

ABSTRAK

Abdurrahman Dzaki Muhammad Al Faathir, 240202221400184. **Optimalisasi Purifikasi Parsial Isolat A3 dan C4 Menggunakan Sistem Kombinasi Amonium Sulfat-Deep Eutectic Solvent (DESs) dan Karakterisasi Lipase Ekstraseluler.** di bawah bimbingan Agung Supriadi dan Titin Haryati.

Tingginya angka impor biokatalis nasional yang mencapai 99% memicu perlunya eksplorasi lipase ekstraseluler dari bakteri lipolitik lokal isolat A3 dan C4 asal limbah minyak jelantah. Riset ini bertujuan mengoptimalkan pemurnian parsial menggunakan sistem kombinasi amonium sulfat dan *Deep Eutectic Solvent* (DESs) sebagai pelarut hijau penstabil sekaligus memetakan karakteristik fisikokimianya. Penelitian eksperimental ini dirancang menggunakan rancangan acak lengkap pola faktorial. Alur kerja meliputi sterilisasi, pembuatan media induker lipid, reaktivasi bakteri, pemetaan kurva pertumbuhan (OD600) untuk menentukan waktu panen, sentrifugasi ekstrak kasar, sintesis DESs berbasis kolin klorida, optimasi purifikasi parsial, dialisis, hingga karakterisasi enzim. Hasil uji statistik *Two-Way* ANOVA menunjukkan bahwa fraksi amonium sulfat (taraf: 20-40% dan 40-60%), jenis formulasi DESs (taraf: ChCl + Ethylene Glycol (ChCl+EG), ChCl + Gliserol (ChCl+Gly), ChCl + Urea (ChCl+Urea), dan ternery (ChCl+EG+Gly), serta konsentrasi DESs (taraf: 10%, 20%, dan 30% v/v) berpengaruh sangat nyata ($p < 0,001$) terhadap peningkatan aktivitas spesifik enzim, dengan kombinasi terbaik ditemukan pada fraksi 40–60%, DESs ChCl:Urea, dan konsentrasi 30% (v/v). Lebih lanjut, karakterisasi menggunakan ANOVA membuktikan bahwa variasi jenis substrat ester p-nitrofenil (C4, C8, C12, C14, 16, dan C18), pH (rentang pH 6–11), dan tingkat suhu (rentang suhu 30-80°C) memberikan pengaruh yang sangat signifikan ($p < 0,001$) laju hidrolisis biokatalis. Kesimpulan riset ini membuktikan metode kombinasi sukses meningkatkan nilai kemurnian parsial lipase secara signifikan tanpa merusak integritas fungsionalnya. Karakterisasi mengonfirmasi kedua enzim sebagai lipase sejati (*true lipase*) dengan afinitas tertinggi pada substrat rantai panjang *p-nitrofenil stearat* (C18). Lipase isolat A3 dicirikan bersifat basa-termostabil yang optimum bekerja pada pH 9,0 dan suhu 50 °C, sedangkan lipase isolat C4 bersifat asam-mesofilik dengan kondisi terbaik pada pH 6,0 dan suhu 40 °C. Prosedur hibrid ini berhasil menyediakan alternatif preparasi biokatalis yang efisien dan stabil untuk sektor industri bioteknologi.

Kata kunci: *Deep Eutectic Solvent* (DESs), *Purifikasi Parsial*, *Karakterisasi enzim*, *Lipase ekstraseluler*.