

**STUDI POTENSI LIPASE DARI BAKTERI
SEBAGAI SALAH SATU KOMPONEN PENYUSUN BIODETERGEN**

SKRIPSI

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia**



Citra Nandya Inala
17106030017
STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

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



PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1339/Un.02/DST/PP.00.9/07/2021

Tugas Akhir dengan judul : STUDI POTENSI LIPASE DARI BAKTERI SEBAGAI SALAH SATU KOMPONEN PENYUSUN BIODETERGEN

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : CITRA NANDYA INALA
Nomor Induk Mahasiswa : 17106030017
Telah diujikan pada : Jumat, 16 Juli 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



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

Valid ID: 60ff5d4762f9f



Penguji II
Dr. Maya Rahmayanti, S.Si. M.Si.
SIGNED

Valid ID: 61027ded7581a



Yogyakarta, 16 Juli 2021
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 610377ea24f1b

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Citra Nandya Inala

Nomor Induk Mahasiswa : 17106030017

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Studi Potensi Lipase Dari Bakteri Sebagai Salah Satu Komponen Penyusun Biodetergen”** merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjana di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Jika terbukti pernyataan ini tidak benar, maka penulis siap mempertanggungjawabkan sesuai hukum yang berlaku.

Yogyakarta, 10 Mei 2021



Citra Nandya Inala
NIM. 17106030017



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 : Citra Nandya Inala

NIM : 17106030017

Judul Skripsi : Studi Potensi Lipase Dari Bakteri Sebagai Salah Satu Komponen Penyusun Biodetergen

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

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

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 2 Juli 2021

Pembimbing

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

NIP: 19760830 200312 2 001



NOTA DINAS KONSULTASI

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 : Citra Nandya Inala

NIM : 17106030017

Judul Skripsi : Studi Potensi Lipase Dari Bakteri Sebagai Salah Satu
Komponen Penyusun Biodetergen

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

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terimakasih.

Wassalamu 'alaikum wr. wb.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Yogyakarta, 26 Juli 2021

Konsultan

Dr. Arifah Khusnuryani, M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 001



NOTA DINAS KONSULTASI

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 : Citra Nandya Inala

NIM : 17106030017

Judul Skripsi : Studi Potensi Lipase Dari Bakteri Sebagai Salah Satu
Komponen Penyusun Biodetergen


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

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terimakasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 29 Juli 2021

Konsultan


Dr. Maya Rahmayanti, M.Si.
NIP. 19810627 200604 2 003

ABSTRAK

STUDI POTENSI LIPASE DARI BAKTERI SEBAGAI SALAH SATU KOMPONEN PENYUSUN BIODETERGEN

Oleh:

Citra Nandya Inala
17106030017

Dosen Pembimbing:

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

Enzim lipase termasuk kelas enzim hidrolase yang larut dalam air serta dapat mengkatalisis hidrolisis minyak dan lemak. Lipase dapat ditemukan di dalam tanah yang terkontaminasi minyak dan dapat diaplikasikan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil lipase yang berada di tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah lalu lipase hasil produksi bakteri tersebut diaplikasikan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen.

Media yang digunakan pada saat proses isolasi bakteri yaitu *Rhodamine Olive oil Agar* (ROA) dan metode yang digunakan untuk penentuan aktivitas enzim, yaitu *copper soap colorimetry*. Lipase hasil isolasi dimurnikan menggunakan metode kromatografi pertukaran ion dengan bentonit sebagai matriksnya dan menggunakan eluen NaCl dalam buffer fosfat dengan variasi konsentrasi.

Ekstrak kasar lipase dan lipase hasil pemurnian diuji stabilitas aktivitasnya terhadap paparan detergen dan *washing test*. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh empat isolat dengan aktivitas enzim sebesar 37,96; 31,732; 34,616; 43,008 U/ml. Lipase yang dapat diaplikasikan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen, yaitu ekstrak kasar lipase isolat S₂₂ dan lipase yang dimurnikan yaitu lipase dari isolat S₂₁₂ dengan eluen NaCl 0,1 M dan NaCl 1 M, isolat S₂₁₁ dengan eluen NaCl 1 M, isolat S₂₂ dengan eluen NaCl 0,5 M; dan isolat S₃₂ dengan eluen NaCl 0,1 M.

Kata kunci: lipase, bentonit, *copper soap colorimetry*, biodetergen

ABSTRACT

POTENTIAL STUDY OF LIPASE FROM BACTERIA AS ONE OF THE COMPONENTS OF BIODETERGENT

By:

Citra Nandya Inala
17106030017

Advisor:

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

Lipase enzymes belong to a class of hydrolase enzymes that are soluble in water and could catalyze the hydrolysis of oils and fats. Lipase could be found in oil-contaminated soil and could be used as a biode detergent. This study aims to isolate bacteria from the landfill soil, then apply the lipase producing bacteria as one of the components of biode detergent. The medium used during the bacterial isolation process was Rhodamine *Olive oil* Agar (ROA) and the method used when determine the enzyme activity was copper soap colorimetry.

Lipase was purified using ion exchange chromatography method with bentonite as the matrix and using NaCl in phosphate buffer as eluent in various concentration. Crude extract lipases and purified lipases are continuously tested against detergent and *washing test*. Based on the research results, four isolats were obtained with enzyme activity 37.96; 31,732; 34,616; 43.008 U/ml. Lipases that could be applied as one of content of biode detergent are crude extract lipase of S₂₂ isolat and purified lipase from isolat S₂₁₂ with eluent NaCl 0,1 M and 1 M, isolat S₂₁₁ with eluent NaCl 1 M, isolat S₂₂ with eluent NaCl 0,5 M, and isolat S₃₂ with eluent NaCl 0,1 M.

Keywords: lipase, bentonite, copper soap colorimetry, biode detergent

HALAMAN MOTTO

**“ADA YANG TIDAK KAMU BISA DI DUNIA INI,
TETAPI TIDAK ADA YANG TIDAK MUNGKIN.”**



HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini saya dedikasikan untuk papah terkasih Bapak Al Bahidir, S.E. dan mamah tersayang

Ibu Ina Rostina serta untuk almamater tercinta Program Studi Kimia,

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahim

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat hidayah-Nya serta telah memberi kesehatan, kekuatan, kesempatan, dan kesabaran sehingga skripsi yang berjudul “*Studi Potensi Lipase Dari Bakteri Sebagai Salah Satu Komponen Penyusun Biodetergen*” dapat terselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Kimia. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah SAW.

Kesulitan dan hambatan banyak ditemui dalam penyelesaian skripsi ini, akan tetapi berkat pertolongan Allah SWT dan bantuan berbagai pihak kesulitan dan hambatan tersebut dapat diatasi. Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam proses penyusunan skripsi hingga seluruh tahapnya terselesaikan. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih setulus-tulusnya kepada:

1. Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., M.A. selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Dr. Hj. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Dr. Imelda Fajriati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
4. Irwan Nugraha, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama melakukan studi.
5. Dr.rer.medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah meluangkan banyak waktunya untuk membimbing, mengarahkan, mengoreksi, dan memberikan motivasi dalam menyelesaikan penyusunan skripsi.
6. Dr. Isma Kurniatanty, M.Si. selaku Ketua Laboratorium Biologi yang telah memberikan izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Biologi.
7. Ethik Susiawati Purnomo, S.Si. selaku Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Pendamping selama melakukan penelitian di Laboratorium Biologi.
8. Seluruh staff dan karyawan Laboratorium Biologi khususnya Bapak Dony, Bapak Sutriyono, dan Ibu Anif yang telah membantu selama berlangsungnya proses penelitian hingga penulisan skripsi terselesaikan.
9. Kedua orang tua Bapak Al Bahidir dan Ibu Ina Rostina, adikku tercinta Amanda Citra Bilbina serta keluarga yang telah memberikan dukungan baik secara material maupun non-material.
10. Teman-teman di Laboratorium Biologi khususnya Laboratorium Mikrobiologi atas bantuannya selama proses penelitian berlangsung.
11. Hanifah Aryani, Dita Ayu Juniananta, dan Amir serta seluruh teman seperjuangan dalam satu grup bimbingan Amalia Ginanti, Sri Raehanti, Lia Amalia, dan Yethi Anindhi Novita yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi.
12. Tati Mardiyah, Alfianti Ekananda, Agianti Sugihati, Zulfa Ahmad Nurkholiq, dan Asnal Muqorobin yang telah memberikan banyak kebahagiaan selama melaksanakan studi bersama.

13. Teman-teman seperjuangan Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Angkatan 2017.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu atas segala bantuan dalam proses penyelesaian skripsi.

Penulis mengharapkan kritik dan saran dari segala pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi almamater tercinta Program Studi Kimia UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta dan perkembangannya ilmu pengetahuan khususnya ilmu kimia.

Yogyakarta, 10 Mei 2021

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iii
SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR.....	iv
NOTA DINAS KONSULTASI.....	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
HALAMAN MOTTO.....	ix
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Batasan Masalah	3
C. Rumusan Masalah.....	4
D. Tujuan Penelitian.....	4
E. Manfaat Penelitian	5
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI.....	6
A. Tinjauan Pustaka	6
B. Landasan Teori	8
1. Tempat Pembuangan Akhir (TPA).....	8
2. Lipase	9
3. Biodetergen.....	10
4. Uji Aktivitas Enzim	11
5. Pemurnian Enzim.....	13
C. Hipotesis Penelitian	14
BAB III.....	18
METODE PENELITIAN.....	18
A. Waktu dan Tempat Penelitian	18
B. Alat-Alat Penelitian	18

C. Bahan-Bahan Penelitian.....	18
D. Cara Kerja Penelitian.....	19
1. Pengambilan Sampel.....	19
2. Sterilisasi Alat.....	19
3. Pembuatan Media	19
4. Isolasi Bakteri.....	21
5. Karakterisasi Bakteri Penghasil Lipase.....	22
6. Produksi Lipase	24
7. Uji Aktivitas Enzim	24
8. Pemurnian Enzim.....	25
9. Penentuan Suhu Optimum Aktivitas Lipase	26
10. Penentuan pH Optimum Aktivitas Lipase.....	26
11. Stabilitas Aktivitas Lipase.....	26
12. <i>Washing test</i>	27
BAB IV	28
PEMBAHASAN.....	28
A. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase.....	28
B. Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Lipase	29
1. Pengamatan Morfologi Terhadap Isolat Bakteri Penghasil Lipase	29
2. Uji Biokimia Terhadap Isolat Bakteri Penghasil Lipase	32
C. Produksi dan Isolasi Lipase.....	37
D. Uji Aktivitas Lipase.....	38
1. Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Lipase	38
2. Penentuan Kondisi Optimum Aktivitas Ekstrak Kasar Lipase.....	42
E. Uji Stabilitas Aktivitas Lipase	45
F. <i>Washing test</i>	47
BAB V.....	51
PENUTUP	51
DAFTAR PUSTAKA	53
CURRICULUM VITAE	67

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil uji morfologi isolat bakteri penghasil lipase hasil isolasi yang meliputi ukuran, bentuk, elevasi, margin, bentuk sel, dan pengecatan gram.....	30
Tabel 4.2	Uji biokimia isolat bakteri penghasil lipase meliputi uji hidrolisis pati, uji urease, 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 positif, (-) menunjukkan negatif.....	32
Tabel 4.3	Kandungan oleat pada beberapa minyak nabati.....	38
Tabel 4.4	Stabilitas ekstrak kasar lipase isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ dan isolat S ₃₂ yang dipaparkan dengan detergen konsentrasi 7 mg/mL pada pH 8 dan suhu 37 °C selama 15 menit dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm.....	47
Tabel 4.5	Stabilitas lipase hasil pemurnian isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ dan isolat S ₃₂ yang dipaparkan dengan detergen komersial konsentrasi 7 mg/mL pada pH 8 dan suhu 37 °C selama 15 menit dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm; kontrol adalah enzim tanpa dipaparkan dengan detergen, sedangkan perlakuan enzim yang dipaparkan dengan detergen; eluen 1 adalah NaCl 0,1 M; eluen 2 adalah NaCl 0,5 M; dan eluen 3 adalah NaCl 1 M	47
Tabel 4.6	<i>Washing test</i> ekstrak kasar lipase isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , S ₃₂ dengan kain berukuran 4x4 cm dan suhu inkubasi 37°C.....	48
Tabel 4.7	<i>Washing test</i> lipase yang telah dimurnikan isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , S ₃₂ dengan kain berukuran 4x4 cm dan suhu inkubasi 37°C; eluen 1 NaCl 0,1 M; eluen 2 NaCl 0,5 M; eluen 3 NaCl 1 M.....	48
Tabel 4.8	Uji potensi ekstrak kasar lipase dan lipase yang telah dimurnikan isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , S ₃₂ sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen yang meliputi aktif pada suhu 30-60 °C, aktif pada pH basa, stabilitas aktivitas, dan <i>washing test</i> ; (+) bermakna memenuhi syarat dan (-) tidak memenuhi syarat; eluen 1 NaCl 0,1 M; eluen 2 NaCl 0,5 M; eluen 3 NaCl 1 M.....	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1	Isolat bakteri penghasil lipase yang diisolasi dari tanah TPA pada media ROA. (A) Isolat S ₂₁₂ , (B) Isolat S ₂₁₁ , (C) Isolat S ₂₂ , dan (D) Isolat S ₃₂ menghasilkan pendaran orange disekitar koloni ketika diamati di bawah sinar UV	29
Gambar 4.2	Hasil pewarnaan gram isolat bakteri penghasil lipase. (A) Isolat S ₂₁₂ , (B) Isolat S ₂₁₁ , (C) Isolat S ₂₂ , dan (D) Isolat S ₃₂	31
Gambar 4.3	Reaksi hidrolisis urea oleh enzim urease yang menghasilkan karbon dioksida, air, dan amonia	33
Gambar 4.4	Reaksi reduksi nitrat menjadi nitrit oleh enzim nitrat reduktase ...	34
Gambar 4.5	Reaksi pemecahan hidrogen peroksida oleh enzim katalase menghasilkan air dan oksigen berupa gelembung pada permukaan isolat	34
Gambar 4.6	Reaksi pembentukan H ₂ S oleh cysteine desulfurase menghasilkan H ₂ S dan asam piruvat	36
Gambar 4.7	Reaksi antara H ₂ S dan FeSO ₄ menghasilkan FeS dan H ₂ SO ₄	36
Gambar 4.8	Reaksi penguraian triptofan oleh enzim triptofanase menghasilkan indol, amonia, dan asam piruvat	36
Gambar 4.9	Proses aktivasi serin oleh histidin dan asp/glu lipase	39
Gambar 4.10	Mekanisme reaksi hidrolisis triasilgliserol oleh lipase menghasilkan gliserol.....	40
Gambar 4.11	Mekanisme reaksi hidrolisis triasilgliserol oleh lipase menghasilkan asam.....	41
Gambar 4.12	Aktivitas ekstrak kasar lipase isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , dan S ₃₂ dengan waktu reaksi enzimatis selama 30 menit pada suhu 30 °C dan pH 7 dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm	42
Gambar 4.13	Aktivitas ekstrak kasar lipase isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , dan S ₃₂ dengan variasi suhu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, dan 50°C, pH 7, waktu reaksi enzimatis selama 15 menit dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm.....	44
Gambar 4.14	Aktivitas ekstrak kasar lipase isolat S ₂₁₂ , S ₂₁₁ , S ₂₂ , dan S ₃₂ dengan variasi pH 6, 7, 8, 9, 10, suhu optimum masing-masing isolat, waktu reaksi enzimatis selama 15 menit, dan dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm	45

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Enzim merupakan biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis dalam berbagai kebutuhan industri (Wirahadikusumah, 1989). Kebutuhan enzim untuk industri di Indonesia diperkirakan mencapai 2500 ton setiap tahunnya. Namun, selama ini Indonesia masih harus melakukan impor untuk mencukupi kebutuhan dalam negeri dengan biaya sekitar 200 miliar (Sugiyono & Parmin, 2014). Pengeluaran yang cukup tinggi tersebut menjadi alasan utama dibangunnya pabrik produksi enzim pada tahun 2015 di PT Petrosida, Gresik. Salah satu enzim yang diproduksi yaitu lipase.

Lipase (Triasgliserol hidrolase, EC 3.1.1.3) termasuk kelas enzim hidrolase yang larut dalam air serta dapat mengkatalisasi hidrolisis minyak dan lemak (Cherif, *et al.*, 2011; Susanti & Fibriana, 2017). Lipase dapat diperoleh dari mikroorganisme, tanaman, dan hewan. Lipase dari mikroorganisme memiliki keunggulan dapat diproduksi dengan jumlah banyak dalam waktu singkat dan dengan biaya produksi yang lebih murah dibandingkan dari hewan atau tumbuhan. Salah satu mikroorganisme penghasil lipase yaitu bakteri (Verma, *et al.*, 2012).

Bakteri penghasil lipase dapat ditemukan di tanah yang terkontaminasi minyak, makanan busuk, timbunan kompos, dan limbah pabrik perusahaan susu (Sharma, *et al.*, 2001). Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) diduga menjadi tempat hidup bakteri penghasil lipase karena mengandung minyak yang merupakan

substrat bagi lipase (Purnamasari, *et al.*, 2014). Zufahair, *et al.* (2010) berhasil mengisolasi bakteri lipase genus *Acinetobacter sp.* dengan aktivitas spesifik sebesar 8195,8 U/mg protein dari tanah TPA di Gunung Tugel, Banyumas. Selain berasal dari genus tersebut, ada pula genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Aspergillus*, dan *Staphylococcus*.

Bakteri penghasil lipase dapat diisolasi menggunakan media *Rhodamine Olive oil Agar* (ROA). Media ini melibatkan interaksi substrat terhidrolisis dengan *rhodamine B* yang menghasilkan pendaran berwarna *orange* di sekitar koloni bakteri ketika diamati di bawah sinar UV. Media ROA lebih unggul dibandingkan media tributirin karena memiliki tingkat selektivitas yang lebih tinggi. Media tributirin tidak hanya berfungsi untuk mengidentifikasi lipase, tetapi juga dapat mengidentifikasi esterase (Lanka & J., 2015).

Lipase dari bakteri dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang industri. Namun, lipase murni diperlukan untuk membuat formulasi keperluan industri seperti formulasi detergen dan obat-obatan. Pemurnian dilakukan untuk mengisolasi lipase dari kontaminan, meningkatkan aktivitas, stabilitas, dan umur simpan. Lipase diisolasi menggunakan metode sentrifugasi. Lipase ekstraseluler akan berada dalam fasa supernatan sebagai *crude extract*. *Crude extract* kemudian dimurnikan dengan metode kromatografi. Salah satu metode kromatografi yang dapat digunakan yaitu kromatografi pertukaran ion (Javed, *et al.*, 2017).

Lipase dapat digunakan dalam formulasi detergen untuk menggantikan bahan kimia yang menjadi komponen penyusun detergen. Detergen berbasis enzim (biodetergen) bersifat *biodegradable* dan tidak meninggalkan residu berbahaya

bagi lingkungan khususnya lingkungan perairan (Hasan, *et al.*, 2006). Biodetergen diharapkan akan membatasi penggunaan bahan kimia, sehingga pencemaran lingkungan berkurang. Kriteria lipase yang dapat digunakan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen, yaitu mampu bertahan pada rentang suhu 30-60°C dan dalam pH basa, memiliki stabilitas aktivitas di atas 70% saat dipaparkan dengan detergen, dan memiliki % ω yang lebih besar dari % ω kontrol. Pengujian potensi lipase sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen dapat dilakukan dengan *washing test* untuk mengetahui kemampuan hidrolisis lipase terhadap lemak (Liu, *et al.*, 2012; Li, *et al.*, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini telah dilakukan isolasi bakteri penghasil lipase yang terdapat di dalam tanah TPA. Enzim yang diperoleh dari hasil isolasi kemudian dimurnikan dan diaplikasikan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen. Penelitian yang akan dilakukan meliputi beberapa tahap, yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri, produksi dan purifikasi enzim, uji aktivitas enzim, serta optimasi pH dan suhu pada produksi enzim. Tahap terakhir untuk menguji potensi lipase sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen, yaitu dilakukan *washing test* sesuai metode Li, *et al.* (2014) dengan modifikasi ukuran kain yang digunakan.

B. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan merupakan tanah dari Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Sampah di Ngablak, Sitimulyo, Piyungan, Bantul, Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY).

2. Penelitian meliputi isolasi bakteri, karakterisasi bakteri dengan uji morfologi dan uji biokimia, produksi dan purifikasi enzim, uji aktivitas enzim, optimasi pH dan suhu pada produksi enzim, serta *washing test*.
3. Penentuan uji aktivitas lipase dari bakteri diukur dengan metode spektrofotometri.
4. Penentuan pH dan suhu optimum dilakukan pada saat produksi lipase menggunakan isolat terpilih.
5. Potensi lipase sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen dilakukan dengan uji stabilitas lipase terhadap paparan detergen konsentrasi 7 mg/ml dan *washing test*.

C. Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas lipase yang ditunjukkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah?
2. Bagaimana aktivitas lipase yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah pada variasi pH dan suhu inkubasi?
3. Bagaimana potensi lipase dari bakteri yang diisolasi dari tanah TPA sampah sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen dengan uji stabilitas aktivitas dan *washing test*?

D. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas lipase yang ditunjukkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah.
2. Mengetahui aktivitas lipase yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah pada variasi pH dan suhu inkubasi.

3. Mengetahui potensi lipase dari bakteri yang diisolasi dari tanah TPA sampah sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen.

E. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas lipase yang ditunjukkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah.
2. Memberikan informasi terkait potensi lipase dari bakteri yang diisolasi dari tanah TPA sampah sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen.
3. Memberikan informasi mengenai aktivitas lipase yang dihasilkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah pada variasi pH dan suhu inkubasi.
4. Memberikan acuan dan referensi kepada mahasiswa lain yang ingin mengembangkan penelitian dengan topik sejenis.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Aktivitas lipase ditunjukkan oleh bakteri hasil isolasi dari tanah TPA sampah, yaitu isolat S₂₁₂, S₂₁₁, S₂₂, dan S₃₂ dengan adanya pendaran berwarna *orange* di sekitar koloni bakteri.
2. Lipase dari seluruh isolat menghasilkan aktivitas pada rentang suhu 30-50°C dan rentang pH 6-10. Isolat S₂₁₁ memiliki suhu optimum 40°C dengan aktivitas lipase sebesar 359,984 U/ml, isolat S₂₁₂ memiliki suhu optimum 50°C dengan aktivitas lipase sebesar 201,326 U/ml, sedangkan isolat S₂₂ dan S₃₂ memiliki suhu optimum yang sama yaitu 30°C dengan aktivitas lipase masing-masing sebesar 361,820 dan 234,106 U/ml. Pada variasi pH, isolat S₂₁₁, S₂₂, dan isolat S₃₂ memiliki pH optimum basa, yaitu 10 dengan aktivitas lipase masing-masing sebesar 259,020; 383,586; dan 524,150 U/ml, sedangkan isolat S₂₁₂ memiliki suhu optimum netral yaitu 7 dengan aktivitas lipase sebesar 465,145 U/ml.
3. Lipase yang berpotensi untuk diaplikasikan sebagai salah satu komponen penyusun biodetergen karena memenuhi syarat aktif pada suhu 30-60°C, aktif pada pH basa, memiliki stabilitas di atas 70% terhadap paparan detergen konsentrasi 7 mg/ml, dan memiliki persen lipid yang hilang dari kain melebihi persen kontrol, yaitu ekstrak kasar lipase dari isolat S₂₂, lipase yang dimurnikan dari isolat S₂₁₂ dengan eluen NaCl 0,1 M dan 1 M, isolat

S₂₁₁ dengan eluen NaCl 1 M, isolat S₂₂ dengan eluen NaCl 0,5 M serta isolat S₃₂ dengan eluen NaCl 0,1 M.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai karakterisasi bakteri agar diketahui setidaknya genus dari bakteri yang berhasil diisolasi.
2. Perlu dilakukan optimasi suhu dan pH terhadap lipase yang telah dimurnikan, sehingga data yang diperoleh semakin lengkap.



DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dhumri, S. A. & Bayoumi, R. A., 2020. Purification and Characterization of Bacterial Thermoalkalstable Lipase for Application in Biodetergent Industry. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*, 9(2), pp. 013-029.
- Amara, A. A., Salem, S. R. & Shabeb, M. S. A., 2009. The Possibility To Use Bacterial Protease and Lipase As Biodetergent. *Global J Biotechnol Biochem*, Volume 4, pp. 104 - 114.
- Benson, H. J., 2001. *Microbiology Applications A Laboratory Manual in General Microbiology*. USA: The Mc-Graw-Hill Companies.
- Brown, A. E., 2005. *Microbiological Applications, Ninth Edition*. New York: Mc Graw Hill. Auburn University.
- Cappuccino, J.C., and N. Sherman. 2014. *Microbiology-A Laboratory Manual*. 10th ed. Pearson Education (Singapore).
- Chakraborty, S. *et al.*, 2015. Biosurfactant Produced from Actinomycetes nocardioopsis A17: Characterization and Its Biological Evaluation. *Int. J. Biol. Macromol*, 04(068).
- Cherif, S., Sami, M., Hadrich, F., Abdelkafi, S., & Sayadi, S. (2011). A newly high alkaline lipase: an ideal choice for application in detergent formulations. *Lipids in Health and Disease*, 221.
- Edupuganti, S., Parcha, L. & Mangamoori, N. L., 2017. Purification and Characterization of Extracellular Lipase from Staphylococcus epidermidis (MTCC 10656). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(1), pp. 057-063.
- Grbavcic, S. *et al.*, 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, Purificataion, and Biochemical Properties. *Appl. Microbiology. Biotechnology*, Volume 64, pp. 763-781.
- Gupta, R., Rathi, P., Gupta, N. & Bradoo, S., 2003. Lipase assay for conventional and molecular screening: an overview.. *Biotechnol. Appl. Biochem*, Volume 37, pp. 63 - 67.
- Harley, J. P., 2005. *Laboratory Exercises in Microbiology*. Sixth ed. New York: McGraw-Hill.

- Hasan, F., Shah, A. A. & Hameed, A., 2006. Industrial Applications of Microbial Lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, Volume 39, pp. 235 - 251.
- Hasan, F., Shah, A. A., Javed, S. & Hameed, A., 2010. Enzymes Used In Detergents: Lipases. *African Journal of Biotechnology*, 9(31), pp. 4836 - 4844.
- Iskandar, R., Sahlan, M. & Setyahadi, S., 2017. *Production and Purification of Lipase Enzyme from Bacillus licheniformis F11.4 as Biodetergent*. s.l., Proseding on Science and Teknologi UI.
- Javed, S. et al., 2017. Bacterial Lipases: A Review On Purification and Characterization. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*.
- Kim, E. et al., 2001. Lipase and Its Modulator from Pseudomonas sp, Strain KFCC 10818: Proline-to-Glutamine Substitution at Position 112 Induces Formation of Enzymatically Active Lipase in the Absence of the Modulator. *Journal of Bacteriology*, 183(20), pp. 5937-5941.
- Kouker, G. & Jaeger, K., 1987. Specific and Sensitive Plate Assay for Bacterial Lipases. *Appl. Environ. Microbiol*, 53(1), pp. 211-213.
- Kwon, D. Y. & Rhee, J. S., 1986. A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatty Acids for Lipase Assay. *JAOCS*, Volume 63, pp. 89-92.
- Laboffe, M. & Pierre, J., 2011. *A Photographic Atlas For the Microbiology Laboratory*. 4 ed. USA: Morton Publishing Company.
- Lanka, S., & J., N. L. (2015). A Short Review on Various Screening Methods to Isolate Potential Lipase Producers: Lipase-the Present and Future Enzyme of Biotech Industry. *International Journal of Biological Chemistry*, 207-219.
- Lay, B. W., 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: PT Raja Grafindo Perkasa.
- Layly, I. R. & Wiguna, N. O., 2016. Studi Potensi Lipase Alcaligenes faecalis Untuk Aplikasi Biodeterjen. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, Volume 2.
- Ledo, M. E. S., Solle, H. R. L. & Nitsae, M., 2017. Purifikasi Lipase Aspergillus niger MI1407 Indigenous Menggunakan Kromatografi Pertukaran Ion. *Biota*, 2(3), pp. 82-88.
- Lehninger, A. L., 1982. *Principles of Biochemistry*. Maryland: Worth Publishers, Inc.
- Liu, C. H., Huang, C. C., Wang, Y. W. & Chang, J. S., 2012. Optimizing Lipase

- Production from Isolated Burkholderia sp. *Chemical Engineers*, Volume 43, pp. 511-516.
- Li, X. L. *et al.*, 2014. A High-Detergent-Performance Cold-Adaptedd Lipase from Pseudomonas stutzeri PS59 Suitable For Detergent Formulation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymati*.
- Lowry, R. & Tinsley, I., 1976. Rapid Calorimetric Determination of Free Fatty Acids. *Journal of the American Oil Chemistry Society*, Volume 53, pp. 470-472.
- Murkherjee, K. D. & Hills, M. J., 1994. *Lipase from Plant. In. Lipases: Their Structure, Biochemistry, and Application*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Murni, S. W., Kholisoh, S. D., L., T. D. & M., P. E., 2011. Produksi, Karakterisasi dan Isolasi Lipase dari Aspergillus niger. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*.
- Odu, N. N. & Akujobi, C. O., 2012. Potential Production of Lipases by Pseudeomonas and Straphylococcus Spesies Isolated from Palm Oil Contaminated Tropical Soil. *Cancer Biology*, Volume 2, pp. 45 - 49.
- Purnamasari, N. K. N., Oviantari, V. & Parwata, I. P., 2014. *Isolasi dan Karakterisasi Lipase dari Bakteri yang Diisolasi dari Tanah Terkontaminasi Minyak di Pasar Banyuasri Singaraja*. Bali, Prosiding Seminar Nasional Prodi Biologi F. MIPA UNHI.
- Rokhati, N. & Prasetyaningrum, A., 2004. Adsorpsi Logam Berat Limbah Cair Industri Kerajinan Kuningan Juana Menggunakan Campuran Bentonit dan Abu Sekam Padi. *Reaktor*, Volume 8, pp. 29-32.
- Sadikin, M., 2002. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika.
- Schwimmer, S., 1981. *Source Book of Found Enzymologi*. West Port: The Avi Pub Co.
- Sharma, R., Chisti, Y. & Banerjee, U. C., 2001. Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipases. *Biotechnology Advances*, Volume 19, pp. 627 - 662.
- Standbury, P. F. & Whitaker, A., 1984. *Principle of Ferm Technology*. New York: Pergunson Press.
- Stoytcheva, M. *et al.*, 2012. Analytical Methods for Lipases Activity Determination: A Review. *Current Analytical Chemistry*, Volume 8, pp. 400 - 407.
- Sugiyono & Parmin, 2014. *Tribun News*. [Online] Available at: <https://surabaya.tribunnews.com/2014/07/01/gresik-tempat-produksi-enzim-pertama-kali-di-indonesia> [Accessed Jumat Maret 2020].

- Susanti R. dan Fibriana F. 2017. *Teknologi Enzim*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Verma, M. L., Azmi, W. & Kanwar, S. S., 2008. Microbial Lipases: At The Interface of Aqueous and Non-Aqueous Media. A Review. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 55(3), pp. 265 - 294.
- Verma, N., Thakur, S. & Bhatt, A., 2012. Microbial Lipases: Industrial Applications and Properties (A Review). *International Research Journal of Biological Sciences*, Volume 1 (8), pp. 88 - 92.
- Wahyuni, S., Lianto, & Khaeruni, A. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Manolitikasal Bonggol Pohon Sagu. *AGROTEKNOS* , 174-179
- Wakil, S., & Osesusi, O. (2017). Production, Characterization, and Purification of Lipase By Bacteria Isolated From Palm Oil Mill Effluent and Its Dumpsites Soil. *Nigerian Journal of Microbiology* , 3691-3703.
- Wang, I. C., 1979. *Fermentation and Enzymes Technology*. New York: John Wiley and Sons.
- Wilson, K., 2005. *Chromatographic techniques, In: Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. 6 ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Wirahadikusumah, M., 1989. *Biokimia: Protein, Enzim, dan Asam Nukleat*. Bandung: ITB Press.
- Yazid, E. & Nursanti, L., 2006. *Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analis*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Yu, M., Qin, S. & Tan, T., 2007. Purification and Characterization of The Extracelullar Lipase Lip2 from *Yarrowia lipolytica*. *Process Biochemistry*, Volume 42, pp. 384-391.
- Yuneta, R. & Putra, S. R., 2010. *Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri Bacillus subtilis*. s.l., Prosiding Kimia FMIPA ITS.
- Zusfahair, Setyaningtyas, T. & Fatoni, A., 2010. Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Lipase Bakteri Hasil Skrining Tanah Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *Jurnal Natur Indonesia*, 12(2), pp. 124 - 129.