

# Optimisasi Sumber Nutrisi dan Waktu Inkubasi untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* ITBCC L74 pada Substrat Dedak Padi

Hamid Abdillah<sup>1\*</sup>, Ilham Careza Wardana<sup>2</sup>, Naba Dalayuma Maryama<sup>3</sup>, Muktiari Hasbullah<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Teknik Kmia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta (penulis 1)

<sup>2</sup>Teknik Kmia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta (penulis 2)

<sup>3</sup>Teknik Kmia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta (penulis 3)

<sup>4</sup>Teknik Kmia/Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta (penulis 4)

\*Email: Hamid@ums.ac.id

## Abstrak

### Keywords:

*Aspergillus niger*;  
enzim lipase; dedak  
padi; nutrisi; waktu  
inkubasi

Enzim lipase didefinisikan sebagai enzim yang menghidrolisis asam lemak rantai panjang. Substrat alami enzim lipase terdiri dari trigliserida yang tersusun dari asam lemak rantai panjang. Di Indonesia permintaan enzim untuk memenuhi kebutuhan industri dalam proses fermentasi mengalami peningkatan secara signifikan yang mencapai angka kebutuhan 2500 ton dengan nilai impor sekitar 200 miliar, diperkirakan akan terus meningkat antara 5% hingga 7% setiap tahunnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nutrisi optimum pada proses fermentasi padat menggunakan substrat dedak padi dan strain *Aspergillus niger* karena sudah terbukti cukup baik untuk memproduksi enzim lipase. Variasi penelitian yang digunakan adalah sumber nutrisi berupa sumber nitrogen, sumber mineral anorganik, kadar air substrat dan waktu inkubasi agar menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi. Hasil penelitian menunjukkan sumber nitrogen terbaik adalah urea 4% dengan aktivitas enzim lipase 1,07 U/mL dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  6% sebesar 1,60 U/mL. Sumber mineral anorganik terbaik adalah  $\text{FeSO}_4$  0,6% dengan aktivitas enzim lipase tertinggi 3,47 U/mL dan  $\text{MgSO}_4$  2 mmolar sebesar 0,67 U/mL. Kadar air terbaik adalah 55%, dengan aktivitas tertinggi 1,07 U/mL, sedangkan waktu inkubasi terbaik *Aspergillus niger* adalah 6 hari dengan aktivitas tertinggi sebesar 1,47 U/mL.

## 1. PENDAHULUAN

Enzim lipase didefinisikan sebagai enzim yang menghidrolisis asam lemak rantai panjang. Substrat alami enzim lipase terdiri dari trigliserida yang tersusun dari asam lemak rantai panjang yang tidak larut dalam air. Karakterisasi enzim lipase dapat ditentukan dari kemampuannya dalam mengkatalis hidrolisis ikatan ester pada antarfase (1).

Permintaan enzim di pasar global diperkirakan akan meningkat 7% setiap tahunnya pada 2015 hingga 2020. Peristiwa yang sama juga terjadi di Indonesia yakni permintaan enzim untuk memenuhi kebutuhan industri dalam proses fermentasi mengalami peningkatan secara signifikan yang mencapai angka kebutuhan 2500 ton dengan nilai impor sekitar 200 miliar,

diperkirakan akan terus meningkat antara 5% hingga 7% setiap tahunnya (2).

Dalam proses produksi enzim menggunakan mikroorganisme, perlu memperhatikan tahap-tahap yang meliputi pemilihan *strain* dan pengaturan kondisi proses fermentasi. *Strain* yang digunakan adalah *Aspergillus niger* sudah terbukti cukup baik untuk memproduksi enzim lipase (3).

Fermentasi dalam keadaan fase padat memiliki potensi untuk memproduksi enzim lipase, terutama produksi enzim lipase dengan menggunakan jamur berfilamen karena fermentasi padat merupakan lingkungan yang menyerupai habitat alami jamur tersebut. Jamur membutuhkan nutrisi berupa makronutrien dan mikronutrien untuk aktivasi dan pertumbuhan metabolitnya. Makronutrien adalah hidrogen, karbon dan nitrogen. Sedangkan mikronutrien adalah fosfor, kalium, sulfur, magnesium, besi, seng, dan tembaga (4).

Media yang digunakan dapat berupa limbah agroindustri seperti dedak padi. Dedak padi memiliki kandungan lemak sebesar 27,60%, karbohidrat 28,78% dan protein 12,53% sehingga dapat digunakan sebagai media perkembangan *Aspergillus niger* karena memiliki nutrisi yang cukup (5).

Berdasarkan uraian di atas dapat dilihat bahwa produksi enzim di Indonesia masih terbatas, sehingga dibutuhkan alternatif produksi enzim dalam negeri untuk mengatasinya. Variabel yang dipilih pada penelitian ini adalah variabel yang diperkirakan berpengaruh kuat untuk menghasilkan enzim lipase melalui proses fermentasi padat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sumber nutrisi dan waktu inkubasi yang optimum untuk meningkatkan aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus niger* dengan substrat dedak padi.

## 2. METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Surakarta.

## Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aspergillus niger* ITBCC L74, dedak padi yang diperoleh dari penggilingan padi di daerah Sukoharjo, Jawa Tengah, minyak kelapa, aquades dan air destilat steril.

Bahan kimia antara lain FeSO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, urea, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, CuSO<sub>4</sub>, FeCl<sub>2</sub>, MnSO<sub>4</sub>, NaMO<sub>4</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, buffer fosfat pH 7, aseton dan etanol.

## Persiapan Kultur *Aspergillus niger* (ITBCC L74)

*Aspergillus niger* ITBCC L74 ditumbuhkan pada PDA di cawan petri dengan metode steril di dalam *laminar air flow*. Kemudian cawan petri dibungkus *aluminium foil* dan diinkubasi selama 4 hari dengan suhu 35°C. Selanjutnya disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C.



**Gambar 1.** Kultur *Aspergillus niger* ITBCC L74

## Perlakuan awal media dedak padi

Dedak padi direndam dengan aquades dan pH diukur, pH media dibuat menjadi pH 7 dengan menambahkan NaOH. Setelah pH media 7 kemudian direndam selama 1 jam dan ditambahkan buffer fosfat pH 7 untuk mempertahankan pH. Setelah satu jam, media diperas dan dioven selama 24 jam. Kemudian, media dihaluskan dan diayak hingga diperoleh ukuran 40 mesh.

## Pembuatan Inokulum

Pembuatan inokulum dilakukan dengan menyiapkan larutan inokulum dengan isi 50 mL larutan glukosa, 5 mL larutan Mandel (3) dan 1 mL larutan *trace metal* di dalam erlenmeyer 250 mL. Komposisi larutan glukosa yakni 0,5% glukosa dalam 100 mL. Komposisi larutan *trace metal* (mg/l) yakni, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 40 mg, CuSO<sub>4</sub> 400 mg, FeCl<sub>2</sub> 800 mg, MnSO<sub>4</sub> 800 mg, NaMO<sub>4</sub> 800 mg, ZnSO<sub>4</sub> 8 mg. Kemudian larutan inokulum disterilisasi pada suhu 121°C. Setelah dingin, larutan

inokulum ditambahkan satu potong *Aspergillus niger* ITBCC L74 dari cawan petri di dalam *laminar air flow* dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup>. Kemudian diinkubasi selama 3 hari.

### Produksi Enzim Lipase

Sepuluh gram dedak padi kering pH 7 dimasukkan ke dalam botol kaca sebagai media pertumbuhan, kemudian ditambahkan 50%; 55%; 60%; 65% dan 70% untuk modifikasi kadar air serta 50% untuk modifikasi sumber nutrisi dan waktu inkubasi. Kadar air diberikan berdasarkan berat media dan ditambahkan 1 mL minyak kelapa. Kemudian disterilisasi pada suhu 121°C. Setelah disterilisasi kemudian larutan didinginkan di *laminar air flow*. Setelah itu, satu mL larutan inokulum ditambahkan ke dalam media yang telah dingin. Kemudian botol kaca disumbat menggunakan kasa dan *aluminium foil* dan selanjutnya ditutup dengan tutup karet. Kemudian diinkubasi selama 3 hari; 4 hari; 5 hari; 6 hari; dan 7 hari untuk modifikasi waktu inkubasi serta 5 hari untuk modifikasi sumber nutrisi, inkubasi dilakukan pada suhu 35°C.



**Gambar 2.** Proses produksi enzim lipase

### Proses Penyaringan Enzim Lipase

Media yang telah diinkubasi kemudian ditambahkan air destilat steril dengan perbandingan 1 : 5. Sepuluh gram media ditambahkan 50 mL air destilat steril kemudian dikocok selama 30 menit. Setelah itu disaring menggunakan penyaringan vakum, sehingga terpisah antara enzim kasar dan biomassa.

### Penentuan Aktivitas Enzim

Satu mL minyak kelapa dimasukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 50 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan buffer fosfat pH 7 dan 0,5 mL filtrat enzim

lipase, selanjutnya Erlenmeyer ditutup dengan *aluminium foil*. Kemudian Campuran selanjutnya diinkubasi pada *incubator shaker* dengan suhu 37°C selama 15 menit. Setelah waktu inkubasi tercapai ditambahkan 2 mL aseton-etanol (1:1) dan dikocok homogen untuk menghentikan aktivitas enzim. Kemudian campuran ditambahkan 3 tetes indikator *phenolphthalein* dan dititrasi dengan larutan NaOH standar sampai campuran berwarna merah jambu.

Aktivitas enzim lipase yang dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{mol}$  FFA per mL enzim per menit dihitung menggunakan persamaan (6).

$$\text{Aktivitas lipase} = \frac{(A-B) \times \text{NaOH} \times 1000}{V \times t}$$

Keterangan :

A= Volume NaOH sampel (mL)

B= Volume NaOH blangko (mL)

N<sub>NaOH</sub>= 0,01 N

1000= nilai konversi dari mmol ke  $\mu\text{mol}$

V= Volume enzim (mL)

t= Waktu inkubasi (menit)

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengevaluasi hasil modifikasi sumber nutrisi dan waktu inkubasi untuk meningkatkan aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus niger* ITBCC L74 pada substrat dedak padi akan dijelaskan sebagai berikut.

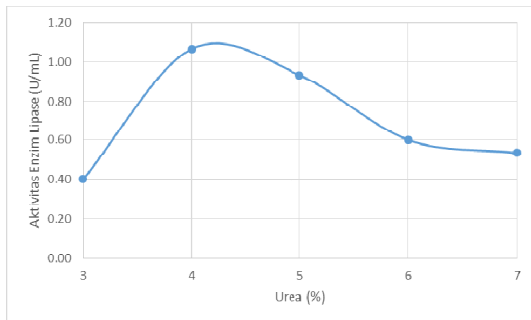
### 3.1 Pengaruh Sumber Nitrogen

Pada penelitian ini, aktivitas enzim lipase dievaluasi dengan penambahan nutrisi berupa nitrogen anorganik ke media fermentasi padat. Sumber variasi nitrogen yang digunakan adalah urea dan NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> dengan konsentrasi 3%, 4%, 5%, 6% dan 7% (b/v). Hasil aktivitas enzim lipase dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 1.** Hasil uji aktivitas enzim variasi sumber nitrogen

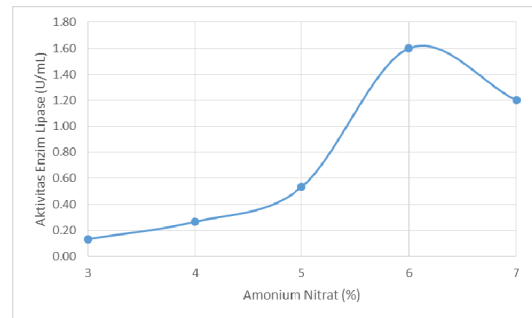
Konsentrasi Urea dan amonium nitrat	Aktivitas Enzim Lipase (U/mL) dengan sumber nitrogen	
	Urea	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>
3%	0,40	0,13
4%	1,07	0,27
5%	0,93	0,53
6%	0,60	1,60
7%	0,53	1,20

Dari tabel 1 dapat dilihat hasil penelitian penambahan urea dan NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> sebagai sumber nitrogen ke media fermentasi padat, didapatkan kondisi optimum aktivitas enzim lipase pada konsentrasi urea 4% yaitu sebanyak 1,07 U/mL.



**Gambar 3.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi urea

Berdasarkan gambar 3, grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi urea didapatkan kondisi optimum aktivitas enzim pada konsentrasi urea 4 persen yaitu sebesar 1,07 U/mL. Penambahan urea ke dedak padi meningkatkan produksi lipase selama optimasi (7). Aktivitas tertinggi kemudian diikuti pada konsentrasi 5%, 6%, 7% dan 3% sebesar 0,93 U/mL, 0,60 U/mL, 0,53 U/mL dan 0,40 U/mL. Pada konsentrasi 3–4% aktivitas enzim lipase meningkat dan kemudian menurun pada konsentrasi 5-7 %. Penurunan terjadi karena urea kemungkinan beracun bagi sel-sel di konsentrasi teruji. Urea mungkin menyebabkan denaturasi protein sel, sehingga pertumbuhan jamur dan produktivitas lipase menurun (8).



**Gambar 4.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi Amonium nitrat

Dari gambar 4, grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi Amonium nitrat (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) dapat dilihat aktivitas lipase paling tinggi pada amonium nitrat konsentrasi 6% sebesar 1,60 U/mL. Selanjutnya diikuti pada konsentrasi 7%, 5%, serta 4% dan 3% sebesar 1,20 U/mL, 0,53 U/mL, 0,27 U/mL dan 0,13 U/mL.

Sidra (2016) melaporkan dalam penelitiannya penambahan berbagai sumber nitrogen anorganik pada proses fermentasi untuk meningkatkan aktivitas enzim lipase oleh *Aspergillus niger* didapatkan aktivitas enzim lipase terbaik dengan penambahan amonium nitrat sebagai sumber nitrogen (9).

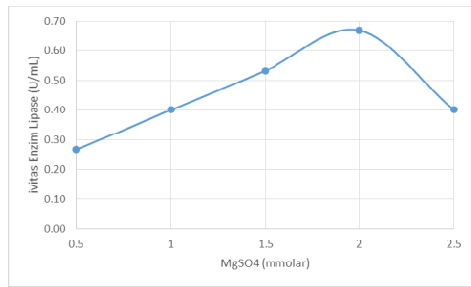
### 3.2 Pengaruh Sumber Mineral Anorganik

Pada penelitian ini menggunakan variasi sumber mineral anorganik untuk menentukan aktivitas enzim lipase yang paling tinggi. Sumber variasi mineral anorganik yang digunakan berupa MgSO<sub>4</sub> dan FeSO<sub>4</sub>. Dengan konsentrasi MgSO<sub>4</sub> sebesar 0,5 mmolar; 1 mmolar; 1,5 mmolar; 2 mmolar dan 2,5 mmolar. Hasil aktivitas ezim lipase dapat dilihat di tabel berikut :

**Tabel 2.** Hasil uji aktivitas enzim sumber mineral anorganik MgSO<sub>4</sub>

Konsentrasi MgSO <sub>4</sub> (mmolar)	Aktivitas Enzim Lipase (U/mL)
0,5	0,27
1	0,40
1,5	0,53
2	0,67
2,5	0,40

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada konsentrasi MgSO<sub>4</sub> 2 mmolar yakni 0,67 U/mL.



**Gambar 5.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi MgSO<sub>4</sub>

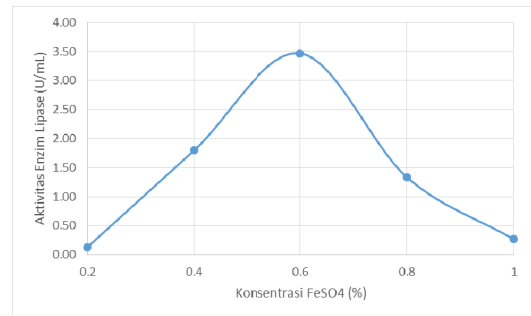
Dari gambar 5 dapat dilihat, terjadi peningkatan aktivitas pada konsentrasi 0,5 sampai 2 mmolar, hal ini disebabkan karena MgSO<sub>4</sub> berperan sebagai nutrisi mineral untuk mendukung pertumbuhan jamur, akan tetapi pada konsentrasi 2,5 mmolar terjadi penurunan aktivitas enzim lipase karena konsentrasi MgSO<sub>4</sub> terlalu tinggi tidak sesuai dengan kebutuhan jamur, sehingga MgSO<sub>4</sub> dianggap sebagai inhibitor yang dapat mengurangi peluang bagi terbentuknya kompleks enzim substrat.

Salihu (2016) melaporkan hasil penelitiannya mengenai penambahan konsentrasi MgSO<sub>4</sub> sebesar 0,05%; 0,1%; 0,15% dan 0,2% pada substrat *sheanut cake* menggunakan jamur *aspergillus niger*. Aktivitas enzim lipase tertinggi dihasilkan pada konsentrasi MgSO<sub>4</sub> terendah yaitu 0,05% (10). Hal ini sesuai dengan penelitian Salihu (2013) bahwa penambahan MgSO<sub>4</sub> memiliki efek yang rendah untuk meningkatkan aktivitas enzim lipase, yaitu sekitar 0,2% (11).

**Tabel 3.** Hasil uji aktivitas enzim sumber mineral anorganik FeSO<sub>4</sub>

Kadar FeSO <sub>4</sub> (%)	Aktivitas Enzim Lipase (U/mL)
0,2	0,13
0,4	1,80
0,6	3,47
0,8	1,33
1	0,27

Dari tabel 3 dapat dilihat aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada kadar FeSO<sub>4</sub> 0,6% sebesar 3,47 U/mL.



**Gambar 6.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi FeSO<sub>4</sub>

Pada percobaan ini media dedak padi diberi nutrisi tambahan FeSO<sub>4</sub> dengan kadar 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1%. Setelah dilakukan uji aktivitas enzim lipase yang paling optimum adalah pada penambahan kadar 0,6% sebesar 3,47 U/mL. FeSO<sub>4</sub> dibutuhkan untuk pertumbuhan jamur sebagai sumber nutrisi dapat dilihat pada gambar 6 dari penambahan sebesar 0,2% hingga 0,6% mengalami peningkatan akan tetapi pada penambahan 0,8% hingga 1% aktivitas enzim mengalami penurunan, hal ini dapat disebabkan karena kadar FeSO<sub>4</sub> yang terlalu tinggi justru akan menjadi racun bagi jamur *Aspergillus niger*.

Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Mukhtar (2015) penambahan FeSO<sub>4</sub> menghasilkan aktivitas enzim lipase tertinggi sebesar 5 U/mL, sehingga FeSO<sub>4</sub> merupakan komposisi yang penting untuk mendukung pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*, karena pada variasi nutrisi lain, aktivitas enzim yang dihasilkan lebih rendah (12).

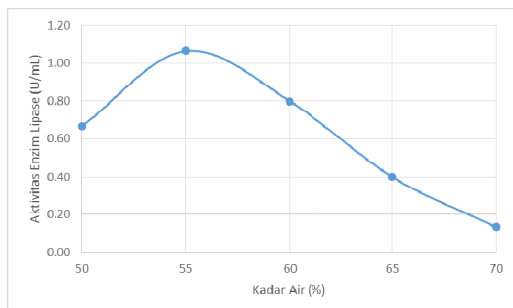
### 3.3 Pengaruh Variasi Kadar Air

Pada penelitian ini menggunakan variasi kadar air untuk menentukan aktivitas enzim lipase yang paling tinggi. Sumber variasi kadar air yang digunakan sebesar 50%, 55%, 60%, 65%, dan 70%. Hasil aktivitas enzim lipase dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 4.** Hasil uji aktivitas enzim variasi kadar air

Kadar Air (%)	Aktivitas Enzim Lipase (U/mL)
50	0,67
55	1,07
60	0,80
65	0,40
70	0,13

Dari tabel 4 dapat dilihat aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada kadar air 55% yakni 1,07 U/mL.



**Gambar 7.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi kadar air

Kadar air yang optimum penting dalam pertumbuhan mikroba selama fermentasi padat berlangsung. Pada kadar air lebih dari 55% terjadi penurunan nilai aktivitas enzim lipase,. Kadar air yang terlalu tinggi akan menurunkan porositas media sehingga mempengaruhi pertumbuhan jamur, sedangkan kadar air yang terlalu rendah menyebabkan akses nutrisi pada media menjadi terhambat. Oleh karena itu, kadar air selama proses fermentasi padat berpengaruh pada substrat sehingga mempengaruhi pertumbuhan jamur dan dekomposisi substrat (5).

Nema (2019) melakukan penelitian mengenai aktivitas enzim lipase menggunakan substrat berupa campuran dari sekam padi, *cottonseed cake*, dan *red gram husk* dengan variasi kandungan air sebesar 55%, 60%, 65%, 70%, 75% dan 80%, di mana pada kandungan air 55-75% aktivitas lipase mengalami peningkatan, dengan aktivitas lipase tertinggi sebesar 28,19 U/gds pada kadar air 75% (13).

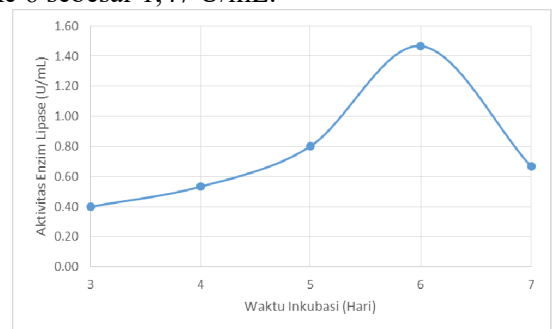
### 3.4 pengaruh waktu inkubasi

Dalam percobaan ini media dedak padi dan jamur *Aspergillus niger* diinkubasi selama 3, 4, 5, 6, dan 7 hari.

**Tabel 5.** Hasil uji aktivitas enzim variasi waktu inkubasi

Waktu Inkubasi (Hari)	Aktivitas Enzim Lipase (U/mL)
3	0,40
4	0,53
5	0,80
6	1,47
7	0,67

Dari tabel 5 dapat dilihat aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada hari ke 6 sebesar 1,47 U/mL.



**Gambar 8.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi waktu inkubasi

Dari gambar 8 setelah dilakukan uji aktivitas enzim lipase yang paling optimum adalah pada variasi 6 hari sebesar 1,47 U/mL. Pada hari ke 3 hingga hari ke 5 jamur *Aspergillus niger* masih memasuki masa pertumbuhan secara eksponensial, dimana kondisi ini jamur *Aspergillus niger* memerlukan nutrisi minyak yang besar sehingga jamur dapat menghasilkan enzim lipase. Pada hari ke 6 jamur *Aspergillus niger* sudah mulai memasuki masa stasioner dimana jamur *Aspergillus niger* memproduksi enzim lipase dalam jumlah yang besar dimana ditandai dengan aktivitas enzim yang tinggi. Namun pada hari ke 7 terjadi penurunan dikarenakan nutrisi dalam media sudah habis dan jamur memasuki fase kematian yang ditandai dengan aktivitas enzim yang menurun drastis (6).

Pada penelitian Indah (2016) jamur *Aspergillus niger* dikembangkan dengan menggunakan media isolat kapang kopra, dimana didapat aktivitas enzim lipase yang dihasilkan jamur *Aspergillus niger* memasuki masa eksponensial hingga

hari kedua. Pada hari kedua jamur *Aspergillus niger* mengalami masa stasioner dan pada hari kedua hingga ketiga jamur mengalami fasa kematian Karena nutrisi pada media sudah habis (6). Dedak padi memiliki nutrisi bagi *Aspergillus niger* lebih baik daripada kapang kopra, hal ini karena nutrisi pada dedak padi dapat bertahan selama 7 hari, sedangkan pada kapang kopra hanya bertahan selama 3 hari hingga mampu menghasilkan enzim.

#### 4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi terbaik dari sumber nitrogen adalah urea 4% yang menghasilkan aktivitas enzim lipase 1,07 U/mL dan amonium nitrat konsentrasi 6% sebesar 1,60 U/mL. Untuk sumber mineral anorganik pada FeSO<sub>4</sub> pada konsentrasi 0,6% aktivitas enzim sebesar 3,47 U/mL dan MgSO<sub>4</sub> konsentrasi terbaik 2 mmolar dengan aktivitas enzim lipase 0,67 U/mL. Kadar air yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi adalah kadar air 55%, dengan aktivitas tertinggi 1,07 U/mL, sedangkan waktu inkubasi *Aspergillus niger* yang menghasilkan enzim lipase dengan aktivitas tertinggi sebesar 1,47 U/mL adalah pada waktu inkubasi 6 hari.

#### REFERENSI

- G.S. Suhartati Djarkasi, Sri Raharjo ZN. Isolation and Specific Activity of Indigenous Lipase Enzyme in Canarium Nut. **Jurnal Teknologi Pertanianian**. 2017;8:28–35.
- Khootama A, Putri DN, Hermansyah H. Techno-economic analysis of lipase enzyme production from *Aspergillus Niger* using agro-industrial waste by solid state fermentation. **Energy Procedia**. 2018;153:143–8.
- Kurnia DRD. Studi Aktivitas Enzim Lipase dari *Aspergillus niger* Sebagai Biokatalis pada Proses Gliserolisis untuk Menghasilkan Monoasilgliserol. Universitas Diponegoro; 2010.
- Murni SW, Kholisoh SD, Tanti DL, Petrissia EM. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. **Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan”**. 2011. p. 1–7.
- Costa TM, Hermann KL, Garcia-Roman M, De Valle RCSC, Tavares LBB. Lipase production by *Aspergillus niger* grown in different agro-industrial wastes by solid-state fermentation. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. 2017;34(2):419–27.
- Indah, Mappiratu, Musafira. Produksi Enzim Lipase Dari *Aspergillus niger* Isolat Kapang Kopra Dengan Menggunakan Medium Kelapa Parut. **Kovalen**. 2017;3(3):269–76.
- Kumar DS, Ray S. Fungal Lipase Production by Solid State Fermentation-An Overview Analytical & Bioanalytical Fungal Lipase Production by Solid State Fermentation-An Overview. **Journal Analytical and Bioanalytical Techniques**. 2016;6(1):1–10.
- Sharma AK, Sharma V, Saxena J, Kuila A. Lipase production from a wild ( LPF-5 ) and a mutant ( HN1 ) strain of *Aspergillus niger*. **African Journal of Biotechnology**. 2016;15(41):2292–300.
- Sidra, Iftikhar T, Ali M, Latif F, Abdullah R, Rajoka MI. mutagenic strain improvement of *Aspergillus niger* (MBL-1511) and optimization of cultural conditions for boosted lipolytic potential through submerged fermentation. **Pakistan Journal of Botany**. 2016;48(3):2539–48.
- Salihu A, Bala M, Alam Z. Lipase production by *Aspergillus niger* using sheanut cake: An optimization study. **Journal of Taibah University for Science**. 2016;10(6):850–9.
- Salihu A, Bala M, Bala SM. Application of Plackett-Burman Experimental Design for Lipase Production by *Aspergillus niger* Using Shea Butter Cake. **ISRN Biotechnology**. 2013;2013:1–5.
- Mukhtar H, Hanif M, Asad-Ur-Rehman, Nawaz A, Ul Haq I. Studies on the lipase production by *Aspergillus niger* through solid state fermentation. **Pakistan Journal of Botany**. 2015;47(SI):351–4.

13. Nema A, Patnala SH, Mandari V, Kota S, Devarai SK. Production and optimization of lipase using *Aspergillus niger* MTCC 872 by solid-state fermentation. **Bulletin National Research Center**. 2019;43(82):1-8.