

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI ENZIM LIPASE DARI ISOLAT BAKTERI LOKAL *Bacillus cereus* ALP E1 MENGGUNAKAN LIMBAH KULIT ARI BIJI KAKAO MELALUI PENDEKATAN *Response Surface Methodology*

Oleh

ALIF ZIDANE NUGRAHA

Lipase adalah enzim hidrolase yang menguraikan trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas, dengan aplikasi luas di industri pangan, deterjen, kosmetik, dan pengolahan limbah. Limbah kulit ari biji kakao mengandung serat, protein, lemak, dan polifenol sebagai nutrisi mikroba sehingga dapat digunakan sebagai media bagi bakteri dalam memproduksi lipase. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari penggunaan limbah kulit ari biji kakao sebagai media pertumbuhan dan menentukan kondisi optimum produksi enzim lipase dari isolat *Bacillus cereus* ALP E1 melalui pendekatan RSM.

Penelitian dilakukan dengan tahap peremajaan isolat pada media *Nutrient Agar*, dan penentuan kurva aktivitas lipolitik pada variasi waktu produksi serta konsentrasi inokulum dan optimasi produksi enzim lipase pada variasi pH, konsentrasi limbah dan kecepatan agitasi menggunakan RSM. Aktivitas lipase diuji menggunakan *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP) dengan spektrofotometer UV-Vis 410 nm, sedangkan kadar protein ditentukan dengan metode *Lowry*. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan rancangan *Central Composite Design* (CCD) pada perangkat lunak *Design Expert 13*.

Hasil menunjukkan bahwa pada waktu optimum *Bacillus cereus* ALP E1 memproduksi enzim lipase pada jam ke 48, konsentrasi inokulum 5%, kemudian melalui pendekatan RSM diperoleh kondisi produksi lipase pada pH 8, konsentrasi limbah 1%, dan kecepatan agitasi 100 rpm dengan persamaan polinomial yaitu $Y = 31,06 + 9,38A - 8,42B - 9,30C$. Produksi enzim pada kondisi optimum diperoleh aktivitas lipase 58,3373 U/mL dengan kadar protein 1,0264 mg/mL dan aktivitas spesifik 56,8382 U/mg. Hasil ini menunjukkan bahwa limbah kulit ari biji kakao berpotensi sebagai alternatif media pertumbuhan bagi *Bacillus cereus* ALP E1 dalam produksi enzim lipase.

Kata kunci: *Bacillus cereus*, limbah kulit ari biji kakao, industri, lipase, RSM

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF LIPASE ENZYME PRODUCTION FROM LOCAL *Bacillus cereus* ALP E1 ISOLATE USING COCOA BEAN SHELL WASTE THROUGH *Response Surface Methodology*

By

ALIF ZIDANE NUGRAHA

Lipase is a hydrolase enzyme that catalyzes the breakdown of triglycerides into glycerol and free fatty acids, with wide applications in the food, detergent, cosmetic, and wastewater treatment industries. Cocoa bean shell waste contains fiber, protein, lipids, and polyphenols that serve as nutrients for microbial growth, making it a potential alternative substrate for bacterial lipase production. This research aimed to evaluate the use of cocoa bean shell waste as a growth medium and to determine the optimum conditions for lipase production by the *Bacillus cereus* ALP E1 isolate using a Response Surface Methodology (RSM) approach.

The study was conducted through several stages, including rejuvenation of the bacterial isolate on Nutrient Agar, determination of the lipolytic activity curve at various production times and inoculum concentrations, followed by optimization of enzyme production under varying pH levels, substrate concentrations, and agitation speeds using RSM. Lipase activity was measured using *p*-nitrophenyl palmitate (p-NPP) as a substrate and analyzed with a UV–Vis spectrophotometer at 410 nm, while protein content was determined using the Lowry method. The obtained data were analyzed using the Central Composite Design (CCD) approach in Design Expert 13 software.

The results indicated that the optimum production time for lipase by *Bacillus cereus* ALP E1 was at 48 hours with a 5% inoculum concentration. The RSM analysis further revealed that the optimal conditions for lipase production were pH 8, 1% substrate concentration, and 100 rpm agitation speed, with a polynomial regression equation of $Y = 31.06 + 9.38A - 8.42B - 9.30C$. Under these optimized conditions, lipase production yielded an activity of 58.3373 U/mL with a protein concentration of 1.0264 mg/mL and a specific activity of 56.8382 U/mg. These findings demonstrate that cocoa bean shell waste has strong potential as an alternative growth medium for *Bacillus cereus* ALP E1 in lipase enzyme production.

Keywords: *Bacillus cereus*, cocoa bean shell waste, industry, lipase, RSM