



TUGAS AKHIR SB-141510

EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA KAPANG LIPOLITIK *Aspergillus niger* PADA MEDIUM CAIR

**R. GLADY PUTRI ANDHITA CSMA
1512 100 010**

**Dosen Pembimbing
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si**

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016**



FINAL PROJECT SB-141510

VIABILITY AND ABILITY OF LIPOLYTIC *Aspergillus niger* IN LIQUID MEDIUM

R. GLADY PUTRI ANDHITA CSMA
1512 100 010

Advisor Lecturer
N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si

Department of Biology
Faculty of Mathematic and Sciences
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2016

LEMBAR PENGESAHAN

EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA KAPANG LIPOLITIK *Aspergillus niger* PADA MEDIUM CAIR

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Sains
pada
Jurusan S-1 Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

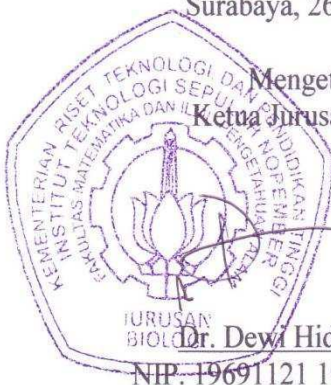
R. GLADY PUTRI ANDHITA CSMA
NRP. 1512 100 010

Disetujui oleh Pembimbing Tugas Akhir :

N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si. (Pembimbing 1)

Surabaya, 26 Juni 2016

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dewi Hidayati, M.Si
NIP. 19691121 199802 2 001

EVALUASI DAYA HIDUP DAN DAYA KERJA KAPANG LIPOLITIK *Aspergillus niger* PADA MEDIUM CAIR

Nama : R. Glady Putri Andhita CSMA
NRP : 1512 100 010
Jurusan : Biologi
Dosen Pembimbing : N.D. Kuswytasari, S.Si., M.Si.

Abstrak

*Enzim lipolitik merupakan enzim yang memiliki peranan penting dalam bioteknologi modern. Enzim ini mampu menghidrolisis ikatan ester dan memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Enzim lipolitik banyak dihasilkan dari mikroorganisme, salah satunya adalah kapang *Aspergillus niger*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja kapang Lipolitik *Aspergillus niger* pada medium minyak goreng bekas dan air pencucian ikan pada periode tertentu.*

*Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi uji viabilitas, pengukuran biomassa, pengukuran aktivitas enzim, serta pengukuran jumlah degradasi lipid. Masa inkubasi yang dilakukan pada penelitian ini selama dua bulan dengan perlakuan setiap dua minggu sekali mulai dari minggu ke-1 hingga minggu ke-9 dengan menggunakan limbah pencucian ikan dan minyak goreng bekas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mampu mempertahankan viabilitasnya pada kedua medium selama 9 minggu. Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid tertinggi yaitu sebesar 0,12U/mL dan 91% pada medium limbah pencucian ikan.*

*Kata kunci: *Aspergillus niger*, enzim, kapang, lipolitik.*

VIABILITY AND ABILITY OF LIPOLYTIC *Aspergillus niger* IN LIQUID MEDIUM

Student Name : R. Glady Putri Andhita CSMA
NRP : 1512 100 010
Department : Biology
Advisor Lecturer : N.D. Kuswyasari, S.Si., M.Si.

Abstract

Lipolytic enzyme is an enzyme that has an important role in biotechnology. Lipolytic enzyme can hydrolyze the ester bonds and break down triglycerides into free fatty acids and glycerol. Many lipolytic enzymes produced by microorganisms, one of which is *Aspergillus niger*. The purpose of this study was to determine the viability and ability of lipolytic fungus *Aspergillus niger* in used-cooking oil and fish-washing waste water medium in certain periods.

The method used in this study include the viability test, measurement of biomass, enzyme activity measurement, and measurement of lipid degradation amount. The incubation period on this study is two months. The treatment was done in every two weeks, from week 1 to week 9, using fish-washing waste and used-cooking oil. The results of this study is *Aspergillus niger* able to maintain viability in both medium for 9 weeks. The highest lipolytic activity and lipid degradation is 0,12U/mL and 91% on fish-washing waste water medium.

Keywords: *Aspergillus niger*, enzyme, mold , lipolytic.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Permasalahan.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan.....	2
1.5 Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Enzim Lipolitik	5
2.2 Mekanisme Degradasi Lipid Oleh Lipase.....	6
2.3 <i>Aspergillus niger</i>	6
2.4 Potensi Patogenitas <i>Aspergillus niger</i>	8
2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim...	9
2.6 Tween 80.....	10
2.7 Minyak Goreng Bekas	12
2.6 Air Pencucian Ikan	13
BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Metode Yang Digunakan	15
3.2.1 Peremajaan isolat kapang	15
3.2.2 Preparasi inokulum dan enumerasi spora isolat	15
3.2.3 Pembuatan starter	15
3.2.4 Degradasi lipid dari limbah organik oleh <i>Aspergillus</i>	

<i>niger</i>	16
3.2.5 Pembuatan kurva standar asam oleat	16
3.2.6 Uji daya hidup.....	16
3.2.7 Uji daya kerja.....	17
3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data	18
BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN	
4.1 Uji Daya Hidup <i>Aspergillus niger</i>	21
4.2 Kurva Standar Asam Oleat.....	24
4.3 Uji Aktivitas Lipase dan Degradasi Lipid pada Medium Limbah Cair Organik.....	25
4.3.1 Air Pencucian Ikan	25
4.3.2 Minyak Goreng Bekas	28
BAB V KESIMPULAN dan SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Uji Viabilitas <i>Aspergillus niger</i> Pada Medium PDA.....	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Reaksi Hidrolisis Triglicerida.....	7
Gambar 2.2 Morfologi <i>Aspergillus niger</i> secara Makroskopis.....	6
Gambar 4.1 Pertumbuhan <i>Aspergillus niger</i> pada Medium PDA	20
Gambar 4.1 Grafik Biomassa <i>Aspergillus niger</i> pada Medium Cair	21
Gambar 4.2 Kurva Standar Asam Oleat	22
Gambar 4.3.1 Grafik Aktivitas Lipolitik dan Degradasi Lipid <i>A. niger</i> pada Medium Limbah Pencucian Ikan	24
Gambar 4.3.2 Grafik Aktivitas Lipolitik dan Degradasi Lipid pada Medium Limbah Minyak goreng Bekas.....	27
Gambar 4.3.2 Perubahan Warna pada Medium Limbah Minyak Goreng Bekas.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Skema Penelitian..... 39
Lampiran 2	Pembuatan Kurva Standar Asam Oleat ... 42
Lampiran 3	Penentuan Aktivitas Lipase..... 43
Lampiran 4	Penentuan Degradasi Lipid 44
Lampiran 5	Dokumentasi Enzim Lipase 45
Lampiran 6	Data Air Pencucian Ikan..... 46
Lampiran 7	Data Minyak Goreng Bekas 48

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Beberapa jenis kapang diketahui mampu menghasilkan enzim lipolitik dan telah digunakan dalam skala industri. Lipolitik atau lipase digunakan dalam pembuatan detergen, sintesis biosurfaktan, pembuatan minyak, peternakan, pertanian, kosmetik, dan industri obat-obatan. Lipase diproduksi mikroorganisme untuk mengkatalis lipid sebagai sumber karbonnya. Lipase berfungsi dalam hidrolisis lemak, mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol (Falony, *et al.*, 2006). Enzim ini juga digunakan dalam hidrolisis triasilgliserol (TAG) menghasilkan diasilgliserol (DAG) dan asam lemak bebas (Putranto, *et al.*, 2006).

Lipid adalah molekul yang terdiri dari rantai panjang hidrokarbon dengan ujung gugus karboksil (COOH). Adanya rantai panjang hidrokarbon ini membuat lipid bersifat nonpolar (Lehninger, 2004). Lipid dibagi menjadi delapan kategori yaitu asam lemak, gliserolipid, gliserophospholipid, spingolipid, sakarolipid, poliketida, lipid sterol, dan lipid prenol (Fahy *et al.*, 2011).

Aspergillus niger merupakan salah satu sumber penghasil enzim lipolitik. *Aspergillus niger* merupakan mikroba jenis kapang yang dapat tumbuh cepat dan tidak membahayakan karena tidak menghasilkan mikotoksin. Selain itu, penggunaannya mudah karena banyak digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan beberapa enzim seperti amilase, pektinase, amilo-glukosidase dan selulase. *Aspergillus niger* memiliki daya amilolitik dan proteolitik yang cukup baik, serta dapat menghasilkan enzim fitase ekstraselluler. Hasil fermentasinya dapat digunakan sebagai sumber protein sel tunggal (PST) dan media biakannya sebagai sumber energi potensial. *Aspergillus niger* merupakan mikroba yang 80% kebutuhan substratnya dipenuhi oleh makromolekul

yang memiliki rantai karbon. Beberapa jenis kapang diketahui tumbuh pada habitat yang mengandung minyak, misalnya tandan kelapa sawit (Rifaat, *et al.*, 2010).

Pada penelitian sebelumnya, dijelaskan bahwa *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim lipase tertinggi pada medium minyak goreng bekas dan air pencucian ikan yaitu sekitar : 0,177 U/mL pada medium minyak goreng bekas dan 0,0997 U/mL pada air pencucian ikan. Namun, hasil ini dinilai belum maksimal. Oleh karena itu penelitian ini menggunakan medium minyak goreng bekas dan air pencucian ikan agar dapat dilakukan evaluasi serta dapat diketahui daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* pada periode waktu tertentu.

1.2 Rumusan Permasalahan

Permasalahan yang akan diangkat pada penelitian ini yaitu bagaimana daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* sebagai agen penghasil enzim lipolitik pada medium cair minyak goreng bekas dan air pencucian ikan ?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada:

1. Isolat yang digunakan adalah hasil uji potensial penghasil lipolitik koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS, yaitu *Aspergillus niger* LM 1002.
2. Periode waktu yang digunakan maksimal 2 bulan.
3. Media produksi cairnya yaitu minyak goreng bekas penggorengan ayam goreng dan air pencucian ikan patin.
4. Asam lemak yang diukur hanya asam oleat.

1.4 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* sebagai agen penghasil enzim

lipolitik pada medium cair minyak goreng bekas dan air pencucian ikan.

1.5 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi dan rekomendasi bahwa medium cair dapat digunakan sebagai substrat pertumbuhan *Aspergillus niger*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim Lipolitik

Enzim lipolitik merupakan kelompok enzim yang berfungsi untuk menghidrolisis triasilgliserol menjadi monoasilgliserol, diasilgliserol dan asam lemak bebas. Monoasilgliserol dan diasilgliserol termasuk produk diversifikasi minyak yang bernilai ekonomi relatif tinggi dan mempunyai prospek pasar yang cukup cerah pada era pasar global. Krog (1990) memprediksi kebutuhan monoasilgliserol dan diasilgliserol sebagai pengemulsi pangan pada era pasar global sekitar 132.000 ton/tahun. Kebutuhan monoasilgliserol dan diasilgliserol dalam negeri saat ini masih impor. Monoasilgliserol dan diasilgliserol adalah ester gliserol dari triasilgliserol yang digunakan sebagai bahan pengemulsi dan penstabil produk makanan, kosmetika dan farmasetika (Ling *dkk.*, 2007).

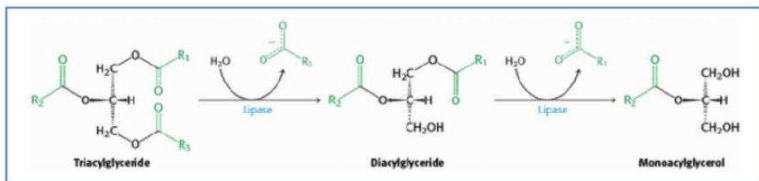
Hasanuddin (2001) melaporkan bahwa pada dasarnya diasilgliserol dan monoasilgliserol terbentuk dari reaksi antara gliserol dengan triasilgliserol. Reaksi ini dapat berlangsung dengan katalisator alkali (gliserolisis secara kimia) maupun biokatalisator enzim lipolitik (gliserolisis secara enzimatik). Enzim lipolitik sebagai biokatalisator mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan katalisator alkali diantaranya: bekerja secara spesifik, aktivitas katalitik enzim yang tinggi dan kemampuannya bekerja pada suhu yang relatif rendah sekitar 30 °C, katalisator alkali bekerja pada suhu (220-250)°C. Suhu yang tinggi menghasilkan produk berwarna coklat (gelap) dan bau tidak diinginkan (Noureddini *dkk.*, 2004).

Lipolitik yang dihasilkan oleh mikrobia memiliki keunggulan digunakan pada bidang industri karena memiliki sifat yang lebih stabil. Selain itu, memiliki banyak keunggulan lain yaitu menghasilkan *yield* dalam jumlah besar, mudah dimanipulasi secara genetik maupun lingkungan, dan dapat diproduksi tanpa tergantung musim (Hasan *et al.*, 2006).

Mikrobia yang termasuk kelompok kapang lipolitik diketahui mampu menghasilkan lipolitik ekstraseluler dengan aktivitas enzim cukup tinggi sehingga menjadi sumber utama dalam industri karena kemampuannya yang dapat digunakan dalam berbagai hal dan kemudahan dalam produksi. Salah satu kapang yang banyak menghasilkan lipolitik berasal dari genus *Aspergillus* (Sharma *et al.*, 2001). Kapang tersebut diketahui merupakan kapang lipolitik kontaminan yang tumbuh pada kopra berjamur (Dali *et al.*, 2011).

2.2 Mekanisme Degradasi Lipid Oleh Lipase

Degradasi ikatan lipid oleh lipase dilakukan melalui reaksi lipolisis. Lipolisis merupakan hidrolisis pada materi lipid hingga menghasilkan asam lemak bebas dan gliserida parsial (Shelley *et al.*, 1987 dalam Long, 2009). Lipase diketahui dapat dibedakan atas dua kelompok berdasarkan lokasi pemutusan ikatan gliserol pada trigliserol yaitu lipase non-spesifik dan lipase spesifik. Lipase non spesifik memutus ikatan gliserol dari trigliserol pada tiga posisi, sehingga menghasilkan diasilgliserol, monoasilgliserol, atau tiga molekul asam lemak dan gliserol. Lipase spesifik memutus ikatan gliserol dari trigliserol pada posisi satu dan tiga sehingga menghasilkan 1,2-diasilgliserol dan monoasilgliserol (Gandjar *dkk.*, 2006).



Gambar 2.2 Reaksi Hidrolisis Trigliserida (Berg *et al.*, 2006)

2.3 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan kelompok fungi multiselular yang membentuk benang-benang hifa. Kumpulan dari hifa disebut misellium yang membentuk suatu anyaman. Hifa yang dibentuk

ada yang bersekat ataupun tidak bersekat. Hifa yang berada di atas permukaan media disebut hifa aerial yang berfungsi sebagai alat perkembangbiakan. Hifa yang berada di dalam media disebut hifa vegetatif berfungsi sebagai alat untuk menyerap makanan. Secara makroskopik (pada media SGA+Antibiotik) jamur yang berbentuk mold membentuk koloni yang berserabut / granuler koloninya tampak kasar (Lud.W, 2005).



Gambar 2.3 Morfologi *Aspergillus niger* secara mikroskopis (Anonim, 2015)

Aspergillus niger termasuk ke dalam jamur jenis kapang. *Aspergillus niger* mempunyai ciri-ciri yang khas yaitu tubuh terdiri dari benang yang bercabang-cabang disebut hifa, kumpulan hifa disebut miselium, tidak mempunyai klorofil dan hidup heterotrof (Fardiaz, 1989). *Aspergillus niger* memiliki bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat gelap sampai hitam. Kepala konidia berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang lebih longgar dengan bertambahnya umur. Konidiospora memiliki dinding yang halus, hialin juga berwarna coklat. *Aspergillus niger* berkembang biak secara vegetatif dan generatif melalui pembelahan sel dan spora-spora yang dibentuk di dalam askus atau kotak spora (Raper dan Fennel, 1977).

Aspergillus niger mempunyai bagian yang khas yaitu hifanya yang bersepta, spora yang bersifat aseksual dan tumbuh

memanjang diatas stigma, mempunyai sifat aerobik, sehingga dalam pertumbuhannya memerlukan oksigen dalam jumlah yang cukup. *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada suhu 35⁰-37⁰C (optimum), 6⁰-8⁰C (minimum), 45⁰-47⁰C (maksimum). Kisaran pH yang dibutuhkan 2,8-8,8 dengan kelembaban 80-90%. Habitat *Aspergillus niger* kosmopolit di daerah tropis dan subtropis, mudah didapatkan dan di isolasi dari udara, tanah, dan air (Fardiaz, 1989).

2.4 Potensi Patogenitas *Aspergillus niger*

Salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan *Aspergillus niger* adalah Ochratoksin A. Ochratoksin merupakan mikotoksin kelompok derivat 7 isokumarin yang berikatan melalui ikatan amida dengan kelompok amino dari L-b fenilalanina. Secara kimia, Ochratoksin A merupakan suatu campuran kristal jernih atau tidak berwarna/pucat yang memperlihatkan fluoresensi biru dibawah sinar UV.4 (Luchetta, 2010). Ochratoksin A dapat ditemukan pada komoditas pertanian seperti gandum, kopi, dan biji-bijian (Yani, 2007). Ochratoksin A dapat menyebabkan keracunan pada ginjal manusia dan hewan. Bahaya dari ochratoksin A ini juga termasuk penyebab nefrotoksik pada hewan dan manusia. Manusia dapat terpapar ochratoksin A melalui konsumsi produk daging ternak yang pakannya terkontaminasi ochratoksin dan melalui bahan pangan yang terkontaminasi *Aspergillus* dan *Penicillium*. *Aspergillus niger* dapat menghasilkan ochratoksin A dalam jumlah yang sangat kecil. Penelitian melaporkan bahwa 2 dari 19 isolat *Aspergillus niger* yang diisolasi memproduksi ochratoksin A sebesar 0,23 dan 0,59 mg/kg. Ada juga yang menyatakan bahwa 0,6% dari 168 *Aspergillus niger* yang diisolasi dari anggur kering spanyol, dapat memproduksi Ochratoksin A (Winarti,2010).

2.5 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

Kinerja enzim dalam menghidrolisis minyak sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, pH, dan keberadaan inhibitor. Jika faktor-faktor tersebut dioptimasi, maka enzim dapat menghasilkan kinerja optimum yang ditunjukkan dengan tingginya nilai aktivitas enzim tersebut.

Konsentrasi Enzim

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Dengan kata lain, semakin tinggi konsentrasi enzimnya maka semakin besar pula aktivitas enzim tersebut. (Poedjiadi, 1994)

Konsentrasi Substrat

Poedjiadi (1994) menyatakan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Hal ini dikarenakan, untuk dapat membentuk kompleks enzim-substrat diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat.

Suhu dan pH

Seperti protein lainnya, enzim dapat terdenaturasi pada suhu tertentu, perilaku kimia, dan kondisi ekstrim lainnya. Konsekuensinya pemanfaatan enzim terbatas pada rentang suhu dan pH tertentu. Karena enzim merupakan suatu protein, maka kenaikan suhu dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi proses denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya pun akan menurun. Struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, atau ion bermuatan ganda. Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam

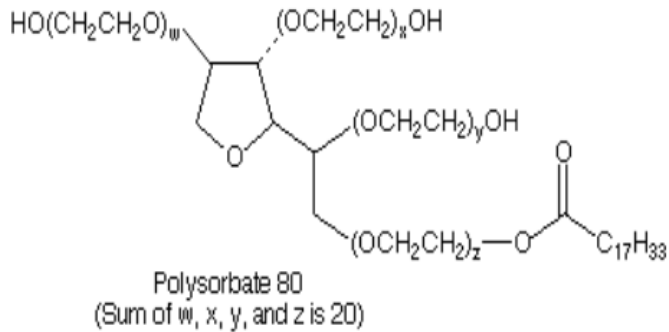
membentuk kompleks enzim substrat. Pada suatu pH tertentu atau daerah pH yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi, maka pH tersebut dinamakan pH optimum. (Poedjiadi, 1994). Menurut Christakopoulos (1992), lipolitik yang dihasilkan oleh *Calvatia gigantea* dapat mencapai aktivitas tertingginya pada suhu 30°C dan pH 7. Sedangkan menurut penelitian Sharon dkk. (1998), lipase dari *Pseudomonas aeruginosa* memiliki aktivitas maksimum pada pH 8,5 dan suhu 30°C. Hal tersebut memperlihatkan bahwa kondisi optimum suhu dan pH dipengaruhi oleh jenis mikroba yang digunakan.

Pengaruh Inhibitor

Molekul atau ion yang dapat menghambat reaksi tersebut dinamakan inhibitor. Molekul inhibitor dapat berupa modifikasi gugus fungsi pada molekul enzim, molekul yang mirip dengan substrat. Inhibitor dapat mengurangi peluang bagi terbentuknya kompleks enzim substrat dan hal ini menyebabkan berkurangnya kecepatan reaksi. (Poedjiadi, 1994)

2.6 Tween 80

Emulsifier tween 80 merupakan nama komersial dari polysorbate 80 atau polyoxyethylene 20 sorbitan monooleat (C 64H124O26). Tween 80 merupakan cairan kental dengan nilai kekentalan 300-500 centistokes, berwarna kuning, bersifat sangat larut dalam air, larut dalam minyak, dan pelarut lain seperti etanol, etil asetat, methanol dan toluene (Rowe, 2009). Struktur molekul tween 80 dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur Tween 80 (Rowe, 2009).

Tween 80 adalah surfaktan non ionic yang dibuat dengan mereaksikan span dengan etilen oksida. Span merupakan pengemulsi lipofilik dan ionic yang dibuat dengan mereaksikan sorbitol dengan asam lemak. Tween 80 mempunyai gugus hidrofilik yaitu grup polioksietilen yang merupakan polimer dari etilen oksida dan gugus lipofilik yaitu asam oleat. Istilah tween 80 menunjukkan bahwa emulsifier ini memiliki jumlah gugus hidrofilik 20% dan gugus lipofilik 80%. Tween 80 aman untuk dikonsumsi dan bersifat non karsinogenik

Tween 80 tergolong emulsi tipe O/W (oil in water) atau M/A (minyak dalam air). Adalah emulsi yang terdiri dari butiran minyak yang tersebar kedalam air. Minyak sebagai fase internal dan air sebagai fase external. Merupakan suatu jenis emulsi yang fase terdispersinya berupa minyak yang terdistribusi dalam bentuk butiran-butiran kecil didalam fase kontinu yang berupa air (Bergentahl, 1990). Emulsi tipe ini umumnya mengandung kadar air yang lebih dari 31% sehingga emulsi M/A dapat diencerkan atau bercampur dengan air dan sangat mudah dicuci.

2.7 Minyak Goreng Bekas

Minyak goreng merupakan salah satu bahan pokok yang banyak digunakan di dalam rumah tangga dan juga di dalam industri kuliner. Di Indonesia, minyak goreng dari kelapa sawit dihasilkan dalam skala besar. Hingga tahun 2010 diperkirakan produksi minyak kelapa sawit mencapai 3 juta ton per tahun (Rosita dan Widasari, 2009). Menurut standarisasi kesehatan, minyak goreng sebaiknya tidak dipergunakan berulang kali karena membuat komposisi kimia minyak tersebut meningkat (dilihat dari bilangan asam dan peroksidanya), dan menghasilkan senyawa karsinogenik yang terjadi selama proses penggorengan. Minyak dengan kondisi ini dikenal dengan nama minyak jelantah. Penggunaan minyak jelantah yang berkelanjutan oleh manusia dapat menyebabkan berbagai macam penyakit diantaranya penyakit kanker, dapat mengurangi kecerdasan generasi berikutnya, dan pengendapan lemak dan pembuluh darah (*artherosclerosis*). Selain itu, selama penggorengan akan terbentuk senyawa akrolein yang bersifat racun dan menimbulkan gatal pada tenggorokan.

Minyak yang telah habis dipakai dan tidak bisa digunakan tersebut pada akhirnya akan dibuang. Minyak jelantah yang dibuang secara sembarangan dan tidak diuraikan terlebih dahulu akan menyebabkan minyak tersebut menjadi limbah. Sebagian besar pengguna minyak goreng kerap kali langsung membuang minyak bekas ke tempat-tempat pembuangan seperti selokan ataupun tanah. Kondisi yang terus-menerus seperti ini akan menyebabkan pencemaran lingkungan dan berpotensi merusak kehidupan beberapa komunitas makhluk hidup di sungai, aliran akhir dari selokan-selokan dan merusak komponen kandungan tanah. Oleh karena itu dibutuhkan perhatian yang tepat agar limbah minyak jelantah dapat bermanfaat dan tidak merugikan kesehatan serta lingkungan manusia.

2.8 Air Pencucian Ikan

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan hasil laut. Berbagai macam jenis olahan hasil laut dapat dijumpai di berbagai wilayah di Indonesia. Produksi tangkapan laut di Indonesia yang dimanfaatkan dalam bentuk basah sebesar 57,05%, bentuk olahan tradisional sebesar 30,19% dan bentuk olahan modern sebesar 10,90%, serta olahan lainnya sebesar 1,86% (Rahmania, 2007). Umumnya pengolahan tradisional tidak melakukan penanganan limbah yang dihasilkan sebelum membuang air hasil perebusan daging, sehingga terjadi pencemaran air dan menimbulkan bau khas ikan yang tercium di sekitar pengolahan. Menurut (Colic *et al.*, 2011) menuliskan bahwa tipe utama dari limbah yang ditemukan pada industri pengolahan perikanan adalah darah, kulit, kepala ikan, sisik, tulang ataupun sisa daging yang menempel pada tulang.

Bahan organik terlarut dan tersuspensi dapat menjadi sangat tinggi pada limbah cair proses pengolahan perikanan karena akan meningkatkan BOD dan COD. Selain itu, peningkatan kadar minyak dan lemak pada limbah juga meningkat. Timbulnya bau busuk disebabkan oleh dekomposisi lanjut protein, yang kaya akan asam amino bersulfur (sistein), menghasilkan asam sulfida, gugus thiol, dan amoniak. Asam lemak rantai pendek hasil dekomposisi bahan organik juga menyebabkan bau busuk. Minyak dan lemak di permukaan air akan menghambat proses biologis dalam air dan menghasilkan gas yang berbau (Suyasa, 2011). Limbah cair dari proses pengolahan perikanan mempunyai kandungan BOD, lemak dan nitrogen. Menurut (Tay *et al.*, 2006), operasi pengolahan menunjukkan produksi BOD per ton produk sebesar 1-72,5 kg, sedangkan pemfiletan ikan memproduksi 12,5-37,5 kg BOD per ton produk. Keberadaan BOD dikarenakan hasil proses pembersihan dan adanya nitrogen berasal dari darah yang terdapat pada limbah cair (Tay *et al.*, 2006).

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Juni 2016, di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Biologi Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

3.2 Metode Yang Digunakan

3.2.1 Peremajaan isolat kapang

Isolat *Aspergillus niger* LM 1002 didapatkan dari koleksi kultur murni Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS . Subkultur dilakukan ke dalam media agar miring PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang telah disterilkan dalam autoklaf dengan tekanan 1,5 atm pada suhu 121⁰C selama 15 menit . Selanjutnya, diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari.

3.2.2 Preparasi inokulum dan enumerasi spora isolat

Kultur yang berusia 5 hari dalam medium PDA (Potato dextrose Agar), ditambahkan 10 ml aquades steril ke dalam kultur. Kemudian tabung divortex untuk memisahkan gumpalan spora dan mendapatkan suspensi yang homogen. Jumlah spora dihitung dengan menggunakan *Haemocytometer Neubauer* untuk mendapatkan suspensi spora yang mengandung 10⁶ spora/ml yang akan digunakan sebagai inokulum (Kavanagh, 2005).

3.2.3 Pembuatan starter

Sebanyak 10% suspensi spora (10⁶ spora/ml) diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi medium basal lipase sebanyak 15 ml. Medium basal terdiri dari 0,3% pepton; 0,02% KH₂PO₄; 0,005% MgSO₄.7H₂O; 0,005% KCL dan 0,1% minyak zaitun: glukosa (0,05:0,05), pH 6,6 dan ditambahkan 10 mL aquades dan disterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121⁰C tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Akhtar *et al.*, 1980). Kemudian diinkubasi menggunakan *shaker inkubator* selama 3 hari pada suhu ruang, dengan kecepatan 120 rpm.

3.2.4 Degradasi lipid dari limbah organik oleh *Aspergillus niger*

Medium produksi yang digunakan berasal dari limbah organik. Limbah organik yang digunakan adalah limbah pencucian ikan dan limbah minyak goreng bekas. Untuk limbah minyak goreng bekas, 90 ml limbah minyak goreng bekas ditambahkan sebanyak 20% medium starter dan 10% Tween 80 kemudian dihomogenkan hingga terbentuk emulsi. Masing-masing limbah organik diukur derajat keasaman (pH). Untuk limbah pencucian ikan terdiri dari 105 ml air pencucian ikan ditambahkan 30 ml medium starter. Kemudian medium di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan ,5 atm. Starter diinokulasikan sebanyak 10% secara aseptik ke dalam limbah medium limbah organik dan diinkubasi selama 7 hari pad suhu 40°C (Maia *et al.*,2001). kontrol merupakan medium limbah organik yang tidak diberi perlakuan penambahan isolat *Aspergillus niger*.

3.2.5 Pembuatan kurva standar asam oleat

Kurva standar asam oleat dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi asam oleat. Konsentrasi yang dibutuhkan adalah antara 3,5; 7; 10,5; 14 dan 17,5 ($\times 10^{-3}\text{M}$). Variasi konsentrasi larutan tersebut dibuat dengan menggunakan larutan standar asam oleat 0,07 M, larutan tersebut diambil sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mL lalu diencerkan dengan etanol 96% hingga 10 mL. Selanjutnya campuran diambil 2 mL dan ditambahkan reagen tembaga (II) asetat sebanyak 0,5 mL lalu divortex selama 1 menit Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm (Lowrey *et al*, 1976).

3.2.6 Uji daya hidup

Uji daya hidup dilakukan dengan menentukan viabilitas dan biomassa *Aspergillus niger*. Penentuan viabilitas dengan cara menumbuhkan 1 ml isolat dari medium produksi ke dalam

Medium PDA pada cawan petri. Penentuan biomassa dilakukan dengan cara medium pada botol produksi disaring dengan menggunakan kertas saring kemudian kertas saring dioven dan ditimbang berat keringnya. Pengamatan dilakukan pada minggu ke-1,3,5,7,dan minggu ke-9.

3.2.7 Uji daya kerja

Daya kerja dihitung dengan menentukan aktivitas lipolitik dari *Aspergillus niger* pada medium cair dan analisa degradasi lipid.

Uji Aktivitas Lipolitik

Penentuan aktivitas lipolitik ditentukan dengan menggunakan metode Kwon dan Rhee (Kwon and Rhee, 1986). Enzim lipolitik yang telah diproduksi pada medium limbah dipisahkan filtrat dan supernatannya dengan sentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Filtrat diasumsikan sebagai enzim kasar. Penentuan aktivitas lipolitik dilakukan pada minggu ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-9. Substrat yang digunakan dalam metode ini adalah minyak zaitun (Le Riche, PT Ishma mediterranea: Al;Jazair) sebanyak 1,5 mL kemudian ditambahkan dengan 1 mL buffer fosfat pH 7 dan 1 mL larutan enzim kasar. Campuran ini selanjutnya diinkubasi pada *shaker inkubator* pada suhu ruang dengan kecepatan pengocokan 120 rpm selama 30 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan larutan 1 mL HCL 6N dan 5 mL reagen etanol 96%. Campuran selanjutnya dikocok kuat dan lapisan atas diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen tembaga (II) asetat dan divortex selama 1 menit. Absorbansi campuran diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm.

Nilai konsentrasi asam oleat yang terbentuk sebagai hasil degradasi lipolitik dapat diketahui dari data absorbansi yang

terukur. Nilai konsentrasi asam oleat tersebut kemudian digunakan untuk menentukan nilai aktivitas lipolitik.

Nilai aktivitas enzim lipolitik (Ae) ditentukan dengan rumus :

$$Ae = \frac{\text{konsentrasi Asam oleat}(\frac{\mu\text{mol}}{\text{ml}})}{\text{waktu inkubasi (menit)}} \times \frac{\text{volume total campuran (mL)}}{\text{volume enzim (mL)}}$$

Analisa Degradasi Lipid

Analisis kandungan lipid dilakukan dengan mengukur kadar asam lemak bebas berupa asam oleat menggunakan metode kolometri (Kwon and Rhee, 1986). Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menambahkan 2 mL sampel minyak goreng bekas dan air pencucian ikan dengan 5mL etanol 96%. Campuran selanjutnya dikocok kuat dan lapisan atas diambil sebanyak 2 mL, kemudian ditambahkan 0,5 mL reagen tembaga (II) asetat. Absorbansi campuran diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm. Hasil absorbansi dihitung konsentrasinya dengan persamaan matematik dari kurva standart asam oleat, sehingga akan didapatkan kadar asam lemak (asam oleat) yang terkandung dalam sampel limbah cair.

Nilai degradasi dapat ditentukan dengan rumus :

$$\text{Nilai degradasi} = \frac{(\text{konsentrasi akhir} - \text{konsentrasi awal})}{\text{konsentrasi awal}} \times 100\%$$

3.3 Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian ini dianalisa dengan metode analisis deskriptif kuantitatif. Parameter yang digunakan yaitu viabilitas dan biomassa serta aktivitas lipolitik dan degradasi lipid. Waktu yang

digunakan yaitu selama 2 bulan dengan pengujian per 2 minggu. Medium yang digunakan adalah limbah minyak goreng bekas dan limbah air pencucian ikan. Hasil yang diharapkan yaitu isolat *Aspergillus niger* dapat terus hidup sehingga dapat menghasilkan biomassa yang terus meningkat serta dapat memiliki aktivitas lipolitik dan degradasi lipid yang meningkat sehingga diharapkan *Aspergillus niger* dapat digunakan sebagai solusi untuk mengurangi limbah pada minyak goreng bekas dan limbah pencucian ikan.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hidup dan daya kerja *Aspergillus niger* LM 1002 sebagai agen penghasil enzim lipolitik pada medium cair minyak goreng bekas dan air pencucian ikan. Isolat diperoleh dari koleksi laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Jurusan Biologi ITS. Medium limbah organik yang digunakan adalah limbah minyak goreng bekas dan limbah pencucian ikan.

4.1 Uji Daya Hidup *Aspergillus niger*

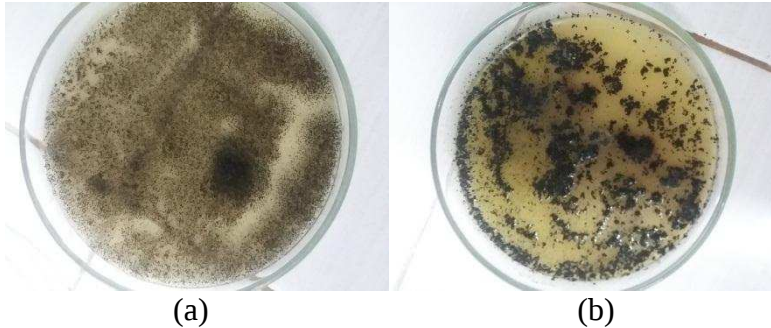
Penentuan daya hidup isolat *Aspergillus niger* dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan melakukan pengamatan viabilitas pada medium PDA dan pengukuran biomassa per 2 minggu selama 8 minggu.

Tabel 4.1 Hasil Uji Viabilitas *Aspergillus niger* pada Medium PDA

Limbah	Minggu ke-				
	1	3	5	7	9
Air Pencucian ikan	+	+	+	+	+
Minyak goreng bekas	+	+	+	+	+

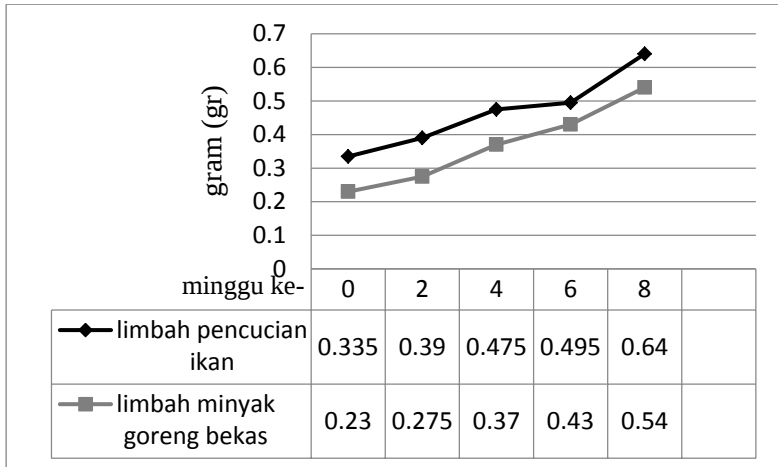
Pengamatan uji viabilitas pada kedua limbah menunjukkan bahwa *A. niger* tetap dapat tumbuh dan tidak kehilangan viabilitasnya. *A. niger* dapat menggunakan lipid sebagai sumber karbon. Lipid akan digunakan setelah kebutuhan sumber karbon yang berasal dari kelompok karbohidrat telah habis. Beberapa kapang seperti *A. niger*

menghasilkan lipase ekstraseluler dan phospholipase yang menghidrolisis lipid (Carlile *et al.*, 2001).



Gambar 4.1 Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada medium PDA. (a) limbah pencucian ikan, (b) limbah minyak goreng bekas.

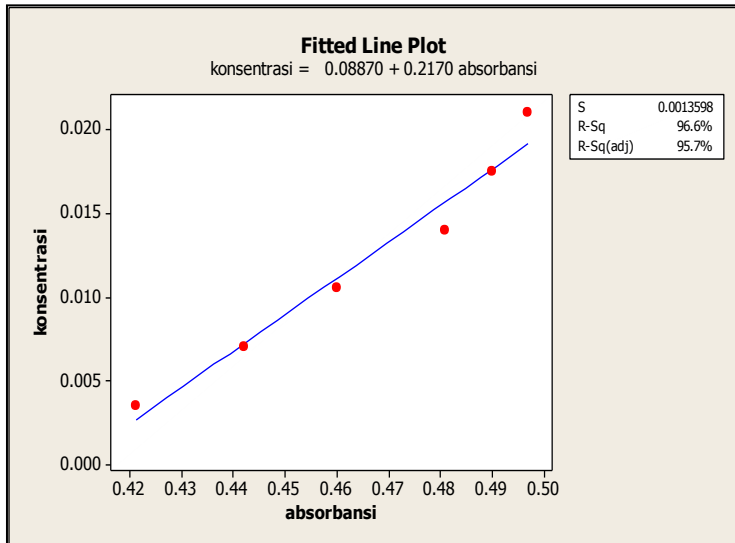
A. niger dalam pertumbuhannya berhubungan langsung dengan zat makanan yang terdapat dalam substrat, molekul sederhana yang terdapat di sekeliling hifa dapat langsung diserap sedangkan molekul yang lebih kompleks harus dipecah dahulu sebelum diserap ke dalam sel, dengan menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler. Bahan organik dari substrat tersebut digunakan *A. niger* untuk aktivitas transport molekul, pemeliharaan struktur sel, dan mobilitas sel.



Gambar 4.1 Grafik Biomassa *Aspergillus niger* pada Medium Cair

Pada pengukuran biomassa (Gambar 4.1) didapatkan hasil bahwa pertumbuhan *A.niger* pada kedua medium mengalami peningkatan selama 2 bulan. Pengukuran biomassa merupakan metode dengan menghitung pertambahan massa sel dari *A.niger* selama 8 minggu. Setiap 2 minggu, sampel pada botol produksi disaring dan dikeringkan lalu ditimbang massanya. Hal ini membuktikan bahwa *A.niger* tidak hanya hidup (uji viabilitas), namun mengalami pertumbuhan pada kedua medium. Tidak hanya itu, kultur *A.niger* juga mampu menggunakan minyak yang ada pada kedua limbah tersebut sebagai sumber energinya, karena pada minggu ke-1 hingga minggu ke-9 mengalami peningkatan pertumbuhan yang tinggi.

4.2 Kurva Standar Asam Oleat



Gambar 4. 2. Kurva Standar Asam Oleat

Kurva standar merupakan standar dari sampel tertentu yang dapat digunakan sebagai pedoman ataupun acuan untuk sampel tersebut pada percobaan. Pembuatan kurva standar bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui. Terdapat dua metode untuk membuat kurva standar yakni dengan metode grafik dan metode *least square* (Day *et al.*, 2002). Penggunaan asam oleat sebagai standar didasarkan pada komposisi asam lemak tertinggi dari minyak zaitun adalah asam oleat. Konsentrasi asam oleat yang digunakan yaitu 3,5; 7; 10,5; 14; 17,5; dan 21 ($\times 10^{-3}\text{M}$).

4.3 Uji Aktivitas Lipase dan Degradasi Lipid pada Medium Limbah Cair Organik

Uji aktivitas lipase merupakan suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim yang dihasilkan dari mikroorganisme (dalam hal ini kapang) dalam mengkatalis substratnya dalam suatu waktu tertentu. Aktivitas lipase dihitung dalam satuan unit/mL. Satu unit tiap mL lipase (U/mL) didefinisikan sebagai banyaknya mL enzim lipase yang dibutuhkan untuk menghasilkan 1 μ mol asam oleat tiap menit dengan minyak zaitu sebagai substrat. Metode yang digunakan adalah metode kolorimetri (Kwon dan Rhee, 1986).

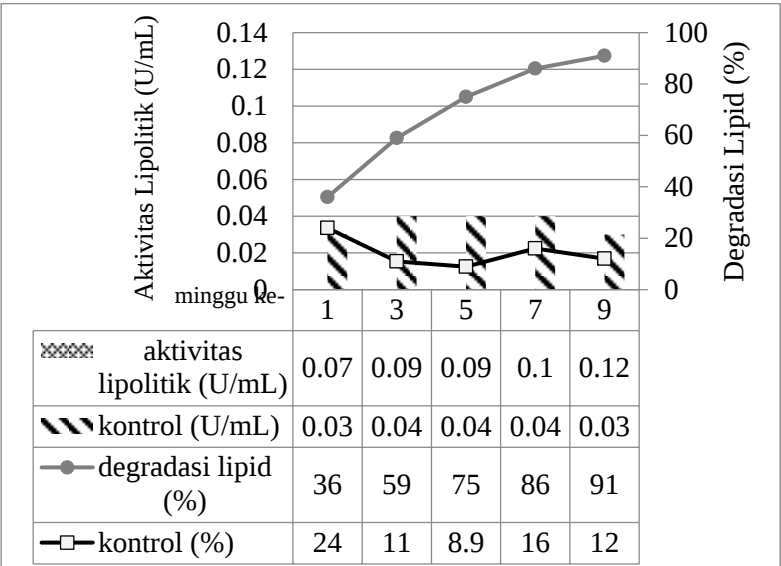
Uji degradasi lipid merupakan suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui produksi lipase. Degradasi ikatan lipid oleh lipase dilakukan melalui reaksi lipolisis. Lipolisis merupakan hidrolisis pada materi lipid hingga menghasilkan asam lemak bebas dan gliserida parsial (Shelley *et al.*, 1987 dalam Long 2009). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai degradasi maka semakin tinggi proses lipolisis yang terjadi sehingga semakin banyak enzim lipase yang ada dalam substrat.

Mekanisme lipolisis dimulai dengan adsorpsi lipase ke dalam fase minyak-air. Kemudian lipase memecah ikatan ester dari triolein sehingga menghasilkan diolein, monoolein, dan gliserol. Gliserol terbentuk pada fase hidrofilik dengan demikian larut dalam fase air (Hermansyah *et al.*, 2007).

4.3.1 Air Pencucian Ikan

Air pencucian ikan yang digunakan adalah limbah pencucian bekas ikan Patin yang di dapat dari penjual ikan di pasar tradisional Sidoarjo. Lipid yang terkandung di dalam limbah pencucian ikan terbentuk dalam emulsi

minyak di dalam air (*oil in water O/W*), dimana fase minyak sebagai fase terdispersi. Agen pengemulsi (non ionic surfaktan) pada *amphibic nature* seperti limbah pencucian ikan, disebut dengan HLB (*hydrophyle-lipophile balance*) dengan kisaran angka yang rendah (Shaw, 1991). Karakteristik limbah pencucian ikan memiliki nilai pH 6 dengan jumlah total asam lemak sebesar 0,123 $\mu\text{mol/mL}$. Hasil aktivitas lipolitik dan degradasi lipid pada limbah pencucian ikan dengan menggunakan isolat *Aspergillus niger* dilakukan dengan metode fermentasi cair dengan masa inkubasi selama 2 bulan. Hasil aktivitas lipolitik dan degradasi lipid ditunjukkan pada grafik 4.3.1.



Gambar 4.3.1 Grafik Aktivitas Lipolitik dan Degradasi Lipid *A. niger* pada Medium Limbah Pencucian Ikan

Berdasarkan grafik di atas, dapat diketahui bahwa selama 2 bulan isolat mengalami peningkatan baik aktivitas maupun degradasi lipid. Pada minggu ke-1, aktivitasnya sebesar 0.078 U/mL dengan jumlah degradasi lipid sebesar 36% dan pada minggu ke-9, aktivitas dan degradasi lipid mencapai nilai tertinggi, yaitu aktivitas lipolitik sebesar 0.12 U/mL dan degradasi lipid sebesar 91%. Limbah pencucian ikan patin memiliki beberapa kandungan asam lemak yaitu asam oleat, asam palmitat, dan asam linoleat. Namun kandungan terbesarnya yaitu asam oleat hampir 40%. Lipid sendiri merupakan metabolit primer yang harus tersedia agar mikroba dapat terus tumbuh. Lipid ini didegradasi untuk menghasilkan energi. Dengan adanya nutrisi yang cukup, *A. niger* akan terus menghasilkan asam lemak hasil dari hidrolisis. Pengukuran aktivitas dan degradasi lipid menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 715 nm, dimana panjang gelombang 715 nm merupakan panjang gelombang yang mampu menangkap cahaya dari asam oleat. Dengan adanya proses hidrolisis ini, maka terjadinya peningkatan asam oleat yang dihasilkan berarti terjadi peningkatan aktivitas lipolitik (Shelley *et al.*, 1987).

Pada perlakuan kontrol menunjukkan adanya aktivitas lipase sebesar 0.037 U/mL di minggu ke-1 dan 0.036 U/mL di minggu ke-9 dengan nilai degradasi sebesar 24% di minggu ke-1 dan pada minggu ke-9 menjadi 12%. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan tanpa penambahan isolat. Pada minggu ke-1 medium kontrol telah menunjukkan aktivitas dan degradasi lipid dikarenakan sebelumnya medium telah mendapatkan perlakuan inkubasi pada rotary shaker selama 7 hari dengan suhu 40°C. Pemutusan ikatan ester trigliseride menjadi asam lemak dan gliserol tidak hanya dilakukan oleh lipase. Pemutusan ikatan ester dapat

dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu maka produksi asam lemak akan meningkat (Zhang *et al.*, 2011).

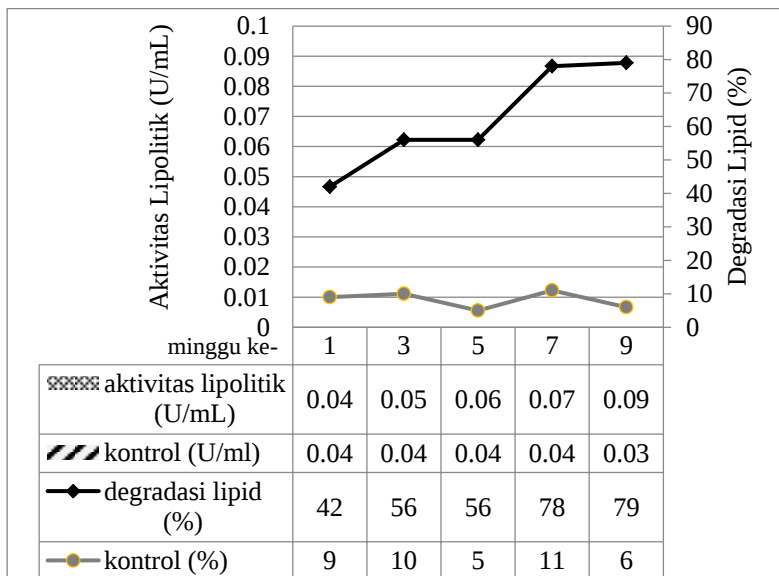
4.3.2 Minyak Goreng Bekas

Minyak jelantah adalah minyak yang telah digunakan lebih dari dua atau tiga kali penggorengan, dan dikategorikan sebagai limbah karena dapat merusak lingkungan dan dapat menimbulkan sejumlah penyakit. Menurut Julianus (2006) bila ditinjau dari komposisi kimianya, minyak jelantah mengandung senyawa-senyawa bersifat karsinogenik, yang terjadi selama proses penggorengan. Jadi jelas bahwa pemakaian minyak jelantah yang berkelanjutan dapat merusak kesehatan manusia karena mengandung senyawa-senyawa karsinogen dan akibat selanjutnya dapat mengurangi kecerdasan generasi berikutnya. Penggunaan minyak jelantah yang sudah berulang kali mengandung zat radikal bebas yang bersifat karsinogenik seperti peroksida, epiksida, dan lain-lain.

Fermentasi minyak goreng tidak dapat dilakukan secara langsung, melainkan perlu diubah menjadi bentuk emulsi dengan penambahan emulsifier berupa Tween 80. Emulsi yang terbentuk tergolong dalam W/O (water in oil) dimana air merupakan fase terdispersi. Tween 80 merupakan emulgator senyawa organik yang mengandung kombinasi gugus polar dan non polar sehingga mampu mengikat zat polar (air) dan zat non polar. Dengan demikian, fase minyak dan air yang pada awalnya tidak dapat larut tersebut kemudian menjadi stabil. Dengan penambahan Tween 80, tegangan permukaan pada minyak yang akan menurun selain itu akan meningkatkan hidrofilitas polimer minyak yang dalam hal ini adalah minyak sehingga proses degradasi lebih mudah. Beberapa studi menyebutkan bahwa penambahan Tween 80 (15mL/L) menunjukkan dampak positif terhadap produksi lipase oleh

T. atroviride 676, produksi lipase terus meningkat hingga mencapai 4,76. Perbedaan surfaktan pada produksi lipase dari *Metarhizium anisoplia*, Silva dan coworkers (2005) menunjukkan bahwa aktivitas katalitik tertinggi ada pada kultur yang mengandung Tween 80 (4.15 U/mL). (Marquez *et al.*, 2014).

Karakteristik limbah minyak goreng bekas memiliki pH 6 dengan jumlah asam lemak sebesar $0.0887 \mu\text{mol/mL}$. Uji degradasi lipid dan aktivitas lipolitik dilakukan dengan metode fermentasi cair dengan masa inkubasi selama 2 bulan. Hasil aktivitas lipolitik dan degradasi lipid ditunjukkan pada Gambar 4.3.2.



Gambar 4.3.2 Grafik Aktivitas Lipolitik dan Degradasi Lipid pada Medium Limbah Minyak goreng Bekas

Berdasarkan grafik 4.3.2, dapat diketahui bahwa aktivitas lipolitik dan degradasi lipid *A. niger* selama 2 bulan mengalami peningkatan. Pada minggu ke-1 aktivitas lipolitiknya sebesar 0.0451 U/mL dan untuk degradasi lipid sebesar 42%. Namun, pada minggu ke-9 mengalami peningkatan, yaitu 0.910 U/mL untuk nilai aktivitas lipolitik, sedangkan untuk degradasi lipid nilainya sebesar 79%. Hal ini juga didukung dengan terjadinya perubahan warna. Pada medium yang awalnya berwarna coklat kemerahan, berubah warna menjadi coklat kekuningan pada minggu ke-9.



Gambar 4.3.2 Perubahan Warna pada Medium Limbah Minyak Goreng Bekas, (a) minggu ke-1, (b) minggu ke-9.

Medium terdiri atas Tween 80, limbah minyak goreng bekas, dan juga medium starter yang berisi nutrisi yang diperlukan untuk *A. niger* tumbuh. Menurut (Sharma *et al.*, 2001) aktivitas lipolitik dalam tingkat tinggi diperoleh ketika minyak nabati (zaitun, kedelai, wijen, biji kapas, jagung, dan minyak goreng dari kacang tanah) digunakan sebagai sumber karbon. Produksi lipolitik maksimum terjadi ketika minyak zaitun digunakan sebagai sumber karbon. Saat

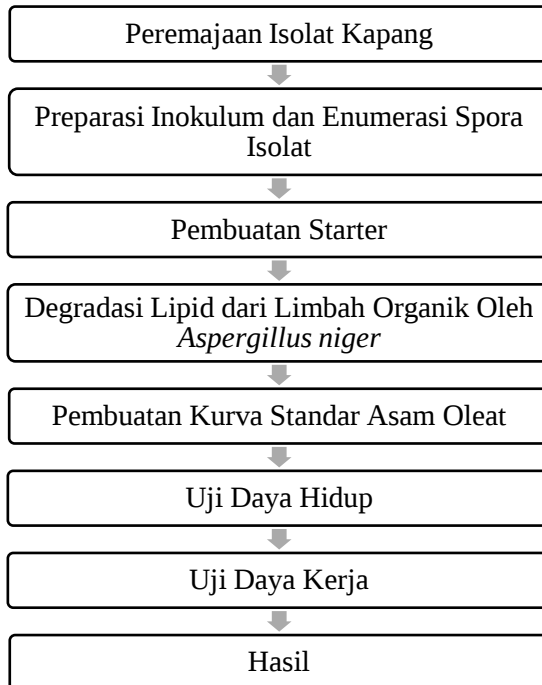
proses degradasi, terjadi proses hidrolisis pada materi lipid hingga menghasilkan asam lemak bebas dan gliserida parsial (Shelley *et al.*, 1987 dalam Long 2009). Kemudian lipase memecah ikatan ester dari triolein sehingga menghasilkan diolein, monoolein, dan gliserol. Selama katalis, asam oleat terbentuk pada setiap tahap reaksi (Hermansyah *et al.*, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai degradasi maka semakin tinggi proses lipolisis yang terjadi sehingga semakin banyak enzim lipase yang ada dalam substrat. Selama 2 bulan, *Aspergillus niger* terus tumbuh pada bagian atas medium, yang berarti *Aspergillus niger* tetap mendapatkan asupan oksigen walaupun tanpa diinkubasi dengan *rotary shaker*.

Pada perlakuan kontrol menunjukkan adanya aktivitas lipase sebesar 0.04 U/mL di minggu ke-1 dan 0.039 U/mL di minggu ke-9 dengan nilai degradasi sebesar 9% di minggu ke-1 dan pada minggu ke-9 menjadi 6%. Perlakuan kontrol merupakan perlakuan tanpa penambahan isolat. Pada minggu ke-1 medium kontrol telah menunjukkan aktivitas dan degradasi lipid dikarenakan sebelumnya medium telah mendapatkan perlakuan inkubasi pada *rotary shaker* selama 7 hari dengan suhu 40°C. Pemutusan ikatan ester trigliseride menjadi asam lemak dan gliserol tidak hanya dilakukan oleh lipase. Pemutusan ikatan ester dapat dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu maka produksi asam lemak akan meningkat (Zhang *et al.*, 2011).

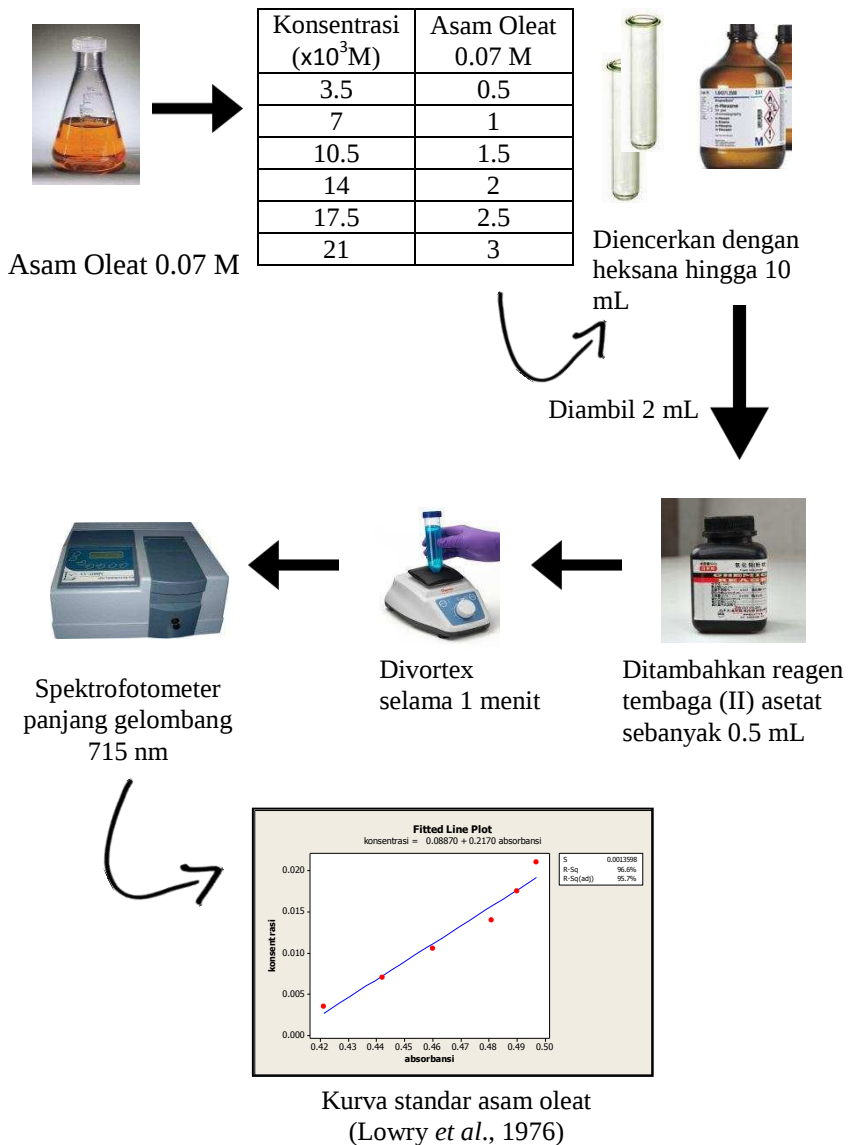
“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian

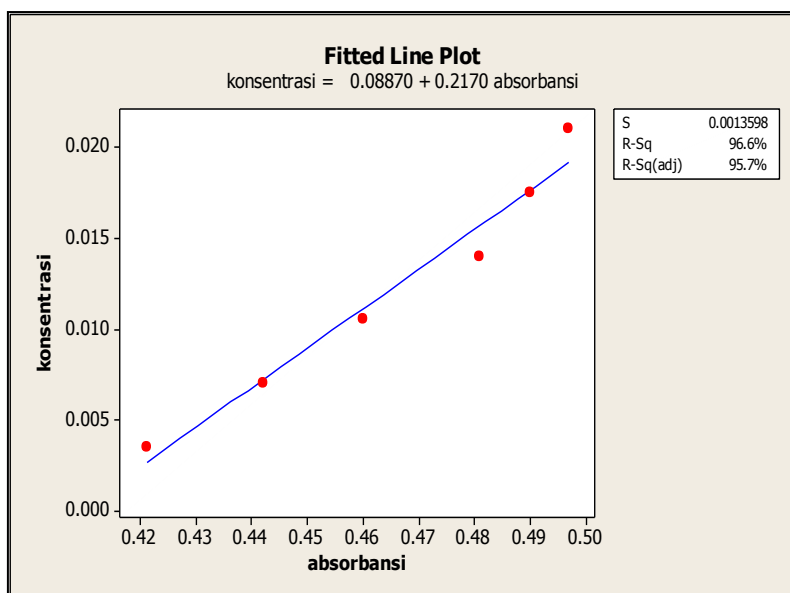


Lampiran 2. Pembuatan Kurva Standar Asam Oleat



Hasil pengukuran standar asam oleat

Konsentrasi	Absorbansi
0.0035	0.421
0.0070	0.442
0.0105	0.46
0.0140	0.481
0.0175	0.490
0.0210	0.497



Regression Analysis: konsentrasi versus absorbansi

The regression equation is

konsentrasi = 0.0772 + 0.191 absorbansi

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	0.077182	0.002479	-31.13	0.000
absorbansi	0.190822	0.005278	36.16	0.000

S = 0.000404340 R-Sq = 99.7% R-Sq(adj) = 99.6%

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0.00021372	0.00021372	1307.23	0.000
Residual Error	4	0.00000065	0.00000016		
Total	5	0.00021438			

Lampiran 3. Penentuan Aktivitas Lipase

- a. Konsentrasi asam oleat yang terbentuk
Misalkan pada kontrol absorbansi yang terukur 0.245
Maka digunakan persamaan dari kurva regresi asam oleat :

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= 0.0887 + 0.217 \text{ Absorbansi} \\ &= 0.0887 + 0.217 \cdot 0.245 \\ &= 0.0887 + 0.0531 \\ &= 0.1418 \mu\text{mol/mL}\end{aligned}$$

- b. Aktivitas lipase
Setelah diketahui nilai konsentrasi asam oleat yang terbentuk, kemudian nilai tersebut dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut :

$$Ae = \frac{\text{konsentrasi Asam oleat} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mL}} \right)}{\text{waktu inkubasi (menit)}} \times \frac{\text{volume total campuran (mL)}}{\text{volume enzim (mL)}}$$

$$Ae = \frac{0.1418 \mu\text{mol/mL}}{30 \text{ menit}} \times \frac{9.5 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

$$Ae = \frac{1.3471}{30}$$

$$Ae = 0.044903 \text{ U/mL}$$

Lampiran 4. Penentuan Degradasi Lipid

- a. Konsentrasi asam oleat awal
 Pada kondisi awal, setelah medium disaring
 Pada limbah pencucian ikan, absorbansi medium awal adalah 0.123
 Maka digunakan persamaan dari kurva regresi asam oleat :

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= 0.0887 + 0.217 \text{ Absorbansi} \\ &= 0.0887 + 0.217 \times 0.123 \\ &= 0.0887 + 0.026 \\ &= 0.1153 \mu\text{mol/mL}\end{aligned}$$
- b. Aktivitas lipase
 Konsentrasi asam oleat yang terbentuk
 Misalkan pada kontrol absorbansi yang terukur 0.337
 Maka digunakan persamaan dari kurva regresi asam oleat:

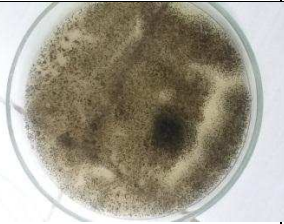
$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= 0.0887 + 0.217 \text{ Absorbansi} \\ &= 0.0887 + 0.217 \times 0.271 \\ &= 0.0887 + 0.0588 \\ &= 0.1475 \mu\text{mol/mL}\end{aligned}$$
- c. Degradasi lipid
 Setelah diketahui nilai konsentrasi asam oleat yang terbentuk, kemudian nilai tersebut dimasukkan ke dalam rumus sebagai berikut :

$$\text{Nilai Degradasi} = \frac{(\text{konsentrasi akhir} - \text{konsentrasi awal})}{\text{konsentrasi awal}} \times 100\%$$

$$\text{Nilai Degradasi} = \frac{0.1475 - 0.1153}{0.1153} \times 100\%$$

$$\text{Nilai Degradasi} = \frac{0.0322}{0.1153} \times 100\% = 27\%$$

Lampiran 5. Dokumentasi Enzim Lipase

<i>Aspergillus niger</i>	Air Pencucian Ikan	Minyak Goreng Bekas
Hasil Starter		
Medium Produksi		
Viabilitas pada Medium PDA		

Lampiran 6. Data Air Pencucian Ikan
Aktivitas Lipolitik

Minggu ke-	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi	Aktivitas lipase (U/ml)	Rata-rata
0	1	0.83	0.253731	0.08034815	0.078097019
		0.875	0.278575	0.08821542	
		0.836	0.270112	0.08553547	
	2	0.566	0.211522	0.06698197	
		0.761	0.253837	0.08038172	
		0.568	0.211956	0.0671194	
2	1	1.051	0.316767	0.10030955	0.090299822
		1.156	0.339552	0.1075248	
		1.021	0.310257	0.09824805	
	2	0.767	0.255139	0.08079402	
		0.685	0.237345	0.07515925	
		0.752	0.251884	0.07976327	
4	1	1.166	0.341722	0.10821197	0.097366186
		1.168	0.342156	0.1083494	
		1.173	0.343241	0.10869298	
	2	0.889	0.281613	0.08917745	
		0.89	0.28183	0.08924617	
		0.763	0.254271	0.08051915	
6	1	1.325	0.376225	0.11913792	0.1079371
		1.289	0.368413	0.11666412	
		1.336	0.378612	0.1198938	
	2	1.052	0.316984	0.10037827	
		0.98	0.30136	0.09543067	
		0.99	0.30353	0.09611783	
8	1	1.544	0.423748	0.13418687	0.120432081
		1.546	0.424182	0.1343243	
		1.872	0.494924	0.15672593	
	2	1.121	0.331957	0.10511972	
		0.979	0.301143	0.09536195	
		1.001	0.305917	0.09687372	

Degradasi Lipid

MINGGU KE-	ULANGAN	Absorbansi	Konsentrasi	Nilai Degradasi	Rata-rata (%)
0	1	0.302	0.154234	0.33662071	24%
		0.311	0.156187	0.35354577	
		0.281	0.149677	0.29712889	
	2	0.342	0.162914	0.41184321	
		0.325	0.159225	0.37987365	
		0.324	0.159008	0.37799308	
2	1	0.572	0.212824	0.84437261	11%
		0.321	0.158357	0.3723514	
		0.567	0.211739	0.8349698	
	2	0.37	0.16899	0.46449896	
		0.397	0.174849	0.51527415	
		0.396	0.174632	0.51339359	
4	1	0.586	0.215862	0.87070049	8.9%
		0.512	0.199804	0.73153885	
		0.513	0.200021	0.73341942	
	2	0.547	0.207399	0.79735855	
		0.548	0.207616	0.79923911	
		0.442	0.184614	0.59989947	
6	1	0.722	0.245374	1.126457	16%
		0.731	0.247327	1.14338207	
		0.73	0.24711	1.1415015	
	2	0.477	0.192209	0.66571916	
		0.512	0.199804	0.73153885	
		0.511	0.199587	0.39303759	
8	1	0.756	0.252752	1.19039613	12%
		0.753	0.252101	1.18475444	
		0.676	0.235392	1.03995112	
	2	0.52	0.20154	0.74658336	
		0.521	0.201757	0.74846392	
		0.432	0.182444	0.58109385	

Lampiran 7. Data Minyak Goreng Bekas
Aktivitas Lipolitik

Minggu ke-	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi	Nilai Aktivitas (U/mL)	Rata-rata
0	1	0.291	0.151847	0.048084883	0.045164425
		0.372	0.169424	0.053650933	
		0.374	0.169858	0.053788367	
	2	0.155	0.122335	0.038739417	
		0.156	0.122552	0.038808133	
		0.143	0.119731	0.037914817	
2	1	0.472	0.191124	0.0605226	0.054670231
		0.473	0.191341	0.060591317	
		0.566	0.211522	0.066981967	
	2	0.322	0.158574	0.0502151	
		0.254	0.143818	0.045542367	
		0.234	0.139478	0.044168033	
4	1	0.731	0.247327	0.078320217	0.069856614
		0.725	0.246025	0.077907917	
		0.59	0.21673	0.068631167	
	2	0.567	0.211739	0.067050683	
		0.545	0.206965	0.065538917	
		0.489	0.194813	0.061690783	
6	1	0.821	0.266857	0.084504717	0.074013972
		0.913	0.286821	0.09082665	
		0.91	0.0887	0.028088333	
	2	0.711	0.242987	0.076945883	
		0.822	0.267074	0.084573433	
		0.743	0.249931	0.079144817	
8	1	1.086	0.324362	0.102714633	0.091937569
		1.117	0.331089	0.10484485	
		1.091	0.325447	0.103058217	
	2	0.777	0.257309	0.081481183	
		0.754	0.252318	0.0799007	
		0.75	0.25145	0.079625833	

Degradasi Lipid

Minggu ke-	Ulangan	Absorbansi	Konsentrasi	Nilai degradasi	Rata-rata (%)
0	1	0.269	0.147073	0.319217832	42%
		0.271	0.147507	0.323110732	
		0.331	0.160527	0.439897744	
	2	0.372	0.169424	0.519702202	
		0.37	0.16899	0.515809302	
		0.321	0.158357	0.420433242	
2	1	0.288	0.151196	0.356200386	56%
		0.28	0.14946	0.636489214	
		0.432	0.182444	0.636489214	
	2	0.391	0.173547	0.556684756	
		0.394	0.174198	0.562524106	
		0.422	0.180274	0.617024712	
4	1	0.342	0.162914	0.461308696	56%
		0.377	0.170509	0.529434453	
		0.378	0.170726	0.531380903	
	2	0.421	0.180057	0.615078262	
		0.42	0.17984	0.613131811	
		0.431	0.182227	0.634542764	
6	1	0.476	0.191992	0.722133022	78%
		0.451	0.186567	0.673471768	
		0.492	0.195464	0.753276226	
	2	0.541	0.206097	0.848652285	
		0.542	0.206314	0.850598735	
		0.521	0.201757	0.809723281	
8	1	0.501	0.197417	0.770794277	79%
		0.492	0.195464	0.753276226	
		0.518	0.201106	0.803883931	
	2	0.473	0.191341	0.716293672	
		0.592	0.217164	0.947921245	
		0.474	0.191558	0.718240122	

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian Evaluasi Daya Hidup dan Daya Kerja Kapang Lipolitik *Aspergillus niger* pada Medium Cair adalah

1. Isolat *A. niger* viabilitasnya tetap bertahan pada medium limbah pencucian ikan dan minyak goreng bekas selama 2 bulan.
2. Aktivitas lipolitik dan degradasi lipid pada kedua limbah meningkat dari minggu ke-1 hingga minggu ke-9. Nilai aktivitas tertinggi yaitu pada limbah pencucian ikan sebesar 0.12 U/mL dan untuk degradasi lipid nilai tertinggi juga pada limbah pencucian ikan sebesar 91%.

5.2 Saran

Perlu waktu inkubasi *A. niger* pada kedua medium yang lebih lama agar didapatkan potensi *A. niger* dalam menghasilkan enzim lipolitik yang lebih besar lagi.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

Akhtar, M. W., Mirza, A. Q. and Chughtai, M. I. D. 1980. Lipase induction in *Mucor hiemalis*. **Applied Enviromental Microbiology** 40, 257-263.

Bergenstahl B.A and Claesson P.M. 1990. Surface forces in emulsions. In: Larsson K. dan Friberg SE. (Eds). **Food Emulsions**. New York: Marcell-Dekker Inc.

Boyer, R. 2002. **Concept in Biochemistry (edisi ke-2)**. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Carlile, M.J., S. C. Watkinson, and G. W. Gooday. 2001. *The Fungi* 2nd edition. London: Academic Press

Christakopoulos, P., C. Tzia, D. Kekos, and J. Macris, 1992. Production and characterization of extracellular lipase from *Calvatia gigantea*, **Applied Microbiology Biotechnology**, 132:194-197.

Colic M, W Morse, J Hicks, A Lechter dan JD Miller. 2011. **Case study : Fish processing plant wastewater treatment**. Clean Water Technology, Inc. Goleta, CA.

Dali, S. dan Pirman. 2005. **Eksplorasi dan Isolasi Enzim Lipase dari Fungi Imperfekti (genus Aspergillus dan Penicillium) Indigenus**. Lembaga Penelitian UNHAS.

Day, R. A. dan A. L. Underwood. (2002). Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi Keenam. Jakarta. Penerbit Erlangga. Hal 394, 396-404

Fahy, E., D. Cotter, M. Sud, and S. Subramaniam. 2011. *Lipid Classification, Structures and Tools*. **Biochimica et Biophysica Acta**. 1811(11) : 637-647.

Falony, G., J. C. Armas, J. C. D. Mendoza and J. L. M. Hernández. 2006. Production of Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. **Food Technol. Biotechnol.** 44 (2) 235–240.

Fardiaz, S. 1989. **Mikrobiologi Pangan**. Bogor: PAU Pangan dan Gizi, IPB.

Gandjar, I., W. Sjamsuridzal dan A. Oetari, 2006. **Mikologi Dasar dan Terapan**. Yayasan Obor Indonesia Jakarta.

Hasan, F., A. A. Shah., A. Hameed. Industrial Applications of Microbial Lipases. **Journal of Enzyme and Microbial Technology** 39 (2006) 235-251.

Hasanuddin, A. 2001. **Kajian Teknologi Pengolahan Minyak Sawit Mentah untuk Produksi Emusifier Mono-Diasilgliserol dan Konsentrat Karotenoid**, (Online), (http://tumoutou.net/3_sem1-012/asriani_h.htm, diakses 8 Oktober 2015).

Hermansyah, H., A. Wijanarko, and M. Gozan. 2007. Consecutive reaction model for trygliceride hydrolysis using lipase. **Jurnal Teknologi**, vol. 2, pp. 151-157, 2007.

Kavanagh, K. 2005. **Fungi Biology and Application**. The Atrium, Southern Gate, Chicester England :Jhon Willey & Sons Ltd.

Ketaren, S. 1986. **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**. UI Press. Jakarta.

Krog, N.J. 1990. **Food Emulsifier and Their Chemical and Physical Properties In Food Emulsion**, (Ed) K. Larsson and S.E. Friberg, P. Marcel Dekker, New York.

Kwon, D. Y. and J. S. Rhee. 1996. Asiple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatic Acid for Lipase Assay. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 63(1) : 89-92

Kwon, D. Y. and J. S. Rhee. 1986. A simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatty Acids for Lipase Assay. **JAOC**S. 63 (1) : 89-92.

Lehninger and Albert. L, 1990. **Dasar-dasar Biokimia Jilid 1**. Erlangga, Jakarta.

Ling-Zhi Cheong, Chin-Ping Tan, Long, K. Yusoff, M.S.A., Arifin, N. Seong-Koon Lo, and Oi-Ming Lai. 2007. Production of a Diacylglycerol-Enriched Palm Olein Using Lipase-Catalyzed Partial Hydrolysis: Optimization Using Response Surface Methodology. **Food Chemistry**. 105 :1614-1622.

Luchetta, Gianluca. 2010. **Occurrence of Black Aspergillion Grapes in Italy**. vol 2, 840-855.

Marie-Alix d'Halewyn, M.Sc. *Aspergillus niger*. www.inspq.qc.ca [diakses pada 30 Nopember 2015].

Marques, Thiago Andreade. Christiani Baldo, Dionisio Borsato, Joao Batista Buzato, Maria Antonia Pedrine Cobabone. 2014. Utilization of dairy effluent as alternative fermentation medium for microbial lipase production. **Romanian Biotrchnology Letter** Vol 19 No I 2014.

Noureddini, H. 2004. A Continuous Process for The Glycerolysis of Soybean Oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**. vol 81 no 2 : 203-207.

Poedjiadi, Anna, 1994, **Dasar-dasar Biokimia**. Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Putranto, R. A., D. Santoso, T. P. Suharyanto, A. Budiani. 2006. Karakterisasi gen penyandi lipase dari kapang *Rhizopus oryzae* dan *Absidia corymbifera*. **Menara Perkebunan**. 74(1). 23-32

Rahmania, I. 2007. **Dukungan teknologi dalam rangka menghasilkan produk yang bermutu dan aman dikonsumsi. Craby & Straky**. Buletin Pengolahan dan Pemasaran Perikanan. Edisi Nopember 2007. Diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan DKP. Jakarta.

Raper, K.B., and D.I. Fennel, 1977. **The Genus Aspergillus**. The William and Wilking Co., Baltimore

Ratledge, C. 1994. **Biochemistry of Microbiological Degradation**. Kluwer Academic Publishers, London.

Rifaat, H. M., A. A. El-Mahalawy, H. A. El-Menofy and S. A. Donia. 2010. Production, Optimization and Partial of Lipase from *Fusarium oxysporum*. **Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation**. (5)1: 39-53.

Ritter, P. 1996. **Biochemistry**. Brooks Publishers Company: California.

Rosita, A., F. dan Widasari W., A., 2009. **Peningkatan Kualitas Minyak Goreng Bekas dari KFC dengan Menggunakan Adsorben Karbon Aktif**, Seminar Tugas akhir S1 Undip.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn M., E. 2009. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Lexi-Comp:American Pharmaceutical Association, Inc. Page 418,685.

Sharma, R. Chisti, Y. and Banerjee, U.C. 2001. **Production, Purification, Characterization, and Application of Lipase. Biotechnology Advances**. 19: 627-662.

Sharon, C, S. Furugoh, T. Yamakido, H.I. Ogawadan Y. Kato, 1998, Purification and Characterization of a lipase from *Pseudomonas aeruginosa* KKA-5 and its role in castor oil hydrolysis, **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 20, 304-307.

Shaw, D.J. 1991. **Introduction to Colloid and Surface Chemistry, Fourth edition**. Britain: Butterworth-Heinemann Ltd

Shelley, A. W., H. C. deeth, and L. C. MacRae. 1987. Review of Methods of Numeration, Detection and Isolation of Lipolytic Microorganism with Special Reference to Dairy Applications. **Journal of Microbiological Methods** 6 : 123-137.

Suyasa, 2011. **Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/Lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampungan Limbah**. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bali.

Tay Joo-Hwa, How Kuan-Yeow and Hung Yung -Tse. 2006. **Seafood processing wastewater treatment**. Taylor & Francis Group, LLC.

Wang D. I. C., C. L. Cooney, A. L. Demain, P. Dunnill, A. E. Humphrey, and M. D. Lilly, 1979. **Fermentation & Enzyme Technology**, Wiley-Interscience, Canada.

Waluyo Lud. **Mikrobiologi Umum Edisi Revisi**. Malang: UMM Press; 2007.h. 319 dan 330.

Winarti, C. dan Miskiyah. 2010. Status Kontaminan pada Sayuran dan Upaya Pengendaliannya di Indonesia. **Pengembangan Inovasi Pertanian**. 3 (3) : 227 -237.

Yani, A., 2007, **Cendawan Penghasil Okratoksin pada Kopi dan Cara Pencegahannya**, Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian, vol 3.

Zumdahl, S. 1997. **Chemistry. Fourth edition**. New York: Houghton Mifflin Company.

BIODATA PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Revina Glady Putri Andhita CSMA. Penulis yang akrab di panggil Revina ini lahir di Surabaya, 11 Maret 1994. Penulis menempuh pendidikan formal di SDN 1 Suko, Sioarjo, SMPN 1 Taman, SMAN 1 Taman, dan melanjutkan ke jenjang sarjana di Biologi ITS Surabaya jalur SNMPTN Undangan. Selama menempuh pendidikan di Biologi ITS pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Struktur Hewan dan Perkembangan Hewan. Diluar akademik penulis juga aktif dengan beberapa organisasi dalam ITS yaitu, penulis pernah menjadi Staff Ahli Departemen Media dan Hubungan Luar HIMABITS 2014/2015. Selain organisasi penulis juga pernah mengikuti beberapa pelatihan manajerial antara lain LKKM Pra-TD HIMABITS. Penulis pernah melaksanakan Kerja Praktek di Badan Lingkungan Hidup Propinsi Jawa Timur.