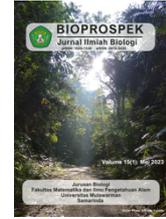




# Bioprospek

<https://fmipa.unmul.ac.id/jurnal/index/Bioprospek>



## KONDISI KERJA OPTIMUM LIPASE BAKTERI ENDOFIT DARI DAUN *Macaranga hullettii* King ex Hook.f.

Nelly Marliani<sup>1</sup>, Winni Astuti<sup>1\*</sup>, Rudi Kartika<sup>1</sup>

<sup>1</sup>)Program Studi S1 Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mulawarman Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua, Samarinda, Indonesia 75123

### INFO ARTIKEL

Terkirim **24 Februari 2023**  
Diterima **12 Mei 2023**  
Online **29 Mei 2023**

Kata kunci.  
Bakteri endofit, lipase,  
*Macaranga hullettii*

### ABSTRAK

Lipase ekstraseluler telah berhasil diisolasi dari bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex hook f.. Skrining lipase ekstraseluler menggunakan media nutrisi agar yang mengandung minyak zaitun dan rodhamin B. Hasil skrining menunjukkan terdapat 6 isolat bakteri endofit yang menghasilkan lipase ekstraseluler. Selanjutnya, lipase dari salah satu dari 6 isolat dikarakterisasi. Lipase diproduksi selama 72 jam. Karakterisasi kondisi kerja optimal lipase berada pada suhu 40°C, dengan pH 8, dan konsentrasi minyak zaitun optimal adalah 1,50%. Lipase diaktivasi oleh ion Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup> dan dihambat oleh ion Ba<sup>2+</sup>. Lipase stabil dalam pelarut etanol dan terganggu stabilitasnya pada pelarut eter dan n-heksana.

\*Email korespondensi: [winniasuti@gmail.com](mailto:winniasuti@gmail.com)

## 1. PENDAHULUAN

Lipase merupakan enzim untuk mengkatalisis reaksi hidrolisis senyawa trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Selain reaksi hidrolisis, lipase juga dapat melakukan reaksi esterifikasi, alkoholisis, asidolisis dan aminolisis (Murni *et al.*, 2011). Pada bidang industri lipase dimanfaatkan pada bidang industri pangan, bahan aditif deterjen, pengolahan limbah air serta industri kosmetik, dan farmasi. Selain itu, lipase juga diperlukan dalam produksi biodiesel (Susanty *et al.*, 2013).

Lipase dapat diisolasi dari mikroba seperti bakteri, jamur, yeast, dan actinomycetes. Enzim yang diisolasi dari mikroba sangat banyak digunakan karena untuk produksinya hanya memerlukan waktu yang sangat singkat dan nilai aktivitasnya dapat meningkat dengan kondisi pertumbuhan yang tepat serta lahan produksi yang diperlukan tidak luas (Susanty *et al.*, 2013).

Bakteri endofit ialah bakteri yang hidup pada jaringan tumbuhan dan berkoloni pada sistem vaskular dan daerah ruang interseluler. Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian daun, batang, maupun akar suatu tanaman. Setiap tanaman mengandung beberapa jenis bakteri endofit yang dapat memperoleh senyawa biologi dan metabolit sekunder yang diduga akibat koevolusi atau transfer genetik (Radji, 2005).

Beberapa penelitian telah berhasil memperoleh bakteri endofit yang berpotensi menghasilkan lipase. Djafar *et al.* (2010) memperoleh 15 isolat bakteri endofit dari buah tanaman kelapa sawit yang menunjukkan adanya aktivitas lipase. Carrim *et al.* (2006) mengisolasi 10 jenis spesies bakteri endofit dari batang dan daun tanaman *Jacaranda decurrens* Cham. dan 4 spesies menunjukkan adanya aktivitas lipase yaitu *Corynebacterium aquaticum*, *Corynebacterium renale*, *Pseudomonas stutzeri*, dan *Staphylococcus* sp. El-Deeb *et al.* (2013) mengisolasi bakteri endofit dari tanaman obat *Plectranthus tenuiflorus* yang menunjukkan adanya aktivitas lipase dari spesies bakteri *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilus*, dan *Pseudomonas* sp. Castro *et al.* (2014) memperoleh 40 isolat bakteri endofit dari tanaman *mangrove* dan 21 isolat yang menunjukkan adanya aktivitas lipase.

Marliani *et al.* (2019) telah memperoleh isolat bakteri penghasil lipase ekstraselular dari bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kondisi kerja optimum lipase dari bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. tersebut.

## 2. METODE

### A. Penentuan pH Optimum Aktivitas Lipase

Penentuan pH optimum aktivitas lipase dilakukan pada variasi pH (4; 5; 6; 7; 8 dan 9) secara titrimetri dengan menggunakan emulsi *olive oil* yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 mL *olive oil* dengan 0,05 gram gum arab di dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Kemudian, ditambahkan 4 mL larutan bufer pada setiap variasi pH dan 1 mL ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Campuran ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Setelah itu, campuran ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang maka proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan dicatat volume titrasinya. Larutan Blanko dibuat dengan menggantikan enzim dengan aquades.

### B. Penentuan Suhu Optimum Aktivitas Lipase

Penentuan suhu optimum terhadap aktivitas lipase dilakukan pada berbagai variasi suhu inkubasi (30°C; 40°C; 50°C; 60°C; 70°C; dan 80°C) secara titrimetri dengan menggunakan emulsi *olive oil* yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 mL *olive oil* dan 0,05 gram gum arab di dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Pada campuran ditambahkan 4 mL larutan bufer pH optimum dan 1 mL ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada variasi suhu selama 30 menit. Setelah itu, larutan ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya, ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi

menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang, proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan dicatat volume titrasinya. Larutan Blanko dibuat dengan menggantikan enzim dengan aquades.

### C. Penentuan Konsentrasi Substrat Optimum

Penentuan konsentrasi substrat optimum terhadap aktivitas lipase dilakukan pada berbagai variasi konsentrasi (0,50; 1; 1,50; 2; dan 2,50)% v/v dengan pH dan suhu optimum yang diperoleh sebelumnya. Penentuan dilakukan secara titrimetri dengan menggunakan emulsi minyak zaitun yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 gram gum arab dan substrat *olive oil* pada variasi konsentrasi ke dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Campuran larutan ditambahkan 4 mL larutan bufer pH optimum dan 1 mL ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Kemudian, pada larutan ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya, campuran ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang maka proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan dicatat volume titrasinya. Blanko dibuat dengan menggantikan enzim dengan aquades.

### D. Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase

Larutan logam ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgCl}_2$  dan  $\text{FeCl}_3$  0,10 M) sebanyak 120  $\mu\text{L}$  dimasukkan ke dalam 1 mL enzim, kemudian diinkubasi selama 120 menit, sedangkan enzim tanpa logam dibuat dengan mencampurkan 120  $\mu\text{L}$  aquades ke dalam 1 mL enzim (Zusfahair *et al.*, 2008). Aktivitasnya diuji secara titrimetri dengan menggunakan emulsi *olive oil* yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 gram gum arab dan substrat *olive oil* konsentrasi optimum ke dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Kemudian, ditambahkan 4 mL larutan bufer pH optimum dan 1 mL campuran ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Campuran kemudian ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya, larutan ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang maka proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan dicatat volume titrasinya. Larutan Blanko dibuat dengan menggantikan enzim dengan aquades.

### E. Pengaruh Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Lipase

Pelarut organik (etanol, metanol, n-heksana, kloroform dan eter) sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 3 mL ekstrak kasar lipase, kemudian divorteks (Eltaweel *et al.*, 2005). Selanjutnya, aktivitasnya diuji secara titrimetri dengan menggunakan emulsi *olive oil* yang dibuat dengan mencampurkan 0,05 gram gum arab dan substrat *olive oil* konsentrasi optimum ke dalam labu Erlenmeyer dan dihomogenkan. Campuran kemudian ditambahkan 4 mL larutan bufer pH optimum dan 1 mL campuran ekstrak kasar enzim, lalu diinkubasi pada suhu optimum selama 30 menit. Dalam larutan kemudian ditambahkan 10 mL aseton-etanol (1:1) dan dihomogenkan. Selanjutnya, larutan ditambahkan 2 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,02 M. Ketika larutan menjadi warna merah jambu dan tidak hilang maka proses titrasi dihentikan sehingga diperoleh volume titrasi dan dicatat volume titrasinya. Larutan Blanko dibuat dengan mengganti enzim dengan aquades.

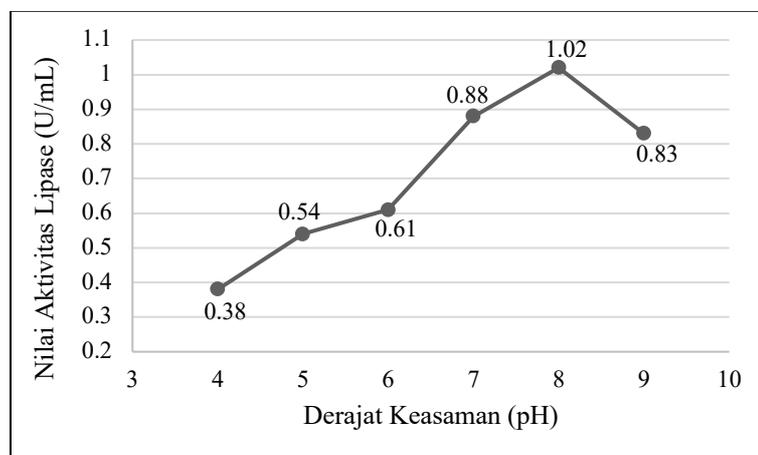
## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Kondisi Derajat Keasaman (pH) Optimum Aktivitas Lipase

Penentuan pH optimum dilakukan untuk mengetahui konsisi pH yang memberikan aktivitas lipase terbaik. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas terbaik diperoleh pada pH 8 dengan aktivitas lipase sebesar 1,02 Unit/mL.

Gambar 1 menunjukkan bahwa pada pH rendah maupun tinggi lipase masih memiliki aktivitas. Aktivitas lipase meningkat seiring dengan meningkatnya pH (pH 4 sampai 8),

sedangkan pada pH 9 mengalami penurunan setelah melewati pH optimumnya. Hal ini terjadi karena struktur enzim mengalami perubahan serta interaksi antara enzim dan substrat terganggu, akibatnya proses katalisis lipase dalam menghidrolisis lemak juga terganggu.



**Gambar 1.** Derajat Keasaman (pH) Optimum Aktivitas Lipase

Enzim hanya mampu bekerja pada kondisi pH tertentu, kenaikan pH atau penurunan pH dapat menyebabkan aktivitas enzim menjadi berkurang. Hal ini karena terjadinya perubahan struktur tiga dimensi enzim, sehingga substrat tidak dapat berikatan dengan sisi aktif enzim (Sadikin, 2002). Pada kondisi pH yang lebih tinggi maupun rendah dari pH optimum akan mempengaruhi perubahan muatan dari asam amino penyusun enzim. Jika yang berubah adalah rantai samping asam amino yang berfungsi sebagai tempat mengikat substrat, maka kemampuan dalam mengikat substratnya akan terganggu atau kemampuan katalitiknya menurun (Puspitaningrum dan Adhiyanto, 2016).

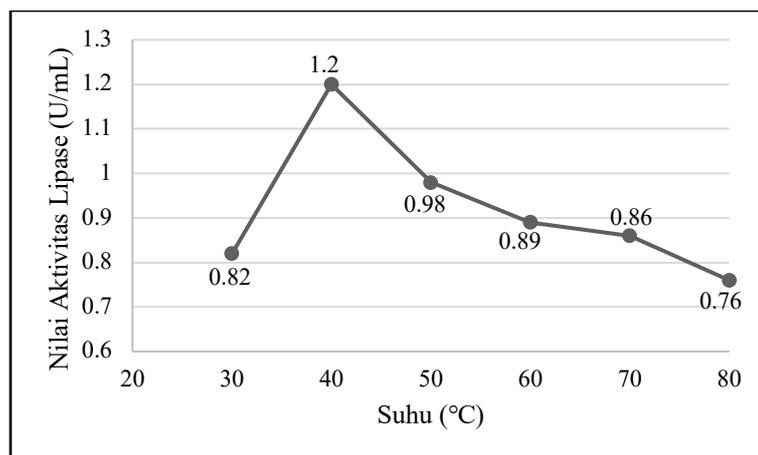
Ketika kondisi pH lingkungan berubah, maka dapat menyebabkan perubahan enzim di daerah situs pengikatan substrat. Bentuk atau struktur tiga dimensi dari enzim khususnya di daerah situs katalisis harus dipertahankan sedemikian rupa agar fungsi katalisis enzim tetap ada. Jika terjadi perubahan pada struktur tiga dimensi tersebut, maka akan menghalangi pengikatan antara enzim dan substrat (Puspitaningrum dan Adhiyanto, 2016).

## **B. Kondisi Suhu Optimum Aktivitas Lipase**

Uji aktivitas lipase terhadap variasi suhu dilakukan untuk mengetahui suhu optimum lipase dalam menghidrolisis substrat. Suhu optimum aktivitas lipase diperoleh pada suhu 40°C dengan aktivitas sebesar 1,20 Unit/mL.

Aktivitas lipase akan meningkat hingga mencapai suhu optimumnya dan kemudian mengalami penurunan setelah melewati suhu optimum. Pada Gambar 2 diketahui saat berada pada suhu 30°C aktivitas lipase sebesar 0,82 U/mL, kemudian setelah mencapai suhu optimum yaitu 40°C aktivitas lipase mengalami penurunan pada suhu 50°C yaitu sebesar 0,98 U/mL secara perlahan hingga suhu 80°C dengan nilai aktivitasnya 0,76 U/mL.

Suhu digunakan untuk memberikan energi dalam reaksi enzim. Pada setiap penambahan suhu 10°C akan meningkatkan energi vibrasi molekul enzim dan aktivitas katalitik enzim hingga mencapai suhu optimumnya. Semakin tinggi suhu, maka suhu tersebut akan semakin merusak sisi aktif enzim maupun interaksi lemah antara enzim dan substrat sehingga setelah melewati suhu optimumnya enzim tersebut memberikan aktivitas yang lebih rendah (Pamela *et al.*, 2002).



**Gambar 2.** Suhu Optimum Aktivitas Lipase

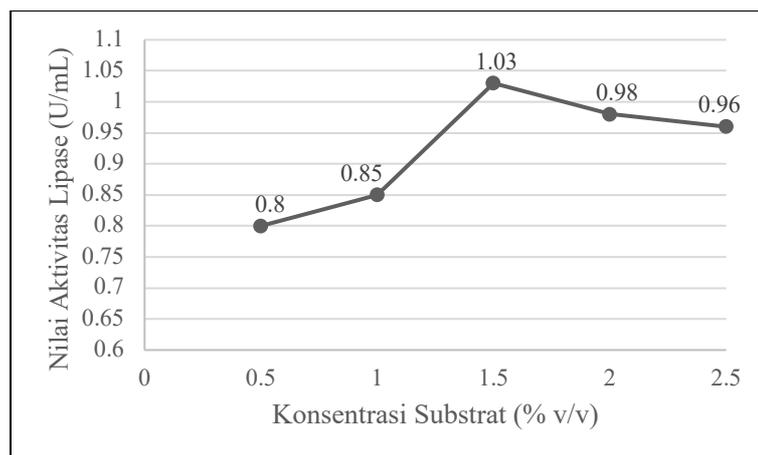
Pada kondisi suhu rendah, interaksi yang terjadi antara enzim dengan substrat intensitasnya masih rendah sehingga kompleks enzim-substrat yang terbentuk masih sedikit dan produk yang dihasilkan juga sedikit. Pada kondisi suhu optimum, tumbukan antara enzim dan substrat lebih efektif sehingga kompleks enzim-substrat semakin mudah terbentuk dan produk yang dihasilkan juga meningkat. Peningkatan suhu di atas suhu optimum menyebabkan aktivitas enzim menurun, hal ini dikarenakan enzim mengalami denaturasi sehingga terjadi perubahan struktur tiga dimensi enzim yang menyebabkan substrat sukar untuk berikatan dengan sisi aktif enzim, akibatnya aktivitas enzim menurun (Sadikin, 2002).

### C. Kondisi Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Lipase

Konsentrasi substrat optimum diperoleh pada konsentrasi 1,50% dengan aktivitas lipase sebesar 1,03 Unit/mL.

Aktivitas lipase meningkat dari konsentrasi 0,50% v/v sampai 1,50% v/v, kemudian pada konsentrasi 20% v/v dan 2,50% v/v aktivitasnya sedikit menurun. Ketika konsentrasi substrat dinaikkan, kecepatan reaksi akan meningkat hingga mencapai titik maksimum ( $V_{max}$ ), kemudian setelah mencapai titik maksimum maka penambahan konsentrasi substrat tidak akan merubah kecepatan reaksi secara signifikan atau tidak memberikan penurunan aktivitas yang besar melainkan berada mendekati aktivitas optimumnya. Hal ini karena sisi aktif enzim telah jenuh oleh substrat (Saryono, 2011). Kejenuhan terjadi karena seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, semakin banyak enzim bebas yang diubah menjadi kompleks enzim-substrat. Pada laju maksimum ( $V_{max}$ ) semua sisi aktif enzim akan berikatan dengan substrat (Lehninger, 1982).

Pembentukan kompleks enzim-substrat membatasi kecepatan reaksi enzimatik. Kecepatan maksimum reaksi enzimatik dicapai pada tingkat konsentrasi substrat yang sudah mampu mengubah seluruh enzim menjadi kompleks enzim-substrat (Suhartono, 1989). Kecepatan suatu reaksi adalah jumlah molekul substrat yang dikonversi menjadi produk per satuan waktu. Kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim meningkat sesuai dengan konsentrasi substrat sampai kecepatan maksimal dicapai, kemudian kecepatan tersebut akan berkurang pada saat konsentrasi substrat yang tinggi, hal ini dikarenakan enzim mengalami kejenuhan terhadap substrat di semua tempat pengikatan yang tersedia pada molekul enzim yang ada (Pamela *et al.*, 2002).



Gambar 3. Konsentrasi Substrat Optimum Aktivitas Lipase

#### D. Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase

Uji pengaruh ion logam terhadap aktivitas lipase dilakukan untuk mengetahui logam yang bertindak sebagai aktivator dan inhibitor. Hasil pengukuran aktivitas lipase pada variasi ion logam disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penentuan Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase

No.	Ion Logam (0,1 M)	Nilai Aktivitas (Unit/mL)	Aktivitas Relatif (%)
1.	Tanpa Logam	0,93	100,00
2.	CaCl <sub>2</sub>	1,36	146,23
3.	MgCl <sub>2</sub>	1,25	134,40
4.	BaCl <sub>2</sub>	0,83	89,24
5.	FeCl <sub>3</sub>	1,94	208,60
6.	KCl	1,16	124,73

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberadaan ion logam dengan konsentrasi 0,10 M dapat mempengaruhi reaksi katalisis lipase. Penambahan ion logam Ba<sup>2+</sup> dapat menurunkan aktivitas relatif lipase menjadi 89,24% sehingga dikatakan ion Ba<sup>2+</sup> sebagai inhibitor. Sedangkan ion Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> dan K<sup>+</sup> mampu menaikkan aktivitas relatif lipase yaitu masing-masing 146,23%; 134,40% dan 124,73%, hal ini menunjukkan bahwa ion Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> dan K<sup>+</sup> merupakan aktivator. Pada penambahan ion Fe<sup>3+</sup> menyebabkan lipase menggumpal, namun aktivitas lipase menjadi naik sebesar 208,60% hal ini diduga karena ion Fe<sup>3+</sup> yang telah menghidrolisis substrat sehingga menyebabkan jumlah asam lemak bebas menjadi tinggi.

Ion logam terhadap enzim dapat berperan sebagai aktivator maupun inhibitor. Aktivator merupakan molekul anorganik yang saat berikatan dengan enzim akan menjaga sisi aktif enzim agar tetap berada dalam bentuk konformasi yang tepat, sehingga enzim dapat berikatan dengan substrat dan membentuk kompleks enzim-substrat serta produknya (Manitto, 1992). Sedangkan inhibitor ketika berikatan dengan substrat akan menyebabkan enzim menjadi inaktif. Ikatan aktivator maupun inhibitor terhadap enzim dapat mengubah kemampuan enzim dalam mengikat substratnya dan mengubah kemampuan katalisis enzim. Hal ini karena struktur molekul enzim yang telah terikat mengalami perubahan fisik dan kimiawi sedemikian rupa sehingga sifat katalitiknya akan berubah juga (Suhartono, 1989).

Ion logam dapat mendukung efisiensi katalitik enzim. Selain berperan dalam pengikatan enzim dan substrat, beberapa ion logam juga dapat mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya atau menginduksi formasi situs pengikatan atau situs aktif enzim.

## E. Pengaruh Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Lipase

Penambahan pelarut organik pada lipase dilakukan untuk mengetahui kestabilan lipase pada berbagai pelarut organik. Hasil pengukuran aktivitas lipase pada variasi pelarut organik disajikan pada Tabel 2.

Lipase dalam metanol dan air memiliki aktivitas yang sama yaitu 0,30 U/mL. Lipase dalam etanol memiliki aktivitas tertinggi yaitu 0,58 U/mL. Sedangkan lipase dalam kloroform memiliki aktivitas 0,32 U/mL. Aktivitas lipase di dalam pelarut eter dan n-heksana lebih rendah dibandingkan pelarut yang lain yaitu masing-masing 0,23 U/mL dan 0,22 U/mL. Lipase dari bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. paling stabil dalam pelarut etanol. Menurut Rahman *et al.*, (2006) dalam reaksi lipase, substrat bersifat non-polar sedangkan lipase bersifat polar sehingga penambahan etanol akan mendukung kelarutan antara substrat dan lipase sehingga mempercepat reaksi hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol.

**Tabel 2.** Hasil Penentuan Pengaruh Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Lipase

No.	Pelarut Organik	Nilai Aktivitas (Unit/mL)
1.	Air	0,30
2.	Metanol	0,30
3.	Etanol	0,58
4.	Eter	0,23
5.	n-Heksana	0,22
6.	Kloroform	0,32

Kestabilan lipase dari bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. pada pelarut air, metanol dan kloroform hampir sama, hal ini menunjukkan bahwa air, metanol dan kloroform mengganggu sisi aktif lipase sehingga menyebabkan lipase sulit untuk mengikat substrat. Sedangkan pada pelarut eter dan n-heksana menunjukkan kestabilan yang lebih rendah dibandingkan pelarut yang lain pada penelitian ini, hal ini karena pelarut tersebut lebih bersifat non-polar yang berarti bahwa pelarut non-polar dapat mengganggu sisi aktif lipase dalam mengikat substrat.

## 4. KESIMPULAN

Kondisi kerja optimum ekstrak kasar lipase bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. dalam menghidrolisis lemak adalah pH optimum 8, suhu optimum 40°C dan konsentrasi substrat optimum 1,50 % (v/v). Lipase diaktivasi oleh ion  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  dan dihambat oleh ion  $\text{Ba}^{2+}$ . Lipase stabil dalam pelarut etanol dan terganggu stabilitasnya pada pelarut eter dan n-heksana.

## DAFTAR PUSTAKA

- Carrim AJL, Barbosa EC, Vieira JDG. (2006). Enzymatic activity of endophytic bacterial isolated of *Jacaranda decurrens* Cham (Carobinha-do-campo). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 49(3): 353-359.
- Castro RA, Quecine MC, Lacava PT, Batista BD, Luvozotto DM, Marcon J, Azevedo JL. (2014). Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of brazilian mangrove ecosystem. *Springer J.* 3:382.
- Djafar F, Purwandaria T, Sinurat AP. (2010). Isolation of Endophytic Bacteria From Palm Oil Fruits and Characterization of Their Lipases. *Microbiol.* 4(2): 1-6.
- El-Deeb B, Fayez K, Gherbawy Y. (2013). Isolation and characterization of endophytic bacteria from *Plectranthus tenuiflorus* medicinal plant in Saudi Arabia desert and their antimicrobial activities. *J. Plant Int.* 8(1): 56-64.
- Eltaweel, M. A., Rahman, R. N. Z. R. A., Salleh, A. B., Basri, M. 2005. An Organic Solvent-Stable Lipase From *Bacillus* sp. Strain 42. *Ann. Microbiol.*, 55: 187-192.
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-Dasar Biokimia* Jilid 1. Erlangga. Jakarta.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alam*. IKIP Semarang Press. Semarang.

- Marliani N, Astuti W, Kartika R., (2019). Waktu produksi optimum lipase dari bakteri endofit daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. *Jurnal Atomik* 04(1): 6-8.
- Murni SW, Kholisoh SD, Tanti DI, Petrissia EM. (2011). Produksi karakterisasi dan isolasi dari *Aspergillus niger*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia A08-1-A08-7*.
- Pamela C, Champe, Richard AH, Denise RF. (2002). *Biokimia Ulasan Bergambar* Edisi 3. Kedokteran EGC. Jakarta.
- Puspitaningrum R dan Adhiyanto C. (2016). *Enzim dan Pemanfaatannya*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Radji M. (2005). Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Ilmu Farmasi* 2(3): 113-126.
- Rahman RNZA, Baharum SN, Salleh AB, Basri M. (2006). S5 Lipase: An organic solvent tolerant enzyme. *J. Microbiol.* 44(6): 583-590.
- Sadikin M. (2002). *Biokimia Enzim*. Widya Medika. Jakarta.
- Saryono. (2011). *Biokimia Enzim*. Nuha Medika. Jakarta
- Suhartono MT. (1989). *Enzim dan Bioteknologi*. Bioteknologi IPB. Bogor.
- Susanty A, Fitriani, Candra KP. 2013. Isolasi bakteri penghasil lipase dengan kemampuan esterase untuk produksi metil ester. *J. Res. Tech. Ind.* 134-142.
- Zusfahair, Setyaningtyas, T., Fatoni, A. 2008. Isolasi pemurnian dan karakterisasi lipase bakteri hasil skrining dari tanah tempat pembuangan akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas. *J. Nat. Indonesia* 12(2): 124-129.