingga lebih dari 1 juta Da.
- g. Sejumlah enzim memerlukan satu atau lebih ion logam untuk aktivitasnya.

2.3. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim

a. pH

pH larutan berperan penting dalam menentukan aktivitas molekul biologis. Perubahan pH menyebabkan perubahan muatan pada gugus-gugus terionisasi yang terdapat di permukaan maupun di dalam enzim. Perubahan muatan terjadi melalui protonasi atau deprotonasi residu enzim yang menyebabkan denaturasi dan perubahan kecepatan aktivitas enzim. Setiap enzim memiliki nilai pH yang dapat bekerja dengan efisiensi maksimum yang disebut pH optimal. Aktivitas

enzim menurun hingga berhenti bekerja apabila pH berada di bawah atau di atas pH optimal (Grahame *et al.*, 2015).

b. Suhu

Suhu memiliki peranan penting dalam mendukung aktivitas optimal enzim, karena setiap enzim memiliki suhu optimum di mana kecepatan reaksinya mencapai nilai maksimum. Struktur enzim tetap stabil pada suhu tersebut sehingga reaksi katalitik dapat berlangsung secara efisien. Peningkatan suhu yang melebihi titik optimum akan menyebabkan penurunan stabilitas enzim dan memicu proses denaturasi. Perubahan struktur tiga dimensi enzim akibat denaturasi ini menyebabkan situs aktifnya tidak berfungsi dengan baik, yang pada akhirnya menyebabkan turunnya kecepatan reaksi hingga enzim kehilangan kemampuannya untuk bekerja (Hanum dkk., 2022).

c. Konsentrasi Enzim dan Substrat

Peningkatan konsentrasi suatu enzim akan menyebabkan laju reaksi meningkat. Reaksi berlangsung dengan pembentukan produk secara linier terhadap waktu, dan laju reaksi bertambah seiring dengan peningkatan konsentrasi enzim. Peningkatan laju reaksi akan melambat apabila konsentrasi substrat ditingkatkan sementara jumlah enzim tetap (Arsalan *and* Younus, 2018). Penentuan laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim penting dilakukan dengan menggunakan kecepatan awal (v_0), saat tidak lebih dari 5% substrat telah diubah menjadi produk. Laju reaksi dapat menurun pada tahap reaksi lebih lanjut akibat penurunan konsentrasi substrat, ketidakstabilan enzim, reaksi balik akibat peningkatan konsentrasi produk, dan penurunan konsentrasi kofaktor (Scanlon *et al.*, 2017).

d. Aktivator

Ion logam umumnya berperan sebagai aktivator atau inhibitor enzim yang memengaruhi kerja enzim pada sisi aktif katalitiknya. Umumnya enzim hanya akan aktif apabila ada kofaktor yang dapat membantu reaksi katalitik dengan cara mengikat substrat. Ion logam mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya atau menginduksi formasi sisi pengikatan atau sisi aktif suatu enzim. Ion logam meningkatkan aktivitas enzim dengan beberapa cara, di

antaranya yaitu menjadi bagian penting dari situs aktif enzim, mengubah keseimbangan reaksi enzim, mengubah muatan listrik enzim, menghilangkan ion yang menghambat enzim, dan menggantikan ion yang kurang efektif pada situs aktif enzim (Hanum dkk., 2022).

e. Inhibitor

Suatu zat yang dapat menurunkan laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim disebut inhibitor. Inhibitor terdapat dua jenis yaitu inhibitor reversibel dan irreversibel. Inhibitor reversibel akan mengikat enzim secara reversibel dan aktivitas enzim maksimum dapat diperoleh dengan menghilangkan inhibitor reversibel dengan proses dialisis. Inhibitor ireversibel terikat secara kovalen dengan enzim dan tidak dapat dilepaskan dari enzim melalui dialisis. Inhibitor reversibel menunjukkan tingkat penghambatan tertentu dengan cepat membentuk keseimbangan dengan enzim. Tingkat penghambatan tergantung pada konsentrasi enzim, substrat dan inhibitor, serta tingkat penghambatan juga tetap konstan untuk jangka waktu tertentu (Arsalan *and* Younus, 2018).

2.4. Pemurnian Enzim

Beberapa metode yang umum digunakan untuk pemurnian enzim antara lain :

a. Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan teknik untuk memisahkan dan memurnikan campuran partikel biologis dalam media cair yang menggunakan gaya sentrifugal. Sentrifugasi digunakan untuk mengisolasi dan menganalisis sel, fraksi subseluler, kompleks supramolekul, dan makromolekul terisolasi, seperti protein dengan menggunakan instrumen gaya gravitasi yang lebih tinggi atau ultrasentrifugasi (hingga 60.000 putaran per menit) (Ohlendieck *and* Harding, 2018).

Proses sentrifugasi menggunakan prinsip rotasi atau perputaran tabung yang berisi larutan sehingga larutan tersebut dapat dipisahkan berdasarkan massa jenisnya. Larutan akan terbagi menjadi dua fase, partikel yang lebih padat akan mengendap yang disebut pellet sedangkan larutan yang tersisa dan terpisah dari cairan

endapan disebut cairan supernatan. Sentrifugasi merupakan alat untuk memutar sampel pada kecepatan tinggi. Perputaran ini akan memaksa partikel yang lebih berat terkumpul ke dasar tabung sentrifugasi (Indrawati dan Amoryna, 2023).

b. Fraksinasi dengan Amonium Sulfat

Protein dalam larutan dapat difraksinasi karena pengendapannya bergantung pada konsentrasi garam. Peningkatan kekuatan ionik larutan dengan menambahkan garam akan meningkatkan kelarutan zat terlarut, proses ini dikenal sebagai "*salting-in*". Konsentrasi garam yang terus meningkat akan menyebabkan kelarutan protein berkurang dan protein mengendap, yang disebut "*salting-out*". Amonium sulfat adalah garam yang paling umum digunakan untuk proses ini karena murah, sangat larut dalam air, dan mudah bereaksi dengan air. Metode ini memurnikan protein tertentu dengan menambahkan sejumlah amonium sulfat untuk mengendapkan protein yang tidak diinginkan kemudian mengambil supernatan, dan menambahkan lebih banyak amonium sulfat untuk mengendapkan protein yang diinginkan. Protein yang diendapkan tersebut kemudian disimpan sebagai pelet. Pengendapan garam hanya memengaruhi kelarutan protein tanpa mengubah sifat-sifatnya. Fraksi yang telah diambil dapat disimpan dalam larutan garam untuk jangka waktu lama tanpa risiko kontaminasi bakteri, karena kadar garam yang tinggi mencegah pertumbuhan mikroba dan aktivitas enzim. Presipitasi menggunakan amonium sulfat menurunkan kelarutan protein tanpa mendenaturasikannya, oleh karena itu protein dapat dikonsentrasikan dengan menghilangkan sisa amonium sulfat dan melarutkan kembali pelet protein dalam buffer standar atau dalam konsentrasi amonium sulfat yang lebih rendah (Mukherjee, 2019).

c. Dialisis

Dialisis merupakan metode pemurnian yang memanfaatkan gradien konsentrasi sebagai penggerak utama, karena biomakromolekul seperti protein tidak dapat menembus membran semipermeabel. Dialisis jarang digunakan untuk memurnikan protein secara mandiri. Dialisis biasanya dikombinasikan dengan metode pemisahan dan pemurnian protein lainnya untuk meningkatkan tingkat kemurnian. Metode tersebut meliputi sentrifugasi, kromatografi afinitas logam

terimobilisasi, kromatografi pertukaran ion, dan penggaraman (Liu *et al.*, 2020). Dialisis bertujuan untuk memisahkan residu garam amonium sulfat maupun zat terlarut lainnya berdasarkan ukuran molekul menggunakan membran selofan. Protein akan berada di dalam membran selofan karena protein memiliki ukuran molekul yang lebih besar dari ukuran pori membran (Rahmi dkk., 2020).

2.5. Enzim Lipase

Lipase merupakan enzim yang berperan dalam pemecahan trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Lipase (triasilgliserol asilhidrolase EC: 3.1.1.3) diproduksi dari berbagai organisme hidup seperti tumbuhan, hewan, bakteri, jamur, ragi (Joshi *and* Kuila, 2018). Enzim lipase termasuk dalam kelas serin hidrolase dari superfamili α/β -hidrolase, serta mengandung triad asam amino khas Ser-Asp (Glu)-His pada situs aktifnya. Lipase paling umum digunakan untuk hidrolisis dan esterifikasi minyak dan lemak, tetapi juga dapat mengkatalisis berbagai macam reaksi, termasuk interesterifikasi, transesterifikasi, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis (Almeida *et al.*, 2021).

Substrat lipase beragam termasuk lipid, fosfolipid, lipid eter, lisofosfolipid, dan lainnya. Enzim lipase berperan penting dalam transportasi, pencernaan, dan pemrosesan lipid makanan. Lipase yang berasal dari mikroba merupakan enzim yang adaptif, mampu melakukan berbagai reaksi biokonversi seperti aminolisis, interesterifikasi, alkoholisis, esterifikasi, dan hidrolisis. Karakteristik utamanya meliputi stereospesifisitas substrat, spesifisitas, dan regioselektivitas. Lipase juga memiliki sifat katalitik yang enantioselektif dan kemampuan selektivitas wilayah yang tinggi (Maghraby *et al.*, 2023).

2.5.1. Aktivitas Enzim Lipase

Pengukuran aktivitas enzim untuk menentukan aktivitas lipase pada kondisi optimum perlu dilakukan dengan variasi suhu dan pH, sehingga dapat diketahui aktivitas lipase pada setiap rentang suhu dan pH yang diuji. Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas lipase secara kuantitatif adalah metode spektrofotometri, termasuk pembuatan kurva standar asam oleat. Aktivitas lipase dipengaruhi oleh sumbernya, jenis substrat, pH, dan suhu. pH dan suhu optimum untuk reaksi hidrolisis lipase bergantung pada jenis substrat, larutan penyangga, dan metode pengujian. Aktivitas lipase diukur dalam satuan unit (U), satu unit aktivitas lipase setara dengan 1 μmol asam lemak bebas yang dihasilkan dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh lipase per menit (Handayani, 2005).

2.5.2. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry

Uji protein Lowry yang juga dikenal sebagai metode Lowry, telah menjadi metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan jumlah protein dalam sampel biologis. Metode ini merupakan kombinasi reagen biuret dengan reagen fenol *Folin-Ciocalteu*, yang berinteraksi dengan residu triptofan dan tirosin yang terdapat dalam protein. Hal ini menghasilkan warna kebiruan pada larutan yang dapat dibaca pada 750 nm. Metode ini lebih sensitif terhadap konsentrasi protein yang rendah dibandingkan metode biuret dan spektrofotometri UV-Vis (Satpathy *et al.*, 2020). Metode ini memerlukan dua tahap dengan waktu inkubasi minimal sekitar 40 menit. Pertama, protein diolah dengan larutan alkali tembaga sulfat dan tartrat, kemudian reagen *Folin-Ciocalteu* ditambahkan. Peningkatan warna dalam prosedur Lowry terjadi ketika kompleks tembaga tetradentat mentransfer elektron ke reagen *Folin Ciocalteu*. Warna tersebut berasal dari transisi elektronik yang melibatkan perpindahan elektron valensi (Martina and Vojtech, 2015).

2.5.3. Aplikasi Lipase

Lipase memiliki peran penting dalam produksi *yoghurt* dan fermentasi keju. Selain itu, lipase juga dimanfaatkan sebagai katalis yang relatif murah dan digunakan dalam berbagai industri modern, seperti pembuatan kue, deterjen, dan bahkan sebagai biokatalis dalam produksi energi alternatif, yaitu mengubah minyak nabati menjadi bahan bakar. Penerapan lipase di berbagai industri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Aplikasi enzim lipase (Susanti dan Febriana, 2017)

Industri	Aksi enzim lipase	Produk/ Aplikasi
Deterjen	Hidrolisis lemak	Penghapusan noda minyak dari kain
Produk susu	Hidrolisis lemak susu, pematangan keju	Pengembangan agen penyedap dalam susu, keju, dan mentega
Minuman	Peningkatan rasa	Minuman beralkohol
<i>Dressing</i> makanan	Peningkatan aroma	Mayones dan saus
Daging dan ikan	Transesterifikasi	Produk daging dan ikan; penghilangan lemak
Lemak dan minyak	Pengembangan rasa	<i>Cocoa butter</i> , margarin, asam lemak
Bahan kimia Farmasi	Transesterifikasi, hidrolisis	Gliserol, Lipid khusus, obat untuk membantu pencernaan
Kosmetik	<i>Enantioselectivity</i> , sintesis	Pengemulsi, pelembab kulit dan krim matahari
Pembersihan dan pengendalian polusi	Hidrolisis	Penghapusan lemak, untuk menghapus noda dan menghidrolisis minyak

2.6. Imobilisasi

Imobilisasi enzim didefinisikan sebagai proses menempelkan enzim pada bahan pendukung tertentu yang disebut matriks sehingga enzim tidak bergerak bebas di dalam larutan. Metode imobilisasi memungkinkan enzim tetap berada di tempatnya, sedangkan substrat (bahan yang akan diubah oleh enzim) dan produk (hasil reaksi) dapat bergerak bebas masuk dan keluar dari area tempat enzim terikat. Proses reaksi tetap berjalan dengan baik meskipun enzim terikat (Sirisha *et al.*, 2016). Enzim yang diimobilisasi dapat digunakan berulang kali dan terus-menerus dengan mempertahankan aktivitas katalitiknya (Spasojevic *et al.*, 2020).

Berbagai bahan yang dapat digunakan sebagai matriks atau sistem pendukung untuk imobilisasi enzim umumnya polimer inert dan bahan anorganik. Matriks pembawa ideal harus mempunyai sifat-sifat sebagai berikut: (i) ekonomis, (ii) inert, (iii) stabilitas, (iv) kekuatan fisik, (v) kemampuan meningkatkan spesifisitas/aktivitas enzim, (vi) kemampuan mengurangi penghambatan produk, dan (vii) kemampuan untuk mencegah penyerapan nonspesifik dan kontaminasi bakteri. Sebagian besar matriks hanya memiliki beberapa sifat, pemilihan matriks pembawa untuk imobilisasi enzim harus dipilih berdasarkan sifat dan keterbatasan matriks. Proses imobilisasi menghasilkan operasi ekonomi berkelanjutan, otomatisasi, rasio investasi/kapasitas tinggi, dan pemulihan produk dengan kemurnian lebih tinggi (Sirisha *et al.*, 2016).

2.6.1. Metode Imobilisasi

Metode imobilisasi enzim yang paling umum meliputi :

a. Adsorpsi

Adsorpsi merupakan metode imobilisasi enzim yang didasarkan pada gaya *Van der Waals*, ikatan ionik, ikatan hidrogen, serta interaksi hidrofobik. Adsorpsi termasuk metode yang sederhana dengan aplikasi yang luas serta kemampuan memuat enzim yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode imobilisasi lainnya (Sardar and Ahmad, 2015). Enzim yang teradsorpsi dapat bersifat kuat atau tidak

terdistorsi, bergantung pada susunan protein dan muatan matriks. Berbagai jenis bahan matriks yang dapat digunakan antara lain resin penukar ion, alumina, dan karbon aktif, namun tidak semua enzim dapat diimobilisasi pada setiap matriks. Keberhasilan penyerapan bergantung pada adanya gugus aktif tertentu pada matriks, yang memfasilitasi interaksi antara enzim dan matriks. Keuntungan imobilisasi enzim dengan adsorpsi adalah langkah aktivasi yang minimal, penggunaan reagen yang sedikit, serta metode yang murah dan mudah diimplementasikan (Maghraby *et al.*, 2023).

b. Ikatan Ionik

Ikatan ionik merupakan teknik imobilisasi yang sederhana, murah, dan reversibel, yang melibatkan interaksi ionik antara enzim dan bahan pendukung. Bahan pendukung yang digunakan dalam teknik ini umumnya bermuatan, karena enzim harus memiliki muatan yang berlawanan agar dapat terikat. Ikatan ionik dapat dibalik dengan mengubah pH atau melalui penggaraman enzim. Kontrol keasaman atau alkalinitas perlu dilakukan secara terus-menerus untuk menjaga pH optimal selama reaksi. Muatan pada bahan pendukung bisa menyebabkan beberapa masalah, seperti distorsi struktur enzim dan perubahan kinetika enzim. Muatan berlebih dapat mengganggu aktivitas katalitik enzim, yang pada akhirnya menghambat pencapaian hasil produk yang tinggi (Maghraby *et al.*, 2023).

c. *Entrapment*

Entrapment merupakan metode imobilisasi dengan enzim terperangkap dalam matriks polimer. Berbagai matriks yang dapat digunakan dalam metode *entrapment* antara lain kitosan, kalsium alginat, kolagen, selulosa triasetat, poliakrilamida, gelatin agar, karet silikon, polivinil alkohol, dan poliuretan. Metode *entrapment* mengimobilisasi enzim melalui penjebakan dalam gel, serat, atau mikroenkapsulasi. Tidak ada ikatan langsung antara enzim dan matriks pendukung, sehingga konformasi enzim tetap terjaga dan memastikan aktivitas katalitik yang tinggi, namun hambatan difusi yang tinggi dapat mencegah perpindahan makromolekul substrat melalui jaringan yang menjadi kelemahan utama teknik ini (Liu *et al.*, 2018).

d. Ikatan Kovalen

Kovalen merupakan metode konvensional untuk imobilisasi enzim. Ikatan kovalen terbentuk melalui reaksi kimia antara bahan pendukung dan asam amino rantai samping enzim, seperti lisin, sistein, atau residu asam aspartat dan glutamat. Gugus fungsi dari gugus amino, karboksilat, imidazol, indolil, dan hidroksil fenolik mendukung pembentukan ikatan kovalen. Ikatan kovalen bersifat stabil untuk mencegah kebocoran enzim dari matriks pendukung sehingga meningkatkan stabilitas enzim yang diimobilisasi (Liu *et al.*, 2018). Metode ini mengimobilisasi enzim ke pembawa melalui pembentukan ikatan kovalen antara pembawa dan enzim. Gugus fungsional enzim berpartisipasi dalam pembentukan ikatan, Imobilisasi dapat terjadi melalui pengikatan kovalen melalui lengan pengatur jarak yang panjang atau pengikatan multitik. Proses ini cukup rumit dan membutuhkan waktu inkubasi lebih lama daripada imobilisasi dengan adsorpsi (Spasojevic *et al.*, 2020).

e. Ikatan Silang

Berdasarkan reaksi antarmolekul, enzim diikat silang ke matriks pendukung menggunakan reagen bifungsional. Enzim diimobilisasi secara kuat melalui ikatan kovalen untuk meningkatkan penggunaan ulang dan stabilitas, tetapi enzim dapat kehilangan aktivitas katalitiknya selama proses ikatan silang (Liu *et al.*, 2018). Ikatan silang adalah proses yang relatif sederhana, tetapi bukan metode imobilisasi yang ideal karena tidak menggunakan matriks pendukung yang mengakibatkan biokatalis yang dihasilkan cenderung kurang stabil dan tidak terlalu kuat. Biokatalis yang diimobilisasi dengan metode ikatan silang sering mengalami perubahan bentuk yang menyebabkan hilangnya aktivitas. Ikatan silang akan menjadi lebih efektif apabila dikombinasikan dengan teknologi imobilisasi lain seperti adsorpsi, untuk mengurangi kebocoran enzim yang telah diimobilisasi (Sardar *and* Ahmad, 2015).

2.6.2. Faktor yang Memengaruhi Kinerja Imobilisasi

Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kinerja imobilisasi enzim dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Faktor-faktor yang dapat memengaruhi kinerja imobilisasi enzim (Datta *et al.*, 2013)

No	Faktor	Implikasi Imobilisasi
1	Partisi hidrofobik	Peningkatan laju reaksi substrat hidrofobik
2	Lingkungan mikro pembawa	Sifat hidrofobik menstabilkan enzim
3	Pelekatan multipoint pada pembawa	Peningkatan stabilitas termal enzim
4	<i>Spacer</i> atau lengan dari berbagai jenis enzim terimobilisasi	Mencegah deaktivasi enzim
5	Kendala difusi	Aktivitas enzim menurun, sementara stabilitas meningkat
6	Kehadiran substrat atau inhibitor	Retensi aktivitas lebih tinggi
7	Perlakuan fisik pasca-imobilisasi	Meningkatkan kinerja enzim
8	Mode pengikatan yang berbeda	Aktivitas dan stabilitas dapat terpengaruh
9	Struktur fisik pembawa (misalnya, ukuran pori)	Retensi aktivitas sering bergantung pada ukuran pori

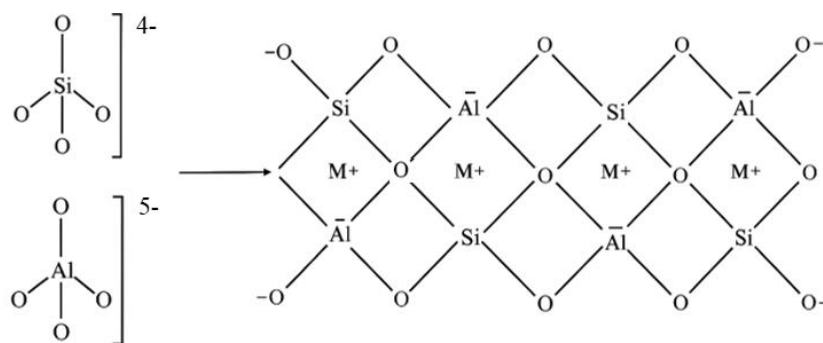
2.7. Zeolit Alam

Zeolit merupakan material anorganik berbasis silika yang dianggap sebagai material pilihan dan digunakan secara luas karena memiliki ketahanan termal dan mekanis. Material ini juga menawarkan ketahanan terhadap mikroba karena penyangga anorganik tidak berfungsi sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri atau jamur. Ciri khas penyangga anorganik adalah memberikan kekakuan dan porositas serta dapat memastikan invariasi diameter pori atau volume pori yang memastikan volume dan bentuk penyangga tetap (Sirisha *et al.*, 2016). Silika

menjadi salah satu pembawa yang paling menarik perhatian di antara banyak pembawa anorganik yang digunakan untuk imobilisasi enzim melalui metode adsorpsi (Jesionowski *et al.*, 2014).

Zeolit alam merupakan senyawa alumina silikat terhidrasi yang secara fisik dan kimia mempunyai kemampuan sebagai penyerap (adsorpsi), penukar kation dan sebagai katalis. Sampai saat ini telah ditemukan lebih dari 50 jenis spesies zeolit, namun mineral pembentuk zeolit terbesar ada 9 (sembilan) yaitu analsim, habazit, klinoptilolit, erionit, mordenit, ferrierit, heulandit, laumontit dan filipsit. Menurut Dur (2019) terdapat beberapa sifat-sifat zeolit antara lain :

- Sangat berpori karena kristal zeolit sebenarnya merupakan kerangka yang terbentuk dari jaringan tetrahedra SiO_4 dan AlO_4 .
- Pori-porinya berukuran molekul karena pori zeolit terbentuk dari tumpukan cincin beranggotakan 6,8,10 atau 12 tetrahedra.
- Dapat mempertukarkan kation karena perbedaan muatan Al^{+3} dan Si^{+4} menjadikan atom Al dalam kerangka kristal bermuatan negatif dan membutuhkan kation penetral. Kation penetral yang bukan menjadi bagian kerangka ini mudah diganti dengan kation lainnya.
- Mudah dimodifikasi karena setiap tetrahedra dapat dikontakkan dengan bahan-bahan pemodifikasi.



Gambar 1. Struktur zeolit alam (Yadav *et al.*, 2022)

2.8. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik karakterisasi yang sangat penting dan tak tergantikan, yang memberikan wawasan mendalam tentang sifat berbagai sampel melalui analisis interaksinya dengan radiasi elektromagnetik. Metode ini dikenal karena kemudahan penggunaan, kesederhanaan, keakuratan, validitas, dan efektivitas biayanya, menjadikannya alat analisis yang berharga, terutama dalam menentukan konsentrasi spesies penyerap ketika diterapkan pada senyawa murni dengan kurva standar yang tepat. Penerapan spektrofotometri UV-Vis meluas ke berbagai disiplin ilmu dasar seperti kimia, farmasi, fisika, dan ilmu material.

Spektrofotometri UV-Vis berfungsi sebagai alat fundamental yang menganalisis komposisi, struktur fisik, serta struktur elektronik materi pada tingkat atom dan molekuler (Alekhya *et al.*, 2023). Spektrofotometri UV-Vis biasanya diterapkan pada molekul organik, ion anorganik atau kompleks dalam suatu larutan.

Spektrum UV-Vis yang diperoleh sangat berguna untuk pengukuran kuantitatif suatu senyawa tertentu. Konsentrasi suatu analit dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu (Toledo, 2015).

Prinsip kerja Spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada langkah-langkah berikut :

- a. Pelarut (misalnya air atau alkohol) ditambahkan ke dalam wadah yang sesuai, transparan, dan tidak menyerap kuvet.
- b. Sinar cahaya yang dipancarkan oleh sumber cahaya melewati kuvet berisi pelarut.
- c. Intensitas cahaya yang ditransmisikan pada panjang gelombang yang berbeda kemudian diukur oleh detektor yang diposisikan setelah kuvet dengan pelarut dan dicatat.

Konsentrasi di dalam larutan dapat ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer*. Hukum *Lambert-Beer* dinyatakan dalam Persamaan 1.

$$A = a \times b \times c \text{ (Persamaan 1)}$$

Keterangan :

A = Absorban

a = Absorptivitas molar

b = Tebal kuvet (cm)

c = Konsentrasi

Berdasarkan Hukum *Lambert-Beer*, konsentrasi suatu senyawa dalam larutan dapat ditentukan secara kuantitatif dengan spektrofotometri UV-*Vis*. Garis kalibrasi ditentukan dengan mengukur penyerapan beberapa larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui, dengan cara ini konsentrasi sampel seperti DNA, RNA, protein, atau senyawa organik dapat ditentukan (Toledo, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025-Mei 2025 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas 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 EDWM 63*, *water bath (Memmert W 350)*, oven (T60 Heraeus), *shaker Labtech LSI 1 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 ukur 1000 mL, labu ukur 10 mL, erlenmayer 250 mL, erlenmayer 500 mL, corong gelas, batang pengaduk, tabung reaksi, *hot plate*, dan spektrofotometer UV-*Vis* (Shimadzu UV-1780).

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *L. boronitolerans* LKM G1, zeolit alam yang berasal dari Campang Tiga Lampung Selatan yang dikelola oleh CV. Minatama, *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), minyak zaitun bertolli, minyak kelapa sawit, tween 80, gum arab, isopropanol, tris HCl, Na₂CO₃, triton -X 100, CuSO₄, Na-K tartrat, reagen *folin-Ciocalteu*, akuades, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, buffer fosfat, aseton, ethanol,

kapas, kertas saring, alumunium foil, kasa, plastik *wrap*, *p*-nitrofenol (*p*-NP), *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP).

3.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan pada penelitian ini meliputi persiapan alat, pembuatan media, peremajaan bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 penghasil lipase, produksi lipase, pemurnian lipase, penentuan aktivitas lipase, penentuan kadar protein, penentuan kondisi optimum enzim lipase terimobil, dan uji pemakaian enzim berulang.

3.3.1. Tahap Persiapan

a. Persiapan Alat

Alat-alat gelas yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan, kemudian disterilisasi agar terhindar dari kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Semua kegiatan secara aseptik dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).

b. Pembuatan Media Padat

Media padat yang digunakan adalah medium *Nutrient Agar* (NA) untuk media pertumbuhan bakteri. Medium *Nutrient Agar* dibuat dengan menimbang 2 g NA, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades, dan disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

c. Pembuatan Media Cair *Nutrient Broth* (NB)

Media cair yang akan digunakan sebagai media kultur dan media fermentasi dibuat dengan menimbang 8 g *Nutrient Broth* (NB) dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Setelah itu disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit.

3.3.2. Peremajaan Bakteri *L. boronitolerans* LKM G1

Peremajaan Bakteri dilakukan pada media agar miring dengan cara menginokulasikan 1 ose bakteri lokal isolat LKM G1 ke permukaan media agar miring secara zig-zag dan diinkubasi selama 48 jam.

3.3.3. Produksi Enzim

Bakteri *L. boronitolerans* LKM G1 dalam media agar miring diambil sebanyak tiga ose dan dimasukkan ke dalam 20 mL media *starter*, kemudian media *starter* berupa *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi dalam *shaker* inkubator dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Media *starter* sebanyak 2% dipindahkan ke 1000 mL media fermentasi, kemudian ditambahkan 3% n-heksana, 2% tween 80, 2% minyak kelapa sawit, dan 2% minyak zaitun. Setelah itu media *dishaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Media fermentasi yang telah berisi bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Filtrat hasil sentrifugasi disebut ekstrak kasar enzim, kemudian ditentukan aktivitas lipasnya menggunakan spektrofotometer dengan substrat *p*-nitrofenil palmitat (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.4. Pemurnian Enzim

Pemurnian enzim lipase hasil produksi dilakukan dengan fraksinasi amonium sulfat dan dialisis dengan tahapan sebagai berikut :

b. Fraksinasi Amonium Sulfat

Ekstrak kasar enzim yang telah diperoleh selanjutnya diendapkan dengan menggunakan amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20-80%. Fraksinasi dilakukan dengan menambahkan amonium sulfat sedikit demi sedikit ke dalam ekstrak kasar enzim dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Endapan protein enzim yang didapat kemudian dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi pada

kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. Endapan yang diperoleh dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 dengan konsentrasi 0,25 M. Kemudian diuji aktivitas lipase dan kadar proteinnya (Nurhasanah *et al.*, 2023).

c. Dialisis

Dialisis dilakukan pada suhu rendah dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Enzim yang telah dimurnikan melalui fraksinasi amonium sulfat dimasukkan ke dalam kantong selofan, kemudian kantong tersebut ditempatkan dalam wadah berisi buffer fosfat pH 7 dengan konsentrasi 0,01 M dan diletakkan di atas pengaduk magnet. Selama proses dialisis, buffer diganti setiap 4 jam untuk mengurangi konsentrasi ion-ion dalam kantong. Proses ini diulang sampai ion-ion dalam kantong berkurang hingga tidak terdeteksi, kemudian diuji aktivitas lipase dan kadar proteinnya (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.5. Uji Aktivitas Lipase

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

Larutan *p*-nitrofenol 0,01 M disiapkan dengan melarutkan 14 mg serbuk *p*-nitrofenol ke dalam 10 mL akuades. Larutan ini berfungsi sebagai larutan stok untuk membuat larutan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 μ M, 300 μ M, 500 μ M, 700 μ M, 900 μ M, 1100 μ M, dan 1300 μ M.

b. Uji Aktivitas Lipase

Aktivitas lipase diukur menggunakan substrat *p*-nitrofenil palmitat dengan langkah-langkah berikut :

Larutan A (15 mg *p*-nitrofenil palmitat dilarutkan dalam 5 mL isopropanol) dicampurkan ke dalam larutan B (0,05 gram Gum *Arabic* dan 0,2 mL Triton X-100 yang dilarutkan dalam buffer Tris-HCl 50 mM pH 8), kemudian semua bahan dihomogenkan hingga mencapai volume akhir 50 mL. Aktivitas lipase diukur dengan mencampurkan 1,8 mL larutan substrat dengan 0,2 mL larutan enzim,

diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit, dan ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1). Larutan kontrol disiapkan dengan 0,2 mL larutan enzim ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1), ditambahkan 1,8 mL substrat dan diinkubasi selama 15 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm (Nurhasanah *et al.*, 2023). Menurut Gupta *et al.* (2002), aktivitas lipase dapat dihitung dengan Persamaan 2 dan 3.

$$\text{Aktivitas lipase (U/mL)} = \frac{\mu\text{mol } p\text{-NP}}{t \text{ (waktu)}} \times \text{FP (Persamaan 2)}$$

$$\text{Konsentrasi } p\text{-NP} = \frac{\text{Abs} - b}{a} \text{ (Persamaan 3)}$$

Keterangan :

$\mu\text{mol } p\text{-NP}$	: Konsentrasi $p\text{-NP}$
t	: Waktu reaksi
FP	: Faktor Pengenceran
Status aktivitas enzim :	$\frac{\mu\text{mol/menit}}{\text{mL}}$
a	: Slope
b	: Intersep

3.3.6. Penentuan Kadar Protein Metode Lowry

Kadar protein dapat diukur berdasarkan metode Lowry (Lowry *et al.*, 1951 ; Febrianti, 2024), yaitu :

- Pereaksi A : 2 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 M
- Pereaksi B : 5 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan ke dalam 3 mL larutan NaK-tartarat 1%
- Pereaksi C : 2 mL pereaksi B ditambahkan 100 mL pereaksi A
- Pereaksi D : Reagen *folin ciocelteau* diencerkan dengan akuades (1:1)
- Larutan Standar : Larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*)
- Sebanyak 0,1 mL enzim lipase dicampurkan dengan 0,9 mL akuades dan 5 mL pereaksi C, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu

ruang. Ditambahkan 0,5 mL pereaksi D secara cepat, dihomogenkan lagi, dan dibiarkan selama 30 menit. Absorbansinya kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai kontrol, 0,1 mL enzim digantikan dengan 0,1 mL akuades, dengan perlakuan yang sama seperti sampel. Konsentrasi protein enzim ditentukan menggunakan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan deret konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm.

3.3.7. Aktivasi Zeolit

Aktivasi zeolit alam dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 20 gram dalam cawan porselen lalu diaktivasi menggunakan tanur pada suhu 600 °C selama 6 jam (Putri, 2018). Sampel zeolit alam yang telah diaktivasi kemudian disimpan di desikator yang akan digunakan sebagai matriks imobilisasi enzim.

3.3.8. Imobilisasi Enzim

a. Penetapan pH untuk proses pengikatan enzim lipase pada zeolit
Sebanyak 0,25 gram zeolit dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian distabilkan menggunakan buffer fosfat 0,1 M dengan variasi pH 6 ; 6,5 ; 7 ; 7,5 dan 8. Matriks kemudian dipisahkan dari supernatannya melalui sentrifugasi selama 15 menit, lalu ditambahkan dengan 0,5 mL larutan enzim dan 0,5 mL buffer fosfat 0,1 M sesuai variasi pH masing-masing. Sampel diaduk selama 30 menit dan disentrifugasi kembali selama 15 menit. Supernatan enzim dipisahkan dari matriks untuk dijadikan sebagai kontrol enzim tidak terimobil. Matriks-enzim ditentukan aktivitasnya, pH buffer yang memberi aktivitas enzim tertinggi pada matriks dalam proses pengikatan enzim ditetapkan sebagai pH buffer pengikatan enzim-matriks (Yandri *et al.*, 2023).

b. Imobilisasi enzim lipase

Sebanyak 0,25 gram zeolit distabilkan menggunakan buffer pengikatan dengan pH optimum, kemudian disentrifugasi selama 15 menit. Setelah itu, sebanyak 0,5 mL enzim hasil dialisis dan 0,5 mL buffer pengikatan ditambahkan ke dalam matriks zeolit yang telah distabilkan. Campuran tersebut diaduk selama 30 menit agar enzim dapat berinteraksi dengan permukaan matriks, kemudian disentrifugasi kembali selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dan digunakan sebagai kontrol dalam uji aktivitas enzim (Yandri *et al.*, 2023).

c. Optimasi suhu imobilisasi enzim

Penentuan suhu optimum enzim lipase dilakukan dengan memvariasikan suhu inkubasi, yaitu 30; 35; 40; 45; 50; 55; dan 60 °C selama 15 menit pada masing-masing variasi suhu. Enzim hasil pemurnian ditambahkan substrat *p*-NPP lalu diinkubasi dengan masing-masing suhu pada pH optimumnya dan ditentukan aktivitasnya dengan spektrofotometer (Nurlinda, 2024).

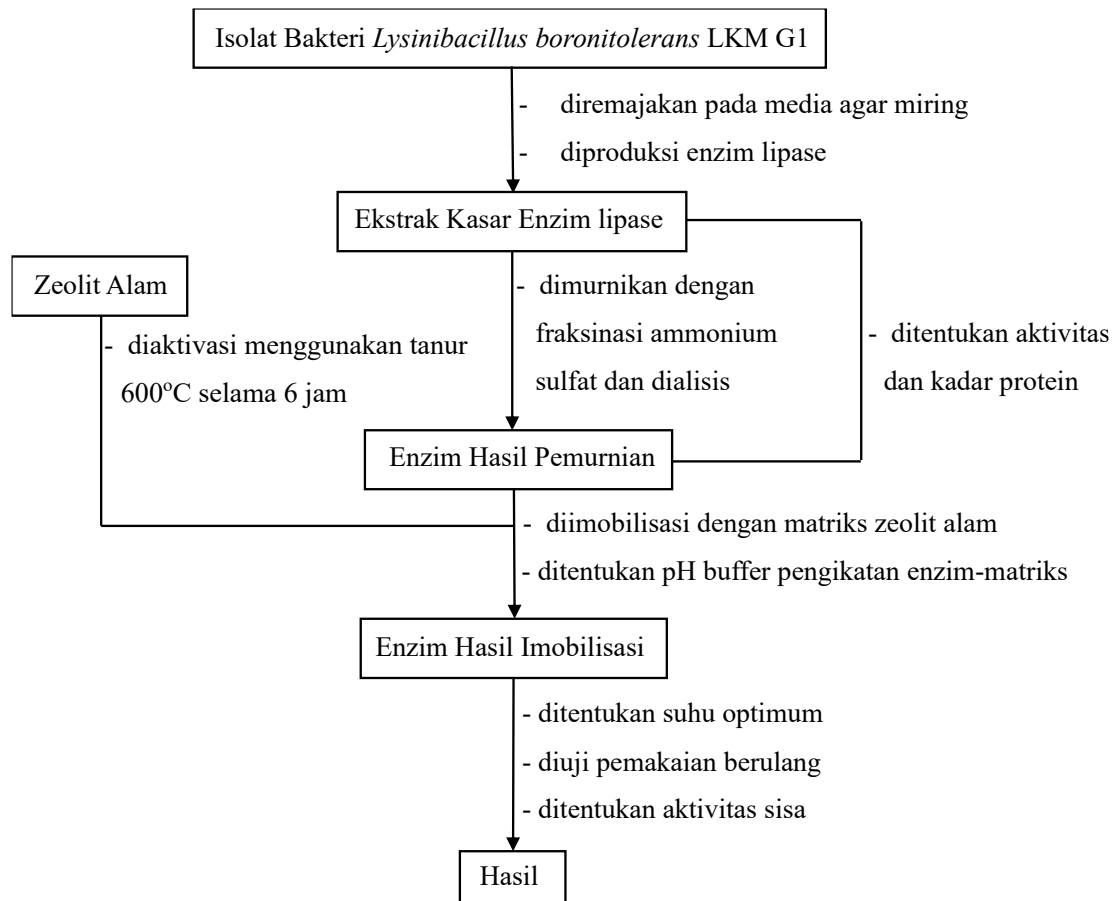
3.3.9. Uji Penggunaan Berulang

Setelah digunakan dalam reaksi dengan substrat, enzim lipase yang diimobilisasi dibilas menggunakan buffer fosfat 0,1 M pada pH optimum untuk menghilangkan sisa substrat dan produk reaksi yang mungkin masih menempel pada permukaan enzim atau matriks pendukung. Proses pembilasan ini penting untuk menjaga kebersihan dan integritas enzim sebelum digunakan kembali. Enzim imobil yang telah dibilas digunakan kembali dalam reaksi dengan substrat *p*-nitrofenil palmitat (*p*NPP), dan aktivitasnya diukur menggunakan spektrofotometer. Penggunaan ulang enzim ini dilakukan setiap 24 jam, dan aktivitas enzim dipantau hingga menurun di bawah 50% dari aktivitas awalnya. Menurut Angsari dan Agustini (2020) penentuan aktivitas sisa enzim setelah penggunaan berulang dihitung berdasarkan Persamaan 3.

$$\text{Aktivitas sisa} = \frac{\text{aktivitas setelah penggunaan berulang (U)}}{\text{aktivitas sebelum penggunaan berulang (U)}} \times 100\% \text{ (Persamaan 3)}$$

3.4. Skema Alur Penelitian

Tahap-tahap penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Skema alur penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Aktivitas spesifik enzim lipase dari *L. boronitolerans* LKM G1 setelah proses pemurnian hingga tahap dialisis mencapai 3.484,35 U/mg. Nilai tersebut menunjukkan bahwa kemurnian enzim meningkat hingga 2,36 kali lipat dibandingkan dengan ekstrak kasarnya.
2. Enzim lipase hasil imobilisasi pada matriks zeolit alam memiliki kondisi optimum pada pH 7,5 dan suhu 55 °C.
3. Enzim lipase yang diimobilisasi pada matriks zeolit alam mampu digunakan hingga tiga kali pengulangan dengan aktivitas sisa sebesar 53,8%.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan :

1. Modifikasi matriks zeolit alam, seperti aktivasi permukaan atau penambahan gugus fungsi, untuk meningkatkan kekuatan ikatan enzim dan stabilitasnya dalam pemakaian berulang.
2. Uji pemakaian berulang dilakukan dengan interval waktu lebih singkat dari 24 jam agar dapat memperoleh lebih banyak siklus penggunaan dan gambaran yang lebih jelas mengenai stabilitas enzim dalam jangka pendek.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsan, N. and Shimizu, M. 2021. *Lysinibacillus* Species: Their Potential as Effective Bioremediation, Biostimulant, and Biocontrol Agents. *Reviews in Agricultural Science*. 9. 103–116.
- Alekhyia, M., Jyothi, M., and Ramya, M. 2023. A Review on UV-Visible Spectroscopy. *Journal of Pharma Insights and Research*. 1(2). 91–96.
- Almeida, F. L. C., Castro, M. P. J., Travalia, B. M., and Forte, M. B. S. 2021. Trends in Lipase Immobilization: Bibliometric Review and Patent Analysis. *Process Biochemistry*. 110(1). 37–51.
- Angsari, T. F. dan Agustini, R. 2020. Pengaruh Variasi Konsentrasi Amilase dari Kedelai (*Glycine max* L.) dan Natrium Alginat sebagai Matriks Enzim terhadap Efektivitas Imobilisasi. *UNESA Journal of Chemistry*. 9(3).
- Ansari, S. A. and Husain, Q. 2012. Potential Applications of Enzymes Immobilized on/in Nano Materials: A Review. *Biotechnology Advances*. 30(3). 512–523.
- Arana, P. S., Rios, N. S., Carballares, D., Mendez, S. C., and Fernandez, L. R. 2020. Effects of Enzyme Loading and Immobilization Conditions on the Catalytic Features of Lipase From *Pseudomonas fluorescens* Immobilized on Octyl-Agarose Beads. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 36(8). 1–13.
- Arsalan, A. and Younus, H. 2018. Enzymes and Nanoparticles: Modulation of Enzymatic Activity Via Nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 118. 1833–1847.
- Bhatia, S. 2018. Introduction to Enzymes and Their Applications. *Introduction to Pharmaceutical Biotechnology*. 2(1). 1–29.

- Datta, S., Christena, L. R., and Rajaram, Y. R. S. 2013. Enzyme Immobilization : an Overview on Techniques and Support Materials. *Biotech.* 3(1). 1–9.
- Djaeni, M., Kurniasari, L., dan Purbasari, A. 2011. Aktivasi Zeolit Alam Sebagai Adsorben pada Alat Pengering Bersuhu Rendah. *Reaktor.* 13(3). 178-184.
- Dur, S. 2019. Utilization of Zeolits for Water Filing. *ZERO: Jurnal Sains, Matematika dan Terapan.* 3(1). 45–55.
- Ece, O. B., Deniz, Y., Aysegul, P., and Baris, B. 2019. Immobilization of *Rhizomucor miehei* Lipase onto Montmorillonite K-10 and polyvinyl Alcohol Gel. *Biocatalysis and Biotransformation.* 38(4). 274–282.
- Febrianti, S. M. 2024. Imobilisasi Enzim α -amilase dari *Aspergillus* sp. menggunakan Bentonit. *Skripsi.* Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Grahame, D. A. S., Bryksa, B. C., and Yada, R. Y. 2015. Factors Affecting Enzyme Activity. In *Improving and Tailoring Enzymes for Food Quality and Functionality.* Elsevier Ltd. Oxford.
- Gupta, N., Rathi, P., and Gupta, R. 2002. Simplified para-Nitrophenyl Palmitate Assay for Lipases and Esterases. *Analytical Biochemistry.* 31(1). 98-99.
- Hanum, S. H., Toto P. A. S., dan Rosyidah, S. 2022. Pengaruh pH, Suhu, dan Aktivator Logam terhadap Aktivitas Enzim Fibrinolitik yang Dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* Ts 6.4. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi.* 9(1). 9–12.
- Handayani, R. 2005. *Transesterifikasi Ester Asam Lemak Melalui Pemanfaatan Teknologi Lipase.* LIPI. Bogor.
- Hanifah, H. N., Hendrayanti, H., dan Mulyani, S. 2023. Analisis Kandungan Ion Fluorida pada Sampel Air Minum dalam Kemasan Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Sabdariffarma.* 10(1). 8–13.
- Ilyas, N. M., Setiasih, S., dan Hudiyono, S. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Bromelain dari Bonggol dan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus*). *Chemica: Jurnal Ilmiah Kimia dan Pendidikan Kimia.* 21(2). 133–141.
- Indrawati, Y., dan Amoryna, D. 2023. Inovasi Centrifuge Alternatif dari Motor Kipas Angin untuk Preparasi Pengujian Berbagai Sampel di Laboratorium. *Indonesian Journal of Laboratory.* 1(2). 106.
- Irdawati, Nurfatihah, Z., Putri, D. H., Advinda, L., dan Yusrizal. 2025. Aktivitas Spesifik Xilanase Bakteri Termofilik Amobil SSA2 dengan Variasi Sumber Karbon. *Jurnal Agrotek Tropika.* 13(1). 59-65.

- Ismail, A. R., and Baek, K. 2020. Lipase immobilization With Support Materials, Preparation Techniques, and Applications : Present and Future Aspects. *International Journal of Biological Macromolecules*. 163. 1624–1639.
- Jaganmai, G., Rajeswari, J., and Vadde, R. 2023. Partial Purification and Characterization of Extracellular Lipoprotein Lipase (ELPL) Obtained from *Lysinibacillus fusiformis* L-52 Bacteria Isolated from Dairy Industry Wastes. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 12(9). 121–134.
- Jasim, B. H. and Ali, E. H. 2021. Isolation, Extraction, Purification, and Characterization Of Fibrinolytic Enzyme from *Pseudomonas Aeruginosa* and Estimation of The Molecular Weight of The Enzyme. *Archives of Razi Institute*. 29(4). 809-820.
- Jesionowski, T., Zdarta, J., and Krajewska, B. 2014. Enzyme Immobilization by Adsorption: A review. *Adsorption*. 20(5–6). 801–821.
- Joshi, R., and Kuila, A. 2018. Lipase and Their Different Industrial Applications: A Review. *Brazilian Journal of Biological Sciences*. 5(10). 237–247.
- Khan, A. K., Mubarak, N. M., Abdullah, E. C., Khalid, M., Nizamuddin, S., Baloch, H. A., and Siddiqui, M. T. H. 2019. Immobilization of Lipase Enzyme Carbon Nanotubes via Adsorption. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 495(1).
- Khan, M. R. 2021. Immobilized Enzymes : A Comprehensive Review. Bulletin of the National Research Centre.
- Liu, D. M., Chen, J., and Shi, Y. P. 2018. Advances on Methods and Easy Separated Support Materials For Enzymes Immobilization. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*. 102. 332–342.
- Liu, S., Li, Z., Yu, B., Wang, S., Shen, Y., and Cong, H. 2020. Recent Advances on Protein Separation and Purification Methods. *Advances in Colloid and Interface Science*. 284.
- Maghraby, Y. R., El-shabasy, R. M., Ibrahim, A. H., and Azzazy, H. M. E. 2023. Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS Omega*. 5184–5196.
- Mahargyani, W., Raharjo, T. J., dan Haryadi, W. 2017. Imobilisasi Lipase pada Kitosan Serbuk dengan Metode Pengikatan Silang dan Uji Aktivitas Transesterifikasinya. *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*. 2(2). 196.

- Marbach, S. and Bocquet, L. 2019. Osmosis, From Molecular Insights to Large-Scale Applications. *Chemical Society Reviews*. 48(11). 3102–3144.
- Martina, V., and Vojtech, K. 2015. A Comparison of Biuret, Lowry and Bradford Methods For Measuring The Egg's Proteins. *Mendel Net*. 15(1). 394–398.
- Moentamaria, D., Chumaidi, A., Hendrawati, N., Girlian, G., dan Mustika, M. A. 2018. Imobilisasi Lipase dari *Mucor miehei* pada Matriks Zeolit dalam Hidrolisis Minyak Sawit Menghasilkan Asam Lemak Bebas dengan Sistem Bebas Pelarut. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 7(2). 108–114.
- Mukherjee, S. 2019. *Isolation and Purification of Industrial Enzymes: Advances in Enzyme Technology*. Bose Institute Department of Chemistry Kolkata. India.
- Naseri, M., Pitzalis, F., Carucci, C., Medda, L., Fotouhi, L., Magner, E., and Salis, A. 2018. Lipase and Laccase Encapsulated on Zeolite Imidazolate Framework: Enzyme Activity and Stability from Voltammetric Measurements. *ChemCatChem*. 10(23). 5425–5433.
- 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 BV*. 20-29.
- Nurlinda, B. M. 2024. Imobilisasi Enzim Lipase dari Bakteri *Pseudomonas sp.* LPG171 dengan Matriks Zeolit Alam Teraktivasi. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Ohlendieck, K., and Harding, S. E. 2018. Centrifugation and Ultracentrifugation. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. 424–453.
- Putri, C. C. 2018. Pemanfaatan Zeolit Alam Lampung Sebagai Katalis Pendukung pada Reaksi Transesterifikasi Minyak Kelapa Sawit Menjadi Biodiesel. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Qayoudi, A. A. and Al-zuhair, S. 2022. Dynamic Modelling of Enzymatic Hydrolysis of Oil Using Lipase Immobilized on Zeolite. *Sustainability*. 1–17.
- Rahmi, H., Hariyanti, Ariyanti, R. P., dan Wulandari, D. 2020. Analisis Hasil Fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udag Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia (JBBI)*. 7(2). 194–202.

- Restiawaty, E., Yatasya, F. A., Ellys, Culsum, N. T. U., Akhmaloka, and Budhi, Y. W. 2020. Lipase Immobilization onto Cellulose Nanocrystals (CNC) for Catalyzing Lipolysis of Triglycerides. *International Seminar on Chemical Engineering Soehadi Reksowardojo (STKSR)*. 11(4). 1-6.
- Sardar, M., and Ahmad, R. 2015. Enzyme Immobilization: An Overview on Nanoparticles as Immobilization Matrix. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*. 4(2). 1-20.
- 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.
- Satpathy, L., Dash, D., Sahoo, P., Anwar, T. N., and Parida, S. P. 2020. Quantitation of Total Protein Content in Some Common Edible Food Sources by Lowry Protein Assay. *Letters in Applied NanoBioScience*. 9(3). 1275–1283.
- Scanlon, M. G., Henrich, A. W., and Whitaker, J. R. 2017. Factors Affecting Enzyme Activity In Food Processing. *Proteins in Food Processing Second Edition*. 337–365.
- Semara, I. P. P. W. dan Nindhia, T. G. T. 2010. Studi Pengaruh Aktifasi Termal terhadap Struktur Mikro dan Porositas Zeolit Alam. *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*. 4(2). 139-144.
- Septiani, U. dan Lisma, A. 2011. Pemanfaatan Zeolit Alam Sebagai Media Pendukung Amobilisasi Enzim α -amilase. *Jurnal Riset Kimia*. 5(1). 79-88.
- Sheldon, R. A. 2007. Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance. *Advanced Synthesis and Catalysis*. 349(8–9). 1289–1307.
- Sheldon, R. A. and Pelt, S. V. 2013. Enzyme Immobilisation in Biocatalysis: Why, What and How. *The Royal Society of Chemistry*. 42. 6223-6235.
- Singh, R., Kumar, M., Mittal, A., and Mehta, P. K. 2016. Microbial Enzymes: Industrial Progress in 21st Century. *Biotech*. 6(2). 174.
- Sirisha, V. L., Jain, A., and Jain, A. 2016. *Enzyme Immobilization: An Overview on Methods, Support Material, and Applications of Immobilized Enzymes*. In *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier Inc.
- Spasojevic, Prodanovic, Pantic, Popovic, Abalaz, and Prodanovic. 2020. The Enzyme Immobilization: Carriers and Immobilization Methods. *Journal of Engineering and Processing Management*. 11(2).

- Su'i, M. dan Suprihana. 2013. Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out. *AGRITECH*. 33(4). 375–383.
- Susanti, R., dan Febriana, F. 2017. *Buku Enzim Lengkap*. CV Andi Offset. Yogyakarta.
- Toledo, M. (2015, November). UV/Vis Spectrophotometry. Mettler-Toledo International. <https://www.mt.com/es/es/home/library/guides/laboratory-division/1/uvvis-spectrophotometry-guide-applications-fundamentals.html>. Diakses pada 10 Agustus 2024.
- Umar, R. L. A. 2016. Optimasi Kondisi Lingkungan Media Kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya dari Kawasan Mangrove Wonorejo. *Tugas Akhir*. Institut Sepuluh November. Surabaya.
- Wardoyo, F. A. dan Kartika, A. I. 2017. Imobilisasi Enzim Lipase pada Padatan Pendukung Zeolit Alam. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. 141–145.
- Wardoyo, F. A. dan Kartika, A. I. 2018. Peningkatan Stabilitas Termal dan Stabilitas Penggunaan Berulang Enzim Lipase Melalui Imobilisasi pada Zeolit Alam. *Jurnal Labora Medika*. 2(1). 1-5.
- Widyasmara, A. 2020. Penentuan Konsentrasi Optimum Glutaraldehid untuk Amobilisasi Enzim α -Amilase dari *Bacillus Subtilis* ITBCCB148 pada Kitosan. *Warta AKAB*. 44(2). 142-151.
- Yadav, V., Rani, M., Kumar, L., Singh, N., and Ezhilselvi, M. 2022. Effect of Surface Modification of Natural Zeolite on Ammonium Ion Removal from Water Using Batch Study: an Overview. *Water Air Soil Pollut*. 233(465). 1-11.
- Yandri, A. S., Tiarsa, E. R., Suhartati, T., Irawan, B., and Hadi, S. 2023. Immobilization and Stabilization of *Aspergillus fumigatus* α -Amilase by Adsorption on a Chitin. *Emerging Science Journal*. 1(7).77-89.
- Zahra, N. S. 2024. Studi Biodegradasi Waste Cooking Oil (WCO) Menggunakan Lipase dari Mikroba Isolat Lokal *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.