

**ISOLASI LIPASE DARI BAKTERI PADA LIMBAH CAIR
RUMAH PEMOTONGAN HEWAN (RPH) DAN
POTENSINYA SEBAGAI BAHAN ADITIF
BIODETERGEN**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Amir
16630046

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2021**



PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1579/Un.02/DST/PP.00.9/08/2021

Tugas Akhir dengan judul : Isolasi Lipase dari Bakteri pada Limbah Cair Rumah Pemotongan Hewan (RPH) dan Potensinya sebagai Bahan Aditif Biodetergen

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : AMIR
Nomor Induk Mahasiswa : 16630046
Telah diujikan pada : Selasa, 03 Agustus 2021
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang
Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si
SIGNED

Valid ID: 6123653e49981



Penguji I
Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 611d77298dd51



Penguji II
Endaruji Sedyadi, M.Sc.
SIGNED

Valid ID: 611fda468a894



Yogyakarta, 03 Agustus 2021
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 61206de9ddd40



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir

Lamp :

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Amir

NIM : 16630046

Judul Skripsi : Isolasi Lipase dari Bakteri pada Limbah Cair Rumah Pematangan Hewan dan Potensinya sebagai Bahan Aditif Biodetergen

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Matematika Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Matematika.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 19 Juli 2021

Pembimbing

Dr. rer.medic. Esti Wahyu W., M.Si., M.Biotech

NIP: 19760830 200312 2 001



NOTA DINAS KONSULTAN

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi, serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Amir

NIM : 16630046

Judul Skripsi : Isolasi Lipase dari Bakteri pada Limbah Cair Rumah Pematangan Hewan (RPH) dan Potensinya sebagai Bahan Aditif Biodetergen

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan, atas perhatiannya, kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 16 Agustus 2021

Konsultan,

Dr. Arifah Khusnuryani S.Si., M. Si.

NIP. 19750515 200003 2 001



NOTA DINAS KONSULTAN

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi, serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Amir

NIM : 16630046

Judul Skripsi : Isolasi Lipase dari Bakteri pada Limbah Cair Rumah Potomongan Hewan (RPH) dan Potensinya sebagai Bahan Aditif Biodetergen

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan, atas perhatiannya, kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Yogyakarta, 18 Agustus 2021
Konsultan,




Endaruji Sedyadi S.Si., M.Sc.
NIP. 19820205 201503 1 003

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Amir
NIM : 16630046
Tempat, Tanggal Lahir : Brebes, 24 September 1998
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa dalam skripsi saya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, tanpa ada unsur paksaan dari pihak mana pun juga.

Yogyakarta, 19 Juli 2021

Yang membuat pernyataan



Amir
16630046

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

MOTTO

“Tetaplah berjalan meski dunia tak melihatmu, setidaknya
kamu berani melewati takdir dengan kakimu sendiri”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini saya persembahkan untuk ibu, bapak, kakak, nofita alfiani, dan setiap nafas, do'a, tenaga, maupun materi yang telah berkontribusi dalam hidup penulis.

Karya ini juga didedikasikan untuk almamater Program Studi Kimia
UIN Sunan Kalijaga.



KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabil ‘alamin, segala puji dan syukur bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “ Isolasi Lipase dari Bakteri pada Limbah Cair Rumah Pemotongan Hewan (RPH) dan Potensinya sebagai Bahan Aditif Biodetergen” ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan mencapai derajat Sarjana Kimia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dorongan, semangat, dan ide-ide kreatif sehingga tahap demi tahap penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Ucapan terima kasih secara khusus disampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Dr. Imelda Fajriati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Dr.rer.medic. Esti W. Widowati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah sabar meluangkan waktu, membangun semangat, mengarahkan, memotivasi, dan membimbing penulis selama penulisan skripsi ini berlangsung.
4. Bapak Didik Krisdiyanto, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing saya selama studi.
5. Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
6. Seluruh Staff Karyawan Laboratorium Terpadu khususnya Laboratorium Biologi dan Kimia Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah memberikan fasilitas selama proses pengambilan data skripsi.
7. Seluruh Staff Karyawan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah membantu sehingga penulisan skripsi ini dapat berlangsung dengan baik.
8. Orang tua dan keluarga penulis yang senantiasa mencurahkan doa, kasih sayang, semangat dan materi yang tidak ternilai besarnya.
9. Teman-teman penulis di laboratorium mikrobiologi dan kimia yang ikut memberikan saran dan bantuan dalam penulisan skripsi.
10. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung ikut membantu penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan Skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang ilmu kimia.

Wassalamu’alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, 19 Juli 2021
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHI.....	iii
HALAMAN NOTA DINAS KONSULTASI.....	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	vi
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Batasan Masalah.....	4
C. Rumusan Masalah	5
D. Tujuan Penelitian.....	5
E. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tinjauan Pustaka	7
B. Landasan Teori.....	11
1. Rumah Pemotongan Hewan	11
2. Lipase	11
3. Lipase sebagai Biodetergen.....	14
4. Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Lipase.....	16
5. Identifikasi Bakteri Penghasil Lipase	17
6. Produksi dan Isolasi Enzim Lipase.....	18
7. Uji Aktivitas Enzim.....	19
8. Pemurnian enzim kromatografi kolom	20
9. Bentonit	22
C. Kerangka berfikir dan Hipotesis Penelitian.....	23
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
A. Waktu dan Tempat Penelitian	26
B. Lokasi Pengambilan Sampel	26
C. Alat-alat Penelitian	26
D. Bahan Penelitian.....	26
E. Cara Kerja Penelitian.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase.....	36
B. Karakterisasi Isolat.....	38
1. Uji Makroskopik dan Mikroskopik Bakteri Penghasil Lipase	38
2. Uji Biokimia	40

C. Isolasi Lipase	44
D. Optimasi Suhu dan pH Lipase Ekstrak Kasar	47
1. Optimasi Suhu Ekstrak Kasar	48
2. Optimasi pH Lipase Ekstrak Kasar	50
E. Uji Stabilitas Lipase ekstrak kasar	53
F. Pemurnian dan Stabilitas Lipase Pemurnian	54
G. <i>Washing Test</i> (Uji Pencucian)	60
H. Potensi Lipase Sebagai Biodetergen	61
BAB V PENUTUP	64
A. Kesimpulan	64
B. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	73



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi hidrolisis trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas oleh lipase	12
Gambar 2.2 Mekanisme reaksi lipase pada sisi aktif dalam mengkatalisis hidrolisis trigliserida	13
Gambar 4.1 Isolat bakteri penghasil lipase yang diisolasi dari limbah cair rumah potong hewan (RPH) pada media ROA: A (isolat A1.4), B (Isolat A2.4), C (Isolat A4.4), D (Isolat A1.2) menghasilkan pendaran oranye di sekitar koloni ketika diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 350 nm	36
Gambar 4.2 Hasil uji gram isolat bakteri penghasil lipase hasil isolasi pada perbesaran 10x40 menggunakan mikroskop; A (A1.4), B (A2.4), C (A4.4), dan D (A1.2).....	39
Gambar 4.3 Grafik aktivitas ekstrak kasar lipase hasil produksi isolat A1.4, A2.4, A4.4 dan A1.2 yang direaksikan pada suhu 30 °C dan pH 7 selama 30 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm.....	46
Gambar 4.4 Aktivitas ekstrak kasar lipase isolat isolat 1 (A1.4), isolat 2 (A2.4), isolat 3 (A4.4), dan isolat 4 (A1.2) pada suhu reaksi 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, dan 50 °C, kondisi pH 7 selama 15 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm.	48
Gambar 4.5 Grafik aktivitas ekstrak kasar lipase isolat 1 (A1.4), isolat 2 (A2.4), isolat (A4.4), dan isolat 4 (A1.2) yang direaksikan pada pH 6, 7, 8, 9, dan 10 dengan suhu optimum masing-masing isolat selama 15 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm	52
Gambar 4.6 Ilustrasi interaksi protein, air, dan ion garam dalam proses pelarutan protein (diadaptasi dari Collins, 2004).....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil uji makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas lipase hasil isolasi pada media ROA meliputi ukuran, bentuk, elevasi, <i>margin</i> , bentuk sel, dan cat gram.....	38
Tabel 4.2 Uji biokimia isolat bakteri hasil isolasi yang menunjukkan aktivitas lipase meliputi uji hidrolisis pati, uji urea, uji reduksi nitrat, uji katalase, uji fermentasi karbohidrat (glukosa, sukrosa, laktosa, dan mannitol), uji pembentukan H ₂ S, uji indol, dan uji motilitas dengan (+) menunjukkan hasil positif dan (-) menunjukkan hasil negatif.....	44
Tabel 4.3 Aktivitas ekstrak kasar lipase hasil produksi isolat A1.4, A2.4, A4.4, A1.2 yang direaksikan pada suhu 30 °C dan pH 7 selama 30 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm.....	47
Tabel 4.4 Stabilitas aktivitas ekstrak kasar lipase isolat A1.4, A2.4, A4.4, dan A1.2 yang direaksikan dengan kondisi paparan detergen komersial konsentrasi 7 mg/mL pada pH 8 dan suhu 37 °C selama 15 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm.....	54
Tabel 4.5 Aktivitas lipase hasil pemurnian dan stabilitas aktivitas lipase hasil pemurnian kromatografi kolom matriks Ca-bentonit isolat A1.4, A2.4, A4.4, dan A1.2 yang direaksikan dengan kondisi paparan detergen komersial konsentrasi 7 mg/mL pada pH 8 dan suhu 37 °C selama 15 menit dengan kecepatan <i>shacking incubator</i> 120 rpm.....	60
Tabel 4.6 Hasil uji <i>washing test</i> (uji pencucian) ekstrak kasar lipase yang dilakukan pada kain ukuran 4x4 cm suhu 37°C selama 15 menit.....	61
Tabel 4.7 Hasil uji <i>washing test</i> (uji pencucian) lipase hasil pemurnian kromatografi kolom matriks Ca-bentonit yang dilakukan pada kain ukuran 4x4 cm suhu 37°C selama 15 menit.....	61
Tabel 4.8 Hasil berbagai uji potensi ekstrak kasar lipase sebagai bahan aditif biodetergen yang meliputi aktif pada suhu 30-60 °C, aktif pada pH basa, stabilitas pada paparan detergen, dan <i>washing test</i> (uji pencucian) : (+) bermakna memenuhi syarat dan (-) tidak memenuhi syarat.....	62
Tabel 4.9 Hasil berbagai uji potensi lipase hasil pemurnian sebagai bahan aditif biodetergen yang meliputi aktif pada suhu 30-60 °C, aktif pada pH basa, stabilitas pada paparan detergen, dan <i>washing test</i> (uji pencucian): (+) bermakna memenuhi syarat dan (-) tidak memenuhi syarat.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I Hasil uji biokimia isolat bakteri penghasil lipase.....	73
Lampiran II Penentuan aktivitas lipase	75
Lampiran III Hasil uji penentuan aktivitas terhadap suhu dan pH	77
Lampiran IV Hasil uji penentuan aktivitas lipase terhadap paparan detergen....	78
Lampiran V Hasil <i>washing test</i> (uji pencucian).....	80



ABSTRAK
ISOLASI LIPASE DARI BAKTERI PADA LIMBAH CAIR RUMAH
PEMOTONGAN HEWAN (RPH) DAN POTENSINYA SEBAGAI BAHAN
ADITIF BIODETERGEN

Oleh:

Amir

16630046

Dosen Pembimbing :

Dr. rer.medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

Isolasi lipase (E.C. 3.1.1.3) dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) dan potensinya sebagai bahan aditif biodetergen telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi lipase dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan dan diuji potensinya sebagai bahan aditif biodetergen. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui bagaimana pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks Ca-bentonit.

Media yang digunakan untuk seleksi bakteri penghasil lipase yaitu *rhodamine olive oil agar* (ROA). Penentuan aktivitas lipase dilakukan menggunakan metode *copper soap calorimetry*. Lipase hasil isolasi dimurnikan menggunakan kromatografi kolom dengan Ca-Bentonit sebagai matriks dan NaCl dalam buffer fosfat sebagai eluen. Uji potensi lipase sebagai bahan aditif biodetergen dilakukan menggunakan uji stabilitas dan *washing test*.

Hasil penelitian didapatkan empat isolat yang mampu menghasilkan lipase dengan aktivitas masing-masing sebesar 84,63 U/ml; 114,39 U/mL; 73,88 U/mL; dan 62,01 U/mL. Lipase dapat dimurnikan menggunakan kromatografi kolom dengan matriks Ca-bentonit. Ekstrak kasar lipase dan lipase hasil pemurnian pada empat isolat berpotensi sebagai bahan aditif biodetergen kecuali pada lipase pemurnian isolat A2.4 eluen NaCl 0,5 M. Berdasarkan hasil yang didapatkan maka lipase dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan berpotensi untuk diaplikasikan sebagai bahan aditif biodetergen.

Kata kunci: Bio-detergen, Ca-Bentonit, *Copper soap calorimetry*, Lipase.

ABSTRACT

ISOLATION OF LIPASE FROM BACTERIA AT SLAUGHTERHOUSE WASTEWATER AND ITS POTENTIAL AS BIO DETERGENT ADDITIVE COMPOUND

Oleh:

Amir

16630046

Dosen Pembimbing :

Dr. rer. medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

Isolation of lipase (E.C. 3.1.1.3) from bacteria in Slaughterhouse wastewater (RPH) and its potential as a biodetergent additive has been carried out.. Most lipases are applied as bio-detergent additives. In this research, aims to isolation of lipase from bacteria isolated from slaughterhouse wastewater and to test its potential as a bio-detergent additives. It also aims to determine how to purify lipase using column chromatography with Ca-bentonite as the matrix.

Rhodamine Olive oil Agar (ROA) medium was used for the selection of lipase-producing bacteria. Determination of lipase activity was carried out using the copper-soap calorimetry method. Crude lipase extract was purified using column chromatography with Ca-Bentonite as the matrix and NaCl in phosphate buffer as the eluent. The potential test of lipase as a bio-detergent additive was carried out using stability test exposing by commercial detergent and washing test.

The results showed that four isolates were able to produce lipase with each activity of 84.63 U/ml; 114.39 U/mL; 73.88 U/mL; and 62.01 U/mL. Lipase can be purified using column chromatography with Ca-bentonite as the matrix. Crude extract lipase and lipase purified from four isolates was potential as a biodetergent additive except 0.5 M eluent in isolate A2.4. Based on the results obtained, lipase from bacteria in slaughterhouse wastewater has the potential to be applied as a biodetergent additive

Keyword: Bio-detergent, Ca-Bentonite, Copper soap calorimetry, Lipase.

SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Enzim adalah protein yang diproduksi oleh organisme untuk mempercepat laju reaksi biokimia di dalam sel. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi sampai 10^8 - 10^{11} kali dibandingkan tanpa enzim. Enzim juga bekerja spesifik yakni hanya bekerja pada suatu substrat saja, meski ada beberapa enzim yang bekerja dalam beberapa substrat namun tetap mempunyai kekhasan tertentu (Poedjiadi, 1994). Aktivitas katalitik yang sangat tinggi serta spesifitas substrat dari enzim, menjadikan enzim banyak digunakan dalam berbagai bidang industri. Namun selama ini Indonesia masih melakukan impor enzim dengan total biaya sekitar 200 miliar (Sugiono dan Parmin, 2014).

Lipase merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan di berbagai industri baik pangan maupun non pangan. Lipase (EC 3.1.1.3) adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis triasilgliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas (Sharma *et al.*, 2001). Lipase banyak digunakan sebagai bahan aditif untuk industri detergen, karena kemampuannya dalam menghidrolisis lemak. Penggunaan lipase dalam detergen dapat mengurangi penggunaan bahan-bahan kimia dari detergen yang bersifat mencemari lingkungan. Lipase dalam detergen juga dinilai dapat menambah daya cuci detergen dalam menghilangkan kotoran khususnya lemak atau minyak (Layly dan Wiguna, 2016). Aplikasi enzim lipase

sebagai bahan aditif biodetergen di Indonesia saat ini masih belum diterapkan secara maksimal.

Kriteria lipase untuk dapat diaplikasikan sebagai bahan aditif biodetergen diantaranya mampu bertahan pada kondisi pH basa, temperatur sekitar 30-60°C, serta mampu bertahan dari kerusakan oleh komponen detergen (Layly dan Wiguna, 2016). Sumber lipase yang memenuhi kriteria ini banyak didapatkan dari bakteri (Septiani, 2019). Bakteri penghasil lipase dapat ditemukan di limbah industri, pabrik pengolahan minyak sayur, perusahaan susu, tanah yang terkontaminasi dengan minyak, makanan yang membusuk, dan timbunan kompos (Sharma *et al.*, 2001). Informasi isolat bakteri penghasil lipase yang berpotensi sebagai bahan aditif biodetergen di Indonesia masih sangat minim, sehingga masih diperlukan eksplorasi isolat penghasil lipase lokal yang memenuhi kriteria sebagai bahan aditif biodetergen.

Limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) merupakan limbah yang mengandung bahan-bahan organik seperti feses, urine, isi rumen, daging, lemak, dan air (Hastutiningrum *et al.*, 2017). Limbah cair RPH juga mengandung polutan seperti air sabun sisa pencucian alat, amonia, fosfat, potasium, magnesium, dan lainnya (Padmono, 2005). Menurut Furini *et al.* (2018) Limbah cair yang mengandung lemak atau minyak merupakan parameter lingkungan hidup bakteri penghasil lipase. Adanya polutan seperti air sabun pada limbah cair RPH juga memungkinkan didapatkannya lipase yang tahan terhadap paparan detergen komersial. Isolasi bakteri penghasil lipase yang bersumber dari limbah

cair telah dilakukan oleh Suyasa (2012) yang menunjukkan bahwa pada bak pengolahan limbah cair RPH terdapat 11 bakteri pendegradasi lemak/minyak sedangkan pada saluran *effluent* limbah cair RPH terdapat 17 bakteri pendegradasi minyak atau lemak. Akan tetapi penelitian tersebut tidak dilakukan uji potensi lipase sebagai bahan aditif biodetergen, sehingga diperlukan penelitian isolasi lipase yang bersumber dari bakteri pada limbah cair RPH serta di uji potensinya sebagai bahan aditif biodetergen.

Penggunaan enzim dalam industri tergantung pada tingkat kemurnian enzim. Semakin tinggi kemurnian suatu enzim, maka semakin tinggi aktivitas yang dihasilkan, meningkatkan stabilitas enzim serta umur simpan enzim (Iskandar *et al.*, 2017; Javed *et al.*, 2017). Oleh karena itu ekstrak kasar lipase yang digunakan sebagai bahan aditif biodetergen perlu dimurnikan untuk meningkatkan aktivitasnya.

Pemurnian lipase dapat dilakukan menggunakan kromatografi kolom seperti kromatografi kolom penukar ion, kolom afinitas, interaksi hidrofobik dan kromatografi kolom filtrasi gel. Teknik pemurnian enzim kromatografi kolom didasarkan pada interaksi antara matriks dan protein enzim (Javed *et al.*, 2017). Namun demikian harga matriks pada pemurnian menggunakan kromatografi kolom tergolong mahal, sehingga diperlukan pengganti matriks pemurnian kromatografi yang lebih murah. Bentonit adalah salah satu mineral lempung yang kandungan utamanya montmorillonit. (Huang *et al.*, 2017; Adawiah *et al.*, 2020). Struktur montmorillonit tersusun atas tiga lembar lapisan, yaitu satu

lembar aluminol (AlO_6^{2-}) berbentuk oktahedral pada bagian tengah yang diapit oleh dua lembar silanol (SiO_4^{2-}) berbentuk tetrahedral. Adsorpsi lipase pada matriks bentonit dapat terjadi karena adanya gaya van der Waals, ikatan hidrogen, atau interaksi hidrofobik (Tang *et al.*, 2018 dan Dong *et al.*, 2013). Menurut Roosdiana *et al.* (2009) desorpsi atau pelepasan enzim dari matriks aluminosilikat dapat dilakukan menggunakan air akibat dari pelepasan ikatan hidrogen. Penelitian penggunaan bentonit sebagai matriks kromatografi kolom untuk memurnikan lipase sejauh pengetahuan peneliti belum pernah dilakukan.

Berdasarkan semua uraian tersebut maka diperlukan penelitian isolasi lipase dari bakteri isolat lokal yang bersumber dari limbah cair rumah pemotongan hewan untuk mendapatkan bakteri penghasil lipase baru yang berpotensi sebagai bahan aditif biodetergen. Selain itu penelitian ini juga dilakukan pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks bentonit untuk meningkatkan aktivitas lipase dan diuji stabilitasnya dibawah paparan detergen..

B. Batasan Masalah

Batasan masalah yang perlu diberikan pada penelitian ini adalah:

1. Limbah cair yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah cair yang didapatkan dari bak pengendapan rumah pemotongan hewan.
2. Optimasi suhu dan pH lipase dilakukan dengan variasi pH pada rentang 6-10 dengan selisih 1 tingkat pH dan suhu 30 °C-50 °C dengan selisih 5 °C.

3. Penentuan potensi lipase sebagai komponen aktif biodetergen dilakukan dengan uji aktivitas lipase terhadap paparan detergen komersial pada konsentrasi 7 mg/mL.
4. Bentonit yang digunakan adalah jenis Ca-bentonit yang didapatkan dari penelitian Indri (2021).
5. Pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks bentonit dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemurnian terhadap stabilitas lipase di bawah paparan detergen.

C. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini meliputi:

1. Bagaimana potensi bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) sebagai penghasil lipase?
2. Bagaimana pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks Ca-bentonit?
3. Bagaimana potensi ekstrak kasar lipase dan lipase hasil pemurnian yang diisolasi dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) sebagai bahan aditif biodetergen?

D. Tujuan Penelitian

1. Menentukan potensi bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) sebagai sumber penghasil lipase?
2. Menguji pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks Ca-bentonit?

3. Menentukan potensi ekstrak kasar lipase dan lipase hasil pemurnian yang diisolasi dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) sebagai bahan aditif biodetergen?

E. Manfaat Penelitian

1. Mengetahui aktivitas, suhu optimum, pH optimum, dan stabilitas lipase hasil isolasi dari bakteri yang hidup pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH).
2. Mengetahui pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom dengan matriks Ca-bentonit.
3. Mengetahui potensi lipase dari bakteri pada limbah cair rumah pemotongan hewan (RPH) sebagai bahan aditif biodetergen.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Bakteri pada limbah cair RPH berpotensi sebagai salah satu sumber penghasil lipase. Hasil isolasi didapatkan empat isolat bakteri penghasil lipase yakni isolat A1.4, A2.4, A4.4, dan A1.2 dengan aktivitas ekstrak kasar lipase masing-masing sebesar 84,63 U/ml; 114,39 U/mL; 73,88 U/mL; dan 62,01 U/mL.
2. Lipase dapat dimurnikan menggunakan kromatografi kolom matriks Ca-bentonit ditunjukkan dengan adanya peningkatan aktivitas lipase hasil pemurnian tanpa paparan detergen.
3. Ekstrak kasar lipase dan lipase hasil pemurnian menggunakan kromatografi kolom matriks Ca-bentonit dari empat isolat berpotensi untuk diaplikasikan sebagai bahan aditif biodetergen kecuali isolat A4.4 pada konsentrasi eluen NaCl 0,5 M.

B. Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh berbagai jenis substrat terhadap aktivitas lipase yang dihasilkan.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai interaksi antara bentonit dan lipase untuk mengetahui proses adsorpsi yang terjadi sehingga dapat ditentukan eluen untuk mendesorpsi lipase dari bentonit.

3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh aktivasi bentonit terhadap pemurnian lipase menggunakan kromatografi kolom matriks Ca-bentonit.
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh masing-masing komponen penyusun detergen terhadap aktivitas lipase yang dihasilkan.



DAFTAR PUSTAKA

- Adamson. A.W. 1976. *Physical Chemistry Of Surface*. Jhon Willey&Sons: Kanada
- Anggarwulan, E. dan Sugiyarto, 2012. Pertumbuhan Aktivitas Nitrat Reduktase dan Polifenol Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium*) Schott pada Variasi Naungan dan Nitrogen. *Jurnal FMIPA UNS* 27(5) : 100-105
- Battestin vania dan Macedo Gabriela A. 2007. Effect of Temperature, pH, and Additives on the Activity of Tannase Produced by *Paecilomyces varotii*. *Electronic Journal of Biotechnology*. Vol. 10, No. 2
- Bestari Niken Chandra dan Suharjono. 2015. Uji Kualitatif dan Kantitatif Isolat Bakteri Lipolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi. *Jurnal Biotropika*, Vol. 3, No. 2 Hal 151-155
- Bjipay D., Tyagi V.K. Laundry Detergents: An Overview. *J. Oleo Sci.*, Vol. 56, No. 7
- Budiman A. 2009. Metode Sentrifgasi untuk Pemisahan Biodiesel dalam Proses Pencucian. *Jurnal Riset Industri*. Vol. 3, No. 3.
- Cappuccino. J. C, Sherman. N. 2005. *Microbiology-A laboratory Manual*. 6thEd., Pearson Education (Singapore), Indian branch, Dehli, India, pp: 280-285
- Chrisnasari R., Widi Restu K., Halim A., dan Purwanto Maria G.M. 2014. Imobilisasi Enzim Lipase pada Ca-bentonit serta Aplikasinya pada Produksi Asam Lemak Omega-3 dari Limbah Minyak Ikan. *Prosiding SNB 2014 Biotechnological Approaches to Blue Economy Implementation*. ISBN: 978-602-14714-2-5, Hal: 97-104
- Collins, K. D. 2004. Ions from the Hofmeister series and osmolytes: Effects on proteins in solution and in the crystallization process. *Methods*. Vol. 34: 300–311
- Dali seniwati, Patong Abdul Rauf, Jalaludin M. Noor, Parenrengi Pirman Andi. 2012. Pemurnian dna Karakterisasi Enzim Lipase dari *Aspergillus Oryzae* pada Kopra Berjamur. *Jurnal Natur Indonesia* Vol. 14, No. 1.
- Damayanti Sri Suci, Komala Oom, Effendi E. Mulyadi. 2018. Identifikasi Bakteri Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *Jurnal Ilmial Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, Vol. 18, No.3
- Devi R., Nampoothiri K.M., Sukumaran R.K., Sindhu R., dan Arumugam M. 2019. Lipase of *Pseudomonas guariconesis* as an additive in Laundry Detergents and Transesterification Biocatalysts. *Journal of Basic Microbiology* DOI: 10.1002/jobm.201900326
- Desnuelle, P. (1972). *The lipases*. In *The Enzymes, volume 7, 3rd edition*, pp 575-616. Edited by P. D. Boyer. London: Academic Press.
- Dong H., Li Y., Li J., Sheng G., dan Chen H. 2013. Comparative Study on Lipases Immobilized Onto Bentonite and Modified Bentonites and Their Catalytic Properties. *I&EC Research* DOI: 10.1021/ie4001986.

- Furini G., Berger J., S. Jussara, Campos Jose A.M., Van Der Sand Sueli.T. dan Germani Jose C. 2018. Production of Lipolytic Enzymes by Bacteria Isolated from Biological Effluent Treatment Systems. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Vol. 90, No. 3: 2955-2965
- Gandhi, Neena N. 1997. Applications of Lipase. *JAOCS*, Vol. 74, No. 6
- Ginting Septian T.M., Helmi T. Zahrial, Darmawi, Dewi Maryulina, Hennivanda, Erina, Daud Razali. 2018. Isolasi Bakteri Gram Negatif pada Ambing Kambing Peranakan Etawa (PE). *JIMVET*, Vol. 2, No. 3: 351-360
- Grbavcic, S. Bezbradica D., Izrael-Zivkovic L., Avramovic N., Milosavic N., Karadzic I., dan Knezevic-Jugovic Z. 2011. Production of Lipase and Protease From An Indigenous *Pseudomonas aeruginosa* Strain and Their Evaluation As Detergent Additives: Compatibility Study With Detergent Ingredients and Washing Performance. *Bioresour Technol*, Volume 102, pp. 11226 - 11233
- Gupta R., Gupta N., Rathi P. 2004. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Appl Microbiol Biotechnol*. DOI 10.1007/s00253-004-1568-8
- Harahap Fauziyah. 2012. Fisiologi Tumbuhan : Suatu Pengantar. Medan : UNIMED PRESS.
- Hardjono Sastrohamidjojo. 1991. *Kromatografi*. Liberty UGM: yogyakarta.
- Hasanah Nurul Fitrah, Pringgenies Delianis, Wulandari Sri Yulina. 2012. Karakterisasi Metabolit Sekunder Bakteri Symbion Gastropoda *Conus miles* dengan Metode GC-MS sebagai Antibakteri MDR (*Multi Drug Resistan*). *Journal of Marine Research*, Vol. 1, No.2
- Hastutiningrum S., Suseno Hadi P., dan Ratnasari A. 2017. Alternatif Pra Rancangan Instalasi Pengolahan Air Limbah (Ipal) Industri Rumah Potong Hewan (Studi kasus rumah potong hewan Giwangan, Umbulharjo, Yogyakarta). Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” UPN. ISSN 1693-4393
- Hemlata, B., Uzma Z., dan Tukaram K. 2016. Substrate Kinetics of Thiol Activated Hyperthermostable Alkaline Lipase of *Bacillus soronensis* 4R and its Application in Bio-detergents Formulation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Vol. 8 : 104-111.
- Huang, Z. Y. Li, W. Chen, Jianhui Sh., N.Zhang, X.Wang, Z. Li, L. Gao and Y.Zhang, 2017. Modified Bentonite Adsorption of Organic Pollutants of Dye Wastewater, *Mater. Chem. and Phys.* 202, 266-276.
- Indah, Mutiara. 2004. *Enzim*. Medan: *Digital Library* Universitas Sumatera Utara.
- Indri Dwi S. 2021. Perbedaan Potensi Listrik *Microbial Fuel Cell* Berbasis Limbah Cair Tempe Menggunakan Membran Komposit Gerabah Na-Bentonit dan Ca-Bentonit. UIN Sunan Kalijaga: Yogyakarta

- Iskandar R., Sahlan M., dan Setyahadi S. 2017. Production and Purification of Lipase Enzyme from *Bacillus licheniformis* F11.4 as Biodetergent. *Proseding on Science and Technologi UI*. Vol. 1
- Jaeger, K-E., Djikstra, B.W., dan Reetz, M.T. 1999. Bacterial Biocatalysts: Molecular Biology, Three-Dimensional Structures, and Biotechnological Applications of Lipase. *Annu. Rev. Microbial.* 53: 315-51
- Javed S., Azzem F., Hussain S., Rasul I., Siddique M.H., Riaz M., Afzal M., Kouser A., dan Nadeem H. 2017. Bacterial Lipases: A Review on Purification and Characterization. *Biophysics and Molecular Biology*. doi:10.1016/j.pbiomolbio.2017.07.014.
- Kouker G, Jaeger KE. 1986. Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. *Appl Environ Microbiol.* Vol. 53, No. 1, Hal: 211–213.
- Kristianto H., Prasetyo S., dan Sugih A. K. 2019. Pemanfaatan Ekstrak Protein dari Kacang-Kacangan Sebagai Koagulan Alami: Review. *Jurnal Rekayasa Proses*. Vol. 13, No. 2: 65-80.
- Kurniatanty I. dan Widowati Esti W. 2021. Enzymatic Activity of Protease Producing Bacteria from Tofu Waste. *EpiC Biological Sciences*. Vol. 1, Hal: 67-71
- Kwon, D. Y., Rhee, J.S. 1986. A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatty Acids for Lipase Assay. *Journal of The American Oil Chemists' Society*. Vol. 63, No. 1
- Layly I.R dan Wiguna N.O. 2016. Studi Potensi Lipase *Alcaligenes faecalis* untuk Aplikasi Biodetergen. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, Vol. 3, No. 2
- Ledo Mellisa Erlyn S., Solle Hartini R. L., dan Nitsae M. 2017. Purifikasi Lipase *Aspergillus niger* M1407 Indigenus Menggunakan Kromatografi Pertukaran Ion. *Biota*, Vol. 2, No. 3
- Lee L.P., Karbul H.M., Marimuthu C., Gopinath Subash C.B., Lakshmi Priya T., dan Tang T.H. 2015. Lipase-Secreting *Bacillus* Species in an Oil-Contaminated Habitat: Promising Strain to Alleviate Oil Pollution. *Biomed Research International* Volume 2015.
- Lehninger A.L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid I* (terjemahan). Jakarta: Erlangga.
- Li X., Qian P., Wu S.G., dan Yu H.Y. 2014. Characterization of an organic solvent-tolerant lipase from *Idiomarina* sp. W33 and its application for biodiesel production using *Jatropha* oil. *Extremophiles*, Vol. 18, No. 1:171-8. doi: 10.1007/s00792-013-0610-0.
- Lima Valeria M.G., Krieger N., Sarquiz M. Inez M., Mitchell David A., Ramos Luiz P., dan Fortana Jose D. 2003. Effect of Nitrogen and Carbon Sources on Lipase Production by *Penicillium aurantiogriseum*. *Food Technol. Biotechnol*, Vol. 41, No.2: 105–110

- Mangun W., Lusini Y., Gandjar I. 2009. Karakterisasi, Pengaruh Sumber Nitrogen dan Karbon terhadap Produktivitas Enzim Lipase *Rhizopus microsporus var oligosporus* UICC 550. *Biota*. Vol. 14.
- Murni S.W., Kholisoh S.D., L. Tanti D., dan M. Petrissia E. 2011. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kmia "Kejuangan"* Prodi Teknik Kimia F. Teknologi Industri UPN Veteran. ISSN 1693 – 4393.
- Nurdini Allia Laksmi. 2010. Skripsi Penapisan Bakteri Lipolitik Asal Fruktosfer Kelapa Sawit. F. MIPA IPB: Bogor
- Nurdiani D. 2018. *Buku Informasi Melaksanakan Analisis Secara Kromatografi konvensional Mengikuti Prosedur M.749000.034.01*. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Guru dan Tenaga Kependidikan: Jakarta.
- Nurikasari, Maulina. 2012. Optimasi Kondisi Purifikasi Parsial Lipase *Aspergillus niger* 65I6 *Solid State Fermentation* (SSF) pada Medium Bungkil Jarak sebagai Sumber Belajar Pengantar Mikrobiologi. *BIOEDUKASI (Jurnal Pendidikan Biologi)*, Vol. 3. 10.24127/bioedukasi.v3i2.267.
- Nurkhotimah dan Yulianti Evy. 2017. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim Fosfatase Bakteri Termofilik Sungai Gendol Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Prodi Biologi FMIPA UNY* Vol. 6, No. 8.
- Pattuju S. M., Fatimawali, dan Manampiring Aaltje. 2014. Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses, dan Kalkulus Gigi pada Individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal e-Biomedik*, Vol. 2, No. 2
- Padmono D. 2005. Alternatif Pengolahan Limbah Rumah Potong Hewan-Cakung (Studi Kasus). *Jurnal Tek. Lingkungan*, Vol. 3, No. 1
- Parwata I Putu dan Martiningsih Ni Wayan. 2014. Lipase Alkali dan Stabil Alkohol dari Bakteri Isolat Tanah Terkontaminasi Minyak di Pasar Anyar Singaraja, Bali. *Seminar Nasioal Riset Inovatif II*. Univ. Pendidikan Ganesa, Singaraja: ISSN:2339-1553
- Poedjiadi Anna dan Supriyanti Titin F.M. 2012. *Dasar-Dasar Bokimia*. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Povolo S., Romanelli Maria G., Fontana F., Basaglia M., dan Casella S. 2012. Production of Polyhydroxyalkanoates from Fatty Wastes. *J Polym Environ* Vol. 20 DOI 10.1007/s10924-012-0485-7.
- Pramiadi Drajat., Yulianti Evy dan Rakhmawati Anna. 2014. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Lipase Termostabil dari Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi. *J. Sains Dasar*, Vol. 3, No.1.
- Pranoto. 2013. *Ikatan Hidrogen*. Universitas Brawijaya: Malang.
- Pratiwi D., Sebayang F., dan Jamilah I. 2013. Produksi dan Karakterisasi Enzim Lipase dari *Pseudomonas aeruginosa* dengan Menggunakan Induser

- Minyak Jagung serta Kofaktor Na^+ dan Co^{2+} . *Jurnal Saintia Kimia*. Vol. 1
- Qamsari, E Mobarak, Kermanshahi R Kasra, and Z Moosavi Nejad. 2011. Isolation and Identification of a Novel, Lipase-Producing Bacterium, *Pseudomonas Aeruginosa* KM110. *Iranian Journal of Microbiology* Vol. 3, No. 2 Hal: 92–98
- Rokhati N. Dan Prasetyaningrum A. 2004. Adsorpsi Logam Berat Limbah Cair Industri Kerajinan Kuningan Juana Menggunakan Campuran Bentonite dan Abu Sekam Padi. *Reaktor*, Vol. 8, No.1
- Rondonuwu Glenaldy, Kepel Billy J., Widhi Bodi. 2014. Gambaran Bakteri Resistensi HgCl_2 dan Fenil Merkuri yang Diambil dari Feses, Urin, dan Karang Gigi pada Individu yang Tinggal di Daerah Pesisir Pantai di Desa Kema II. *Jurnal e-Biomedik*, Vol. 2, No. 3.
- Rumiyati V.Sri Pertiwi dan Indrati Retno. 1999. Aktivitas Enzim Lipase Alkali dari Bakteri dalam Surfaktan. *Majalah Kulit, Karet, dan Plastik*. Vol. 14, No. 26 E-ISSN 2460-4461.
- Sagar, K., Bashir, Y., Phukan, M.M. and Konwar, B.K.(2013). Isolation Of Lipolytic Bacteria From Waste Contaminated Soil: A Study With Regard To Process Optimization For Lipase. *Internayional Journal of scientific & technology research*, Vol. 2, No. 10
- Said N. I. dan Yudo S. 2006. Rancang Bangun Instalasi Pengolahan Air Limbah Rumah Potong Hewan (RPH) Ayam dengan Proses Biofilter. *Jurnal Air Indonesia*, Vol. 2, No. 1
- Santosa, Budi. 30 September 2013. Bio Detergent – Enzim. Diakses pada 10 Maret 2020 dari laman website <https://mesinlaundry.com/bio-detergent-enzim/>.
- Saraswat Rashmi, Verma Vijeshwar, Sistla Srinivas, Bhushan Indu. 2017. Evaluation of alkaline, thermotolerant lipase from an indigenous isolated *Bacillus* strain for detergent formulation. *E-Journal of Biotechnology*, doi:10.1016/j.ejbt.2017.08.007
- Sari E.D.A., Moelyaningrum A.D., Ningrum P.T. 2018. Kandungan Limbah Cair Berdasarkan Parameter Kimia di Inlet dan Outlet Rumah Pemotongan Hewan (Studi di Rumah Pemotongan Hewan X Kabupaten Jember). *Journal of Health Science and Prevention*, Vol. 2, No. 2
- Septiani. 2019. Karakterisasi Lipase Termotabil (Isolat AL96) Berdasarkan Parameter Temperatur dan pH pada Industri Makanan. *Lantanida Journal*, Vol. 7, No. 1
- Sharma, R., Chisty, Y., Banerjee C.U. 2001. Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances*, Vol. 19 : 627-662.
- Shelley, A. W., Deeth, H. C., & MacRae, I. C. 1987. Review of methods of enumeration, detection and isolation of lipolytic microorganisms with

- special reference to dairy applications. *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 6, No. 3, Hal: 123–137.
- Sirait M. 2018. *Monograf Polyvinyl Alkohol dan Campuran Bentonit*. Lembaga Penelitian UNIMED: Medan.
- Sormin, D.N., Harahap S., dan Purwanto E. 2018. Efektifitas Penggunaan Biofilter untuk Menurunkan Kadar Minyak Lemak dan Amonia pada Limbah Rumah Potong Hewan (RPH) Sebagai Media Hidup Rotifera (*Brachionus plicatilis*). Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Su'i Moh. 2012. Pengaruh Ion Logam (Fe, Na dan Ca) terhadap Aktivitas Lipase Kasar dari Kentos Kelapa.. *Agrika: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, vol. 6, no. 1
- Susanti R. dan Fibriana F. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Susanty, Arba., Fitriani dan Candra K.P. 2013. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase dengan Kemampuan Esterase untuk Produksi Metil Ester. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, Vol. 7, No. 14.
- Sutar V.P. dan Kurhekar J.V. 2018. Isolation and Characterization of Lipase producing Bacteria from Restaurant Wastewater. *World Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 6, No. 12.
- Suyasa I. W. B. 2012. Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak /Lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampungan Limbah. *Bumi Lestari Journal of Environment*. Vol 7, No. 1
- Suyanto E., Soetarto E.S., Cahyanto M.N. 2015. Produksi Lipase Kapang Lipolitik Pada Limbah Ampas Kelapa. *Bioeskperimen*, Vol. 1, No. 1
- Syuhada W., R. Jayatin, dan Rohman S. 2009. Modifikasi Bentonit (*Clay*) menjadi Organoclay dengan Penambahan Surfaktan. *J. Nano Saintek*, Vol. 2, No. 1
- Tan, K.H. 1982. *Principles Of Soil Chemistry*. Marcel Dekker, Inc: New York.
- Tang A., Zhang Y., Wei T., Wu J., Li Q., dan Liu Y. 2018. Immobilization of *Candida cylindracea* Lipase by Covalent Attachment on Glu-Modified Bentonite. *Appl Biochem Biotechnol*. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2838-8>
- Taufik Imam. 2006. Pencemaran Deterjen Dalam Perairan Dan Dampaknya Terhadap Organisme Air. *Jurnal Media Akuakultur*, Vol. 1, No. 1. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar: Bogor.
- Telussa Ivonne. 2013. Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari *Coco Butter Substitute* dan Karakterisasi Lipasenyanya. *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura*, ISBN: 978-602-97522-0-5
- Thomson C. A., Delaquis P. J., & Mazza G. 1999. Detection and Measurement of Microbial Lipase Activity: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 39, No. 2, Hal: 165–187.

- Tjiptadi, W. 1990. Pengendalian Limbah Pertanian . Makalah pada Pendidikan Kependudukan dan Lingkungan Bagi Wydiasnara Sespa, Sepadya, Sepala dan Sespa Antar Departemen. *Media Peternakan*. Vol. 29, No. 1
- Ulfa A., Suarsini E., Al muhdar Mimien H.I. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education conference*. Vol. 13, No. 1: 793-799.
- Vinsiah R. dan Fadhillah. 2018. Studi Ikatan Hidrogen Sistem Metanol-Metanol dan Etanol-Etanol dengan Metode Molekular Dinamik. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Vol. 15, No. 1 DOI 10.31851/sainmatika.v15i1.1739
- Voet D., Voet Judith G., dan Pratt Charlotte W. 2016. *Fundamentals of Biochemistry LIFE AT THE MOLECULAR LEVEL*. United States of America: Clearance Center Permissions Department, John Wiley & Sons, Inc.
- Wahyuni Sri, Kirami Wahyuni Mery, dan Khaeruni Andi. 2014. Karakterisasi Sifat Biokimia Isolat Bakteri Kitinolitik Asal Tambak Udang. *Jurnal Ilmiah: Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, Vol. 2, No. 2.
- Weisser, H.M. 1962. *Practical Food Microbiology and Technology*. Avi Publishing Company, Westport Connecticut Winkler, F.K., D'Arcy, A., & Hunziker, W.1990. Structure of Human Pancreatic Lipase Nature. 343:771-774.
- Widowati Esti W., Rohula U., Nurhartadi E., dan Fenny. 2020. Karakterisasi Bakteri Pektinolitik dari Limbah Kulit Jeruk dan Karakterisasi Pektinase yang Dihasilkan serta Studi Aplikasinya untuk Penjernihan Sari Buah Jeruk Pontianak. *Journal of Tropical AgriFood*. Vol. 2, No. 1: 34-44 DOI: <http://dx.doi.org/10.35941/jtaf.2.1.2020.3937.34-44>
- Yesiloglu Yesim. 2005. Utilization of Bentonite as a Support Material for Immobilization of *Candida rugosa* Lipase. *Process Biochemistry*. Vol. 40 DOI: 10.1016/j.procbio.2004.08.008
- Yulvizar Cut. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger sp.* *Biospecies*, Vol. 6, No. 2
- Yuneta, Rena dan Putra, R. S. 2010. Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri *Bacillus subtilis*. *Prosiding FMIPA ITS*, SK-091304
- Zusfahair, Setyaningtyas T., dan Fatoni A. 2009. Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Lipase Bakteri Hasil Skrining dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *Jurnal Natur Indonesia*, Vol. 12, No. 2 Hal 124-129.