

DAFTAR PUSTAKA

- Adreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G. L., dan Thornton, J. M., Metal Ions in Biological Catalysis: From Enzyme Database to General Principle, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**(8): 1205 -1218.
- Ainiyah, S., tesis, 2017, Imobilisasi Selulase dan Xylanase pada *Magnetic* Kitosan untuk Produksi Gula Reduksi, Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, *tesis tidak diterbitkan*.
- Aliyah, A. N., Edelweiss, E. D., Sahlan, M., Wijanarko, A., dan Hermansyah, H., 2016, Solid State Fermentation Using Agroindustrial Wastes to Produce *Aspergillus niger* Lipase as a Biocatalyst Immobilized by an Adsorption-crosslinking Method for Biodiesel Synthesis, *International Journal of Technology*, **8**: 1393-1404.
- Ali, N. S. M., Salleh, A. B., Leow, T. C., Rahman, R. N. Z. R. A., dan Ali, M. S. M., 2020, The Influence of Calcium toward Order /Disorder Conformation of Repeat-in-Toxin (RTX) Structure of Family 1,3 Lipase from *Pseudomonas fluorescens* AMS8, *Toxins*, **12**(9): 1-14.
- Ali, S., Zafar, W., Shafiq, S., dan Manzoor, M., 2017, Enzyme Immobilization: An Overview of Techniques, Support Materials, and Its Applications, *International Journal of Scientific & Technology Research*, **6**(7): 64-72.
- Amini, Z., Ilham, Z., Ong, H. C., Mazaheri, H., dan Chen, W., 2016, State of the Art and Prospective of Lipase-catalyzed Transesterification Reaction for Biodiesel Production, *Energy Conversion and Management*: 1-15.
- Andreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G. L., Thornton, J. M., 2008, Metal Ions in Biological Catalysis: From Enzyme Databases to General Principles, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**(8): 1205-1218.
- Andrys, J., Heider, J., dan Borowski, T., 2021, Comparison of Different Approaches to Derive Classical Bonded Force-Field Parameters for a Transition Metal Cofactor: A Case Study for Non-Heme Iron Site of Ectoine Synthase, *Theoretical Chemistry Account*, **140**(115): 1-14
- Aulia, R. Bahri, S., dan Ananda, M., 2020, Fermentasi Kelapa Parut Bebas Protein dengan *Aspergillus niger* untuk Menghasilkan Lipase, *Jurnal Riset Kimia*, **6**(1): 45-52.
- Ayinla, Z. A., Ademakinwa, A. N., dan Agboola, F. K., 2017, Studies on the Optimization of Lipase Production by *Rhizopus* sp. ZAC3 Isolated from the Contaminated Soil of a Palm Oil Processing Shed, *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, **5**(2): 30-37.

- Barlina, R., 2007, Potensi Kelapa Sebagai Sumber Gizi Alternatif Untuk Mengatasi Rawan Pangan, *Buletin Palma*, **32**: 68-80.
- Bhargav, S., Panda, B. P., Ali, M., dan Javed, S., 2007, Solid State Fermentation: An Overview, *Chem. Biochem. Eng.*, **22**(1): 49-70.
- Brena, B., Gonzales-Pombo, P., dan Batista-Viera, F., 2013, Immobilization of Enzyme: A Literature Survey, *Method in Molecular Biology*, **1051**: 15-31.
- Casas-Godoy, L., Gasteazoro, F., Duquesne, S., Bordes, F., Marty, A., dan Sandoval, G., 2018, *Lipases: Methods and Protocols*, Jilid I, Clifton, Mexico.
- Cavalcanti, E. A. C., Gutarra, M. L. E., Freire, D. M. G., Castilho, L. R., dan Junior, G. L. S., 2005, Lipase Production by Solid-State Fermentation in Fixed-Bed Bioreactors, **48**: 79-84.
- Celligoi, M. A. P. C., Baldo, C., de Melo, T. A. M. M. R., Gasparin, F. G. M., dan de Barros, M., 2016, *Microbial Enzyme Technology in Food Applications*, Jilid I, CRC press, Londrina.
- Coradi, G. V., da Vistacao, V. L., de Lima, E. A., Saito, L. Y. T., Palmieri, D. A., Takita, M. A., Neto, P. O., dan de Lima, V. M., 2012, Comparing Submerged and Solid State Fermentation of Agra Industrial Residues For the Production and Characterization of Lipase by *Trichoderma harzianum*, *Annals of Microbiology*, **62**(2): 1-8.
- Dali, S., Patong, A. R., Jalaluddin, M. N., dan Parenrengi, P. A., 2011, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Lipase dari *Aspergillus oryzae* pada Kopra Berjamur, *Jurnal Natur Indonesia*, **14**(1): 26-31.
- Dali, S., Patong, A. R., Jalaluddin, M. N., dan Parenrengi, P. A., 2014, Pengaruh Substrat dan Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase dari *Aspergillus oryzae* pada Kopra Berjamur, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, **13**(3): 1-3.
- Datta, S., Christena, R., dan Rajaram, Y. R. S., 2013, Enzyme Immobilization: An Overview on Techniques and Support Materials, *3 Biotech*, **3**: 1-9.
- de Almeida, A. F., Taulk-Tornisielo, S. M., dan Carmona, E. C., 2013, Influence of Carbon and Nitrogen Sources on Lipase Production by a Newly Isolated *Candida vishwanathii* strain, *Ann Microbiol*, **63**: 1225-1234.
- El-Kaoutit, M., Bouchta, B., Zelji, H., Izaoumen, N., dan Tamsamani, K. R., 2004, A Simple Conducting Polymer Based Biosensor for the Determination of Atzarine, *Anal. Lett.*, **37**: 1671-1681.
- Firdaus, Dali, S., dan Rusman, H. J., 2017, Amobilisasi Enzim Lipase Dedak Padi (*Oryza Sativa* L.) pada Karbon Aktif: Karakterisasi dan Uji Stabilitas Enzim Imobil, *Indonesian Journal of Chemistry Research*, **5**(1): 32-36.

- Gangadharan, D., Nampoothiri, K. M., Sivaramakrishnan, S., dan Pandey, A., 2009, Immobilized Bacterial Alpha Amylase for Effective Hydrolysis of Low and Soluble Starch, *Food. Res. Int.*, **42**: 436-442.
- Giordano, R. C., Ribeiro, M. P., dan Bioordano, R. L., 2006, Kinetics of Alpha Lactumantibiotics Synthesis by Penicilin G Acrylase (PGA) from Viewpoint of the Industrial Enzymatic Reactor Optimization, *Biotechnol*, **24**: 27-41.
- Gowthaman, M. K., Krishna, C., dan Moo-Young, M., 2001, Fungal Solid State Fermentation-An Overview, *Applied Mycology and Biotechnology*, **1**: 3015-352.
- Gupta, S., Kumar, Y., Singh, K., dan Battcharya, A., 2010, Lipase Immobilized on Polyvinyl Alcohol Modified Polysulfone Membrane: Application in Hydrolytic Activities For Olive Oil, *Polym. Bull.*, **64**: 141-158.
- Hartanti, A. T., Hanggopertiwi, A., dan Gunawan, A. Wa., 2019, Identifikasi Morfologi *Rhizopus* pada Oncom Hitam dari Berbagai Daerah di Indonesia, *Jurnal Mikologi Indonesia*, **3**(2): 75-83.
- Hasan, K., skripsi, 2010, Penetapan Kadar Protein dengan Metode Spektrofotometri dan Kadar Lemak dengan Metode Sokletasi pada Terung Kopek Ungu dan Terung Kopek Hijau, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Hermansyah, H., Kurnia, A., Anisya, A. V., Surjosatyo, A., Sunarya, Y., Arbianti, R., dan Utami, T. S., 2015, Effect of Anion and Amino Functional Group on Resin for Lipase Immobilization with Adsorption-Crosslinking Method, *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, **9**(12): 1518-1522.
- Hermawan, A. D., skripsi, 2016, Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Cu(II)-Kurkumin Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Indihibitor Enzim Lipase Pankreas, Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Hertadi, R., dan Widhyastuti, H., 2015, Effect of Ca²⁺ Ion to The Activity and Stability of Lipase Isolated from *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18, *International Symposium on Applied Chemistry 2015*, **16**:306-313.
- Huang, Y., Jin, F., Funato, Y., Xu, Z., Zhu, W., Wang, J., Sun, M., Zhao, Y., Yu, Y., Miki, H., dan Hattori, M., 2021, Structural Basis for Mg²⁺ Recognition and Regulation of the CorC Mg²⁺ Transporter, *Science Advance*, **7**: 1-13.
- Hutasoit, N., Ina, P. T., dan Permena, I. M., 2017, Optimasi pH dan Suhu pada Aktivitas Enzim Lipase dari Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) Berkapang, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, **5**(2): 95-102.
- Indah, Mappiratu, dan Musafira, 2017, Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* Isolat Kapang Kopra dengan Menggunakan Medium Kelapa Parut, *Jurnal Riset Kimia Kovalen*, **3**(3): 269-276.

- Iwai, M., Tsujisaka, Y., dan Fukumoto, J., 1970, Studies on Lipase: Effect of Iron Ions on The *Aspergillus niger* Lipase, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **16**: 81-90.
- Karmakar, M dan Ray, R. R., 2011, Characterization of Extracellular Thermotable Endoglucanase from *Rhizopus oryzae* Using Response Surface Methodology, *Res. Rev. Biosci.*, **4**: 50-55.
- Kasipah, C., Rismayani, S., Ihsanawati, dan Nurachman, Z., 2013, Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase Ekstraseluler Dari Lumpur Aktif Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Tekstil, *Jurnal Ilmiah Arena Tekstil*, **28**(1): 1-46.
- Khan, A. A., Akhtar, S., dan Husain, Q., 2005, Adsorption of Polyphenol Oxidases on Celite 545 Directly from Ammonium Sulphate Fractionated Proteins of Brinjal (*Solanum melongena*), *J. Sci. Ind. Res.*, **64**: 621-626.
- Khayati, G., Gilani, H. G., dan Kazemi, M., 2013, The Effect of Olive Cake Types on Lipase Production by Isolated *Rhizopus sp.* and Process Statistical Optimization, *J. BioSci. Biotech.* **2**(1): 45-55.
- Kouker, G., dan Jaeger, K., 1987, Specific and Sensitive Plate Assay for Bacterial Lipases, *Applied and Environmental Microbiology*, **53**(1): 211-213.
- Krishnamoorthi, S., Banerjee, A., dan Roychoudhury, A., 2015, Immobilized Enzyme Technology: Potentiality and Prospects, *Journal of Enzymology and Metabolism*, **1**(1): 1-12.
- Kumar, A., dan Kanwar, S. S., 2012, Lipase Production in Solid-State Fermentation (SSF): Recent Developments and Biotechnological Applications, *Dynamic Biochemistry, Process Biotechnology and Molecular Biology*, **6**(1): 13-27.
- Kumar, D. S., 2015, Fungal Lipase Production by Solid State Fermentation-An Overview, *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, **6**(1): 1-10.
- Kwon, D. Y. dan Rhee, J. S., 1986, A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatty Acids for Lipase Assay, *JAACS*, **63**(1): 89-92.
- Leung, Shankar, A. M., dan Mutharasan, R., 2007, A Review of Fibre-optic Biosensor, *Sens. Actuat. B. Chem.*, **125**: 688-703.
- Lestari, Y., Wirawan, B., Budiarti, S., dan Rahminiwati, M., 2018, Lipase Activity of Endophytic Actinobacteria from Medicinal Plants, *Journal of Biosciences* **25**(1):1-5.
- Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., dan Randall, R. J., 1951, Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**:265-275.
- Nasution, S. H., Astuti, W., dan Kartika, R., 2019, Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Lipase dari Isolat Bakteri Halofilik pada Air Laut Muara Badak, **4**(2): 56-58.

- Nema, A., Patnala, S. H., Mandari, V., Kota, S., dan Devarai, S. K., 2019, Production and Optimization of Lipase Using *Aspergillus niger* MTCC 872 by Solid State Fermentation, *Bulletin of the National Research Centre*, **43**(82): 1-8.
- Nuraliyah, A., Wijanarko, A., dan Hermansyah, H., 2017, Immobilization of *Candida rugosa* Lipase by Adsorption-Crosslinking onto Corn Husk, *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, **345**(1): 1-5.
- Maas, R. H. W., Springer, G. E., dan Weusthuis, R. A., 2008, Xylose Metabolism in the Fungus *Rhizopus oryzae*: Effect of Growth and Respiration on L(+)-Lactic Acid Production, *J. Ind. Microbiol, Biotechnol*, **35**: 569-578.
- Manan, M. A., dan Webb, C., 2017, Modern Microbial Solid State Fermentation Technology for Future Biorefineries for the Production of Added-Value Products, *Biofuel Research Journal*, **16**: 730-740.
- Mangunwardoyo, W., Lusini, Y., dan Gandjar, I., 2011, Aktivitas Lipase *Rhizopus microsporus* var. *Rhizopodiformis* UICC 520 dan *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* UICC 550 pada Substrat Minyak Nabati, *Biota*, **16**(1): 39-47.
- Mangunwardoyo, W., Lusini, Y., dan Gandjar, I., 2009, Karakterisasi, Pengaruh Sumber Nitrogen dan Karbon Terhadap Produktivitas Enzim Lipase *Rhizopus microsporus* var *oligosporus* UICC 550, **14**(2):115-124.
- Maurina, L., Marwan, dan Supardan, M. D., 2017, Produksi Biodiesel dari Ampas Kelapa Secara Transesterifikasi in Situ Menggunakan Bantuan *Microwave*, *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*, **12**(2): 63-68.
- Martão, G. A., Unger, P., Schneider, R., Venus, J., Vodnar, D. C., López-Gómez, J. P., 2021, Integration of Solid State and Submerged Fermentations for the Valorization of Organic Municipal Solid Waste, *J. Fungi*, **7**(776): 1-14.
- Meier, R., Drepper, T., Svensson, V., Jaeger, K., dan Baumann, U., 2007, A Calcium-gated Lid and a Large β -Roll Sandwich are Revealed by the Crystal Structure of Extracellular Lipase from *Serratia mercenscens*, *The Journal of Biological Chemistry*, **282**(43): 31477-31483.
- Mohamad, N. R., Marzuki, N. H. C., Buang, N. A., Huyop, F., dan Wahab, R. A., 2015, An Overview of Technology for Immobilization of Enzyme and Surface Analysis Techniques for Immobilized Enzymes, *Biotechnol Biotechnol Equip*, **29**(2): 205-220.
- Murni, S. W., Kholisoh, S. D., Tanti, D. L., dan Petrissia, E. M., 2011, Produksi, Karakterisasi dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*, *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*, ISSN **1693-4393**: 1-7.
- Murtiningrum, dan Firdaus, A., 2015, Perkembangan Biodiesel di Indonesia Tinjauan Atas Kondisi Saat Ini: Teknologi Produksi dan Analisis Prospektif, *Jurnal PASTI*, **9**(1): 35-45.

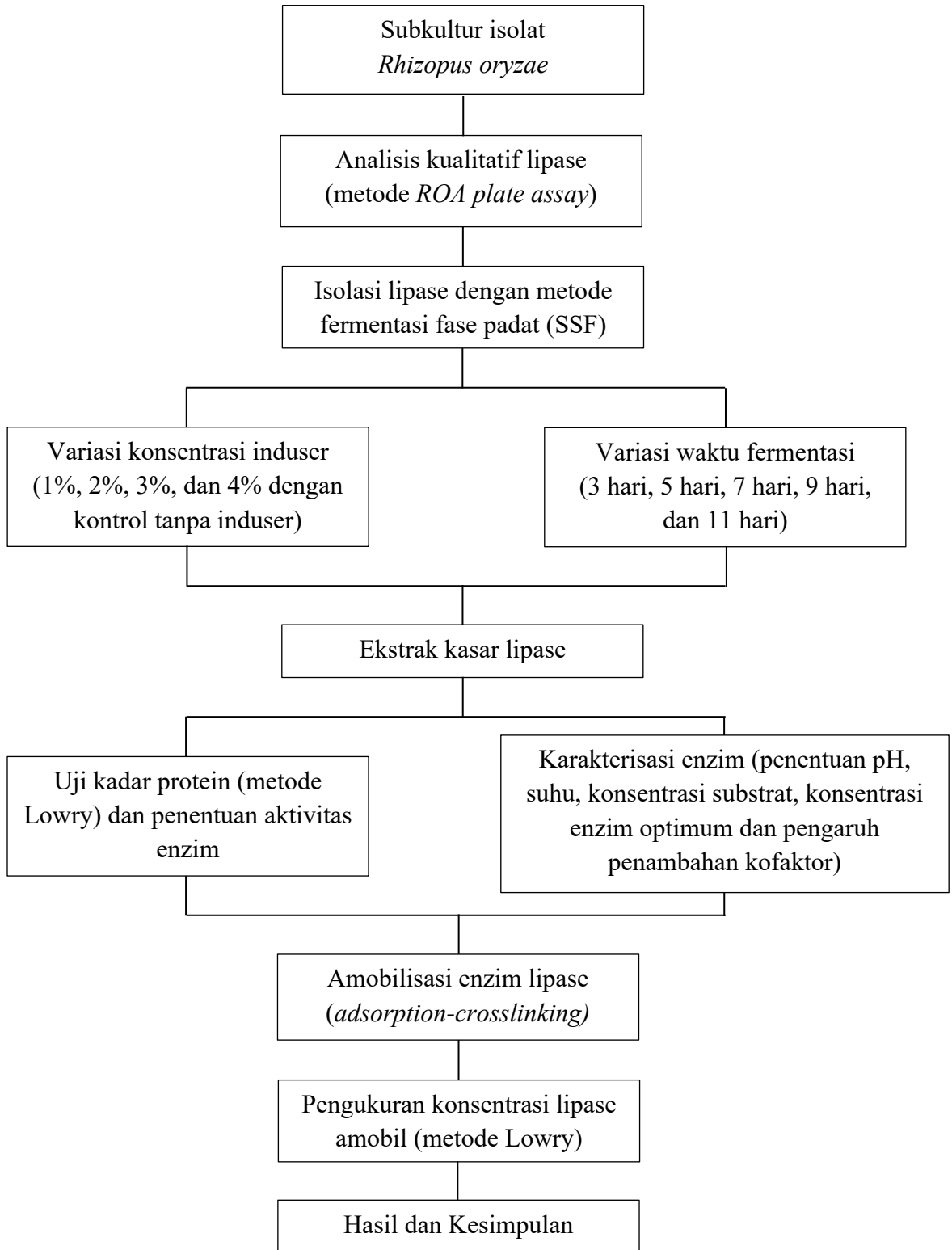
- Muryanto, tesis, 2012, Enkapsulasi *Rhizopus oryzae* Dalam Kalsium-Alginat Untuk Produksi Bioetanol Dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Dengan Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak, Program Studi Magister Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Depok, *tesis tidak diterbitkan*.
- Panji, T., Kresnawaty, I., Dimawarnita, F., Saadah, S., Aminingsih, T., dan Miranti, M., 2019, Gliserolisis Enzimatis CPO dengan Lipase Amobil Untuk Produksi Diasil dan Monoasil Gliserol, *Menara Perkebunan*, **87**(1): 11-19.
- Pardosi, R. S. M., skripsi, 2017, Uji Aktivitas Enzim Lipase Ekstrak Kasar dari Bakteri Keratinolitik Pendegradasi Bulu Ayam, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatra Utara, Medan, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Parthu, R. D., skripsi, 2012, Sintesis Biodiesel Rute Non Alkohol dari Minyak Goreng dengan Biokatalis Teramobilisasi *Entrapment* pada Reaktor *Batch* dan Reaktor *Packed Bed*, Program Studi Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Bogor, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Patel, N., Rai, D., Shivam, Shahane, S., dan Mishra, U., 2018, Lipases: Sources, Production, Purification, and Application, *Recent Patents on Biotechnology*, **12**: 1-12.
- Pau, H. S., dan Omar, I. C., 2004, Selection and Optimization of Lipase Production from *Aspergillus flavus* USM A10 Via Solid State Fermentation (SSF) on Rice Husks and Wood Dusts As Substrates, *Pak. J. Biol. Sci*, **7**: 1249-1256.
- Pogori, N., Xu, Y., dan Cheikhyoussef, A., 2007, Potensial Aspect of Lipases Obtained from *Rhizopus* Fungi, *Research Journal of Microbiology*, **2**: 101-116.
- Prabaningtyas, R. K., Putri, D. N., Utami, T. S., dan Hermansyah, H., 2018, Production of Immobilized Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Method Using Palm Kernel Cake, Soybean Meal, and Coir Pith as a Substrate, *ICEER*, **153**: 242-247.
- Pratama, L., Helianti, I., Suryani, A., dan Wahyuntari, B., 2017, Isolation, Characterization, and Production of Lipase from Indigenous Fungi for Enzymatic Interesterification Process, *Microbiology Indonesia*, **11**(2): 35-45.
- 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⁺, *Jurnal Sainia Kimia*, **1**(2): 1-5.
- Rahayu, Y. P., tesis, 2018, Uji Aktivitas Lipase dan Biosurfaktan dari Bakteri Keratinolitik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatra Utara, Medan, *tesis tidak diterbitkan*.

- Rahman, R. N. Z. R. A., Shariff, F. M., Basri, M., dan Salleh, A. B., 2012, 3D Structure Elucidation of Thermostable L2 Lipase from Thermophilic *Bacillus* sp. L2., *Int. J. Mol. Sci.*, **13**: 9207-9217.
- Rahmiati, Pujiyanto, S., dan Kusdiyantin, E., 2016, Eksplorasi Mikroba Peghasil Enzim-Enzim Hidrolitik di Kawasan Taman Nasional Lore Lindu Sulawesi Tengah, *Bioma*, **18**(1): 14-19.
- Rohmah, S. A., skripsi, 2016, Amobilisasi Enzim Lipase Secara Entrapment Menggunakan Zeolit Alam dalam Sintesis Ester-C, Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahuan Alam, Universitas Negeri Semarang, Semarang, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Saito, K., Takakuwa, N., dan Oda, Y., 2004, Purification of the Extracellular Pectinolytic Enzyme from the Fungus *Rhizopus oryzae* NBRC 4707, *Microbial Res*, **159**: 83-86.
- Sanders, E. R., 2012, Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods, *Journal of Visualized Experiment*, **63**: 1-18.
- Sari, A. K., Astuti, W., dan Pratiwi, D. R., 2020, Skrining Lipase Dari Isolat Bakteri Endofit Batang Pacing (*Costus speciosus* (J. Koenig) Sm) dan Penentuan Kondisi Kerja Optimumnya, *Jurnal Atomik*, **5**(1): 1-5.
- Sari, M. D., tesis, 2014, Amobilisasi Lipase pada MCM-41 untuk Produksi Biodiesel, Program Studi Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, *tesis tidak diterbitkan*.
- Sharma, R. K., Saxena, M., O'Neill, C. A., Ramos, H. A. R., dan Griebenow, K., 2018, Synthesis of *Rhizopus arrhizus* Lipase Nanoparticles for Biodiesel Production, *ACS Omega*, **3**: 18203-18213.
- Sholeha, R., dan Agustina, R., 2021, Lipase Biji-bijian dan karakteristiknya, *UNESA Journal of Chemistry*, **10**(20): 168-183.
- Stepani, F. I., skripsi, 2012, Produksi Metil Ester dengan Menggunakan Lipase Amobil dari *Bulkholderia cepacia* pada Membran PolyethersulfoneI, Program Studi Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia, Depok, *skripsi tidak diterbitkan*.
- Su'i, M., 2010, Pengaruh Ion Logam (Fe, Na dan Ca) Terhadap Aktivitas Lipase Kasar dari Kentos Kelapa, *Agrika*, **4**(2): 102-106.
- Sumarlin, L. O., Mulyadi, D., Suryatna, dan Asmara, Y., 2013, Identifikassi Potensi Enzim Lipase dan Selulase pada Sampah Kulit Buah Hasil Fermentasi, *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, **18**(3): 159-166.
- Suprihatin, 2009, Manfaat Ekologis dan Finansial Pemanfaatan Limbah Cair Agroindustri Sebagai Bahan Baku dalam Produksi Biogas Untuk Mereduksi Emisi Gas Rumah Kaca, *J. Agroment*, **23**(2): 101-111.

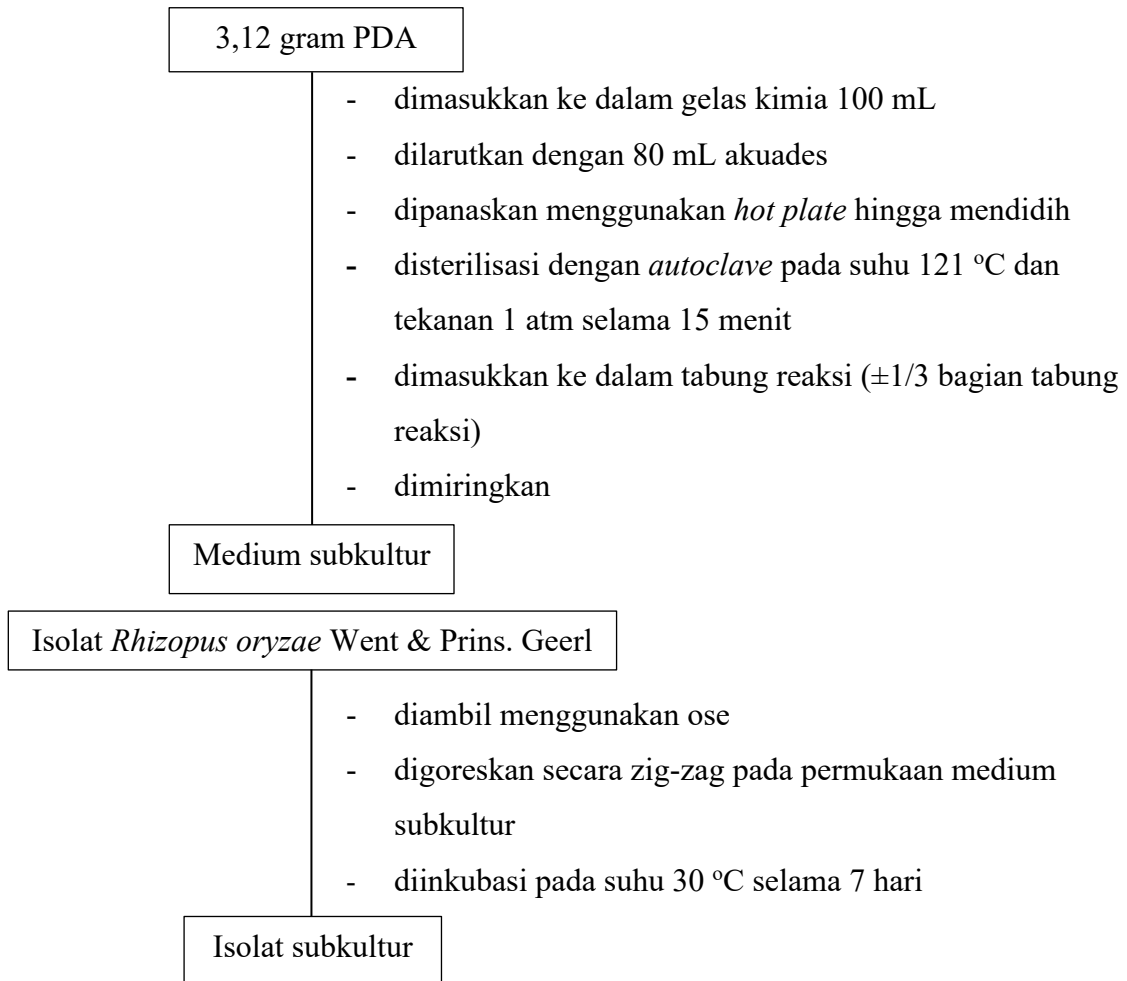
- Supriyatna, A., Jauhari, A. A., dan Holydaziah, D., 2015, Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protease, dari Larva *Hermetia illucens* yang Diberi Pakan Jerami Padi, *Jurnal ISTEK*, **9**(2): 18-32.
- Suyanto, E., Soetarto, E. S., dan Cahyanto, M. N., 2015, Produksi Lipase Kapang Lipolitik pada Limbah Ampas Kelapa, *Bioeksperimen*, **1**(1): 12-17.
- Suyanto, E., Soetarto, E. S., dan Cahyanto, M. N., 2019, Production and Optimation of Lipase by *Aspergillus niger* using Coconut Pulp Waste in Solis State Fermentation, *Journal of Physics*, **1374**: 1-12.
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., dan Muniyandi, B., 2019, Catalysis in Biodiesel Production-A Review, *Clean Energy*, **3**(1): 2-23.
- Tisma, M., Tadic, T., Budzaki, S., Ostojcic, M., Salic, A., Zelic, B., Tran, N. N., Ngothai, Y., dan Hessel, V., 2019, Lipase Production by Solid-State Cultivation of *Thermomyces Lanuginosus* on By-Products from Cold-Pressing Oil Production, **7**(465): 1-12.
- Toscano, L., Montero, G., Stoytcheva, M., Gochev, V., Cervantes, L., Campbell, H., Roumen, Z., Valdez, B., Perez, C., dan Gil-Samaniego, M., 2013, Lipase Production Through Solid-State Fermentation Using Agro-Industrial Residues as Substrates and Newly Isolated Fungal Strains, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, **27**(5): 4074-4077.
- Utami, T. S., Hariyani, S., Alamsyah, G., dan Hermansyah, H., 2017, Production of Dry Extract Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Method to Catalyze Biodiesel Synthesis, *Energy Procedia*, **136**: 41-46.
- Vaseghi, Z., Najafpour, G. D., Mohseni, S., dan Mahjoub, S., 2013, Production of Active Lipase by *Rhizopus oryzae* From Sugarcane Bagasse: Solid State Fermentation in Tray Bioreactor, *International Journal of Food Science & Technology*, **48**: 283-289.
- Wang, M., Shi, H., Wu, D., Han, H., Zhang, J., Xing, Z., Wang, S., dan Li, Q., 2014, Glutaraldehyde Cross-Linking of Immobilized Thermophilic Esterase on Hydrophobic Macroporous Resin for Application in Poly(caprolactone) Synthesis, *Molecules*, **19**(7): 9838-9849.
- Yagiz, Z., Kazan, D., dan Akin, A. N., 2007, Biodiesel Production from Waste Oil by Using Lipase Immobilized on Hydrotactile and Zeolites, *Chem. Eng. J.*, **134**: 263-267.
- Yu, X., Sha, C., Guo, Y., Xiao, R., dan Xu, Y., 2013, High-level Expression and Characterization of a Chimeric Lipase from *Rhizopus oryzae* for Biodiesel Production, *Biotechnology for Biofuels*, **6**(29): 1-12.
- Zarevucka, M., 2012, *Olive Oil as Inductor of Microbial Lipase, Olive Oil – Constituent , Quality, Health, Properties and Bioconversions*, Shanghai, IntechOpen.

- Zhang, B., Weng, Y., dan Xu, Z. M. H., 2012, Enzyme Immobilization for Biodiesel Production, *Application Microbial Biotechnol*, 61-70.
- Zulfahair, Setyaningtyas, T., dan Fatoni, A., 2010, Isolasi, Pemurnian dan Karakterisasi Lipase Bakteri Hasil Skrining dari Tanah Tempat Pembuangan Akhir (TPA) Gunung Tugel Banyumas, *Jurnal Natur Indonesia*, **12**(2): 124-129.

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

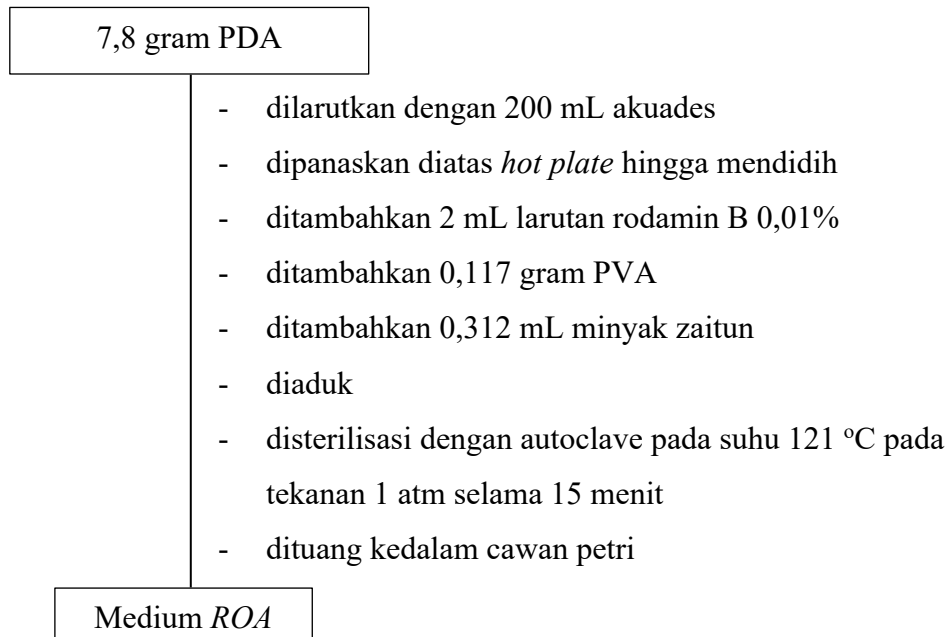


Lampiran 2. Subkultur Isolat *Rhizopus oryzae*

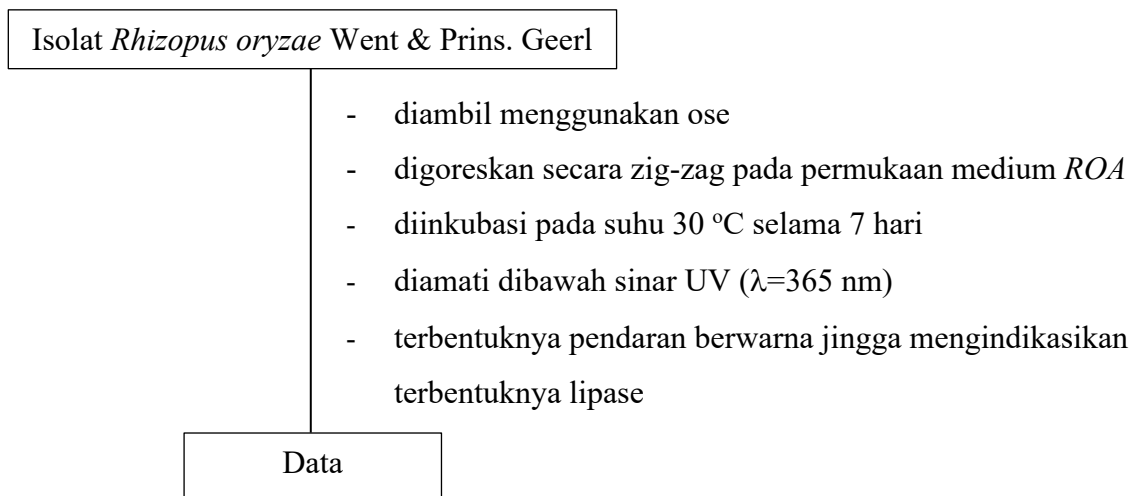


Lampiran 3. Penentuan Aktivitas Lipase dari *R. oryzae* Secara Kualitatif

1. Pembuatan Medium *ROA*

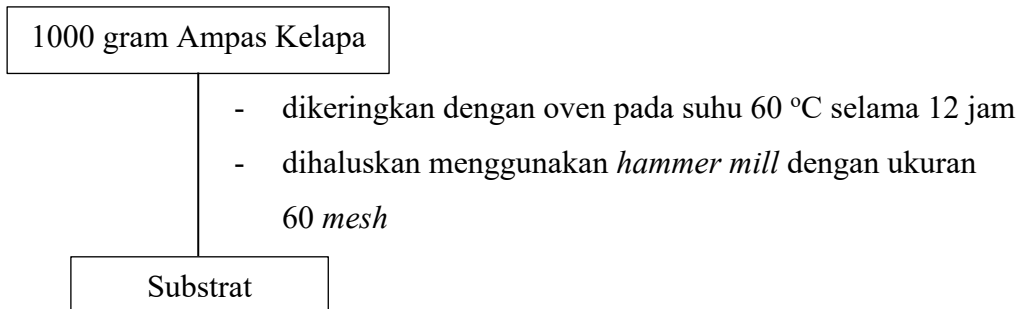


2. Uji Aktifitas Lipase Secara Kualitatif

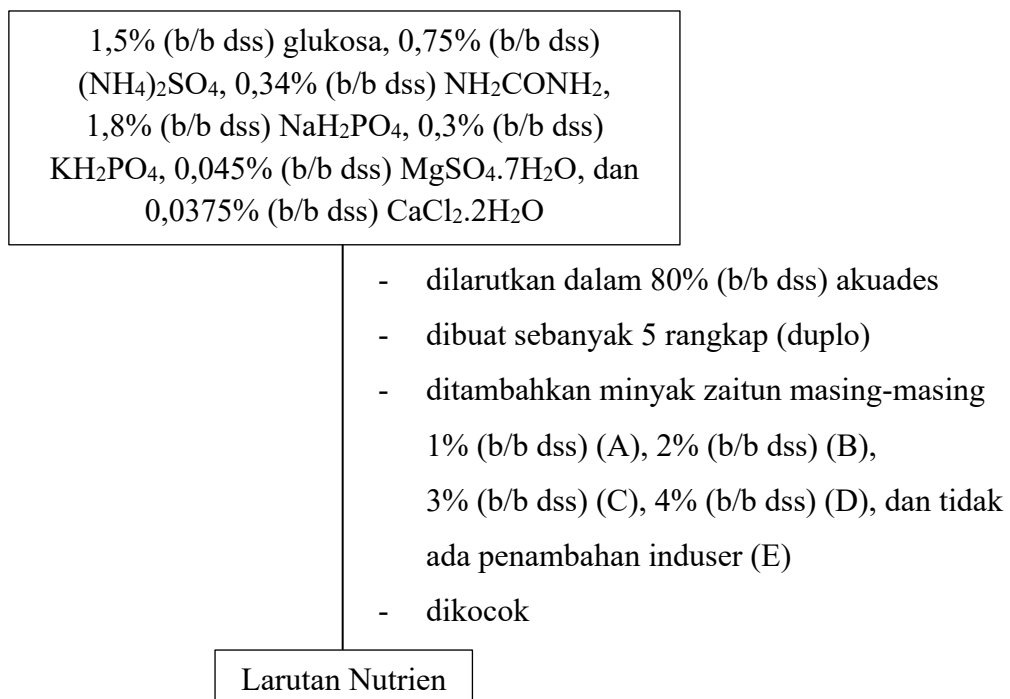


Lampiran 4. Isolasi Enzim Lipase dari *R. oryzae*

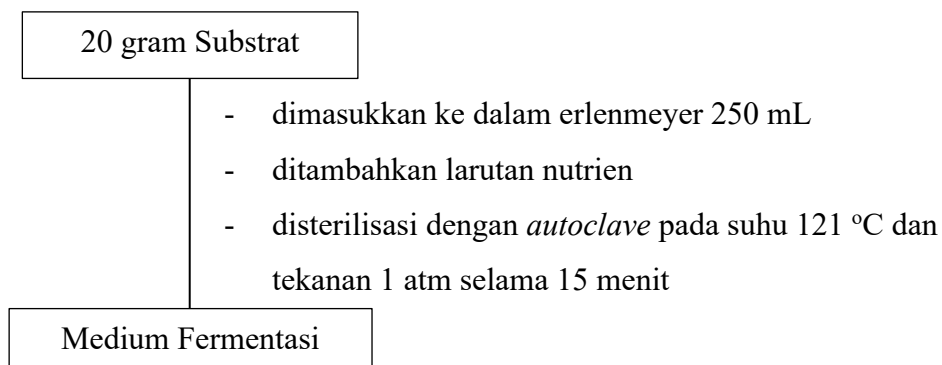
1. Preparasi Substrat



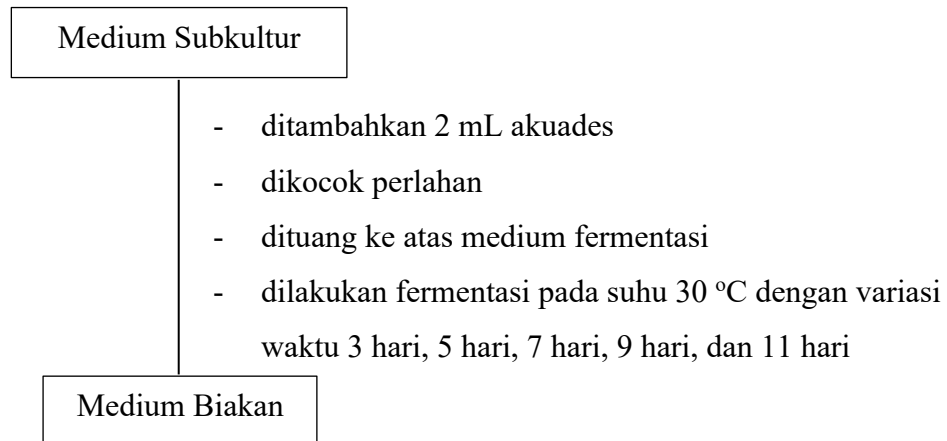
2. Pembuatan Larutan Nutrien



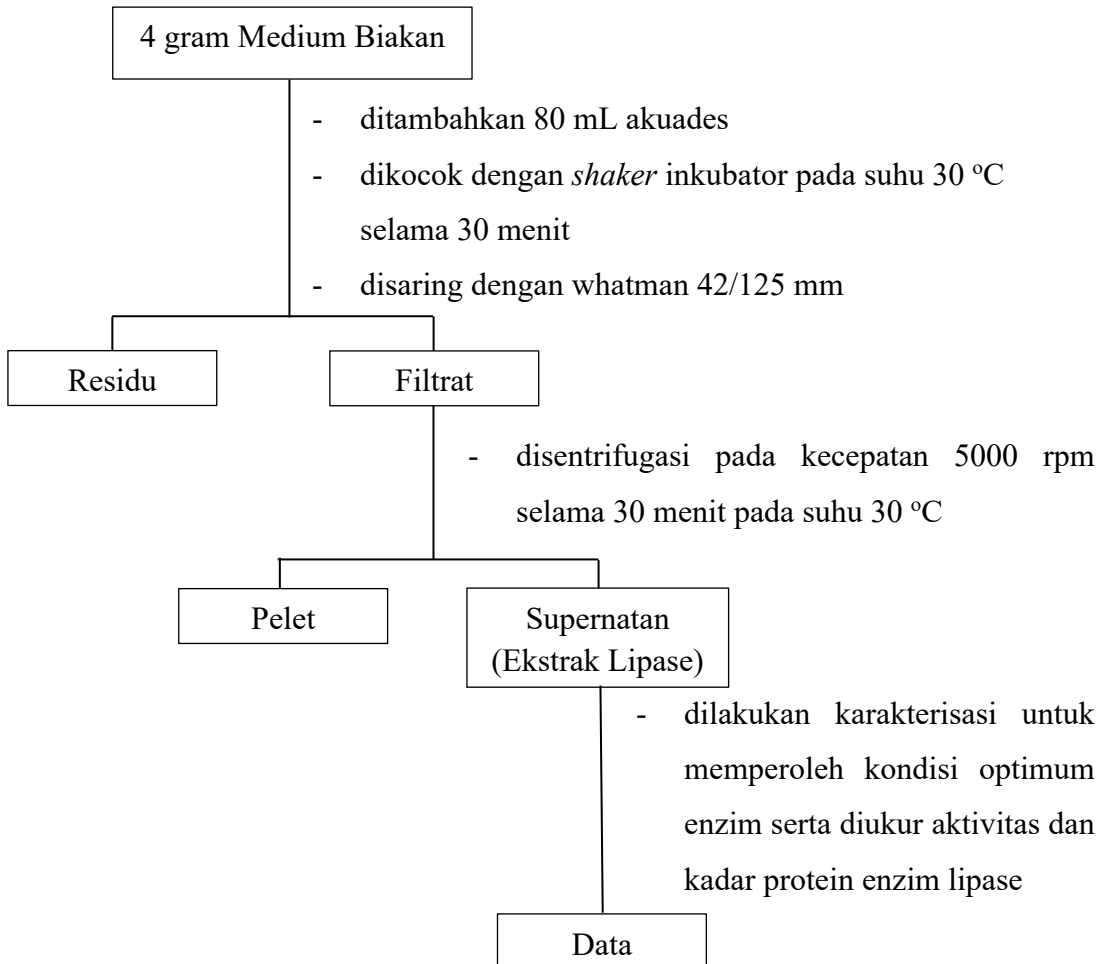
3. Preparasi Medium Fermentasi



4. Fermentasi Fase Padat

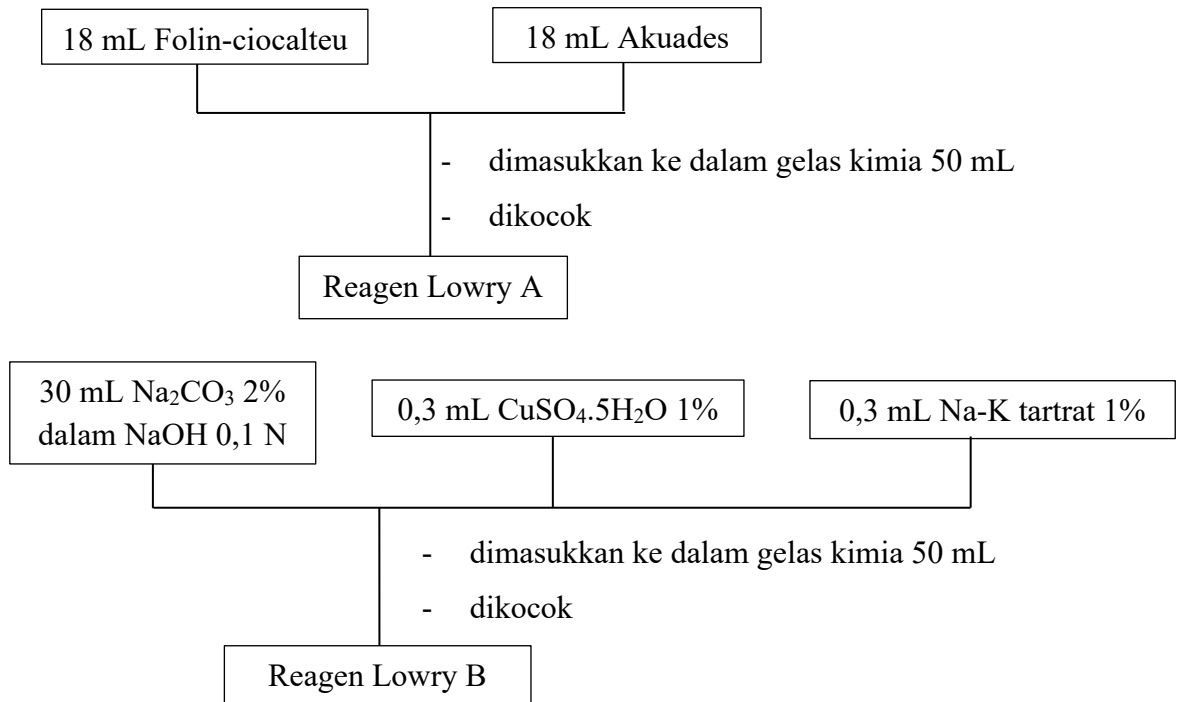


5. Ekstraksi Enzim Lipase

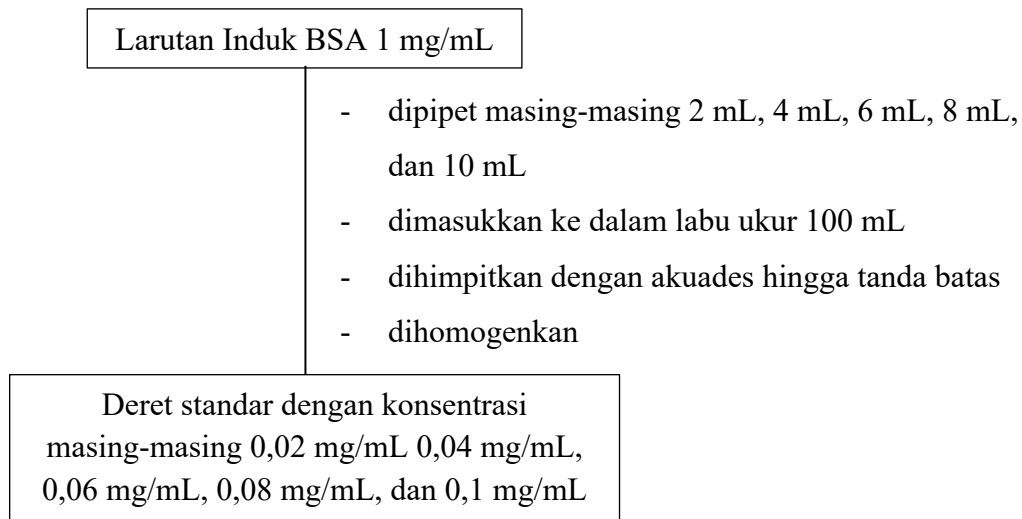


Lampiran 5. Penentuan Kadar Protein Enzim Lipase dari *R. oryzae*

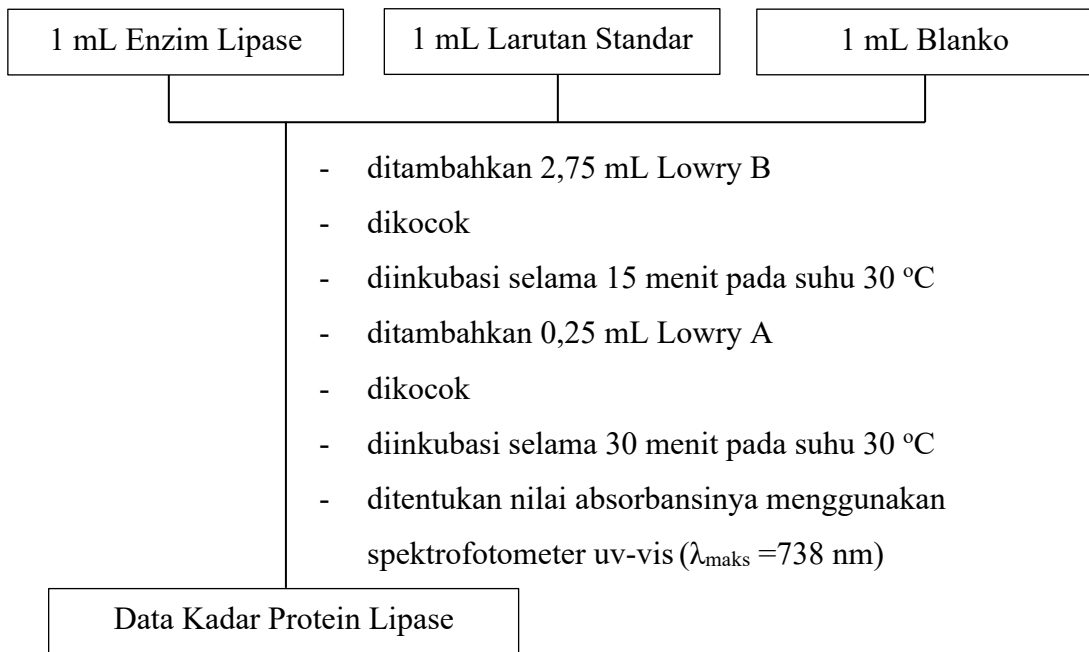
1. Pembuatan Reagen Lowry



2. Pembuatan Larutan Standar BSA

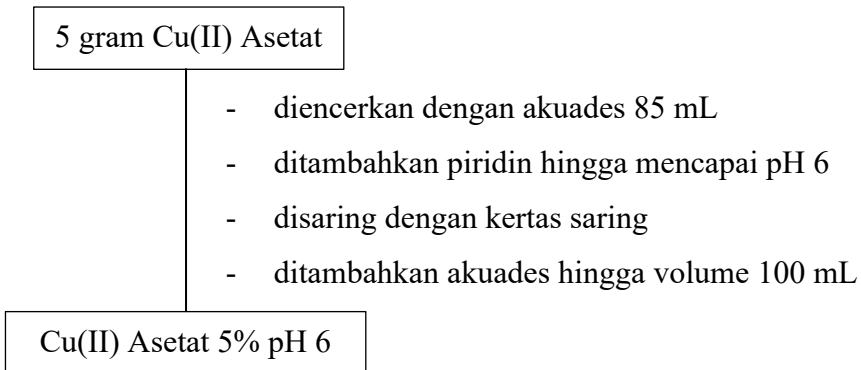


3. Penentuan Kadar Protein Enzim

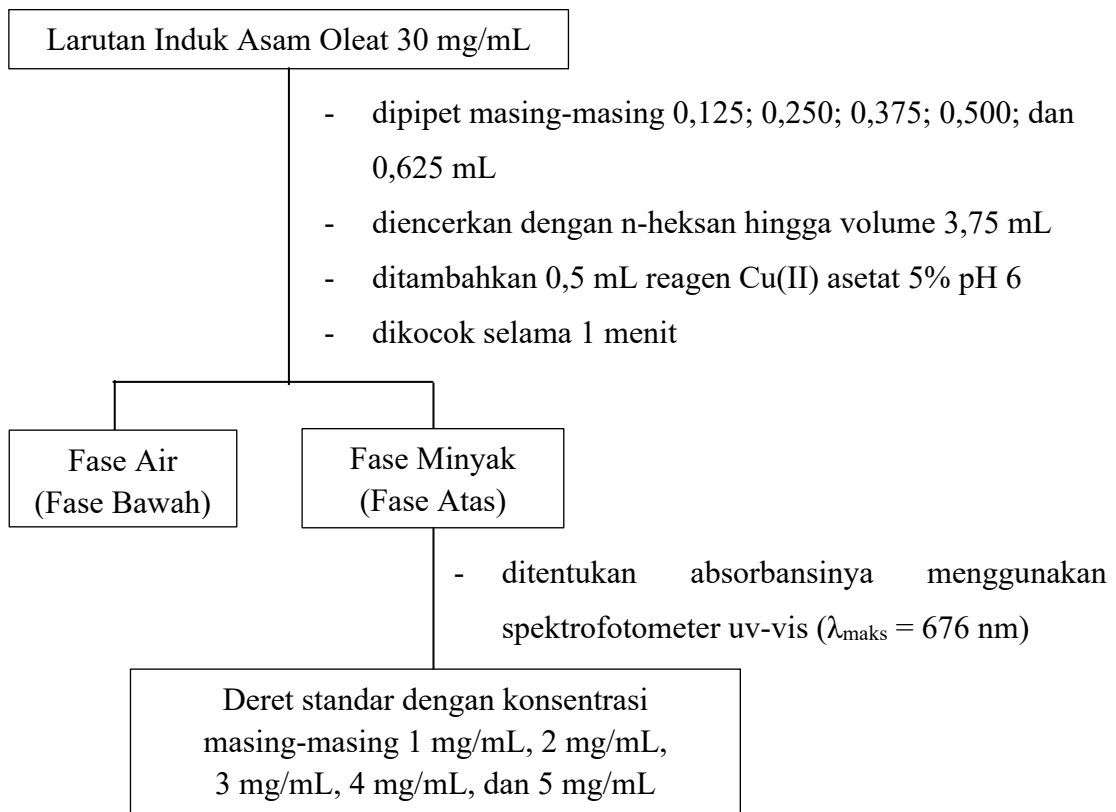


Lampiran 6. Penentuan Aktivitas Lipase dari *R. oryzae* Secara Kuantitatif

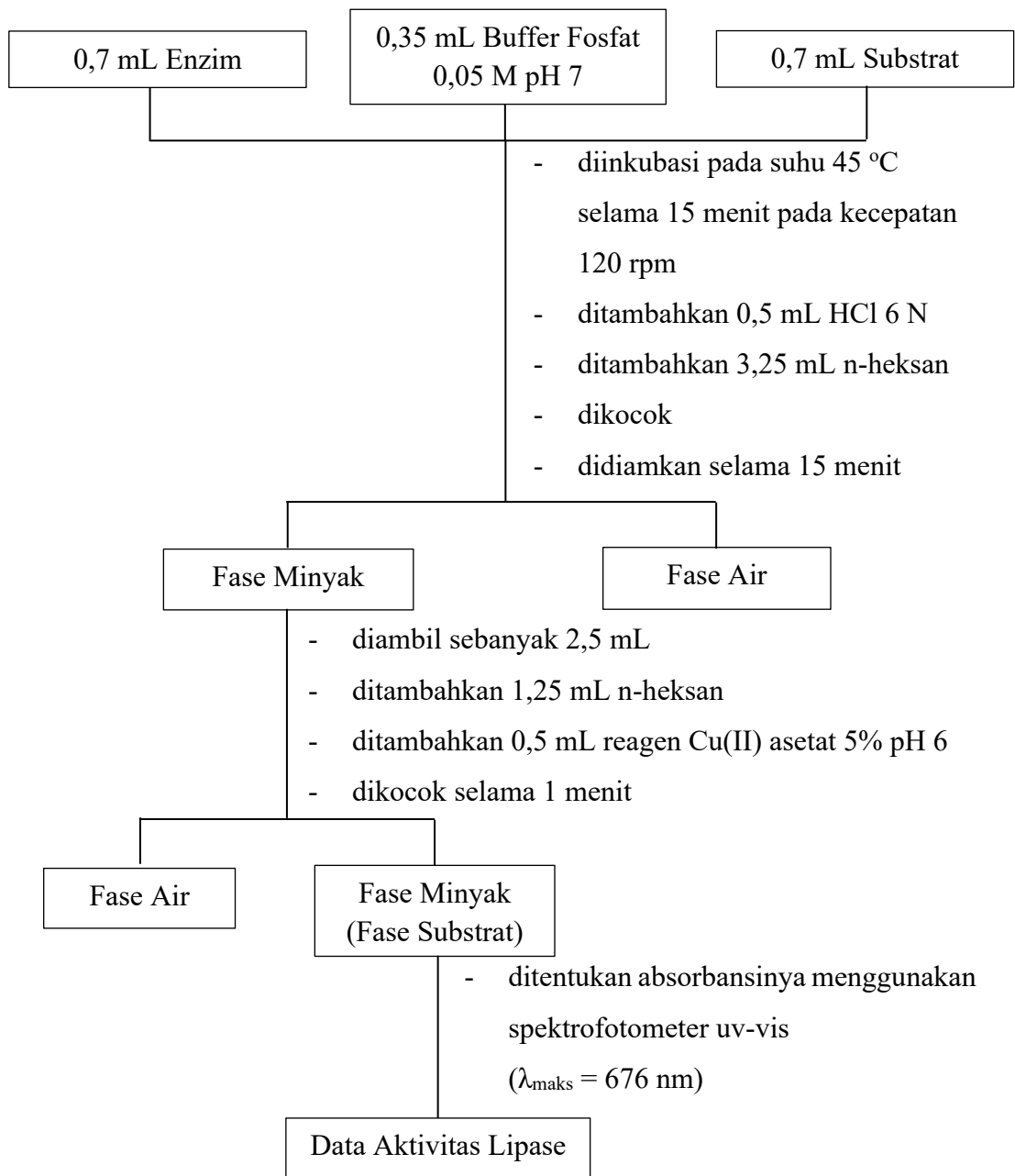
1. Pembuatan Reagen Cu(II) Asetat 5% pH 6



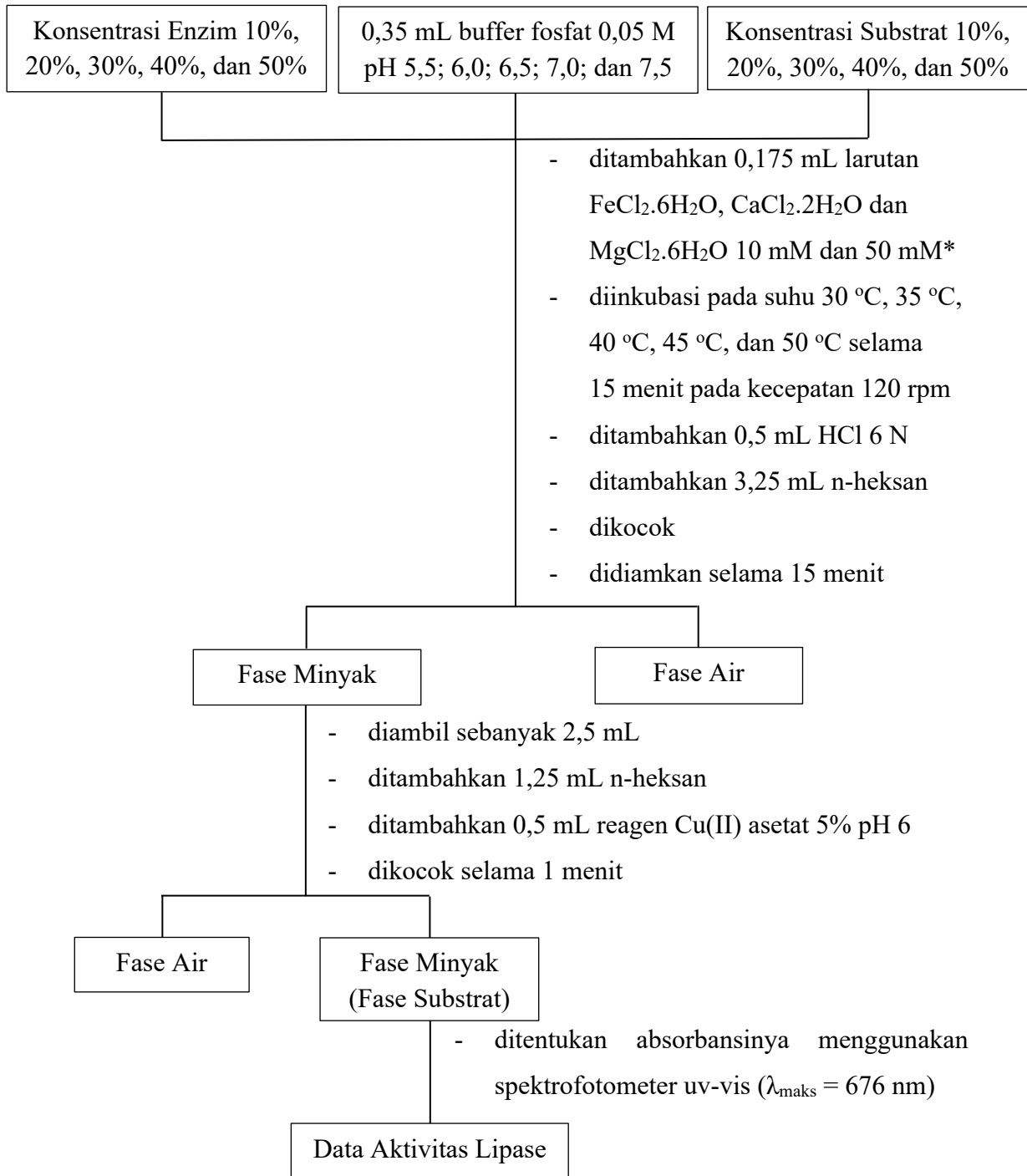
2. Pembuatan Larutan Standar Asam Oleat



3. Uji Aktivitas Enzim Lipase

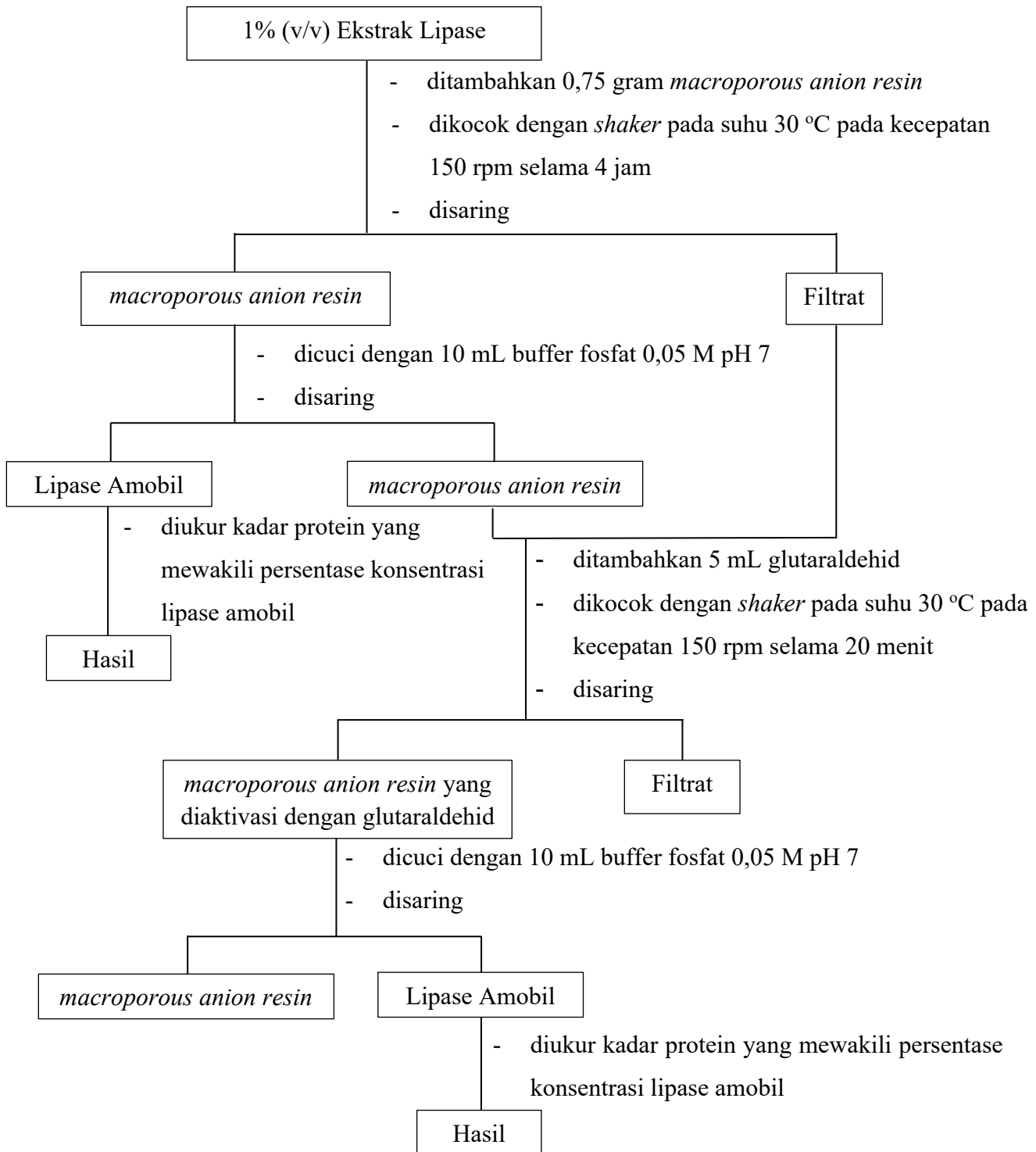


Lampiran 7. Karakterisasi Enzim Lipase dari *R. oryzae*



*dilakukan pada karakterisasi pengaruh ion logam, sebelumnya ditambahkan buffer fosfat 0,05 M pH 7 sebanyak 0,175 mL

Lampiran 8. Amobilisasi Adsorpsi-Crosslinking



Lampiran 9. Pengukuran Konsentrasi Lipase Amobil

1 mL Lipase Amobil

- ditambahkan 2,75 mL Lowry B
- dikocok
- diinkubasi selama 15 menit pada suhu 30°C
- ditambahkan 0,25 mL Lowry A
- diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C
- ditentukan nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer uv-vis ($\lambda_{\text{maks}} = 738 \text{ nm}$)

Data Konsentrasi
Lipase Amobil

Lampiran 10. Perbandingan Produksi Lipase Menggunakan Metode Fermentasi Fase Padat pada Berbagai Mikroorganisme

No	Jurnal	Jenis Mikroorganisme	Substrat Padat	Induser	Kondisi Fermentasi	Unit Aktivitas Lipase
1	Utami dkk (2017)	<i>Aspergillus niger</i>	Dedak padi dan sekam padi	Minyak zaitun	168 jam, pH 7, 30°C	38.6 U/g
2	Prabaningtyas dkk (2018)	<i>Aspergillus niger</i>	Biji sawit, kedelai, dan sabut kelapa	Minyak zaitun	168 jam, pH 7, 30°C	163 U/g
3	Ângelo dkk (2014)	<i>Fusarium oxysporum</i>	Dedak gandum	Setrimonium bromida	96 jam, pH 8.5, 40°C	111.48 U/mL
4	Toscano dkk (2013)	<i>Aspergillus flavus</i>	Dedak gandum dan limbah minyak jarak	-	96 jam, pH 7, 30°C	121.35 U/gds
5	Hosseinpour dkk (2012)	<i>Aspergillus niger</i>	Dedak padi	-	pH 6.87, 30.3°C	121.53 U/g dss
6	Balaji (2008)	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Minyak bunga matahari	Triton X100	pH 6.5, 25°C	2560 U/g DM
7	Sarat dkk (2010)	<i>Yarrowia lipolytica</i> NCIM 3589	Biji sawit	Minyak zaitun Minyak zaitun,	168 jam	18.58 U/gds
8	Edwinoliver dkk (2010)	<i>Aspergillus niger</i> MTCC 2594	Dedak gandum dan limbah minyak kelapa	minyak wijen dan minyak biji bunga matahari	72 jam, pH 7, 30°C	745.7 ± 11 U/gds

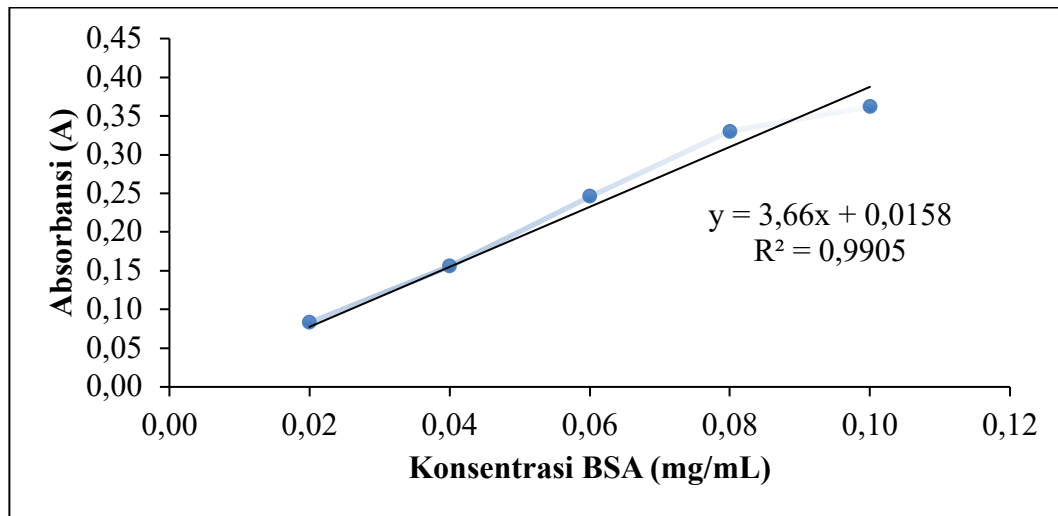
9	Falony dkk (2006)	<i>Aspergillus niger</i> J-1	Minyak zaitun dan glukosa	-	168 jam, pH 7, 30°C	9.14 IU/g dss
10	Cordova dkk (1998)	<i>Rhizomucor rhizopodiformis</i>	Ampas tebu, limbah minyak zaitun	-	20-20 jam	79.60 U/gds
11	Kamini dkk (1998)	<i>Aspergillus niger</i> MTCC 2594	Minyak wijen	-	120 jam, pH 7, 30°C	363.6 U/gds
12	Gombert dkk (1999)	<i>Penicilium restrictum</i>	Minyak babassu	Pepton, minyak zaitun dan pati	15-65 jam, 30°C	30.3 U/g
13	Mahadik dkk (2002)	<i>Rhizopus oligosporous</i> NCIM 1207	Dedak gandum	Minyak zaitun, NaCl dan Triton X100	168 jam, pH 6,5, 45°C	130 IU/gds
14	Adinarayana dkk (2004)	<i>Aspergillus</i> sp.	Gandum	-	96 jam, pH 7, 30°C	1934 U/g
15	Castilho dkk (2000)	<i>Penicillium restrictum</i>	Minyak babassu dan minyak zaitun	-	24 jam, pH 7, 37°C	5.8 U/mL
16	Vaseghi dkk (2012)	<i>Rhizopus oryzae</i> PTCC 5176	Tebu dan urea	Minyak zaitun dan minyak kanola	pH 7, 35°C	22,9 U/gds
17	Benjamin dan Pandey (2004)	<i>Candida rugosa</i>	Minyak kelapa	Urea, pepton dan maltosa	96 jam	87.76 U/g dss
18	Benjamin dan Pandey (2001)	<i>Candida rugosa</i> DSM-2031 spesies pati	Minyak kelapa dan dedak padi	-	28°C 96 jam, 30°C	48.61 U/mL

	Bhushan dkk (1994)		Ekstrak dedak padi, minyak dedak padi dan garam mineral			58 LU/gm dedak kering
19	Sethi dkk (2013)	<i>Aspergillus terreus</i>	Minyak <i>mustard</i>	-	96 jam, pH 6, 30°C	1566.67 ± 133.33 U/mL
20	Damaso dkk (2008)	<i>Aspergillus niger</i> IIT 53A14	Dedak gandum dan minyak zaitun	- <i>soapstock</i>	48 jam, pH 6.3-6.6, 32°C 48 jam, pH 6.3-6.6, 32°C	48.6 U/gds 62.5 U/gds
21	Salihu dkk (2013)	<i>Aspergillus niger</i>	Limbah mentega	Tween 20	168 jam, pH 7, 30°C	3.35 U/g
22	Fleuri dkk (2014)	<i>Aspergillus sp.</i>	Dedak gandum	-	96 jam, pH 7, 30°C	13.1 U/mL
23	Colla dkk (2014)	<i>Aspergillus niger</i>	Kedelai dan sekam padi	-	96 jam, pH 7.7, 37°C	4.23 U/mL

gds: gram substrat kering; LU: unit lipase; dss: substrat padat kering; DM: bahan kering; U atau IU: jumlah enzim yang terkatalisis dalam 1 µmol substrat per menit (Kumar, 2015)

Lampiran 11. Penentuan Kurva Standar BSA ($\lambda_{\text{maks}} = 738 \text{ nm}$)

Konsentrasi BSA (mg/mL)	Absorbansi (A)
0,02	0,083
0,04	0,156
0,06	0,246
0,08	0,330
0,10	0,362



Kadar protein sampel dihitung dengan persamaan berikut:

$$x = \frac{y - 0,0158}{3,66} \times \text{fp}$$

keterangan:

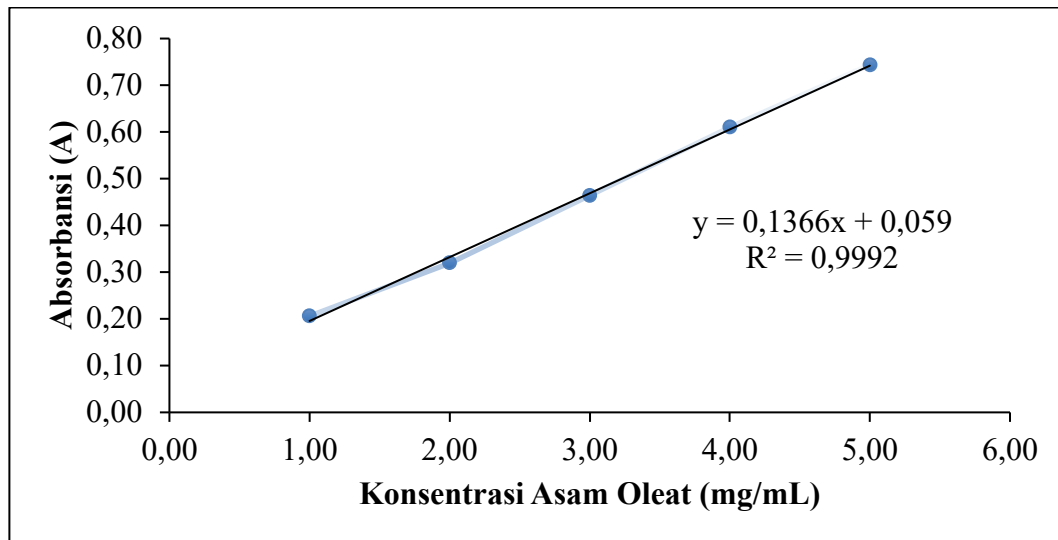
x = kadar protein (mg/mL)

y = absorbansi (A)

fp = faktor pengenceran

Lampiran 12. Penentuan Kurva Standar Asam Oleat ($\lambda_{\text{maks}} = 676 \text{ nm}$)

Konsentrasi Asam Oleat (mg/mL)	Absorbansi (A)
1,00	0,206
2,00	0,320
3,00	0,464
4,00	0,610
5,00	0,744



Kadar oleat pada sampel dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$x = \frac{y - 0,059}{0,1366}$$

keterangan:

x = kadar oleat (mg/mL)

y = absorbansi (A)

Aktivitas enzim lipase dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas lipase} = \frac{([\text{Oleat sampel}] - [\text{Oleat kontrol}]) \times 1000}{(\text{BM Oleat} \times t)}$$

keterangan:

BM Oleat = 282,468 g/mol

t (waktu) = 15 menit

Lampiran 13. Data Hasil Karakterisasi Ekstrak Lipase dari *R. oryzae*

a. Penentuan suhu optimum

T (°C)	A	[Oleat] (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)
30	0,1480	0,6515	0,1192
35	0,1690	0,8053	0,1555
40	0,1710	0,8199	0,1590
45	0,1860	0,9297	0,1849
50	0,1750	0,8492	0,1659

Keterangan: pH = 7,0; [S] = 12,7%

b. Penentuan pH optimum

pH	A	[Oleat] (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)
5,5	0,2110	1,1127	0,2281
6,0	0,2250	1,2152	0,2523
6,5	0,2300	1,2518	0,2609
7,0	0,2420	1,3397	0,2816
7,5	0,2310	1,2592	0,2626

Keterangan: T = 45°C; [S] = 12,7%

c. Penentuan konsentrasi substrat optimum

[S] (%)	A	[Oleat] (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)
10	0,2130	1,1274	0,2315
20	0,2360	1,2958	0,2713
30	0,2860	1,6618	0,3577
40	0,3730	2,2987	0,5080
50	0,3730	2,2987	0,5080

Keterangan: pH = 7,0; T = 45°C

d. Penentuan konsentrasi enzim optimum

[E] (%)	A	[Oleat] (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)
10	0,2470	1,3763	0,2903
20	0,2530	1,4202	0,3006
30	0,2622	1,4876	0,3165
40	0,2740	1,5739	0,3369
50	0,2740	1,5739	0,3369

Keterangan: pH = 7,0; T = 45°C; [S] = 40%

e. Pengaruh penambahan ion logam

Ion Logam	Konsentrasi (mM)	A	[Oleat] (mg/mL)	Aktivitas (U/mL)	Aktivitas Relatif (%)	Keterangan
Kontrol	-	0,0790	0,1464	0,0346	100	-
Fe ²⁺	10	0,0940	0,2562	0,0259	75	Inhibitor
	50	0,0920	0,2416	0,0225	65	Inhibitor
Ca ²⁺	10	0,1050	0,3367	0,0449	130	Aktivator
	50	0,1150	0,4100	0,0622	180	Aktivator
Mg ²⁺	10	0,0960	0,2709	0,0294	85	Inhibitor
	50	0,1000	0,3001	0,0363	105	Aktivator

Keterangan: pH = 7,0; T = 45°C; [S] = 40%; [E] = 40%

Lampiran 14. Perhitungan Konsentrasi Lipase Amobil

Metode Amobilisasi	A	Konsentrasi Enzim Amobil (mg/mL)	Konsentrasi Enzim Amobil (%)
Adsorpsi	1,3810	0,3730	12,6
Adsorpsi-Crosslinking	0,1270	0,0304	92,8

Keterangan: $A_{\text{ekstrak kasar}} = 1,5785$; $[E]_{\text{ekstrak kasar}} = 0,4270$ mg/mL

1. Konsentrasi lipase amobil melalui metode adsorpsi

$$x = \frac{y - 0,0158}{3,66}$$

$$x = \frac{1,3810 - 0,0158}{3,66}$$

$$x = 0,3730$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = \frac{[E]_{\text{awal}} - [E]_{\text{akhir}}}{[E]_{\text{awal}}} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = \frac{0,4270 - 0,3730}{0,4270} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = 12,6$$

2. Konsentrasi lipase amobil melalui metode adsorpsi-crosslinking

$$x = \frac{y - 0,0158}{3,66}$$

$$x = \frac{0,1270 - 0,0158}{3,66}$$

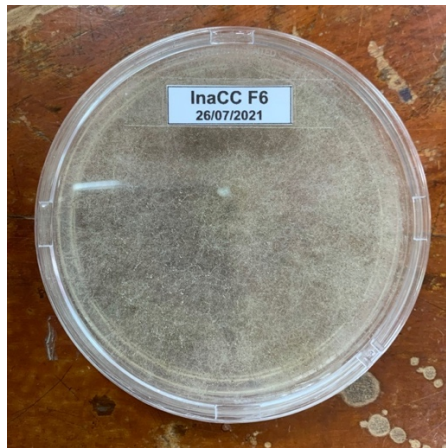
$$x = 0,0304$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = \frac{[E]_{\text{awal}} - [E]_{\text{akhir}}}{[E]_{\text{awal}}} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = \frac{0,4270 - 0,0304}{0,4270} \times 100\%$$

$$\text{Konsentrasi Enzim Amobil (\%)} = 92,8$$

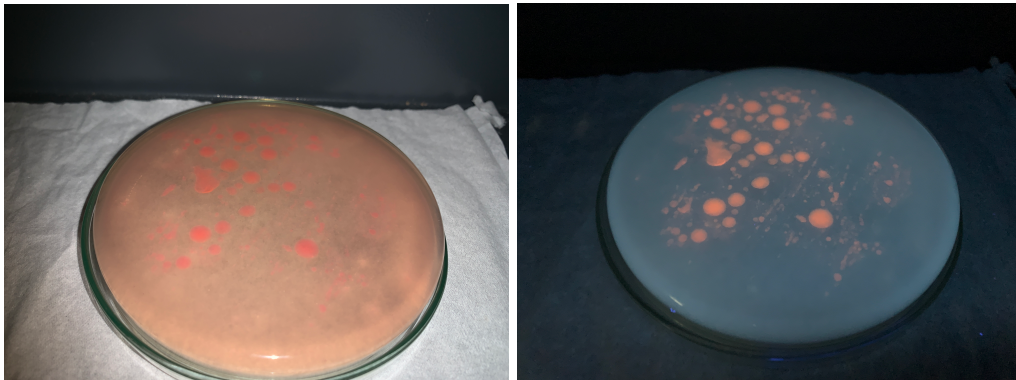
Lampiran 15. Dokumentasi Penelitian



Isolat *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Geerl



Substrat Ampas Kelapa pada Tahap Pengeringan



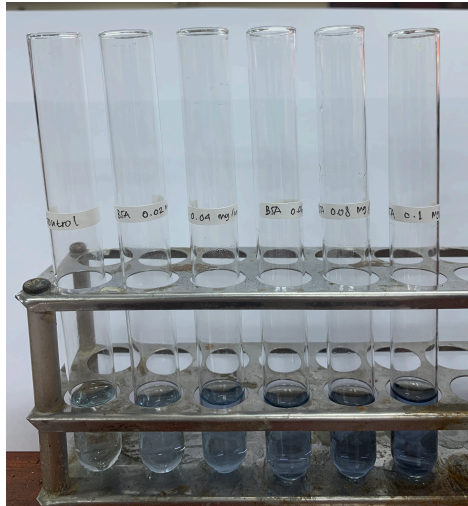
Penentuan Aktivitas Lipase Secara Kualitatif dengan Metode *ROA Plate Assay* (tanpa penyinaran dan dengan penyinaran lampu UV)



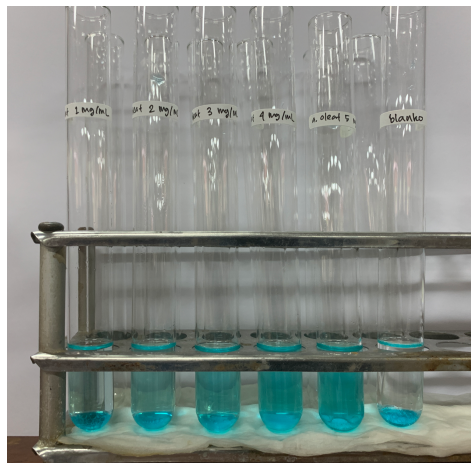
Isolasi Lipase Melalui Fermentasi Fase Padat pada Hari ke 3, 5, 7, 9, dan 11



Ekstraksi Lipase



Pentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry



Penentuan Aktivitas Lipase Secara Kuantitatif dengan Metode Kwon dan Rhee



Amobilisasi Lipase