

## Optimasi Induser dan Sumber Nutrisi Anorganik untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim Lipase dari Strain *Aspergillus niger* pada Substrat Ampas Kelapa

Muhammad Rasyid Al Hakim <sup>1\*</sup>, Muhammad Faridi Dahlan <sup>2</sup>, Citra Kusuma Wardani <sup>3</sup>,  
Tri Widayatno <sup>4</sup>

Progam Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta

\*Email: muhammad.rasyid13@gmail.com

### Abstrak

#### Keywords:

*Aspergillus niger*;  
Enzim lipase;  
induser; nutrisi;  
ampas kelapa

Enzim lipase adalah salah satu enzim yang bekerja dengan cara mengkatalisasi hidrolisis ikatan ester triasilgliserol pada antarmuka minyak/air. Enzim lipase biasa digunakan sebagai katalisator pada industri farmasi, minuman ataupun kosmetik. Permintaan kebutuhan enzim di Indonesia saat ini mencapai 2500 ton dan mengalami kenaikan setiap tahunnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan jenis induser dan nutrisi optimum pada proses fermentasi padat menggunakan substrat ampas kelapa dan jamur *Aspergillus niger*. Variasi penelitian yang digunakan adalah induser serta sumber mineral anorganik yang divariasikan untuk memperoleh hasil aktivitas enzim lipase tertinggi. Pada penelitian ini dilakukan pada kondisi pH 7 dan proses inkubasi selama 5 hari pada suhu 35 °C. Hasil penelitian menunjukkan variasi induser minyak kelapa sawit terbaik 6 mL dengan aktivitas enzim lipase 1 U/mL sedangkan variasi induser minyak zaitun terbaik 8 mL dengan aktivitas enzim lipase 1 U/mL dan untuk variasi induser virgin coconut oil terbaik 8 mL dengan aktivitas enzim lipase 1,133 U/mL. Sumber mineral anorganik terbaik adalah ZnSO<sub>4</sub> 2 mmol yang memiliki aktivitas enzim lipase sebesar 1,87 U/ml. sedangkan MnSO<sub>4</sub> 2 mmol menghasilkan aktivitas enzim lipase sebesar 0,867 U/ml, dan untuk CaCl<sub>2</sub> 2 mL mempunyai aktivitas enzim lipase sebesar 1,4 U/ml.

### 1. PENDAHULUAN

Enzim Lipase (*Triacylglycerol acyl hydrolases*) merupakan kelompok enzim yang sangat penting yaitu memiliki fungsi mengkatalisasi hidrolisis ikatan ester triasilgliserol pada antar muka minyak/air. Lipase sangat penting dalam dunia industri karena berfungsi selain menghidrolisis trigliserida rantai panjang, enzim ini juga dapat mengkatalis *reverse reaction* dalam media organik, serta bertindak pada transesterifikasi, reaksi alkoholisis dan sebagainya. Lipase dianggap sebagai solusi terbaik atau alternatif dalam dunia industri karena sangat

ramah lingkungan dengan berkontribusi pada pengurangan jumlah bahan kimia yang digunakan (1).

Sebagaimana diketahui bahwa kebutuhan enzim (biokatalis) untuk industri masih merupakan impor dari luar negeri. Kebutuhan enzim meningkat setiap tahun dan diperkirakan permintaan pasar global terhadap enzim meningkat sekitar 7 per tahun. Indonesia sendiri diperkirakan akan mengonsumsi enzim sekitar 2.500 ton dengan nilai impor sekitar Rp200 miliar pada 2017 dengan laju pertumbuhan volume rata-rata 5 hingga 7 persen per tahun (2).

*Aspergillus niger* memiliki potensi sebagai sumber lipase ekstraseluler karena mampu menghasilkan enzim ekstraseluler dengan aktivitas tinggi dan perawatan yang mudah. Selain itu, harga yang cukup murah menjadi salah satu alasan memilih jamur jenis ini (3).

Induser merupakan suatu zat yang memicu kinerja mikroorganisme sehingga mampu menghasilkan suatu enzim tertentu. Induser biasanya dapat berupa lemak, asam lemak ataupun minyak sebagai sumber karbon. Minyak nabati seperti jagung, bunga matahari dan kelapa sawit mempengaruhi produksi lipase (4).

Ampas kelapa memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi sekitar 10-16%, protein 4,11%, serat kasar 30,58%, karbohidrat 79,34% dan abu 0,66%. Faktor-faktor tersebut menjadi alasan mengapa media ini berpotensi sebagai substrat pertumbuhan kapang lipolitik untuk menghasilkan lipase tinggi. Salah satu kapang yang banyak menghasilkan lipase berasal dari genus *Aspergillus* (5).

Berdasarkan penjelasan diatas maka produksi enzim di Indonesia masih terbatas, sehingga untuk mengatasi kebutuhan permintaan dalam negeri dibutuhkan salah satu cara alternatif yang aman bagi lingkungan dan ekonomis. Variabel yang dipilih dalam penelitian adalah variabel yang mempunyai pengaruh terhadap jumlah aktivitas produksi enzim lipase.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi minyak dan sumber nutrisi yang optimal untuk mendapatkan nilai aktivitas enzim lipase yang maksimal dari *Aspergillus niger* dengan substrat ampas kelapa.

## 2. METODE

Penelitian ini bertempat di Laboraturium Teknik Kimia Universitas Muhammadiyah Surakarta.

### Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aspergillus niger*, ampas kelapa yang diperoleh dari buah kelapa yang telah diambil sarinya, minyak zaitun, minyak kelapa, VCO (*Virgin Coconut Oil*), aseton, etanol, buffer fosfat pH 7, *Potato Dextrose Agar* (PDA), aquades, MgSO<sub>4</sub>, NaCl, FeSO<sub>4</sub>,

NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MnSO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>, FeCl<sub>2</sub>, ZnSO<sub>4</sub>, NaOH, dan NaMoO<sub>4</sub>.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu: autoclave, buret, botol timbang, cawan petri, erlenmeyer, labu ukur, pipet, *incubator*, *incubator shaker*, karet hisap, neraca analitik, *hot plate*, *laminar air flow* dan peralatan gelas yang sering digunakan pada Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi.

### Persiapan kultur *Aspergillus niger*

*Aspergillus niger* ditumbuhkan pada cawan petri dengan media PDA dengan metode steril pada *laminar air flow*. Kemudian dibungkus dengan aluminium foil hingga rapat dan diinkubasi selama 4 hari pada suhu 35°C. Setelah 4 hari media dipindahkan pada lemari pendingin dengan suhu 4°C.

### Perlakuan awal media ampas kelapa

Ampas kelapa direndam dengan aquades, diukur pH nya dan dibuat menjadi pH 7 dengan menambahkan NaOH. Setelah itu ditambahkan larutan buffer fosfat pH 7 untuk memertahankan pH dan direndam selama 1 jam. Kemudian ampas kelapa diperas dan dioven hingga kering. Setelah kering, media dihaluskan dan diayak hingga lolos 40 mesh.

### Pembuatan inokulum

Larutan inokulum terdiri dari 50 mL larutan glukosa, 5 mL larutan mendel, dan 1 mL larutan *trace metal* dalam erlenmeyer 250 mL. Komposisi larutan glukosa yakni 0,5 gram glukosa dalam 100 mL aquades. Komposisi larutan mendel yakni MgSO<sub>4</sub> 0,1 g, NaCl 0,1 g, FeSO<sub>4</sub> 0,03 g, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1 g, CaCl<sub>2</sub> 0,02 g, dan minyak zaitun 1 mL dalam 1 liter aquades. Komposisi larutan *trace metal* adalah Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 45 mg, FeCl<sub>2</sub> 800 mg, MnSO<sub>4</sub> 800 mg, NaMoO<sub>4</sub> 800 mg, dan ZnSO<sub>4</sub> 8 mg dalam 1 liter aquades. Kemudian larutan disterilkan pada suhu 121°C dan didinginkan pada *laminar air flow*. Setelah itu ditambahkan 1 potong *Aspergillus niger* dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup> dan diinkubasi selama 3 hari dengan suhu 35°C.

### Produksi enzim lipase

5 gram ampas kelapa digunakan untuk media pertumbuhan *Aspergillus niger* dimasukkan dalam botol kaca dan ditambahkan 30 mL aquades dan 1 mL induser. Kemudian media dalam botol disterilkan pada suhu 121°C dan didinginkan pada *laminar air flow*. Setelah itu

ditambahkan 1 mL larutan inokulum dan botol ditutup dengan rapat. Media yang telah ditambahkan inokulum diinkubasi selama 6 hari pada suhu 35°C. Hasil yang diperoleh dari produksi enzim lipase dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Proses produksi *Aspergillus niger*

#### Proses isolasi enzim lipase

Media yang telah diinkubasi kemudian ditambahkan 50 mL air destilat steril dan dikocok selama 30 menit. Setelah itu media disaring menggunakan vakum filter sehingga diperoleh filtrat dari enzim lipase kasar.

#### Penentuan aktivitas enzim

1 mL induser, 0,5 mL larutan buffer fosfat pH 7, dan 0,5 mL filtrat enzim lipase kasar dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditutup aluminium foil. Kemudian larutan diinkubasi dalam *incubator shaker* selama 10 menit pada suhu 35°C. Setelah diinkubasi larutan ditambahkan 2 mL aseton-etanol dengan perbandingan 1:1 dan dikocok hingga homogen untuk menghentikan aktivitas enzimnya. Setelah itu larutan ditambahkan 3 tetes PP dan dititrasi dengan NaOH hingga berwarna merah jambu. Untuk hasil dari proses pengujian dari aktivitas enzim lipase dapat dilihat pada gambar 2. Aktivitas lipase dinyatakan dalam µmol FFA per ml enzim per menit dihitung menggunakan persamaan :

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

Keterangan =

- A : Volume NaOH sampel (mL)
- B : Volume NaOH blanko (mL)
- $N_{\text{NaOH}}$  : 0,01N
- 1000 : Konversi dari mmol ke µmol
- V : Volume enzim (mL)
- t : Waktu inkubasi.



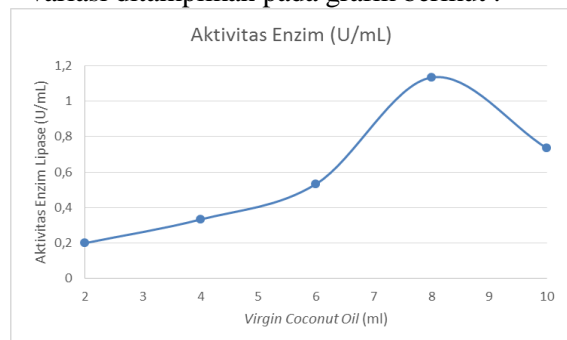
**Gambar 2.** Pengujian Aktivitas Enzim Lipase Metode Titrasi

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk mengevaluasi hasil modifikasi induser dan sumber nutrisi untuk meningkatkan aktivitas enzim lipase dari *Aspergillus niger* pada substrat ampas kelapa akan dijelaskan sebagai berikut.

#### 3.1. Pengaruh Induser

Pada penelitian ini menggunakan variasi induser untuk menentukan aktivitas enzim lipase yang paling tinggi. induser yang digunakan dalam penelitian ini berupa minyak kelapa sawit, minyak zaitun dan *virgin coconut oil*. Dengan konsentrasi masing-masing sebesar 2mL; 4mL; 6mL; 8mL dan 10mL. Hasil aktivitas enzim lipase tiap-tiap variasi ditampilkan pada grafik berikut :



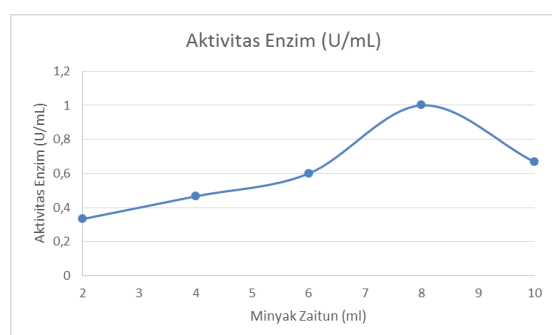
**Gambar 3.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi induser VCO

Dari grafik diatas dapat dilihat aktivitas enzim lipase terhadap induser *virgin coconut oil* didapatkan kondisi optimum aktivitas enzim pada konsentrasi induser 8 mL yaitu sebesar 1,1333 U/mL.

Dalam percobaan ini *Aspergillus niger* dikembangkan dengan media ampas kelapa yang kemudian diberi induser berupa *virgin coconut oil* dengan variasi jumlah 2mL, 4mL, 6mL, 8mL, dan 10 mL dan diinkubasi

selama 5 hari. Setelah dilakukan uji aktivitas diperoleh enzim lipase yang paling optimum adalah pada variasi 8 mL sebesar 1,13 U/mL. Penggunaan induser berupa minyak berpengaruh dalam proses produksi enzim lipase oleh jamur *Aspergillus niger*. Dapat dilihat dari grafik diatas menunjukkan bahwa jumlah minyak yang digunakan mempengaruhi jumlah enzim lipase yang dihasilkan. Pada grafik terlihat terjadi peningkatan aktivitas enzim lipase pada variasi penambahan induser 2 mL sampai 8 mL, akan tetapi mengalami penurunan pada variasi 10 ml. hal ini dapat disebabkan penggunaan induser dalam jumlah tinggi justru menghambat jamur dalam menghasilkan enzim lipase.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Su'i (2010) terdapat hasil bahwa aktivitas hidrolisis enzim lipase dengan menggunakan *virgin coconut oil* dengan variasi konsentrasi substrat 2%, 6%, 10%, 14% dan 18% diperoleh hasil produksi lemak bebas tertinggi pada variasi konsentrasi substrat 10% yaitu dihasilkan aktivitas enzim lipase sebesar 2,19 U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan *virgin coconut oil* sebagai induser memiliki potensi yang cukup baik untuk menghasilkan enzim lipase dari *Aspergillus niger* karena tidak memerlukan terlalu tinggi konsentrasi untuk memperoleh aktivitas enzim lipase pada kondisi optimum (6).

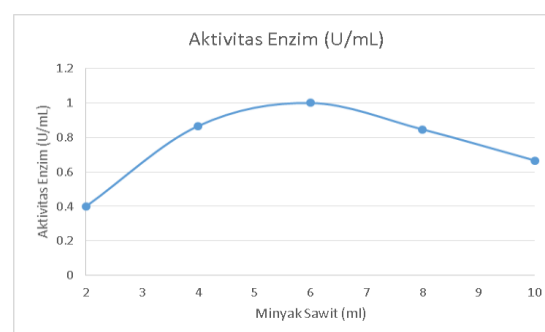


**Gambar 4.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi induser minyak zaitun

Berdasarkan grafik hubungan aktivitas lipase terhadap variasi induser minyak zaitun didapatkan aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada penambahan minyak zaitun 8 ml sebesar 1 U/mL.

Mikroorganisme seperti jamur membutuhkan sumber nutrisi seperti karbon yang didapatkan dari lipida atau karbohidrat dalam memproduksi enzim lipase. Selain sebagai sumber karbon, lipida juga digunakan sebagai induser untuk memacu produksi dari lipase (7). Salah satunya adalah minyak zaitun. Dari gambar 2 dapat dilihat aktivitas lipase tertinggi pada penambahan minyak zaitun 8 mL sebesar 1 U/mL. selanjutnya diikuti 10 mL, 6 mL, 4 mL, dan 3mL. Hal ini karena kebutuhan nutrisi setiap mikroorganisme berbeda sehingga apabila berlebihan akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim lipase.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Seniwati (2010) yang melakukan penelitian mengenai produksi lipase dari isolat *Aspergillus oryzae* pada kopra berjamur dengan variasi minyak zaitun 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% dimana pada kandungan minyak zaitun 3% dengan kecepatan pengadukan 150 rpm didapatkan aktivitas enzim paling optimum sebesar 18,888 U/mL (7). Hal ini menandakan bahwa apabila beberapa jamur ditambahkan dengan minyak zaitun dalam proses fermentasinya, maka akan dapat meningkatkan produksi lipase dari jamur tersebut. Jamur tersebut di antaranya adalah: *Mucor hiemalis* dan *Rhizopus oligosporus* dengan penambahan minyak zaitun sebesar 1% dan 0,7% (8).



**Gambar 5.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi induser minyak kelapa sawit

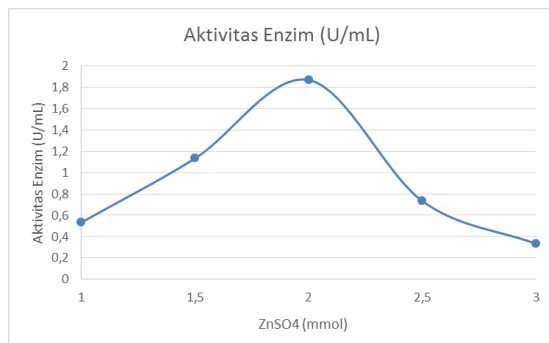
Dari grafik dapat dilihat pengaruh konsentrasi induser terhadap aktivitas enzim lipase. Aktivitas enzim paling tinggi yaitu pada variasi induser minyak kelapa sawit 6 mL sebesar 1 U/mL.



Pada percobaan ini media ampas kelapa diberi minyak kelapa sawit dengan kadar 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL dan 10 mL. Berdasarkan gambar 5, uji aktivitas enzim lipase yang paling optimum adalah pada penambahan kadar 6 mL sebesar 1 U/mL. Sedangkan hasil Murni dkk (2011) mendapatkan 1.5 U/mL dengan konsentrasi induser sebesar 3%-g minyak kelapa sawit/mL, suhu 30 °C dan pH 7 (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  $MnSO_4$ ,  $CaCl_2$  dan  $ZnSO_4$ . Dengan konsentrasi masing-masing sebesar 1 mmol hingga 3 mmol. Hasil aktivitas enzim lipase dapat dilihat di grafik berikut :

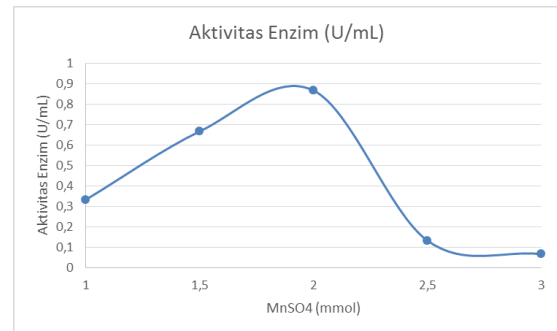


**Gambar 6.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi kadar  $ZnSO_4$

Dari grafik diatas dapat dilihat aktivitas enzim lipase terhadap variasi kadar  $ZnSO_4$  didapatkan kondisi optimum aktivitas enzim pada penambahan  $ZnSO_4$  sebanyak 2 mmol sebesar 1.8667 U/mL.

Pada penelitian ini media ampas kelapa ditambahkan nutrisi anorganik  $ZnSO_4$  dengan kadar 1 mmol hingga 3 mmol. Setelah dilakukan uji aktivitas enzim lipase diperoleh hasil yang paling optimum adalah pada penambahan kadar 2 mmol sebesar 1,833 U/mL.  $ZnSO_4$  berfungsi membantu pertumbuhan *Aspegillus niger* dalam menghasilkan enzim lipase, pengaruh  $ZnSO_4$  sebagai sumber nutrisi dapat dilihat pada gambar 6 dari penambahan sebesar 1 mmol hingga 2 mmol mengalami peningkatan, tetapi pada penambahan 2.5 mmol hingga 3 mmol terjadi penurunan aktivitas enzim. Penurunan

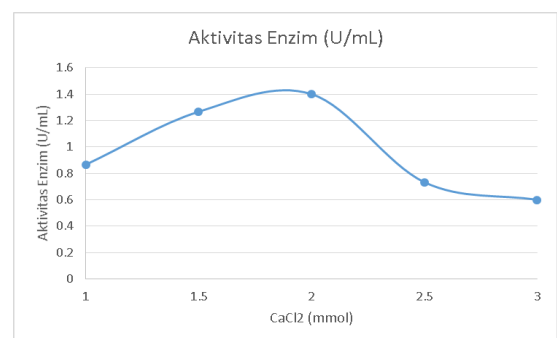
aktivitas enzim lipase ini disebabkan karena penggunaan kadar  $ZnSO_4$  yang terlalu tinggi justru akan menjadi racun.



**Gambar 7.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi kadar  $MnSO_4$

Berdasarkan grafik hubungan aktivitas lipase terhadap variasi variasi kadar  $MnSO_4$  didapatkan aktivitas enzim lipase paling tinggi yaitu pada penambahan  $MnSO_4$  sebanyak 2 mmol sebesar 0,867 U/mL.

Pada penelitian ini media ampas kelapa ditambahkan nutrisi  $MnSO_4$  dengan variasi kadar 1 mmol; 1,5 mmol; 2 mmol; 2,5 mmol; dan 3 mmol.  $MnSO_4$  digunakan sebagai sumber nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan jamur. Pada penambahan 1 mmol hingga 2 mmol mengalami kenaikan tetapi pada penambahan 2,5 mmol hingga 3 mmol mengalami penurunan aktivitas enzim lipase. Penurunan tersebut dikarenakan penambahan  $MnSO_4$  yang berlebihan sehingga membentuk inhibitor yang berakibat pada penurunan aktivitas enzimnya. Berkurangnya aktivitas enzim oleh inhibitor dikarenakan berkurangnya pembentukan kompleks substrat enzim sehingga dapat mengurangi aktivitas dari enzim itu sendiri (10).



**Gambar 8.** Grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi kadar  $CaCl_2$

Dari grafik dapat dilihat pengaruh variasi kadar  $\text{CaCl}_2$  terhadap aktivitas enzim lipase. Aktivitas enzim paling tinggi yaitu pada penambahan  $\text{CaCl}_2$  sebanyak 2 mmol sebesar 1,4 U/mL.

Berdasarkan gambar 8, grafik hubungan aktivitas enzim lipase terhadap variasi konsentrasi  $\text{CaCl}_2$  didapatkan kondisi optimum aktivitas enzim pada konsentrasi  $\text{CaCl}_2$  2 mmol yaitu sebesar 1,4 U/mL. Sedangkan Permana dkk (2012) mendapatkan aktivitas tertinggi 1 mM. Aktivitas tertinggi kemudian diikuti pada konsentrasi 1.5 mmol; 1 mmol; 2.5 mmol; dan 3 mmol sebesar 1,26 U/mL, 0,86 U/mL, 0,73 U/mL dan 0,6 U/mL. Pada 1-2 mmol aktivitas enzim lipase meningkat dan kemudian menurun pada 2-3 mmol. Menurut Permana dkk (2012), ion  $\text{Ca}^{2+}$  merupakan salah satu nutrisi yang dapat meningkatkan aktivitas enzim dengan cara mengikat substrat dan membantu dalam proses pembentukan kompleks enzim substrat. Akan tetapi apabila ion  $\text{Ca}^{2+}$  ditambahkan dalam jumlah yang terlalu banyak akan tidak dapat dimanfaatkan dan malah mengikat asam lemak sehingga menurunkan aktivitas dari enzim tersebut (11).

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dihasilkan konsentrasi terbaik dari masing-masing variasi antara lain induser minyak kelapa sawit 6 mL menghasilkan aktivitas enzim lipase 1 U/mL, sedangkan induser minyak zaitun 8 mL menghasilkan aktivitas enzim lipase 1 U/mL, dan induser *virgin coconut oil* 8 mL menghasilkan aktivitas enzim lipase 1,133 U/mL. Untuk sumber mineral anorganik terbaik adalah  $\text{ZnSO}_4$  2 mmol menghasilkan aktivitas enzim lipase sebesar 1,87 U/mL, sedangkan sumber mineral  $\text{MnSO}_4$  2 mmol menghasilkan aktivitas enzim lipase sebesar 0,867 U/mL dan sumber mineral  $\text{CaCl}_2$  2 mmol menghasilkan aktivitas enzim lipase sebesar 1,4 U/mL.

#### REFERENSI

1. Turati D, Almeida A, Terrone C, Nascimento J, Terrasan C, Lorente G, Pessela B, Guisan J, Carmona E. Thermotolerant lipase from

*Penicillium sp.* section Gracilentia CBMAI 1583: Effect of carbon sources on enzyme production, biochemical properties of crude and purified enzyme and substrate specificity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Elsevier Ltd; 2019; 17(10):15–24.

2. Suyanto E, Soetarto E. S, Cahyanto M.N. Production and Optimization of Lipase by *Aspergillus niger* using Coconut Pulp Waste in Solid State Fermentation. *Journal of Physics*. IOP Publishing; 2019; 14(1):1-6.
3. Indah, Mappiratu, Musafira . Produksi Enzim Lipase Dari *Aspergillus niger* Isolat Kapang Kopra Dengan Menggunakan Medium Kelapa Parut. *Kovalen*. 2017 ; 3(3) :269-276.
4. Salihu A, Alam M.Z, Ismail M, Salleh H. M. Suitability Of Using Palm Oil Mill Effluent As A Medium For Lipase Production. *African Journal of Biotechnol*.2011; 10(11):2044-2052.
5. Suyanto E, Soetarto E. S, Cahyanto M.N. Produk Lipase Kapang Lipolitik pada Limbah Ampas Kelapa. *Bioeksperimen* .2015; 1(1):12-17.
6. Su'i M, Harijono, Yunianta, Aulani'am. Hidrolysis Activity of Lipase Enzyme from Coconut Housitorium for Coconut Oil. *Agritech*. 2010; 30(3):164-167.
7. Seniwati D, Patong A.R, Djalaluddin M.N, Pirman A. Optimasi Produksi Enzim Lipase Dari Isolat *Aspergillus Oryzae* Pada Kopra Berjamur. *Jurnal Akta Kimia Indonesia*.2010 ; 3(1):1-7.
8. Mangunwardoyo W, Lusini Y, Gandjar I. Aktivitas Lipase *Rhizopus Microsporus* Var. *Rhizopodiformis* UICC 520 Dan *Rhizopus Microsporus* Var. *Oligosporus* UICC 550 Pada Substrat Minyak Nabati. *Jurnal Biota*. 2011; 16(1):39-47.
9. Murni S. W, Kholisoh S.D, Tanti D.L, Pettrisia E.M. Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari *Aspergillus niger*. *Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*.2011; 14(1): 1-7.
10. Melelak G.A, Wirajana I.N, Mahardika I.G. Pengaruh Minyak Jelantah Dan

- Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Lipase Pada Tanah Hutan Mangrove Pantai Tablolong Kupang. *Cakra Kimia*. 2014; 2(2):25-31.
11. Permana D.G, Indrati R, Hastuti P. Optimasi Isolasi Lipase Indigenous Biji Kakao. *Agritech* . 2012; 32(1):27-32.