

**PENGARUH PENAMBAHAN INHIBITOR METANOL DAN METIL
ESTER TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BUAH SAWIT
*OVER RIPE***

Skripsi

Oleh

**Safitri Adiningrum
2054051017**



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

ABSTRACT

THE EFFECT OF ADDITION OF METHANOL AND METHYL ESTER INHIBITORS ON LIPASE ENZYME ACTIVITY FROM OVER-RIPE PALM OIL FRUIT

By

SAFITRI ADININGRUM

Overripe oil palm fruits contain a high amount of fatty acids, due to increased activity of lipase enzymes, on the other hand lipase enzymes can be used as biocatalysts in the reactions between tryglicerides and methanol to produce methyl esters. Methanol and methyl in excessive amount can act as inhibitors that affected the enzyme activity. The purpose of this study was to determine the effect of adding methyl ester and methanol on inhibition of lipase enzyme activity from overripe oil palm fruit. This study was conducted using a Completely Randomized Block Design (CRBD) with three repetitions. The independent variables used were methanol consisting of two levels, namely 0% and 2% and methyl ester consisting of four levels, namely 0%, 2%, 4%, and 6%. The data were analyzed by ANOVA followed by Orthogonal Polynomial (OP) analysis. The results showed that methyl ester and methanol inhibitors had a significant effect on inhibiting the activity of crude extracts of lipase enzymes from overripe oil palm fruit. The highest inhibitory power of lipase enzyme activity was obtained at a concentration of 2% methanol and 5.06% methyl ester, which produced the lowest lipase enzyme activity of 0.97 U/ml.

Keywords : crude extract activity of lipase enzyme, inhibitor, over ripe palm fruit

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN INHIBITOR METANOL DAN METIL ESTER TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BUAH SAWIT *OVER RIPE*

Oleh

SAFITRI ADININGRUM

Buah sawit *over ripe* mengandung asam lemak yang tinggi, karena enzim lipase yang meningkat. Enzim lipase yang tinggi, dapat digunakan sebagai biokatalis reaksi trigliserida dengan metanol untuk menghasilkan metil ester. Tetapi metanol dan metil ester dalam jumlah berlebih dapat menjadi inhibitor yang memengaruhi aktivitas enzim. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penambahan inhibitor metil ester dan metanol terhadap penghambatan aktivitas enzim lipase dari buah sawit *over ripe*. Penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dalam 3 ulangan. Variabel bebas yang digunakan yaitu metanol terdiri dari dua taraf yaitu 0% dan 2% dan metil ester terdiri dari empat taraf yaitu 0%, 2%, 4%, dan 6%. Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA dilanjutkan dengan analisis Ortogonal Polinomial (OP). Hasil penelitian menunjukkan inhibitor metil ester dan metanol berpengaruh nyata terhadap penghambatan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe*. Daya hambat aktivitas enzim lipase tertinggi diperoleh pada konsentrasi metanol 2% dan metil ester 5,06%, yang menghasilkan aktivitas enzim lipase terendah sebesar 0,97 U/ml.

Kata kunci : aktivitas ekstrak kasar enzim lipase, buah sawit *over ripe*, inhibitor

**PENGARUH PENAMBAHAN INHIBITOR METANOL DAN METIL
ESTER TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BUAH SAWIT
*OVER RIPE***

Oleh

SAFITRI ADININGRUM

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: **PENGARUH PENAMBAHAN INHIBITOR
METANOL DAN METIL ESTER TERHADAP
AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BUAH
SAWIT *OVER RIPE***

Nama Mahasiswa

: **Safitri Adiningrum**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2054051017

Program Studi

: Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas

: Pertanian



1. Komisi Pembimbing.

[Signature]

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

[Signature]

Puspita Yulandari, S.T.P., M.Si.
NIP. 19810702 20150 4 2001

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian,

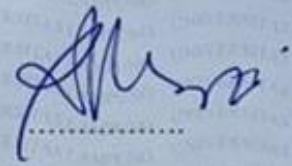
[Signature]

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

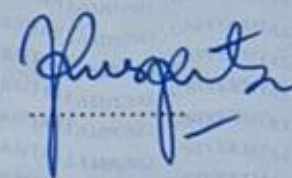
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji :

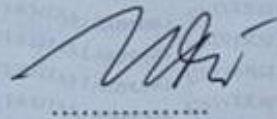
Ketua : **Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.**



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



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



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 7 Agustus 2025

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Safitri Adiningrum

NPM : 2054051017

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

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 7 Agustus 2025
Pembuat pernyataan



Safitri Adiningrum
NPM 2054051017

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Margasari pada tanggal 12 april 2002 sebagai anak ke-empat dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Suwono dan Ibu Sutinah, S.Pd. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Margasari pada tahun 2014, kemudian melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Muhammadiyah Labuhan Maringgai dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 2 Metro dan lulus pada tahun 2020.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SMMPTN). Tahun 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Gunung Terang, Kecamatan Air Hitam, Kabupaten Lampung Barat. Pada tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Standarisasi dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Bandar Lampung dengan judul “Pengujian Coliform pada Bakso Sapi di Laboratorium Mikrobiologi Balai Standarisasi dan Pelayanan Jasa Industri (BSPJI) Bandar Lampung”.

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pengaruh Penambahan Inhibitor Metanol dan Metil Ester Terhadap Aktivitas Enzim Lipase dari Buah Sawit *Over ripe*” dengan baik. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Baginda Rasulullah Muhammad Shallallahu'alaihi wassalam. Selama pelaksanaan dan penulis skripsi, penulis mendapatkan banyak bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada :

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

7. Bapak dan Ibu dosen pengajar atas ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan, staf administrasi, serta pranata Laboratorium THP atas bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian dan perkuliahan.
8. Kedua orang tua tercinta yaitu Bapak Suwono dan Ibu Sutinah, S.Pd., yang selalu memberikan kasih sayang, cinta, semangat, doa dan dukungan baik secara moril maupun secara materil yang tiada hentinya kepada peneliti. Walaupun berperang dengan penyakit mama, mama dan bapak tak pernah hentinya menjadi penyemangat peneliti. Skripsi ini penulis persembahkan untuk bapak dan mama. Semoga Allah permudah setiap langkah kaki ini dalam mewujudkan keinginan bapak dan mama, sehingga penulis dapat membalas semua jerih payah bapak dan mama. Terima kasih karena selalu menjaga penulis dalam doa-doa bapak dan ibu serta membiarkan penulis mengejar impian.
9. Ketiga kakak tersayang Heri Ismayanto, S.AP., Bayu Febri Setiawan, S.I.kom., dan Juni Aris Darmawan yang selalu paham dan mengerti akan keadaan adik terakhirmu ini selama menempuh pendidikan di perkuliahan ini dan memberikan doa dan kasih sayang kepada penulis. Terima kasih sudah selalu mengingatkan untuk jangan menyerah demi mampu menyelesaikan kuliah dan skripsi ini.
10. Ketiga ipar dan tujuh keponakan Mba Rena, Mba Selvi, Mba Putri, Hilal, Habibi, Adeeva, Arisha, Adeera, Naila, Naiva yang selalu bertanya akan keadaan, kondisi dan mental peneliti serta selalu menghadirkan canda tawa, kasih sayang, semangat dalam menyelesaikan perkuliahan dan penelitian.
11. Fendera Gali Akbar, S.Pd., yang selalu menemani, mendengarkan keluh kesah serta memberikan dukungan, hiburan, semangat, tenaga, pikiran, materi, maupun bantuan kepada penulis. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis, dan berkontribusi banyak selama perkuliahan dan penyusunan skripsi.
12. Tim penelitian Salsa, Diah, Rika, Ade dan Victor yang berjuang bersama selama pelaksanaan penelitian, memberikan banyak bantuan dan saling memotivasi untuk tetap menyelesaikan proses yang tidak mudah ini.

13. Teman-teman baik penulis Pupah, Yana, Iis, Diah, Arini, Mely dan Arfika yang telah memberikan bantuan dan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan penelitian.
14. Seluruh teman-teman THP angkatan 2020 yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
15. Terakhir, penulis menyampaikan terima kasih kepada diri sendiri karena telah bertahan sejauh ini, meski sering kali merasa melangkah terasa sendiri, dan ketika dunia berjalan jauh ke depan, namun tetap menuntaskan tanggung jawab yang seharusnya. Tak ada yang tahu seberapa berat pikiran yang harus ditenangkan dan seberapa rasa takut untuk diredam. Namun sejauh ini semuanya telah dilalui dengan cara yang paling bisa, tanpa mengorbankan prinsip, harapan atau mereka yang setia menunggu diujung perjalanan. Perlahan tapi pasti, bukan karena segalanya mudah, tetapi karena tahu bahwa perjalanan ini layak diselesaikan dan patut diberi ruang untuk merasa bangga.

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

Bandar Lampung, 7 Agustus 2025

Penulis,

Safitri Adiningrum

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Tujuan Penelitian	4
1.3. Kerangka Pemikiran.....	4
1.4. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Tanaman dan Buah Kelapa Sawit	8
2.2. Minyak Sawit	9
2.3. Enzim	11
2.4. Mekanisme Kerja Enzim.....	12
2.5. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim.....	12
2.5.1. Suhu	13
2.5.2. pH.....	13
2.5.3. Waktu.....	14
2.5.4. Konsentrasi Substrat dan Enzim	14
2.5.5. Aktivator	15
2.5.6. Inhibitor.....	15
2.6. Enzim Lipase	16
2.7. Pemanfaatan Enzim Lipase.....	17
2.8. Aktivitas Enzim Lipase	20

III. METODOLOGI	21
3.1. Tempat dan Waktu	21
3.2. Bahan dan Alat	21
3.3. Metode Penelitian	21
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	22
3.4.1. Karakteristik Minyak Sawit	22
3.4.2. Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Lipase Buah Sawit.....	24
3.4.3. Daya Hambat Enzim Lipase	25
3.5. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1. Daya Hambat Enzim Lipase	27
4.2. Kadar Air	32
4.3. Kadar Asam Lemak Bebas.....	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1. Kesimpulan	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Fraksi tingkat kematangan sawit.....	8
2. Konsentrasi asam lemak pada minyak sawit.....	9
3. Kombinasi perlakuan	22
4. Kadar air minyak sawit	33
5. Kadar asam lemak bebas minyak sawit	35
6. Data hasil aktivitas enzim lipase	44
7. Uji kehomogenan ragam aktivitas enzim lipase.....	44
8. Hasil analisis ragam aktivitas enzim lipase.....	45
9. Uji lanjut perbandingan ortogonal polinomial hasil aktivitas enzim	45
10. Data hasil kadar air.....	46
11. Data hasil kadar asam lemak bebas (ALB)	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema diagram enzim sederhana tanpa kofaktor	10
2. Skema diagram enzim sederhana dengan kofaktor	10
3. Ilustrasi teori <i>lock and key</i> dan induced fit.....	12
4. Reaksi hidrolisis oleh enzim lipase	17
5. Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi	18
6. Persamaan reaksi dan mekanisme transesterifikasi.....	19
7. Diagram alir isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit <i>over ripe</i> ...	24
8. Diagram alir penelitian inti	25
9. Pengaruh kombinasi metil ester dan metanol terhadap aktivitas enzim	28
10. Karakteristik kadar ALB minyak goreng sawit	47
11. Karakteristik kadar air minyak goreng sawit	47
12. Penghalusan buah sawit <i>over ripe</i>	48
13. Penimbangan buah sawit yang sudah dihaluskan	48
14. Pencampuran dengan <i>buffer fosfat</i>	48
15. Penyaringan ekstrak kasar sawit	49
16. Pemisahan dengan <i>centrifuge</i>	49
17. Pengumpulan enzim siap inkubasi	49
18. Pencampuran enzim, buffer, minyak dan inhibitor	50
19. Proses inkubasi.....	50
20. Penghentian reaksi dengan dimasukkan lemari pendingin	50
21. Pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim lipase	51
22. Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim lipase	51

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Kelapa sawit merupakan bahan baku yang digunakan untuk kelompok industri yang mengolah minyak sawit menjadi bahan setengah jadi. Kelapa sawit juga mempunyai potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku utama produksi biodiesel (Sinaga *et al.*, 2023). Waktu panen buah kelapa sawit sangat mempengaruhi jumlah dan mutu minyak yang dihasilkan. Waktu panen yang tepat akan memperoleh kandungan minyak yang maksimal, tetapi pemanenan buah kelewat matang akan meningkatkan asam lemak bebas (ALB), sehingga dapat merugikan karena sebagian kandungan minyak akan berubah menjadi ALB dan menurunkan mutu minyak, karena ALB yang tinggi menyebabkan buah kelapa sawit yang terlalu matang jarang sekali dimanfaatkan. Pemanenan buah sawit yang masih mentah memiliki kandungan ALB yang rendah, akan tetapi menurunkan kandungan minyak yang dihasilkan (Ugroseno dan Wachjar, 2017).

Buah sawit *over ripe* merupakan sumber potensial enzim lipase yang berfungsi mengkatalis hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Buah sawit *over ripe* memiliki aktivitas enzim lipase yang meningkat karena proses fisiologis yang memicu ekspresi enzim-enzim hidrolitik, termasuk lipase sebagai bagian dari mekanisme degradasi jaringan buah. Aktivitas lipase yang tinggi pada buah sawit *over ripe* ini dapat dimanfaatkan dalam proses bioteknologi, salah satunya untuk produksi biodiesel melalui transesterifikasi minyak nabati. Ekstrak kasar lipase dari buah sawit *over ripe* menunjukkan aktivitas enzimatik yang cukup tinggi dan berpotensi sebagai biokatalis ramah lingkungan dalam industri energy terbarukan (Sani *et al.*, 2014). Pemanfaatan enzim lipase dari buah sawit

over ripe memiliki potensi besar untuk produksi biodiesel karena prosesnya bersifat ramah lingkungan dibandingkan dengan bahan kimia lain sebagai katalisator, enzim hanya mengkatalis substrat tertentu, enzim tidak menghasilkan produk sampingan yang tidak diperlukan, memiliki spesifisitas tinggi, dan hemat biaya karena dapat memanfaatkan buah sawit *over ripe* yang biasanya menjadi limbah (Fachrial, 2022).

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

Enzim merupakan suatu biokatalis yang mempunyai peranan penting dalam industri, pertanian dan kesehatan. Enzim lipase atau asilgliserol hidrolase (E.C

3.1.1.3) adalah enzim yang mampu menghidrolisis trigliserida rantai panjang. Lipase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bioteknologi modern. Banyak industri yang telah mengaplikasikan penggunaan enzim sebagai biokatalis. Lipase terkenal memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis, esterifikasi dan transesterifikasi (Jeyarani, 2010). Enzim lipase merupakan enzim hidrolase yang berfungsi sebagai biokatalis dalam hidrolisis lemak mono-, di-, dan trigliserida menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (Winarno, 1986). Kondisi tertentu lipase juga mampu mengkatalisis reaksi kebalikannya, yaitu sintesis ester dari asam lemak bebas dan gliserol atau substrat lainnya (Pera *et al.*, 2006). Lipase merupakan enzim induktif yang sangat dipengaruhi konsentrasi lemak atau minyak dalam substrat. Keterlibatan enzim lipase sebagai biokatalis mampu menurunkan kebutuhan panas dan mempercepat reaksi dengan cara menurunkan level energi aktivasi (Idris, 2005).

Aktivitas atau kerja enzim dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti suhu, pH, konsentrasi substrat, waktu inkubasi, konsentrasi enzim, inhibitor, dan pelarut organik (Nurhaeni *et al.*, 2017). Faktor inhibitor merupakan molekul yang menghambat kerja enzim yang dapat menghasilkan produk bersama substrat melalui molekul yang dapat berikatan dengan enzim (Wuryanti, 2004). Inhibitor metanol mampu menghambat aktivitas enzim lipase pada berbagai konsentrasi dan mampu merusak enzim sehingga aktivitasnya menurun (Nurhaeni *et al.*, 2017). Namun hanya terdapat beberapa penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa methanol dan metil ester berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase. Oleh karena itu, penelitian ini penting untuk dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini ialah sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh penambahan inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.
2. Mengetahui variasi konsentrasi penambahan inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.
3. Mengetahui penghambatan aktivitas tertinggi ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe* berdasarkan penambahan inhibitor metanol dan metil ester.

1.3. Kerangka Pemikiran

Aktivitas atau kerja enzim dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti suhu, pH, konsentrasi substrat, waktu inkubasi, konsentrasi enzim, inhibitor, dan pelarut organik (Nurhaeni *et al.*, 2017). Kondisi pertumbuhan yang menunjang produksi enzim lipase secara maksimal adalah pH, suhu, dan waktu. Lingkungan dimana enzim akan mengkatalis reaksi harus berada pada kondisi optimum enzim untuk bereaksi (Hutasoit, 2017). Mulyadi dan Asmara (2013) aktivitas optimum enzim lipase terjadi pada suhu 30°C, pH 7, dengan waktu 60 menit. Penurunan aktivitas enzim kemungkinan disebabkan oleh tingginya konsentrasi substrat yang bisa berefek menghambat (inhibitor) aktivitas enzim lipase. Enzim akan hilang kestabilannya pada lingkungan pelarut organik seperti metanol. Aktivitas enzim lipase akan sebanding dengan rendah dan tingginya produk yang dihasilkan juga (Suhartono, 1989).

Penambahan metanol dan metil ester sebagai inhibitor dalam enzim lipase bertujuan untuk pengendalian aktivitas enzim dalam reaksi biokatalitik, terutama dalam proses produksi biodiesel. Metanol sering digunakan dalam proses transesterifikasi minyak untuk menghasilkan metil ester (biodiesel). Pada konsentrasi tinggi, metanol dapat menghambat aktivitas enzim lipase. Metanol berfungsi untuk mengontrol atau menghentikan aktivitas lipase setelah reaksi

mencapai titik tertentu agar tidak terjadi overreaksi. Metanol juga mampu mencegah denaturasi atau degradasi substrat oleh enzim, dan menghindari pembentukan produk samping yang tidak diinginkan. Metanol ditambahkan secara bertahap untuk mengurangi efek inhibisi langsung, karena jika ditambahkan sekaligus bisa langsung menghambat lipase (Sharma *et al.*, 2001). Metil ester merupakan produk dari reaksi transesterifikasi itu sendiri, tetapi juga dapat berperan sebagai inhibitor. Metil ester bertujuan untuk mengontrol laju reaksi atau menghindari akumulasi produk yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan reaksi. Metil ester juga mampu mengubah lingkungan reaksi, dengan memengaruhi aktivitas enzim secara tidak langsung (Iso *et al.*, 2001).

Biodiesel dibuat melalui reaksi transesterifikasi, yaitu reaksi antara trigliserida dan alkohol (metanol) dengan bantuan katalis (enzim lipase). Metanol yang tidak ditambahkan dalam produksi biodiesel, maka tidak akan ada alkohol yang berfungsi untuk bereaksi dengan trigliserida, sehingga tidak akan terbentuk metil ester (biodiesel). Minyak yang menjadi bahan baku pembuatan biodiesel akan tetap dalam bentuk trigliserida dan katalis yang dipakai utuh, sehingga dapat dikatakan pembuatan biodiesel tanpa metanol hampir tidak mungkin (Meher *et al.*, 2006).

Enzim mampu menurunkan kebutuhan panas dan mempercepat reaksi. Enzim akan hilang kestabilannya pada lingkungan pelarut organik seperti metanol (Suhartono, 1989). Kholifah (2008) menyatakan penggunaan ekstrak metanol dapat menghambat aktivitas kerja enzim lipase. Penggunaan minyak jelantah sebagai substrat untuk sintesis metil ester dengan biokatalis ekstrak kasar lipase menunjukkan adanya penurunan aktivitas enzim yang signifikan, dimana semakin meningkat substrat (metanol) yang ditambahkan, maka aktivitas lipase semakin menurun. Penelitian Nurhaeni *et al.* (2017), yaitu pengujian ekstrak metanol daun pepaya (*Carica papaya L*) terhadap aktivitas enzim lipase menggunakan variasi konsentrasi metanol 0%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% didapatkan hasil konsentrasi terbaik sebagai menghambat aktivitas enzim lipase adalah 2% dengan aktivitas 3,67 U/ml menit.

Enzim lipase akan tidak aktif jika direaksikan dengan dengan metanol yang berkonsentrasi tinggi, sehingga dalam prosesnya penambahan metanol dilakukan secara bertahap (Amoah *et al.*, 2016). Pengaruh katalis terhadap yield yang dihasilkan yaitu semakin besar berat enzim maka semakin besar yield biodiesel yang dihasilkan. Enzim Lipase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam bioteknologi modern, dan terkenal memiliki aktivitas yang tinggi dalam reaksi hidrolisis pada kimia sintesis (Nenobahan, 2020). Penelitian Aznury *et al.* (2022) yaitu pengaruh metanol dalam produksi biodiesel dari *tamanu oil* menggunakan katalis lipase dengan variasi lipase 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%, menunjukkan hasil bahwa *Yield* tertinggi diperoleh pada katalis 4% dengan rasio 1:5 sebesar 87,67%. Pada rasio 1:3 didapat *yield* tertinggi pada katalis 5% sebesar 75,50%.

Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penambahan inhibitor metanol dan metil ester berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan. Penelitian tersebut belum mendapatkan variasi konsentrasi inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas enzim lipase dari ekstrak kasar buah sawit *over ripe*. Oleh karena itu, penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dijadikan acuan dalam penelitian ini agar dapat diketahui variasi konsentrasi inhibitor metanol dan metil ester dalam penghambatan aktivitas enzim lipase.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Terdapat pengaruh penambahan inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.
2. Terdapat variasi konsentrasi inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivitas enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.
3. Terdapat penghambatan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase tertinggi berdasarkan penambahan inhibitor metanol dan metil ester.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman dan Buah Kelapa Sawit

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jack) merupakan salah satu tanaman perkebunan penghasil minyak nabati yang telah menjadi komoditas pertanian utama dan unggulan di Indonesia. Menurut Sunarko (2009), keberhasilan pertumbuhan tanaman kelapa sawit sangat ditentukan oleh mutu bibit yang ditanam. Bibit yang pertumbuhannya baik memiliki daya adaptasi yang tinggi di lapangan. Salah satu faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan bibit, yaitu media tanam. Kelapa sawit dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah, tetapi pertumbuhan optimal akan tercapai jika sifat fisik dan kimia tanah yang terpenuhi, yaitu memiliki ketebalan tanah lebih dari 75 cm, tidak berbatu agar perkembangan akar tidak terganggu, drainase yang baik dan permukaan air tanah cukup dalam. Ketinggian lokasi perkebunan kelapa sawit yang ideal berkisar antara 0-500 m dpl yang memiliki curah hujan yang baik adalah 2000 – 2500 mm/tahun (Pahan, 2012).

Buah kelapa sawit merupakan bahan dasar dari minyak kelapa sawit yang diperoleh dengan metode ekstraksi. Buah sawit terdiri dari dua bagian utama yaitu perikarpium yang terdiri dari epikarpium dan mesokarpium, dan biji yang terdiri dari endokarpium, endosperm, dan embrio. Epikarpium adalah kulit buah yang keras dan licin, sedangkan mesokarpium yaitu daging buah yang berserat dan mengandung minyak dengan rendemen paling tinggi. Endokarpium merupakan tempurung berwarna hitam dan keras. Endosperm atau disebut juga kernel merupakan penghasil inti sawit, sedangkan embrio merupakan bakal tanaman (Siradjuddin, 2015).

Tanaman kelapa sawit menghasilkan rata-rata 20 – 22 tandan buah setiap tahun. Jumlah buah pertanda pada tanaman yang cukup tua mencapai 1.600 buah. Panjang buah antara 2-5 cm dan berat sekitar 20 - 30 g/buah (Fauzi *et al.*, 2012). Buah muda berwarna hijau pucat. Semakin tua berubah menjadi hijau hitam hingga kuning. Buah sawit yang masih mentah berwarna hitam (*nigrescens*), beberapa diantaranya berwarna hijau (*virescens*). Buah sawit yang matang berwarna merah kuning (*oranye*). Selanjutnya, buah matang akan rontok (Sunarko, 2009). Tingkat kematangan buah sawit tersebut disajikan dari warna fisiknya, kematangan juga dapat ditentukan secara kimia berdasarkan pada jumlah asam lemak bebas (ALB) yang terkandung di dalamnya. Fraksi tingkat kematangan buah sawit berdasarkan warna, jumlah brondolan, dan kadar ALB disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Fraksi tingkat kematangan buah sawit

Kategori	Warna Buah Sawit	Jumlah Brondolan	Warna Mesokarp Buah Sawit	Kadar ALB (%)	Rendemen (%)	Kadar Air (%)
Mentah	Hitam Keunguan	0	Kuning	0,4	22,5	86,9
Hampir Matang	Hitam Kejinggaan	0-5	Kuning Kejinggaan	0,8	23,5	59,0
Matang	Merah Kejinggaan	>10	Kuning Kejinggaan	1,9	24,5	44,0
Terlalu Matang	Jingga	>50% dari tandan	Kuning Kejinggaan	3,2	24,3	24,6

(Sumber : Yanuardi *et al.*, 2023; Mison *et al.*, 2020; Hasibuan, 2020)

2.2. Minyak Sawit

Minyak sawit merupakan salah satu jenis minyak yang sering digunakan dalam proses pengolahan pangan. Minyak sawit berasal dari ekstraksi mesokarp buah kelapa sawit yang dilanjutkan ke tahap pemurnian dan fraksinasi (Yustina dan Rahayu, 2014). Penelitian ini menggunakan minyak makan sawit sebagai substrat. Minyak sawit banyak digunakan karena harganya yang murah, tersedia dalam jumlah banyak, dan memiliki stabilitas terhadap oksidasi yang cukup tinggi

(Matthaus, 2007). Beberapa karakteristik yang dapat digunakan untuk menilai mutu minyak, yaitu asam lemak bebas (ALB), bilangan peroksida, warna minyak, bilangan asap, dan komposisi lemak. Konsentrasi asam lemak pada tiap jenis minyak umumnya berbeda-beda, menurut penelitian Jacoeb *et al.* (2015) minyak memiliki asam lemak dominan, asam lemak jenuh yang dominan yaitu asam miristat (C14:0), asam palmitat (C18:0) dan asam stearat (C18:0). Asam lemak tak jenuh tunggal yang dominan yaitu asam palmitoleat (C16:1) dan asam oleat (C18:1). Konsentrasi asam lemak minyak sawit disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Konsentrasi asam lemak pada minyak sawit

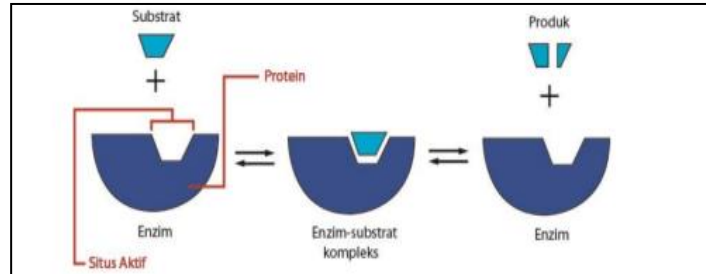
No	Jenis Asam Lemak	Konsentrasi Asam Lemak (%)
1.	Asam lemak jenuh	
	• Asam kaproat	0,4 - 0,6
	• Asam kaprilat	6,9 - 9,4
	• Asam kaprat	6,2 - 7,8
	• Asam laurat	45,9 - 50,3
	• Asam miristat	16,8 - 19,2
	• Asam palmitat	7,7 - 9,7
	• Asam streat	2,3 - 3,2
2.	Asam lemak tidak jenuh	
	• Asam oleat	5,4 - 7,4
	• Asam linoleat	1,3 - 2,1

(Sumber : Hambali *et al.*, 2007)

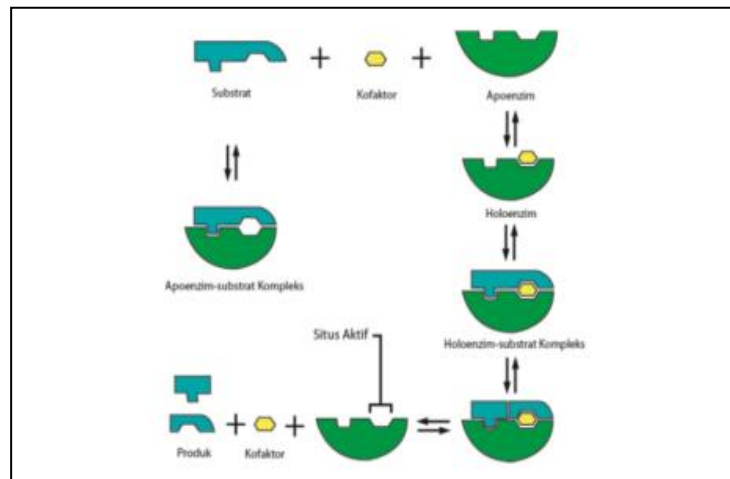
2.3. Enzim

Enzim adalah protein alami yang diproduksi dalam jumlah kecil oleh makhluk hidup (bakteri, tanaman, dan hewan) dan berfungsi sebagai katalis biokimia yang sangat selektif untuk mengkonversi satu molekul ke bentuk molekul lainnya. Enzim sangat penting untuk kehidupan karena enzim dapat mempercepat reaksi metabolisme dan tidak mengubah struktur pada enzim tersebut saat reaksi berlangsung. Enzim diketahui sangat sensitive terhadap perubahan kondisi lingkungan dan berfungsi pada rentang suhu tertentu dan pH (Al-Baarri *et al.*, 2016). Enzim tersusun atas protein dibuktikan dengan analisis kristalografi sinar X. Enzim dapat di susun dengan protein saja maupun protein kompleks, dan juga kombinasi antara protein (*apoprotein*) dan kofaktor (Sutrisno, 2017). Skematik

diagram enzim sederhana dan enzim dengan kofaktor disajikan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Skema diagram enzim sederhana tanpa kofaktor
(Sumber : Sutrisno, 2017)



Gambar 2. Skema diagram enzim dengan kofaktor
(Sumber : Sutrisno, 2017)

Enzim berfungsi sebagai katalis dengan mempercepat suatu reaksi terjadi. Enzim tidak mengalami perubahan struktur secara permanen, bersifat reversibel, dan dapat mengkatalisis beberapa reaksi. Enzim merupakan biokatalisator dalam sistem kehidupan, dengan enzim kecepatan reaksi bisa dipercepat dibandingkan dengan reaksi tanpa melibatkan enzim. Enzim mampu mempercepat reaksi dengan kondisi sedang (tidak ekstrim). Enzim mengkatalisis reaksi dengan tanpa mengalami perubahan yang permanen selama proses katalis, sehingga enzim yang

telah menghasilkan produk akan bereaksi kembali dengan substrat menghasilkan produk secara berulang-ulang hingga reaksi selesai.

Enzim merupakan biokatalis yang memiliki sifat-sifat unik, tetap aktif meskipun dalam jumlah yang sangat kecil dan memiliki aksi katalitik yang bersifat spesifik. Sifat enzim yang spesifik begitu penting dan menjadi kelebihan enzim dibandingkan dengan katalisator kimia. Sifat enzim yang spesifik ditunjukkan dengan dua model, yaitu model gembok-kunci (*lock and key*) dan model *induced fit*. Model gembok-kunci, enzim berinteraksi dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat, seperti interaksi kunci (substrat) yang masuk ke dalam gembok (enzim). Model *induced fit*, situs enzim aktif bersifat tidak kaku atau fleksibel, substrat menginduksi situs enzim untuk menyesuaikan dengan bentuk substrat yang ada sehingga tercipta kompleks enzim-substrat (Sutrisno, 2017).

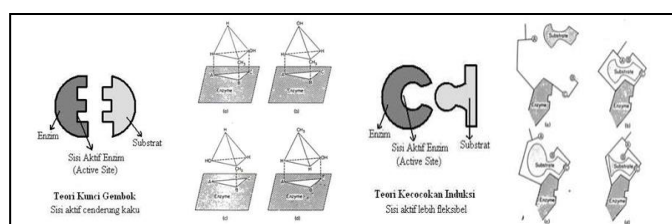
2.4. Mekanisme Kerja Enzim

Fungsi suatu enzim adalah sebagai katalis untuk proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun di luar sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat daripada apabila reaksi tersebut dilakukan tanpa katalis. Jadi enzim dapat berfungsi sebagai katalis yang sangat efisien, di samping itu mempunyai derajat kekhasan yang tinggi (Poedjiadi, 2006). Enzim berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat atau meningkatkan kecepatan reaksi kimia dengan jalan menurunkan energi aktivasinya. Kecepatan reaksi kimia dapat ditingkatkan dengan dilakukan peningkatan suhu reaksi. Enzim mempunyai kekhasan yaitu hanya bekerja pada satu reaksi saja. Suatu enzim mempunyai ukuran yang lebih besar daripada substratnya. Oleh karena itu tidak seluruh bagian enzim dapat berhubungan dengan substrat, bagian enzim yang mengadakan hubungan dengan substrat disebut bagian aktif (Poedjiadi, 2006).

Enzim bekerja dengan mengurangi energi aktivasi dari substrat tertentu. Mekanisme kerja enzim yaitu dengan terikat sementara ke substrat untuk

membentuk sebuah kompleks enzim substrat yang lebih tidak stabil, dibandingkan substrat yang berdiri sendiri. Selama berlangsungnya reaksi, enzim dilepaskan dalam keadaan tidak berubah. Pelepasan enzim tetap utuh sehingga bisa terus bereaksi dan menyebabkan enzim tetap efektif meski dalam jumlah yang sangat kecil. Kegiatan enzim dapat berlangsung dengan baik jika kondisi lingkungannya mendukung.

Cara kerja enzim terhadap substrat adalah dengan teori *lock and key* serta dengan teori kecocokan induksi (*Induced Fit*) diantara kedua teori ini memiliki kesamaan yaitu sifat ikatan substrat dan enzim adalah ikatan sementara dan akan segera terlepas setelah reaksi terjadi (Victor, 2014). Model kunci dan anak kunci menerangkan adanya kespesifikan suatu enzim. Kecocokan induksi reaksi antara enzim dengan substrat berlangsung karena adanya induksi substrat terhadap sisi aktif enzim sedemikian rupa sehingga keduanya merupakan struktur yang komplemen atau saling melengkapi. Model *induced fit* bereaksi antara enzim dengan substrat berlangsung karena adanya induksi substrat terhadap sisi aktif enzim sedemikian rupa sehingga keduanya merupakan struktur yang komplemen atau saling melengkapi. Teori *induced-fit* dapat menjelaskan pengaruh suatu inhibitor bersifat kompetitif atau non kompetitif disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Ilustrasi teori *lock and key* dan *induced fit*
(Sumber : Susanti, 2018)

2.5. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim

Kemampuan atau kerja enzim dalam mengkatalisis reaksi kimia dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti suhu, pH, waktu inkubasi, konsentrasi substrat dan enzim, aktivator, serta inhibitor.

2.5.1. Suhu

Suhu merupakan faktor penting yang sangat memengaruhi aktivitas kerja enzim. Enzim memiliki suhu optimal yang akan menunjukkan aktivitas katalitik maksimum. Aktivitas enzim akan terus meningkat sampai batas suhu tertentu. Batas suhu tersebut dinamakan suhu optimum, suhu yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim. Peningkatan suhu secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dianalisis enzim tersebut (Saropah *et al.*, 2012). Pada suhu tinggi laju reaksi akan tinggi juga, begitu pun dengan tekanannya. Pada suhu rendah aktivitas enzim akan sangat rendah karena energi kinetik yang sangat kecil (Noviyanti *et al.*, 2012). Suhu yang tinggi dapat mempercepat gerak molekul. Namun demikian, penggunaan suhu tidak selamanya baik dan tepat, karena tidak semua senyawa (reaktan) dapat tahan terhadap suhu yang tinggi. Selain dapat merusak reaktan, penggunaan suhu tinggi juga mengakibatkan biaya proses yang lebih besar.

2.5.2. pH

Tiap enzim memerlukan pH atau tingkat keasaman optimum yang berbeda, karena enzim adalah protein yang dapat mengalami perubahan bentuk jika tingkat keasaman berubah. Faktor pH merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim, dimana protein enzim akan mengalami denaturasi pada pH ekstrim tinggi atau rendah, dan juga dapat menyebabkan perubahan muatan pada enzim dan substrat. Perubahan pH lingkungan akan berpengaruh

terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat. Selain pH, faktor ini juga dapat menyebabkan proses denaturasi yang mengakibatkan penurunan aktivitas enzim. Pada suatu pH tertentu atau daerah pH yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi, maka pH tersebut dinamakan pH optimum. (Poedjiadi, 2006).

2.5.3. Waktu

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh waktu inkubasi, yaitu waktu yang dibutuhkan oleh enzim untuk berikatan dengan substrat. Penambahan waktu inkubasi akan meningkatkan aktivitas ekstrak kasar enzim. Sisi aktif enzim dalam mengikat substrat secara optimum membutuhkan waktu yang cukup. Aktivitas enzim yang belum optimal dalam membentuk kompleks enzim-substrat, maka perlu waktu untuk melepas produk dan jika proses enzimatis ini dihentikan maka produk yang dihasilkan belum optimal. Sebaliknya apabila waktu reaksi enzimatis sudah mencapai optimum dalam menghasilkan produk yang maksimum, dengan penambahan waktu inkubasi semakin lama aktivitas enzim akan mengalami penurunan. Produk yang dihasilkan dari reaksi enzimatis sebanding dengan lama waktu inkubasi, tetapi jika sisi aktif enzim telah jenuh oleh substrat, maka penambahan waktu inkubasi kurang berpengaruh terhadap jumlah produk, dimana produk yang dihasilkan hanya mengalami peningkatan yang relatif kecil (Susanti, 2012).

2.5.4. Konsentrasi Substrat dan Enzim

Kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi enzimnya maka semakin besar pula aktivitas enzim tersebut. Adanya konsentrasi enzim yang tetap, maka pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi (Poedjiadi, 2006). Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi

substrat diperbesar. Hal ini dikarenakan, untuk dapat membentuk kompleks enzim-substrat diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat.

2.5.5. Aktivator

Senyawa atau ion yang dapat mempercepat proses enzimatik dikenal sebagai aktivator. Aktivator enzim merupakan senyawa atau zat yang dapat meningkatkan aktivitas enzim dalam mengkatalisis reaksi hidrolisis protein oleh enzim (Rongan, 2024). Enzim membutuhkan aktivator untuk meningkatkan aktivitasnya. Biasanya aktivator berupa bahan anorganik yang berupa ion serta juga dapat berbentuk bahan organik yang biasanya disebut sebagai koenzim.

2.5.6. Inhibitor

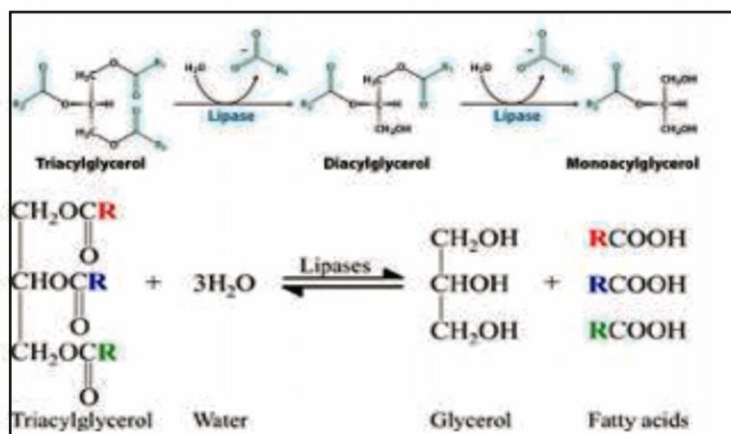
Inhibitor merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kerja enzim. Inhibitor atau zat penghambat ialah suatu senyawaan, ion, logam, yang menghambat aktivitas kerja enzimatik. Molekul inhibitor dapat berupa modifikasi gugus fungsi pada molekul enzim, molekul yang mirip dengan substrat. Inhibitor dapat mengurangi peluang bagi terbentuknya kompleks enzim substrat dan hal ini menyebabkan berkurangnya kecepatan reaksi (Poedjiadi, 2006).

Inhibitor dapat dihambat secara reversibel dan ireversibel. Ireversibel merupakan penghambatan kerja enzim dengan pembentukan atau pemecahan ikatan kovalen dalam enzim. Inhibitor ireversibel menonaktifkan enzim dengan mengikat ke sisi aktifnya dengan ikatan kovalen yang kuat. Inhibitor ireversibel secara permanen menonaktifkan enzim. Inhibitor ireversibel tidak menyerupai substrat sehingga penambahan substrat berlebih tidak membalik proses ini. Sedangkan inhibitor reversibel terbagi atas dua yakni kompetitif dan non kompetitif. Inhibitor kompetitif bersaing dengan substrat untuk terikat pada sisi aktif. Biasanya inhibitor kompetitif menyerupai substrat dan mengikat enzim membentuk kompleks enzim-substrat. Inhibitor ini dapat dicegah dengan penambahan

substrat. Inhibitor non kompetitif mengikat enzim di tempat lain selain sisi aktif. Inhibitor non kompetitif tidak bersaing langsung dengan substrat, tetapi dengan mengubah struktur enzim agar tidak dapat berikatan dengan substrat (Fikri *et al.*, 2014).

2.6. Enzim Lipase

Enzim lipase atau asilgliserol hidrolase (E.C 3.1.1.3) adalah enzim yang mampu menghidrolisis trigliserida rantai panjang. Enzim lipase termasuk dalam enzim induktif yang sangat dipengaruhi oleh adanya konsentrasi minyak atau lemak di dalam substrat (Sarjono *et al.*, 2022). Salah satu karakteristik utama dari lipase, yaitu enzim ini dapat bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisisnya. Lipase cenderung bersifat polar, sedangkan substratnya berupa senyawa non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fasa yang larut dalam air dan fasa minyak dari substratnya (Dali *et al.*, 2010). Lipase merupakan protein kompleks yang berfungsi sebagai biokatalisator. Fungsi enzim sebagai biokatalisator yaitu mempercepat reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi sehingga reaksi dapat berlangsung lebih cepat pada suhu atau kondisi normal. Enzim lipase merupakan enzim hidrolase yang berfungsi sebagai biokatalis dalam hidrolisis lemak mono-, di-, dan trigliserida menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Reaksi hidrolisis oleh enzim lipase disajikan pada Gambar 4.



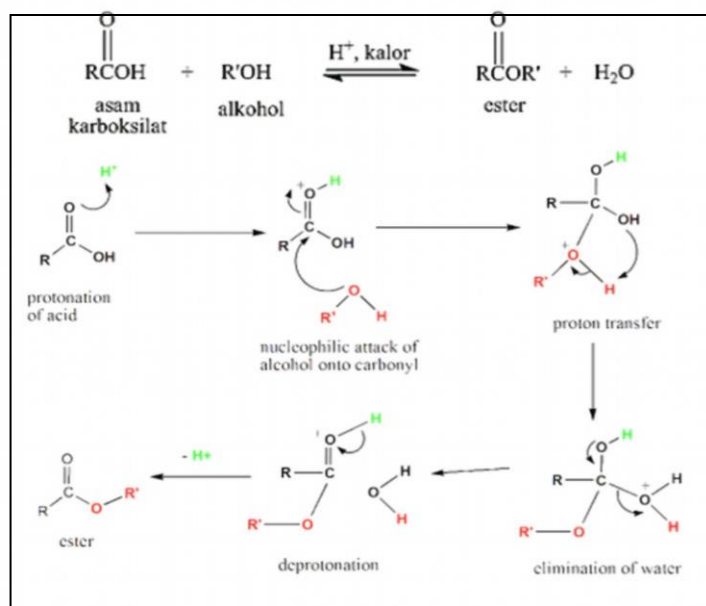
Gambar 4. Reaksi hidrolisis oleh enzim lipase
(Sumber : Sarjono *et al.*, 2022)

2.7. Pemanfaatan Enzim Lipase

Enzim memegang peranan penting dalam dunia industri seperti industri tekstil, detergen, bahan pangan, dan minuman, bahan kimia, obat-obatan dan industri kulit. Pemanfaatan enzim yang berasal dari mikroorganisme lebih menguntungkan karena lebih mudah berkembang biak dalam waktu yang relatif singkat dan tidak memerlukan tempat yang luas, termasuk enzim lipase. Lipase atau disebut juga triasilgliserol hidrolase, merupakan enzim yang penting dalam bidang bioteknologi, dan memiliki banyak aplikasi di bidang industri. Kelebihan metode dengan menggunakan enzim lipase yaitu mudahnya dalam pemisahan gliserol yang dihasilkan sebagai produk samping dan pemurnian dilakukan dengan sederhana. Kelemahan dari penggunaan enzim lipase adalah terjadinya inaktivasi enzim oleh metanol selama reaksi transesterifikasi sehingga methanol harus ditambahkan secara bertahap (Mumtaz *et al.*, 2017). Lipase mampu mengkatalisis reaksi esterifikasi dan transesterifikasi (Sholeha dan Agustini, 2021).

Reaksi esterifikasi merupakan reaksi antara asam lemak bebas dan metanol dengan katalis enzim sehingga menghasilkan metil ester (biodiesel) dan air (Jayaraman *et al.*, 2020). Esterifikasi merupakan proses mereaksikan asam karboksilat dengan alkohol rantai pendek (metanol atau etanol) untuk

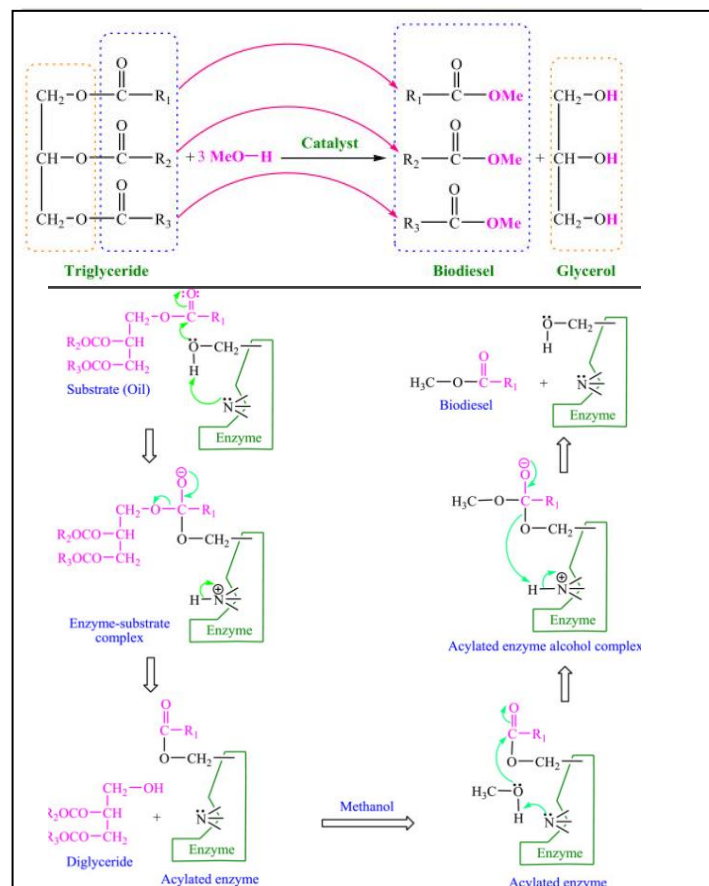
menghasilkan *fatty acid methyl ester* (FAME) dengan produk samping berupa air (Prihanto dan Rahayu, 2015). Esterifikasi asam lemak bebas langkah untuk awal mengurangi asam lemak bebas yang dikonversi menjadi metil ester. Esterifikasi asam lemak bebas dan methanol dilakukan dengan katalis asam yang akan berlangsung dengan cepat, hasil yang diperoleh adalah campuran trigliserida dengan metil ester (Van Gerpen *et al.*, 2004). Katalis asam yang biasa digunakan dalam reaksi esterifikasi adalah H_2SO_4 . Menurut Talukder *et al.* (2010), katalis asam mampu secara simultan mengkatalisis esterifikasi asam lemak dan metanolisis trigliserida. Esterifikasi merupakan reaksi bolak-balik yang relatif lambat, sehingga untuk mempercepat jalannya reaksi dan meningkatkan hasil, dilakukan pengadukan yang baik, penambahan katalis untuk menurunkan energi aktivasi dan pemberian reaktan yang berlebihan agar reaksi bergeser ke arah kanan. Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi
(Sumber : Canacki dan Gerpen, 1999)

Transesterifikasi adalah suatu reaksi yang menghasilkan ester dimana salah satu pereaksinya juga merupakan senyawa ester. Reaksi antara minyak (trigliserida) dan alkohol adalah merupakan reaksi transesterifikasi (Darnoko dan Cheryan,

2000). Metode transesterifikasi juga memiliki keterbatasan yaitu sensitif terhadap kemurnian dari reaktan, kadar asam lemak bebas (ALB), dan kandungan air reaktan. Transesterifikasi merupakan proses transformasi kimia molekul trigliserida yang besar, bercabang dari minyak nabati dan lemak menjadi molekul yang lebih kecil, molekul rantai lurus, dan hampir sama dengan molekul dalam bahan bakar diesel. Minyak nabati atau lemak hewani bereaksi dengan alkohol (biasanya metanol) dengan bantuan katalis (biasanya basa) yang menghasilkan alkil ester (atau untuk metanol, metil ester) (Ishaq, 2021). Persamaan reaksi dan mekanisme transesterifikasi disajikan pada Gambar 6.



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

2.8. Aktivitas Enzim Lipase

Aktivitas enzim lipase menyatakan jumlah enzim yang mampu menghidrolisis sejumlah lemak dan minyak dalam satu satuan waktu. Satu unit lipase per ml (U/ml) menyatakan banyaknya enzim lipase yang dapat melepaskan 1 U (1×10^6 mol) asam lemak bebas per menit (Murni *et al.*, 2011). Cara menentukan aktivitas enzim lipase pada penelitian ini dengan menggunakan metode titrimetri.

Metode titrimetri merupakan metode kuantitatif dimana larutan baku dan larutan yang dititrasi digunakan suatu zat kimia yang dikenal sebagai indikator dengan adanya perubahan warna dan campuran homogeny (Wibisono, 2018). Batas titrasi ditandai dengan penambahan indikator fenolftalein (PP) yang akan memberikan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi warna merah muda yang bertahan selama 30 detik. Nilai aktivitas lipase dihitung berdasarkan selisih volume titran sampel dengan blanko (standar). Titrasi dilakukan setelah campuran enzim dan substrat diinkubasi dan dihentikan reaksinya dengan penambahan larutan campuran aseton dan etanol (1:1), tetapi pada penelitian ini pemberhentian aktivitasnya dilakukan dengan cara memasukkan campuran enzim dan substrat ke dalam lemari pendingin. Metode titrimetri ini banyak digunakan karena kemudahan dan keakuratannya.

III. METODOLOGI

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian dan Laboratorium Pengelolaan Limbah Agroindustri Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Desember 2024 sampai dengan Februari 2025.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah buah sawit *over ripe* dan minyak goreng sawit. Bahan-bahan lainnya adalah larutan *buffer* pH 7, metanol, aseton, etanol, NaOH, indikator phenolpetalien (PP). Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beaker 50 ml; 100 ml; dan 500 ml, gelas ukur 25 ml; 50 ml; dan 100 ml, labu Erlenmeyer 250 ml, blender, labu destilasi, labu tiga leher, *hot plate*, *magnetic stirrer*, timbangan analitik, oven, desikator, cawan porselen, pipet tetes, pipet gondok, termometer, kertas saring, corong pisah, corong gelas, buret, statif dan klem, *aluminium foil*, *centrifuge*, dan *waterbath shaker*.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) disusun secara faktorial 2x4x3 dalam taraf berbeda. Faktor metanol terdiri dari dua taraf yaitu 0% (M1) dan 2% (M2). Faktor rasio metil ester

terdiri dari 4 taraf yaitu 0% (E1), 2% (E2), 4% (E3), 6% (E4). Kedua faktor dikombinasikan sehingga diperoleh 8 perlakuan (t), dengan jumlah ulangan (r) $(t-1)(r-1) \geq 15$, $(9-1)(3-1) \geq 15$, sehingga setidaknya terdapat 3 (tiga) ulangan. Total pengulangan keseluruhan adalah 24 perlakuan. Kombinasi antar perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kombinasi perlakuan

Metanol	Metil Ester			
	0% (E1)	2% (E2)	4% (E3)	6% (E4)
0% (M1)	E1M1	E2M1	E3M1	E4M1
2% (M2)	E1M2	E2M2	E3M2	E4M2

Data yang dihasilkan akan dilakukan analisis ragam untuk memperoleh penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui pengaruh antara perlakuan. Kemudian, untuk mengetahui perlakuan terbaik dilakukan uji lanjut dengan Ortogonal Polinomial (OP).

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Karakterisasi Minyak Sawit

1. Analisis kadar air

Prosedur penentuan kadar air merujuk pada penelitian Lesteri *et al.* (2018), menggunakan oven dengan pemanasan suhu 105°C selama 30 menit dan dimasukkan ke dalam desikator kurang lebih selama 20 menit, kemudian ditimbang dengan neraca analitik untuk mendapatkan berat awal (W0) dari cawan yang digunakan, selanjutnya masukkan 1-5 g sampel minyak ke dalam cawan lalu ditimbang (W1). Panaskan sampel ke dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Selanjutnya cawan berisi sampel didinginkan di dalam desikator selama 20 menit kemudian timbang (W2). Prosedur diulang sebanyak tiga kali

hingga diperoleh bobot tetap. Hitung kadar air dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Kadar Air} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\% \dots (1)$$

Keterangan:

W0 = Bobot cawan kosong dan tutupnya (g)
 W1 = Bobot cawan, tutupnya + sampel sebelum dikeringkan (g)
 W2 = Bobot cawan, tutupnya + sampel setelah dikeringkan (g)

2. Analisis kadar asam lemak bebas

Analisis kadar asam lemak bebas dilakukan mengikuti SNI-7709-2019 dengan proses titrimetri. Prinsip analisis kadar asam lemak bebas yaitu pelarutan sampel dalam pelarut organik. Prosedur kerja diawali dengan ditimbang sebanyak 28-56 g minyak jelantah, dimasukkan ke labu Erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan 50 ml etanol 95% hangat. Kemudian, ditambahkan 5 tetes indikator fenolftalein dan dilakukan titrasi menggunakan larutan titar (KOH 0,1 N) dengan cara mengoyangkan labu Erlenmeyer hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang stabil minimal 30 detik. Dicatat volume larutan NaOH yang diperlukan. Perhitungan kadar asam lemak bebas dilakukan menggunakan rumus berikut:

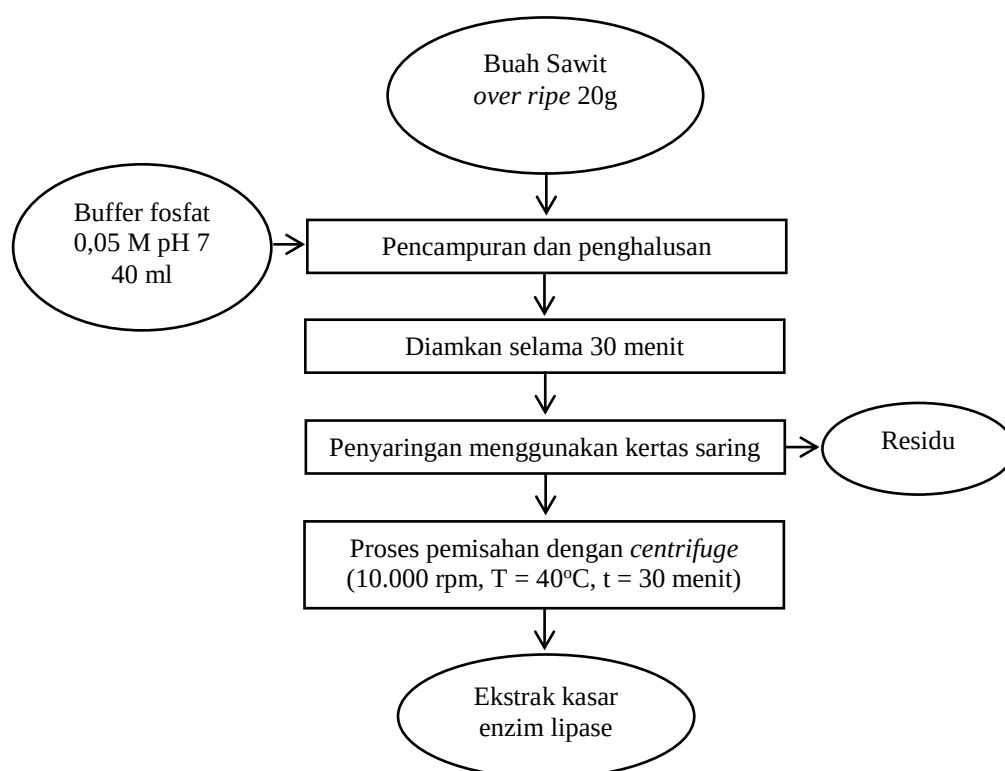
$$\text{Kadar Asam Lemak Bebas} = \frac{25,6 \times N \times V}{W} \times 100\% \dots (2)$$

Keterangan:

25,6 = Konstanta untuk menghitung kadar ALB sebagai asam palmitat
 N = Normalitas NaOH
 V = Volume NaOH (ml)
 W = Bobot sampel (g)

3.4.2. Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Lipase Buah Sawit

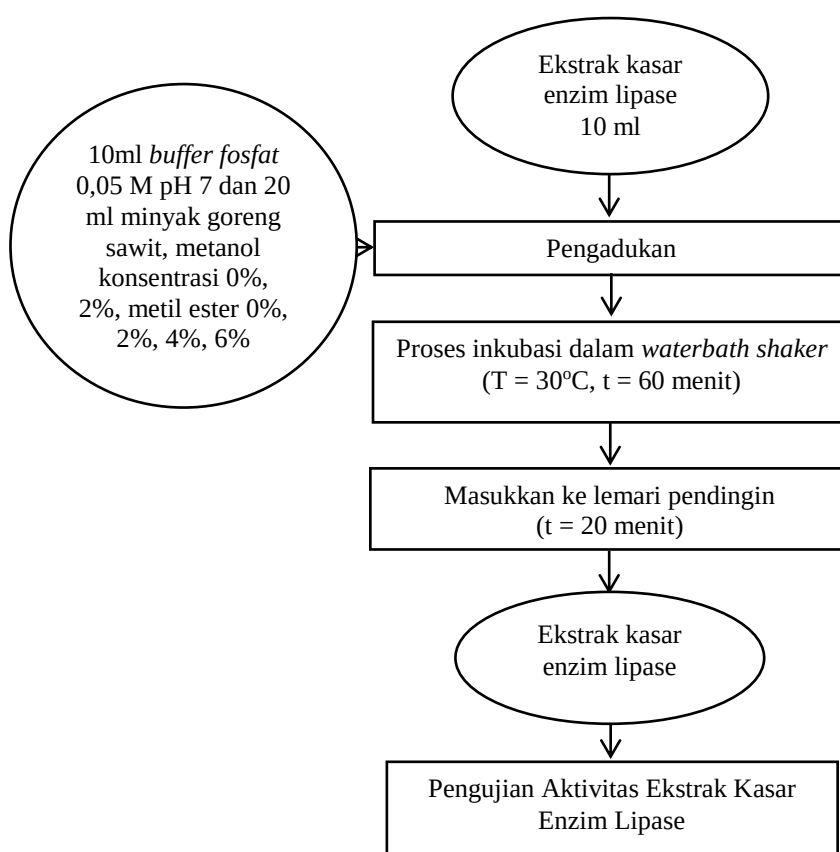
Proses isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dilakukan berdasarkan penelitian Pomeistia dan Bayani (2021) yang dimodifikasi. Persiapan isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dilakukan dengan tahap awal ditimbang buah sawit sebanyak 20 g, kemudian dicampurkan *buffer fosfat* 0,05 M pH 7 sebanyak 40 ml dan dihaluskan dengan cara ditumbuk menggunakan cawan porselen, kemudian didiamkan selama 30 menit. Lalu, disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu, selanjutnya dilakukan proses pemisahan menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 40°C selama 30 menit sehingga dihasilkan ekstrak kasar enzim lipase. Prosedur kerja pada isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit *over ripe* (Sumber : Pomeistia dan Bayani, 2021 yang dimodifikasi)

3.4.3. Daya Hambat Enzim Lipase

Penelitian inti dilakukan dengan penambahan inhibitor metanol dan metil ester. Prosedur kerja diawali dengan disiapkan ekstrak kasar enzim lipase 10 ml yang dimasukkan kedalam Erlenmeyer dan ditambahkan 10 ml *buffer fosfat* 0,05 M pH 7 ml dan 20 ml minyak goreng, kemudian masukkan metanol dengan variasi konsentrasi yaitu 0% dan 2%, juga metil ester dengan variasi 0%, 2%, 4%, 6% lalu lakukan pengadukan. Setelah itu, diinkubasi dalam *waterbath shaker* pada suhu 40°C selama 60 menit, setelah selesai inkubasi ekstrak kasar enzim lipase tersebut langsung dimasukan ke dalam lemari pendingin selama 20 menit. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim lipase. Diagram alir penambahan inhibitor metanol dan metil ester terhadap aktivasi ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe* disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir penelitian inti
(Sumber : Nenobahan *et al.*, 2020 yang dimodifikasi)

3.5. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase

Uji aktivitas lipase dilakukan dengan metode titrimetri (titrasi asam basa) menurut penelitian Hendrik *et al.* (2020). Sampel hasil hidrolisis ditambahkan indikator phenolptalien sebanyak 5 (lima) tetes, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,05 M sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda, dengan ulangan sebanyak 3 (tiga) kali. Aktivitas lipase menyatakan jumlah enzim yang mampu menghidrolisis jumlah lemak dan minyak dalam satuan waktu. Penentuan blanko dilakukan dengan komposisi larutan yang sama, tetapi tidak diinkubasi dalam *waterbath shaker* sehingga langsung blanko langsung dimasukkan ke dalam lemari pendingin, lalu titrasi dengan prosedur yang sama dengan analisis sampel. Aktivitas ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{(V_{\text{sampel}} - V_{\text{blanko}}) \times N \times 1000}{V_{\text{enzim}} \times t} \dots (3)$$

Keterangan :

V sampel	: Volume NaOH sampel (ml)
V blanko	: Volume NaOH blanko (ml)
N	: Normalitas NaOH
V enzim	: Volume enzim (ml)
t	: Waktu inkubasi (menit)
1000	: Nilai konversi dari mmol ke dalam satuan U

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut ;

1. Variabel metil ester dan metanol berpengaruh nyata terhadap penghambatan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe*.
2. Konsentrasi metil ester dan metanol tertinggi sebagai penghambat aktivitas enzim lipase pada perlakuan metanol 0% yaitu pada konsentrasi 1,65% dengan aktivitas yang terhambat menjadi 1,29 U/ml dan pada perlakuan metanol 2% yaitu pada konsentrasi 5,06% dengan aktivitas yang terhambat menjadi 0,97 U/ml.
3. Penghambatan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase tertinggi pada perlakuan penambahan inhibitor metil ester 6% dengan metanol 2% yaitu sebesar 0,97 U/ml.

5.2. Saran

Penelitian lebih lanjut yang dapat dilakukan mengenai pengaruh penambahan inhibitor terhadap aktivitas kasar enzim lipase dari buah sawit *over ripe*. Selain itu, pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pemurnian ekstrak kasar enzim lipase untuk mendapatkan aktivitas enzim yang lebih tinggi. Melakukan variasi konsentrasi apabila menggunakan inhibitor metil ester dan metanol.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Baarri, A.N.M., Legowo, A. M., Siregar, R.F., Azhar, H.N., Utomo, A.R.C., dan Budiman, F.F. 2016. Teknik pengambilan enzim dari berbagai sumber. Semarang. 61 hal.
- Amoah, J., Ho, S.H., Hama, S., Yoshida, A., Nakanishi, A., Hasunuma, T., Ogino, C., and Kondo, A. 2016. Conversion of chlamydomonas sp. jsc4 lipids to biodiesel using fusarium heterosporum lipase-expressing aspergillus oryzae whole-cell as biocatalyst. *Biochemical Engineering Journal*. 105: 10-15.
- Aznury, M., Zikri, A., Junaidi, R., Lupikawaty, M., dan Oktariyensi, C. 2022. Pengaruh metanol dalam produksi biodiesel dari tamanu oil menggunakan katalis lipase. *Jurnal Selulosa*, 12(1), 33-40.
- Canacki, M., and Gerpen, V.J. 1999. Biodiesel production via acid catalysis. *Trans ASAE*. 42(5): 1203-121.
- Darnoko, D., and Cheryan, M. 2000. Continuous production of palm metyl ester. *Journal Am.Oil Chem.Soc*. 77: 1269-1972.
- Djarkasi, G. S., Raharjo, S., Noor, Z. 2017. Isolasi dan akitivitas spesifik enzim lipase *indigenous* biji kenari. *Jurnal Teknologi Pertanian (Agricultural Technology Journal)*. 8(1).
- Fachrial, E. 2022. Pengantar teknik laboratorium mikrobiologi dan pengenalan bakteri asam laktat. *Publis Penerbit Unpri Press*, 1-78.
- Fauzi, Y., Widyastuti, Y. E., Satyawibawa, I., dan Paeru, R. H. 2012. Kelapa Sawit. Penebar Swadaya Grup. Jakarta. 236 hal.
- Hasan, F., Shah, A. A., & Hameed, A. 2006. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2), 235–240.
- Hendrik, G., Ledo, M. E. S., dan Nitsae, M. 2020. Aktivitas hidrolisis ekstrak kasar lipase dari kecambah biji kesambi (*Schleichera oleosa L*) dengan variasi waktu perkecambahan. *Sciscitatio*. 1(2): 94-100.
- .

- Hutasoit, N., Ina, P. T., dan Permana, I. D. G. M. 2017. Optimasi pH dan suhu pada aktivitas enzim lipase dari biji kakao (*Theobroma cacao L.*) berkapang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 5(2): 95-102
- Idris, R., Furihata, K., Hata, Y., Iwasaki., and Yamane, T. 2005. Utilization of reaction medium dependent regiospecifity of candida antartica lipase (novozyme 435) for the synthesis of 1,3-dicapryloyl-2-docosaheaxenoyl (or eicosapentaenoyl) glycerol. *Journal Am. Oil. Chem. Soc.* 78 (3): 285–289
- Ishaq, M. 2021. Pengaruh katalis KOH terhadap kualitas sintesis biodiesel minyak jelantah. *Jurnal Saintis*, 2(2), 65-71.
- Iso, M., Chen, B., Eguchi, M., Kudo, T., and Shrestha, S. 2001. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 16(1): 53–58.
- Jayaraman, J., Alagu, K., Appavu, P., Joy, N., Jayaram, P., and Mariadoss, A. 2020. Enzymatic production of biodiesel using lipase catalyst and testing of an unmodified compression ignition engine using its blend with diesel. *Journal Renewable Energy*. 145: 399-407.
- Jeyarani, S., Iwasaki, Y., and Hou, C.T. 2010. Study of ethanolysis to 2-mag immobilized candida antartica lipase and synthesis of symmetrically structured tag. *Journal Am. Oil. Chem. Soc.* 79 (9): 879 –883.
- Kholifah, N. 2008. Pengaruh ekstrak alkaloid dari daun dewa (*Gynura pseudo-cina L*) (DC)) terhadap aktivitas enzim lipase. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Negeri Malang. Malang. 109 hal.
- Legasari, L., Riandi, R., Febriani, W., dan Pratama, R. A. 2023. Analisis kadar air dan asam lemak bebas pada produk minyak goreng dengan metode gravimetri dan volumetri. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. 6(2): 51-58.
- Mardiana, A. Adriani, dan F. Ridha. 2020. Analisa kadar asam lemak bebas dalam minyak goreng curah secara alkalimetri. 1(1): 11–13.
- Marlina, L., dan Ramdan, I. 2019. Identifikasi kadar asam lemak bebas pada berbagai jenis minyak goreng nabati. *Jurnal Tedc*. 11(1): 53-59.
- Matthaus, B. 2007. Use of palm oil for frying in comparison with other high-stability oils. *European Journal of Lipid Science and Techonology*. 109(4), 400-409.

- Meher, L.C., Sagar, D.V., and Naik, S.N. 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, Volume 10, Issue 3, Pages 248–268
- Mulyadi, D., dan Asmara, Y. 2013. Identifikasi potensi enzim lipase dan selulase pada sampah kulit buah hasil fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 18(3): 159-166.
- Mumtaz, M.W., Adnan, A., Muhktar, H., Rashid, U., and Danish, M. 2017. Chapter fifteen-biodiesel production through chemical and biochemical transesterification: trends, technicalities, and future perspectives. *Clean Energy for Sustainable Development*. 465-485.
- Murni, S. W., Kholisoh, S. D., DL, T., dan EM, P. 2011. Produksi, karakterisasi dan isolasi lipase dari *Aspergillus Niger*. In *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”*. 7 hal.
- Nenobahan, M. A., Ledo, M. E., dan Nitsae, M. 2020. Pembuatan biodiesel minyak jelantah menggunakan biokatalis ekstrak kasar lipase dari biji kesambi (*Schleichera oleosa L.*). *Jurnal Saintek Lahan Kering*. 3(1):20-25.
- Noviyanti, T., Ardiningsih, P., dan Rahmalia, W. 2012. Pengaruh temperatur terhadap aktivitas enzim protease dari daun sansakng (*Pycnarrhena cauliflora Diels*). *JKK*. 1(1): 31–34.
- Nur, F. 2018. Uji aktivitas enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus niger* pada kombinasi pH dan suhu yang bervariasi. *Jurnal Teknosains*. 12(1): 28-38.
- Nurhaeni, N., Ridhay, A., dan Magfira, M. 2017. Pengaruh ekstrak metanol daun pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap aktivitas enzim lipase. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 3(3): 211-222.
- Nurhasnawati, R., Supriningrum, N., dan Caesariana. 2015. Penetapan kadar asam lemak bebas yang digunakan pedagang gorengan. 1(1): 25–30.
- Pahan, I. 2012. Panduan teknis budidaya kelapa sawit. Penebar Swadaya Grup. 116 hal.
- Pera, L. M., Romero, C. M., Baigori, M. D., and Castro, G. R. 2006. Catalytic properties of lipase extracts from *Aspergillus niger*. *Food Technology and Biotechnology*. 44(2):247–252.
- Poedjiadi, A., dan Supriyanti, F. T. 2006. Dasar-dasar biokimia edisi revisi. *UI-Press. Jakarta*.
- Pomeistia, N., dan Bayani, F. 2021. Uji aktivitas enzim lipase dari kecambah biji ketapang, biji rambutan, biji alpukat, palm putri dan biji durian. *Jurnal Sanitasi dan Lingkungan*. 2(1): 99-103.

- Pranata, D., Ardiningsih, P., Rahmalia, W., Nurlina, dan Syahbanu, I. 2020. Ekstraksi minyak kelapa murni dengan metode pengadukan dan cold pressed (virgin coconut oil extraction with stirring and cold pressed method). *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*. 11(2): 11-17
- Prihanto, A., dan Rahayu, L. H. 2015. Pembuatan biodiesel dari minyak biji nyamplung melalui esterifikasi, netralisasi dan transesterifikasi. *momentum*. 11(1): 1-6.
- Rantawi, A. B., Mahfud, A., dan Situmorang, E. R. 2017. Korelasi antara kadar air pada kernel terhadap mutu kadar asam lemak bebas produk palm kernel oil yang dihasilkan (Studi kasus pada pt xyz). *Industrial Engineering Journal*. 6(1).
- Riandi, R., Febriani, W., & Pratama, R. A. 2023. Analisis Kadar Air dan Asam Lemak Bebas pada Produk Minyak Goreng dengan Metode Gravimetri dan Volumetri. *Jurnal Redoks: Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 6(2), 51-58.
- Rohim, H. N. 2015. Pengaruh Pemberian Serbuk Kunyit Terhadap Kadar Bilangan Asam Pada Minyak Goreng Bekas Pakai (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surabaya). 92 hal.
- Sani, N.A.A., Basri, M., Abdul Rahman, R. N. Z. R., Salleh, A. B., and Raja Abd Rahman, R. N. 2014. Production and characterization of lipase from overripe oil palm fruit mesocarp for biodiesel production. *Journal of Molecular Catalysis B : Enzymatic*. (107): 124-130.
- Sarjono, P. R., Ismiyarto, I., dan Prasetya, N. B. A. 2022. Bakteri endofit F4 dari daun pepaya (*Carica papaya L*): potensinya sebagai penghasil enzim ekstraseluler. *Journal of Environmental Chemistry*. 2(1): 1-7.
- Setiawan, K. 2019. Buku Ajar Metodologi Penelitian. Lampung: Universitas Lampung. 24 hal.
- Saropah, D. 2012. Penentuan kondisi optimal ekstrak kasar selulase bakteri selulolitik hasil isolasi dari bekatul. *Skripsi*. Malang: UIN Malang. 11 hal.
- Sharma, R., Chisti, Y., and Banerjee, U.C. 2001. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*. 19(8): 627–662.
- Sholeha, R., dan Agustini, R. 2021. Lipase biji-bijian dan karakteristiknya. *Journal of Chemistry*. 10(2): 168-183.
- Suhartono, M.T. 1989. Enzim dan bioteknologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 262-72.

- Sunarko. 2009. *Budidaya dan pengolahan kebun kelapa sawit dengan sistem kemitraan*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 178 hal.
- Susanti, E. 2012. Production optimization and cellulose system characterization of *Bacillus circulans* local strain using inducer avicel. *Jurnal Ilmu Dasar*. 12(1): 40-49.
- Susanti, R., dan Fibriana, F. 2018. *Teknologi enzim*. Penerbit Andi. 210 hal.
- Sutrisno, A. 2017. *Teknologi enzim*. Universitas Brawijaya Press. 130 hal.
- Talukder, M.M.R., Wu, J.C., and Chua, L.P.L. 2010. Conversion of waste cooking oil to biodiesel via enzymatic hydrolysis followed by chemical esterification. *Energy Fuel*. 24(3): 2016-2019.
- Ugroseno, R., dan Wachjar, A. 2017. Manajemen pemanenan dan penanganan pasca panen kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) di Teluk Siak Estate, Riau. *Buletin Agrohorti*. 5(3): 309-315.
- Van Gerpen, J., Shanks, B., and Pruszko, R.. 2004. *Biodiesel production technology, national renewable energy laboratory, Collorado*. 110 hal.
- Victor, W, Rodwel. 2014. *Biokimia harper edisi 30*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Jakarta. 866 hal.
- Villeneuve, P. 2003. Plant lipases and their application in oils and fats modification. *Eur J. Lipid Sci. Technology*. 105(6): 308.
- Wibisono, I.C. 2018. Penetapan kadar surfaktan anionik pada deterjen cuci cair secara metode titrimetri. *Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*. 2(2): 27-31.
- Wijaya, E., Indriyanti, R., Rinawati, Utami, R.N., Negsih, T.A. 2024. *Pengantar Statistika Konsep Dasar untuk Analisis Data*. PT Sonpedia Publishing Indonesia. Jambi. 182 hal.
- Winarno, F. G. 1989. *Enzim Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 113 hal.
- Wuryanti, W. 2004. Isolasi dan penentuan aktivias spesifik enzim bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus* L.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 7(3): 78-82.
- Yanuardi, D., Saktioto, S., Syahputra, R.F., Defrianto, D., dan Soerbakti, Y. 2023. Analisis tingkat kematangan buah sawit dengan injeksi tegangan searah. *Indonesian Physics Communication*. 20(2): 109-114.