

**AKTIVITAS ENZIM LIGNOSELULOLITIK DARI JAMUR TIRAM
YANG DI STIMULASI DENGAN MEDIA TANAM MENGANDUNG
AMPAS KOPI DAN DEDAK PADI**

TESIS

Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Magister Bidang Studi Kimia



MIFTHAHUL JANNAH

08092622327001

PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**AKTIVITAS ENZIM LIGNOSELULOLITIK DARI JAMUR TIRAM YANG DI
STIMULASI DENGAN MEDIA TANAM MENGANDUNG AMPAS KOPI DAN DEDAK
PADI**

TESIS

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Magister Kimia

Oleh:

MIFTHAHUL JANNAH

08092622327001

PEMBIMBING I



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D

NIP. 197111191997021001

PEMBIMBING II



Prof. Dr. Poedji Loekitowati H, M.Si.

NIP. 196808271994022001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D

NIP. 197111191997021001

HALAMAN PERSETUJUAN

Tesis dengan judul “Aktivitas Enzim Lignoselulolitik Dari Jamur Tiram Yang Di Stimulasi Dengan Media Mengandung Ampas Kopi dan Dedak Padi” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji sidang Tesis Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Pada tanggal 09 Juli 2025 dan telah diperiksa, diperbaiki dan disetujui dengan saran dan masukan yang diberikan.

Palembang, 14 Juli 2025

Pembimbing:

1. Prof. Hermansyah, S.Si M.Si, Ph.D

NIP. 197111191997021001

()

2. Prof. Dr. Poedji Loekitowati Hariani, M.Si.

NIP. 196808271994022001

()

Penguji:

1. Prof. Dr. Miksusanti, M.Si.

NIP. 196807231994032003

()

2. Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si.

NIP. 197211092000032001

()

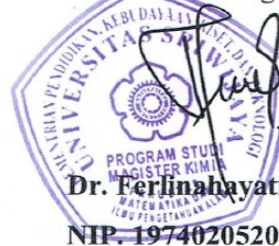
Mengetahui,

Dekan



Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D
NIP. 197111191997021001

Koordinator Program Studi



Dr. Ferlinahayati, M.Si
NIP. 197402052000032001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mifthahul Jannah

NIM : 08092622327001

Program Studi/BKU : Magister (S2) Kimia / Kimia Hayati

Menyatakan bahwa tesis yang berjudul **“Aktivitas Enzim Lignoselulolitik Dari Jamur Tiram Yang Di Stimulasi Dengan Media Mengandung Ampas Kopi dan Dedak Padi”** ini adalah benar karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar magister (S2) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam tesis ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan maupun tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip sumber penulis secara benar. Semua isi dari tesis ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Palembang, 14 Juli 2025

Yang menyatakan,



Mifthahul Jannah

NIM.08092622327001

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPERLUAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mifthahul Jannah

NIM : 08092622327001

Program Studi/BKU : Magister (S2) Kimia / Kimia Hayati

Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya hak bebas royalti non-eksklusif (*nonexclusively royalty- free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul **“Aktivitas Enzim Lignoselulolitik Dari Jamur Tiram Yang Di Stimulasi Dengan Media Mengandung Ampas Kopi dan Dedak Padi”** dengan hak bebas royalti non-eksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau tesis saya, selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Palembang, 14 Juli 2025

Yang menyatakan,



Mifthahul Jannah

NIM.08092622327001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim....

Syukur alhamdulillah penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, kemudahan, serta kelancaran dalam menyelesaikan tesis ini yang berjudul “Aktivitas Enzim Lignoselulolitik Dari Jamur Tiram Yang Di Stimulasi Dengan Media Mengandung Ampas Kopi dan Dedak Padi” dengan segala kerendahan hati, tesis ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku tersayang Mamak dan Bapak ku, Terima kasih selalu senantiasa hadir dalam memberikan doa dukungan selama ini. Terima kasih banyak atas semua ketulusan kasih sayang yang telah diberikan selama ini, semoga sehat selalu, Amin...
2. Tante-tante tersayang yang tidak bisa disebut-sebut satu persatu, terima kasih selalu memberikan semangat dan doa sehingga saya bisa menyelesaikan tesis ini;
3. Adik-adikku tersayang yang selalu memberikan semangat sehingga saya bisa menyelesaikannya dengan baik.
4. Dosen pembimbing sekaligus Dekan FMIPA, Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D. Terima kasih atas motivasi, bimbingan dan arahan yang diberikan selama proses perkuliahan dan pembuatan tesis ini;
5. Dosen pembimbing saya, Prof. Dr. Poedji Loekitowati Hariani, M.Si. Terima kasih atas motivasi, bimbingan dan arahan yang diberikan selama proses perkuliahan dan pembuatan tesis ini;
6. Dosen pembahas saya, Prof. Dr. Miksusanti, M.Si. dan Dr. Nurlisa Hidayati, M.Si. Terima kasih atas arahan dan bimbingan ibu kepada kami untuk terus belajar dan menjadi lebih baik;
7. Dosen magister (S2) kimia, terima kasih atas peran besarnya dalam memberikan ilmu yang bermanfaat dan semoga selalu diberikan kesehatan, Amin...
8. Kepada calon suami ku tersayang, Nafa cisara S.T., Terimakasih telah menjadi penyemangat, penguji emosi dikala mau ujian, pemberi dana darurat, sehingga penelitian ini berjalan dengan penuh warna.

9. Sahabat-sahabatku dari Kimia Hayati: Daniel Alfarado, S.Si (Suhu), Muhammad Evan, S.Pd., Maftu Ghazali, S.Pd., Yunia Arum Hariyanti, S.Pd., dan Restri Diah Carissa, S.Si.
10. Teman-teman kimia : Rianda Marta Derci, S.Pd.Gr., Yollanda Nurcholifah, S.Si., Gierrald Abduch, S.Pd., Dwilia Julia, S.Pd., dan Novia Widia Ningsih, S.Si.
11. Sebagai penutup, izinkan saya menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tulus kepada almamater tercinta, Universitas Sriwijaya. Kampus ini telah menjadi benteng ilmu dan karakter, membimbing saya menapaki setiap tantangan akademik dengan semangat kebersamaan dan integritas. Semoga nilai-nilai luhur dan ikatan kebangsaan yang diwariskan oleh Universitas Sriwijaya senantiasa menjadi pijakan kokoh bagi setiap alumninya untuk berkarya dan memberi manfaat bagi nusa, bangsa, serta umat manusia.

SUMMARY

LIGNOCELLULOSIC ENZYME ACTIVITY FROM OYSTER MUSHROOMS STIMULATED WITH GROWING MEDIA CONTAINING COFFEE GROUNDS AND RICE BRAN.

Mifthahul Jannah : supervised by Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D dan Prof.Dr. Poedji
Loekitowati Hariani, M.Si.

Master of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University.

xiii + 96 pages, 17 pictures, tables 19, 8 attachments.

The study of environmentally friendly lignocellulosic enzyme production such as laccase, manganese peroxidase (MnP), and cellulase was carried out. *Pleurotus ostreatus* was chosen as an enzyme producer due to its ability to efficiently degrade lignocellulose. Growth media for the fungus consisted of coffee grounds (CG) and rice bran (RB) because of their abundant availability and lignocellulose composition that supports enzyme production. This study aims to optimize the production of lignocellulosic enzymes from oyster mushrooms through specific activity tests and optimization using the Response Surface Methodology (RSM) approach with CCD design. The parameters optimized include substrate concentration, temperature, and reaction time.

The research was carried out with the preparation of materials and inoculum, the creation of a growth curve for fungi, extraction and fractionation of enzymes using ammonium sulfate, testing enzyme activity, and determination of protein levels using the Lowry method and SDS-PAGE to estimate protein size. The results showed the highest enzyme activity for laccase and MnP in the 0-20% ammonium sulfate precipitation fraction, amounting to 12.340 ± 0.22 U/mL for laccase and 20.588 ± 0.14 U/mL for MnP, while cellulase exhibited the highest activity in the 40-60% fraction at 4861.1 ± 13.1 U/mL. SDS-PAGE analysis revealed that the molecular weight of laccase was 60-70 kDa, manganese peroxidase (MnP) was 40-50 kDa, and cellulase was 30-50 kDa, in accordance with the characteristics of lignocellulolytic enzymes previously reported.

The production of lignocellulolytic enzymes based on RSM analysis that has the best or optimal conditions is the production of laccase, with a substrate concentration of ABTS 0.079 mM, an incubation temperature of 33.96 °C, and a reaction time of 25 minutes, resulting in a laccase activity of 27.72 U/mL. In the extraction of oyster mushrooms producing the best MnP enzyme, the substrate concentration of manganese (MnSO_4) is 0.971756 mM, incubation temperature is 30 °C, and reaction time is 26.1355 minutes, yielding an activity value of 17.9102 U/mL. The extraction of oyster mushrooms that produced the highest cellulase enzyme was at a substrate concentration of CMC 0.981%, temperature of 54.81 °C, and incubation time of 30.38 minutes, resulting in cellulase activity of 6.41 U/mL.

Keywords : *Pleurotus ostreatus*, lignocellulolytic enzymes, Laccase, Manganese peroxidase, cellulase.

RINGKASAN

AKTIVITAS ENZIM LIGNOSELULOLITIK DARI JAMUR TIRAM YANG DI STIMULASI DENGAN MEDIA TANAM MENGANDUNG AMPAS KOPI DAN DEDAK PADI

Mifthahul Jannah : supervised by Prof. Hermansyah, S.Si, M.Si, Ph.D dan Prof.Dr. Poedji
Loekitowati Hariani, M.Si.

Program Studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya.

xiii + 96 halaman, 17 gambar, tabel 19, 8 lampiran.

Studi produksi enzim lignoselulolitik yang ramah lingkungan seperti lakkase, mangan peroksidase (MnP), dan selulase pada penelitian ini yang telah dilakukan. *Pleurotus ostreatus* dipilih sebagai penghasil enzim karena kemampuannya dalam mendegradasi lignoselulosa secara efisien. Media pertumbuhan jamur berupa ampas kopi (AK) dan dedak padi (DP) digunakan karena ketersediaan yang melimpah dan komposisi lignoselulosa yang mendukung produksi enzim. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan produksi enzim lignoselulolitik dari jamur tiram melalui, uji aktivitas spesifik dan optimasi dengan pendekatan RSM menggunakan desain CCD. Parameter yang dioptimasi meliputi konsentrasi substrat, suhu, dan waktu reaksi.

Penelitian dengan mempersiapkan bahan dan Inokulum, pembuatan kurva pertumbuhan jamur, ekstraksi dan fraksinasi enzim menggunakan amonium sulfat, pengujian aktivitas enzim dan penentuan kadar protein dengan metode lowry dan SDS-PAGE untuk memperkirakan ukuran protein. Hasil menunjukkan aktivitas enzim tertinggi pada lakkase dan MnP ada pada fraksi 0-20% presipitasi amonium sulfat, sebesar $12,340 \pm 0,22$ U/mL untuk lakkase dan MnP sebesar $20,588 \pm 0,14$ U/mL, untuk selulase aktivitas tertinggi pada fraksi 40-60% sebesar $4861,1 \pm 13,1$ U/mL. Analisis SDS-PAGE mengungkapkan berat molekul lakkase lakkase 60-70 kDa, mangan peroksidase (MnP) 40-50 kDa, dan selulase 30-50 kDa, sesuai dengan karakteristik enzim lignoselulolitik yang dilaporkan sebelumnya.

Produksi enzim lignoselulolitik hasil analisis RSM yang memiliki kondisi terbaik atau optimal adalah produksi lakkase, konsentrasi substrat ABTS 0,079 mM, suhu inkubasi 33,96 °C, dan waktu reaksi 25 menit, yang menghasilkan aktivitas lakkase sebesar 27,72 U/mL. Pada ekstraksi jamur tiram yang menghasilkan enzim MnP terbaik adalah pada konsentrasi substrat mangan (MnSO_4) 0,971756 mM, suhu inkubasi 30 °C, dan waktu reaksi 26,1355 menit, dengan nilai aktivitas yang dihasilkan sebesar 17,9102 U/mL. Produksi ekstraksi jamur tiram yang menghasilkan enzim selulase tertinggi adalah pada konsentrasi substrat CMC 0,981%, suhu 54,81 °C, dan waktu inkubasi 30,38 menit dengan hasil aktivitas selulase sebesar 6,41 U/mL.

Kata kunci : *Pleurotus ostreatus*, Enzim lignoselulolitik, Lakkase, Mangan peroksidase, Selulase.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
SUMMARY	viii
RINGKASAN	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	16
1.1 Latar Belakang	16
1.2 Rumusan Masalah	18
1.3 Tujuan Penelitian	18
1.4 Hipotesa Penelitian.....	19
1.5 Manfaat Penelitian.....	19
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	20
2.1 Ampas Kopi	20
2.2 <i>Pleurotus Ostreatus</i> (Jamur Tiram Putih)	20
2.3 Biomassa Lignoselulosa	22
2.4 Molekul Protein.....	24
2.5 Selulosa.....	25
2.6 Hemiselulosa.....	26
2.7 Lignin	27

2.8 Pusat Aktif Enzim	28
2.9 Enzim Lignoselulolitik	28
2.9.1 Lakkase	29
2.9.2 Manganese Perokidase (MnP).....	30
2.9.3 Selulase	30
2.10 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM).....	31
2.11 Konsentrasi Substrat EnzimLignoselulolitik	32
2.12 TemperaturAktivitas dari Enzim Lignoselulolitik	33
2.13 Waktu Inkubasi EnzimLignoselulolitik.....	33
2.14 Derajat Keasaman (pH)	33
2.15 Aktivitas Enzimatik	33
BAB III METEDOLOGIPENELITIAN	35
3.1 Waktu Penelitian	35
3.2 Bahan dan Peralatan Penelitian.....	35
3.2.1 Bahan Penelitian	35
3.2.2 Alat Penelitian	35
3.3 Prosedur Penelitian.....	35
3.3.1 Sampel penelitian.....	35
3.3.2 Sterilisasi Alat	36
3.3.3 Pembuatan media PDA Strain dan persiapan inokulum (F ₁)	36
3.3.4 Persiapan Substrat dan InokulasiYang Sudah Modifikasi	36
3.3.5 Penentuan Laju Pertumbuhan Jamur	37
3.3.6 Ekstraksi Enzim	37
3.3.7 Presipitasi Enzim dengan Amonium Sulfat	37
3.3.7.1 Penentuan Kadar Protein.....	38
3.3.7.2 Uji Aktivitas Enzim Lakkse	38
3.3.7.3 Uji Aktivitas Enzim MnP	39
3.3.7.4 Uji Aktivitas Enzim Selulase	40

3.3.8 Aktivitas Enzim Spesifik.....	40
3.3.9 Analisis SDS-PAGE.....	41
3.3.10 Desain Optimasi Metode RSM.....	41
3.3.10.1 Input Variabel Optimasi.....	41
3.3.10.2 Analisis Statistik.....	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1 Pertumbuhan Jamur.....	44
4.1.1 Pertumbuhan Jamur Tiram Pada Media PDA	44
4.1.2 Pertumbuhan Jamur Tiram Pada Media Tanam AK dan DP	45
4.2 Hasil Ekstraksi Pada Jamur <i>Pleurotus Ostreatu</i>	47
4.3 Kadar protein	48
4.4 Aktivitas Ezimatik.....	51
4.4.1 Aktivitas Enzim Lakkase	51
4.4.2 Aktivitas Enzim MnP.....	54
4.4.3 Aktivitas Enzim Selulase	59
4.5 Aktivitas Spesifik	63
4.6 SDS-PAGE	65
4.7 Analisis RSM.....	66
4.7.1 Enzim Lakkase	66
4.7.1.1 Validasi Model.....	71
4.7.2 Enzim MnP.....	72
4.7.2.1 Validasi Model.....	77
4.7.3 Enzim Selulase	78
4.7.3.1 Analisa ANOVA.....	78
4.7.3.2 Validasi Model.....	83
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	85
5.1 Kesimpulan	85
5.2 Saran.....	85

DAFTAR PUSTAKA.....	87
LAMPIRAN	93

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jamur tiram putih)..	21
Gambar 2. Gravitik pertumbuhan jamur tiram pada berbagai variasi media tanam.....	22
Gambar 3. Struktur Dasar dan Komposisi Biomassa Lignoselulosa	23
Gambar 4. Struktur Selulosa	26
Gambar 5. Struktur Hemiselulosa .	26
Gambar 6. Struktur unit Lignin.....	27
Gambar 7. Strain jamur <i>Pleurotus ostreatus</i> pada media PDA.....	44
Gambar 8. Kurva pertumbuhan jamur <i>Pleurotus ostreatus</i> pada medium PDA.....	45
Gambar 9. Kurva pertumbuhan jamur pada media AK:DP.....	46
Gambar 10. Grafik konsentrasi protein pada setiap media tanam.....	49
Gambar 11. Grafik perbandingan aktivitas lakkase pada tiap fraksi.....	51
Gambar 12. Grafik perbandingan aktivitas MnP pada tiap fraksi.....	56
Gambar 13. Grafik perbandingan aktivitas selulase pada setiap fraksi.....	60
Gambar 14. Hasil Analisis SDS-PAGE.....	65
Gambar 15. Hasil interaksi antar variabel enzim lakkase..	70
Gambar 16. Hasil interaksi antar variabel enzim MnP.	76
Gambar 17. Hasil interaksi antar variabel enzim selulase.....	82

DAFTAR TABEL

	Halaman
Table 1. Variabel beserta level pada RSM Uji Lakkase.....	42
Table 2. Variabel beserta level pada RSM Uji MnP.....	42
Table 3. Variabel beserta level pada RSM Uji Selulase.....	42
Table 4. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi.....	48
Table 5. Hasil running aktivitas Lakkase menggunakan CCD.....	67
Table 6. Hasil analisis ANOVA for Quadratic model Lakkase.....	67
Table 7. Hasil ANOVA Fit Statistics Lakkase.....	68
Table 8. Hasil prediksi model enzim lakkase.....	71
Table 9. Hasil analisis konfirmasi <i>Post Analysis</i> lakkase.....	72
Table 10. Hasil running aktivitas MnP menggunakan CCD.....	73
Table 11. Hasil analisis ANOVA for Quadratic model MnP.....	73
Table 12. Hasil ANOVA Fit Statistics MnP.....	74
Table 13. Hasil prediksi Model Optimasi MnP.....	77
Table 14. Hasil analisis konfirmasi <i>Post Analysis</i> MnP.....	78
Table 15. Hasil running aktivitas Selulase menggunakan CCD	79
Table 16. Hasil analisis ANOVA for Quadratic model Selulase.....	79
Table 17. Hasil ANOVA Fit Statistics Selulase.....	80
Table 18. Hasil prediksi Model Optimasi Selulas.....	83
Table 19. Hasil analisis konfirmasi <i>Post Analysis</i> selulase.....	84

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Pertumbuhan jamur (<i>Pleurotus Ostreatus</i>) dan diagram alir.....	93
Lampiran 2. Uji Kadar Protein dengan Metode Lowry.....	100
Lampiran 3. Fraksinasi Amonium Sulfate.....	102
Lampiran 4. Uji Aktivitas Enzim Lakkase.....	103
Lampiran 5. Uji Aktivitas Enzim Mangan peroksidase (MnP).....	105
Lampiran 6. Uji aktivitas Selulase.....	107
Lampiran 7. Aktivitas spesifik enzim lakkase, MnP, dan selulase.....	111
Lampiran 8. Pembuatan Buffer Larutan.....	112

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kopi merupakan salah satu minuman terpopuler di dunia, minuman ini memiliki perkembangan konsumsi cukup stabil sebesar 1,9% dalam sepuluh tahun terakhir. Dari biji kopi yang digunakan hanya 0,2% biji kopi yang dijadikan minuman atau di konsumsi dan 99,8% sisanya hanya menjadi ampas kopi (Kohphaisansombata *et al.*, 2024).

Sebanyak 28.000 ton residu sekam kopi, sekam perkamen, dan ampas kopi diproduksi setiap tahun. Saat ini sebagian ampas kopi hanya dibuang di tempat pembuangan sampah akhir yang sudah tercampur. Pembakaran dan penguraian ampas kopi menyebabkan penghasilan lebih banyak karbon dioksida, partikel atmosfer, dan gas rumah kaca lainnya(Chai *et al.*, 2021).

Limbah ampas kopi akhir-akhir ini telah dilirik untuk dibudidayakan sebagai media tanam jamur, terutama jamur genus *Pleurotus*. Hal ini dikarenakan residu ampas kopi mengandung lipid, polisakarida, dan protein, sehingga menarik untuk dilakukan proses kimia dalam menghasilkan produk bernilai tinggi. Ampas kopi ini memiliki persentase yang tinggi untuk lignin (23,90%), selulosa (12,40%), dan hemiselulosa (39,10%) yang berpotensi untuk digunakan sebagai substrat tambahan untuk budidaya spesies jamur *Pleurotus ostreatus* (Nguyena *et al.*, 2023).

Selain ampas kopi, dedak padi juga bisa digunakan sebagai media tanam jamur, karena dedak padi mengandung nutrisi yang tinggi, seperti karbohidrat, protein, serat, dan vitamin B kompleks, yang mendukung pertumbuhan miselium dan pembentukan tubuh buah jamur. Dedak padi juga memiliki tekstur halus dan mudah memadat, sehingga mengurangi porositas dan sirkulasi udara dalam media tanam, yang penting untuk pertumbuhan jamur (Istiqomah & Siti 2014). Penelitian (Nguyen *et al.*, 2019) mengenai studi pertumbuhan jamur tiram dengan media kardus, ampas kopi, dan dedak padi menunjukkan bahwa hasil untuk kombinasi 30% ampas kopi dan 70% dedak padi menunjukan hasil yang baik untuk

mengoptimalkan campuran substrat dalam mendukung pertumbuhan miselium dan pembentukan tubuh buah jamur terutama jamur *Pleurotus ostreatus*.

Pleurotus ostreatus atau juga dikenal sebagai jamur tiram memiliki kadar protein yang lebih tinggi dari pada sumber protein lainnya, seperti kacang-kacangan atau kedelai. Jamur tiram juga memiliki mineral anorganik yang tinggi dan rendah lemak, serta menghasilkan enzim ligninolitik ekstraseluler seperti lakkase, mangan peroksidase (MnP), dan lignin peroksidase (LiP), sehingga memiliki kemampuan untuk beradaptasi, menghilangkan senyawa aromatik, dan mampu mendegradasi senyawa organik maupun anorganik kontaminan melalui katalisis dengan enzim ligninolitik ekstraseluler seperti lakase, MnP, dan LiP (Dimawarnita & Tri 2019).

Penelitian produksi enzim lignoselulolitik menggunakan jamur *Pleurotus ostreatus* sudah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya, diantaranya yang dilakukan dengan menggunakan proses sonifikasi media dalam buffer (Ergun & Urek 2017) berhasil menghasilkan enzim lignoselulolitik setelah 17 hari di inkubasi, dimana di dapatkan enzim lakkase dan MnP adalah yang terbaik. Aktivitas enzim lignoselulolitik dapat diamati selama fase pertumbuhan miselium *Pleurotus ostreatus*. Hasilnya menunjukkan bahwa saat tubuh buah mulai terbentuk, tingkat degradasi lignin menurun dibandingkan dengan fase somatik sebelumnya. Selain itu, umur kultur jamur dan tahapan perkembangan yang sedang dialami memengaruhi pola aktivitas enzim ini. Penelitian lain yang menggunakan jamur *Pleurotus ostreatus* dengan pertumbuhan jamur yang sangat baik pada fase tubuh buah matang yang mana pada hari ke sepuluh, aktivitas MnP tertinggi ditemukan pada sekam kopi dengan 20% dedak padi (CaFa) sebesar (10,5 $\mu\text{M min/kg}$). Pada hari ke lima belas, lakkase dan selulase menghasilkan aktivitas tertinggi. Lakase tertinggi ditemukan pada sekam kopi dengan 20% dedak padi (CaFa) sebesar (17,6 $\mu\text{M min/kg}$) dan selulase tertinggi ditemukan pada sekam kopi dengan 20% dedak padi (CaFa) sebesar (59 $\mu\text{M min/kg}$) (Luz *et al.*, 2012).

Dalam menghasilkan enzim lignoselulolitik yang optimal dibutuhkan proses metode optimasi yang baik. Salah satu proses metode optimasi yang baik adalah dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Metode

RSM biasa digunakan untuk membantu menganalisa pengaruh variabel independen terhadap respon yang diinginkan. RSM juga dimanfaatkan untuk pengoptimalan proses industri yang termasuk kedalam bioteknologi produksi enzim. Penggunaan metode RSM ini bertujuan untuk mengoptimalkan proses pertumbuhan jamur *Pleurotus ostreatus* pada produksi enzim lignoselulotik dengan indikator evaluasi faktor dari suhu, waktu inkubasi, dan konsentrasi substrat. Proses optimasi menggunakan RSM ini bertujuan untuk memaksimalkan aktivitas enzimatis serta meningkatkan produksi enzim, yang nanti akan menghasilkan produk akhir yang baik dan optimal.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti memanfaatkan campuran limbah ampas kopi dan dedak padi sebagai media tanam jamur dalam meneliti aktivitas enzim lignoselulotik dari jamur *Pleurotus ostreatus*. Penelitian ini menguji pengaruh suhu, konsentrasi substrat, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas dan produksi enzim lignoselulotik yang berupa enzim lakkase, MnP, dan selulase, dengan metode optimasi RSM.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu:

- a. Bagaimana pengaruh variasi ampas kopi dan dedak padi terhadap aktivitas enzim lignoselulolitik yang dihasilkan oleh jamur *Pleurotus ostreatus*?
- b. Bagaimana karakteristik dari enzim lignoselulolitik yang dihasilkan, serta aktivitas spesifik dan berat molekulnya?
- c. Bagaimana pengaruh dari konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan suhu dalam produksi enzim lignoselulolitik yang dioptimasi menggunakan metode RSM?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu:

- a. Menganalisis pengaruh variasi dari ampas kopi dan dedak padi, terhadap produksi enzim lignoselulolitik oleh jamur *Pleurotus ostreatus*.
- b. Mengkarakterisasi enzim lignoselulolitik yang dihasilkan, termasuk aktivitas spesifik dan berat molekulnya.

- c. Mengetahui kondisi optimal dari produksi enzim lignoselulolitik yang dioptimasi menggunakan metode RSM.

1.4 Hipotesis

Dari hasil studi literature, hipotesis pada penelitian ini berupa:

- a. Perbedaan media tanam jamur dengan ampas kopi dan dedak padi secara signifikan mempengaruhi aktivitas enzim lignoselulolitik yang dihasilkan, di mana variasi dari media tanam yang optimal akan menghasilkan aktivitas enzim yang lebih tinggi.
- b. Faktor dari konsentrasi, suhu, dan waktu inkubasi memiliki pengaruh signifikan pada produksi enzim, dengan suhu optimal mendukung aktivitas enzim yang maksimal. Lama waktu inkubasi berpengaruh signifikan terhadap produksi enzim, sehingga terdapat waktu optimal yang memaksimalkan aktivitas enzim.
- c. Penggunaan RSM dengan desain CCD dapat menghasilkan model kuadratik yang signifikan serta akurat dalam memprediksi kondisi optimal produksi enzim, yang ditandai dengan nilai R^2 tinggi dan selisih antara *Adjusted R²* dan *Predicted R²* yang kecil.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini berupa:

- a. Memberi informasi mengenai pengaruh konsentrasi, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim lignoselulolitik berupa enzim lakkase, MnP, dan selulase dari jamur *Pleurotus ostreatus* pada media tanam ampas kopi dan dedak padi.
- b. Dengan menggunakan metode RSM, dapat menentukan kondisi optimal untuk produksi enzim secara efisien, yang penting untuk aplikasi industri.
- c. Memanfaatkan limbah ampas kopi dan dedak padi menjadi produk yang bernilai tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, F., Yeni., Ratih, R., Wika, A. D., & Rizka, N. S. (2023). Effectiveness of Molasses, Washed Rice Water, and Coconut Water in Baglog Media on Production of White Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *J. Agricultural and Biosystem Engineering*, 2(1), 8-16.
- Alsanad, M. A., Youssef, N. S., Zeina, E. S., & Sami, A. F. (2020). Spent Coffee Grounds Influence on *Pleurotus Ostreatus* Production, Composition, Fatty Acid Profile, and Lignocellulose Biodegradation Capacity. *Journal of Food*, 19(1), 11-20. DOI: 10.1080/19476337.2020.1845243.
- Anggriani, D., Ummu, K., & Nurjannah. (2020). Pengaruh Konsentrasi Enzim Silanase Dan *Saccharomyces Cerevisiae* Dalam Pembuatan Bioethanol Dari Limbah Kulit Singkong Dengan Proses Sakarifikasi dan Fermentasi Simultan. *Journal of Chemical Process Engineering*, 5(2), 44-49.
- Argaw., Biniam., Teklemichael, T., Tesfay, G., & Negasi, A. (2023). Growth and Yield Performance of Oyster Mushroom (*P. Ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer) Using Waste Leaves and Sawdust. *International Journal of Agronomy*, 2023, 1–7. doi:10.1155/2023/8013491.
- Benavides, V., Gustavo, C., Fernanda, P. I., Tatiana, R., Olga, R., & Antonio, S. (2024). Enhancing Laccase and Manganese Peroxidase Activity in White-Rot Fungi: The Role of Copper, Manganese, and Lignocellulosic Substrates. *Agronomy MDPI*, 14, 2562.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., & Stryer, L. (2015). *Biochemistry* (8th ed.). W.H. Freeman and Company.
- Bezerra., Marcos, A., Ricardo, E. S., Eliane, P. O., Leonardo, S. V., & Luciane, A. E. (2008). Response Surface Methodology (RSM) as a Tool for Optimization in Analytical Chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. doi:10.1016/j.talanta.2008.05.019.
- Cano., Antonio., Ana, B. M., Josefa, H., & Marino, B. A. (2023). ABTS/TAC Methodology: Main Milestones and Recent Applications. *Processes*, 11 (1), 185. doi:10.3390/pr11010185.
- Chai, W. Y., Krishnanb, U. G., Sabaratnamb, V., & Tana, J. B. L. (2021). Assessment of Coffee Waste In Formulation of Substrate For Oyster Mushrooms *Pleurotus Pulmonarius* And *Pleurotus Floridanus*. *Future Foods*, 4, 1-9.
- Chang, Y., Dandan, Y., Rui, L., Tao, W., & Yimin. Z. (2021). Textile Dye Biodecolorization by Manganese Peroxidase: A Review. *Molecules*, 26(15), 4403.
- Darojati, H. A. (2017). Prospek Pengembangan Teknologi Radiasi Sebagai Perlakuan Pendahuluan Biomassa Lignoselulosa. *Jurnal Forum Nuklir (Jfn)*, 11(2), 71-80.
- Dimawarnita, F., & Tri, P. (2019). Aktivitas Enzim Ligninolitik *Pleurotus Ostreatus* Pada Media yang Mengandung TKKS dan Aplikasinya untuk Dekolorisasi

- Ergun, O., & Urek, R. O. (2017). Production of Ligninolytic Enzymes by Solid State Fermentation Using *Pleurotus Ostreatus*. *Annals of Agrarian Science*, 15(2), 273–277. doi:10.1016/j.aasci.2017.04.003.
- Fellowship, M. R. (2020). *Pleurotus Pulmonarius* Cultivation On Spent Coffee Grounds Brendan Twaddell. *Loyola University Chicago*, 49(2), 73-79.
- Garrett, R.H., & Grisham, C.M. (2016). *Biochemistry* (6th ed.). Boston: Cengage Learning.
- Gaur, N., Narasimhulu, K., & Pydisetty. (2018). Biochemical and Kinetic Characterization Of Laccase and Manganese Peroxidase From Novel *Klebsiella Pneumoniae* Strains and Their Application in Bioethanol Production. *The Royal Society of Chemistry*, 8, 15044-15055.
- Gwon., Ju-Hui., Hyeok, P., & Ahn-Heum, E. (2022). Effect of Temperature, pH, and Media on the Mycelial Growth of *Tuber Koreanum*. *Mycobiology*, 50(4), 238–243. doi:10.1080/12298093.2022.2112586.
- Halima, H., Siti., Achmad, T. P., Sudjarwo, & Shofiatur, R. (2022). Effect of pH, temperature, and metalactivator on the activity of fibrinolytic enzymes produced by *Pseudomonas aeruginosa* Ts 6.4. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 9(1), 9–12.
- Hamzah., Pratiwi., Syaifuddin, S., Rachmat, R., & Agus, A. (2022). Analisis Pertumbuhan Miselium Bibit F1 Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus*) Dengan Menggunakan Media Biji Jagung dan Biji Padi. *JASATHP: Jurnal Sains dan Teknologi Hasil Pertanian*, 2(2), 67–77. doi:10.55678/jasathp.v2i2.807.
- Heirina., Anna., Rozirwan, R., & Muhammad, H. (2020). Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit Pada Tanaman Mangrove *Sonneratia Alba* Asal Tanjung Carat Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(1), 16. doi:10.56064/jps.v22i1.562.
- Hou, Q., Meiting, J., Weizun, L., Le, L., Yu, C., & Qian, Y. (2017). Pretreatment of Lignocellulosic Biomass with Ionic Liquids and Ionic Liquid-Based Solvent Systems. *Molecules*, 22(3), 490.
- Hwang, S. H., Shin, H. K., Zhiqiang, W., Tae, H. K., Young, H. K., Jae, Y. L., & Soon, S. L. (2016). Optimization of extraction parameters of PTP1 β (protein tyrosine phosphatase 1 β), inhibitory polyphenols, and anthocyanins from *Zea mays* L. using response surface methodology (RSM). *BMC Complement Altern Med*, 16(1), 317.
- Igwegbe, C. A., Leili, M., Shahin, A., Abbas, R., Danial, K., Rahmin, D., & Somayeh, R. (2019). Modeling of adsorption of Methylene Blue dye on Ho-CaWO_4 nanoparticles using Response Surface Methodology (RSM) and Artificial Neural Network (ANN) techniques. *Methods X*, 6, 1779–1797.
- Istiqomah, N., & Siti, F. (2014). Growth and Yield of Oyster Mushrooms In Various Composition of Planting Media. *ZIRAA'AH*, 39(3), 95-99.

- Janusz, G., Anna, P., Urszula, S. B., Jolanta, P., Justyna, S., Anna, J. W., & Andrzej, P. (2020). Laccase Properties, Physiological Functions, and Evolution. *Int J Mol Sci*, 21(3), 966.
- Jeon, S., & Lim, S. (2017). Pemurnian dan Karakterisasi Lakase yang Terlibat dalam Dekolorisasi Pewarna oleh Jamur Pelapuk Putih Marasmius Scorodoni. *Jurnal Mikrobiologi dan Bioteknologi*, 27(6), 1120–1127. doi:10.4014/jmb.1701.01004.
- Kohphaisansombat, C., Jongpipitaporna, Y., Laoratanakulb, P., Tantipaibulvuta, S., Euanorasetra, J., Rungjindamai, N., Chuaseeharonnachaid, C., Kwantong, P., Somrithipold, S., & Boonyuen, N. (2024). Fabrication Of Mycelium (Oyster Mushroom) - Based Composites Derived From Spent Coffee Grounds With Pineapple Fibre Reinforcement. *MYCOLOGY*, 4, 665-682.
- Kurien, B. T., & Scofield, R. H. (2012). Accelerated Coomassie blue staining and destaining of SDS-PAGE gels with application of heat. In B. T. Kurien & R. H. Scofield (Eds.), *Protein electrophoresis: Methods and protocols* (pp. 471–479). Totowa, NJ: Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-821-4_41
- Kuwahara., Masaaki., J.K Glenn., & M.A Morgan. (1984). Separation and Characterization of Two Extracellular H₂O₂-Dependent Oxidases from Ligninolytic Cultures of Phanerochaete Chrysosporium. *FEMS Microbiol Lett*, 169, 247-250.
- Lee, Y., Guillermo, V. D. U., Erich, M. S., Jason, E. S., & Yen, H. (2021). Genome Sequence Of The Oyster Mushroom *Pleurotus Ostreatus* Strain PC9. *G3 OXFORD*, 11(2), 1-7.
- Luz., José, M. R. D., Mateus, D. N., Sirlaine, A. P., Denise, P. T., Marliane, D. C. S. D. S., & Maria, C. M. K. (2012). Lignocellulolytic Enzyme Production of *Pleurotus Ostreatus* Growth in Agroindustrial Wastes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1508–1515. doi:10.1590/S1517-83822012000400035.
- Magfirah, N., Anisah., Rahmatia, T., & Hilmi, H. (2019). Modul Ajar Budidaya Jamur Tiram. *Pendidikan Biologi Muhammadiyah Makasar*.
- Mardekto, N., Antonija, T., Mario, N., Mladen, P., Blanka, D. L., Marina, G., Vlatka, P. T., Roland, L., & Bozidar, S. (2021). Screening of Lignocellulolytic Enzyme Activities in Fungal Species and Sequential Solid-State and Submerged Cultivation for the Production of Enzyme Cocktails. *Polymers*, 13, 3736.
- Meza, R., Silvia, L., Lázaro, C., Brenda, D., Betina, B. P., Larissa, A. R., Celina, M., Maria, A. D. L., César, A. G., Isabel, E., & Mauricio, D. O. (2024). Sustainable Rice Bran Protein: Composition, Extraction, Quality Properties and Applications. *Trends in Food Science & Technology*, 145, 104355. doi:10.1016/j.tifs.2024.104355.
- Nababan, M., Ida, B. W. G., & I Made, M. W. (2019). Produksi Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(2), 190.

- Nelson, D.L., & Cox, M.M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed.). New York: W.H. Freeman and Company.
- Nguyen, T. M., Senaratne, L., & Ranamukhaarachchi. (2019). Study On The Mycelium Growth and Primordial Formation Of King Oyster Mushroom (*Pleurotus Eryngii*) On Cardboard and Spent Coffee Ground. *ResearchGate*, 20(4), 835-842.
- Nguyena, D. V., Cham, T. T. D., Chau, N. M. V., Hung, M. N., Tuyet, T. P., Tuyet, T., & Long, Q. N. (2023). Data On Chemical Composition Of Coffee Husks and Lignin Microparticles As Their Extracted Product. *ELSEVIER*, 51, 109781.
- Noble, J. E., & Bailey, M. J. A. (2009). Chapter 8 Quantitation of Protein. *In Methods in Enzymology*, 463, 73–95. doi:10.1016/S0076-6879(09)63008-1.
- Nugrahini, P. F., Hermanto, S., & Donny, R. P. (2016). Pengaruh Waktu dan Konsentrasi Enzim Selulase Pada Proses Hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit Menjadi Glukosa. *Analytical and Environmental Chemistry*, 1(1), 8-16.
- Nuraini., Marlida, Y., Mirzah., Disafitri, R., & Febrian, R. (2024). Increasing The Nutrient Quality Of Coffee Seed Waste Using *Phanerochaete Chrysosporium* As Alternative Feedstuff. *Jurnal Peternakan Indonesia*, 17(2), 143-150.
- Octaviani., Maria, A., Dian, R. S. D., & Luh, J. A. (2017). Optimasi Faktor Yang Berpengaruh Pada Kualitas Lilin Di UD.X Dengan Metode Response Surface. *Jurnal Ilmiah Widjaya Teknik*, 16(1), 29–38.
- Oktaviani, L., Taufik, I., & Abduh, M. Y. (2019). Produksi konsentrat pakan ruminansia dari kulit kopi dan dedak yang difermentasi menggunakan jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Mikologi Indonesia*, 1(3), 10–24. Retrieved from <http://www.mikoina.or.id>
- Pham, L. T. M., Kai, D., Hemant, C., Trent, R. N., Steven, W. S., Paul, D. A., Blake, A. S., & Kenneth, L. S. (2024). An Engineered Laccase from *Fomitiporia mediterranea* Accelerates Lignocellulose Degradation. *Biomolekules*, 14(3), 324.
- Qing, R., Hao, S., Smorodina, E., Jin, D., Zalevsky, A., & Zhang, S. (2022). Protein Design: From the Aspect of Water Solubility and Stability. *Chemical Reviews*, 18, 14085-14179.
- Saeed, A. M. M., Shivika, S., Saeikh, Z. H., Atef, M. G., & Gui-ping, C. (2023). Intensification and Optimization of FAME Synthesis via Acid-Catalyzed Esterification Using Central Composite Design (CCD). *ACS OMEGA*, 8(29), 26206–26217.
- Sánchez-Corzo., Lina, D., Peggy, E. Á., Rocío, M., Juan, J. V. M., Sofia, E., & Samuel, E. (2021). Lignocellulolytic Enzyme Production from Wood Rot Fungi Collected in Chiapas, Mexico, and Their Growth on Lignocellulosic Material. *Journal of Fungi*, 7(6), 450. doi:10.3390/jof7060450.
- Sellyna, N., Miranti., Yuana, N., Edy, S., Panca, S. U., & Titania, T. N. (2020). Optimasilisasi Waktu Fermentasi, Kadar Air dan Konsentrasi Cu²⁺ pada

- Produksi Lakase *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 Secara Fermentasi Padat Batang Padi dalam Reaktor Labu. *Chimica et Natura Acta*, 8(1), 7-16.
- Singh, T. A., Namrata, P., Poonam, S., & Ajit, K. P. (2023). Spent Coffee Ground: Transformation From Environmental Burden Into Valuable Bioactive Metabolites. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 22, 887-898.
- Sommeng, A. N., Arya, R. M. Y., Mikael, J. G., Diah, K. P., Heri, H., Muhamad, S., & Anondho, W. (2019). Antiretroviral Activity Of *Pterois Volitans* (Red Lionfish) Venom In The Early Development Of Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome Antiretroviral Alternative Source. *Veterinary World*, 12, 309-315.
- Suharno., Shafira, H. P., Tri, W. W., & Ratri, A. N. (2019). Pengaruh Konsentrasi Amonium Sulfat Terhadap Rendemen Isolat Protein Defatted Dedak Padi Pada Ekstraksi Menggunakan Air. *Jurnal UMJ*, 2460 – 8416. Website : jurnal.umj.ac.id/index.php/semnastek.
- Suprihana, M. S. (2013). Lipase Fractionation of Coconut Endosperm by Salting Out Method. *AGRITECH*, 33(4), 377-383.
- Sutrisno, A. (2017). *Teknologi Enzim*. Malang. UB Press.
- Talluri, V. P., Sri, S. L., & Rajagopal, S. (2019). Statistical Optimization of Process Parameters by Central Composite Design (CCD) for an Enhanced Production of L-asparaginase by *Myroides gitamensis* BSH-3, a Novel Species. *Avicenna J Med Biotechnol*, 11(1), 59-66.
- Tambaru, E., Ura, R., & Tuwo, M. (2023). The Effect Of Coffee Grounds And Sawdust *Tectona Grandis* L. F. As Planting Media For Cultivation Oyster Mushroom *Pleurotus Sp.* *Earth and Environmental Science*, doi:10.1088/1755-1315/1230/1/012071.
- Tan., J., Yan, L., Xiang, T., Hongguo.,W., Hu. L., & Song, Y. (2021). Advances in Pretreatment of Straw Biomass for Sugar Production. *Front Chem*, 9, 696030.
- Thatoi, H., Subhashree, R., & Nitish, K. K. (2023). Optimisation of Manganese Peroxidase (MnP) Activity of *Enterobacter wuhouensis* using Response Surface Method and Evaluation of Its Maillard Reaction Products Along with Lignin Degradation Ability. *Indian J Microbiol*, 63(4), 604-620.
- Umar, A., & Ahmed, S. (2022). Optimization, Purification and Characterization of Laccase from *Ganoderma Leucocontextum* along with Its Phylogenetic Relationship, *Scientific Reports*, 1, 2416.
- Umrah, U., Triana, N. R., Yuniati, E., Kasim, A., & Zainal, A. P. (2024). Formulasi Media Pertumbuhan Miselium Jamur Tiram Putih Berbahan Dasar Dedak Padi Dan Limbah Kopi. *Biocelbes*, 18(1), 20-29.
- Voet, D., & Voet, J.G. (2011). *Biochemistry* (4th ed.). Hoboken: John Wiley & Sons.
- Waters, C. L., Rajiv, R. L., Richard, G. M., & Lance, L. L. (2017). Staged thermal fractionation for segregation of lignin and cellulose pyrolysis products: An

- experimental study of residence time and temperature effects. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 126, 380-389.
- Widiastuti., Happy., Suharyanto., Agustina, W., & Sutamihardja. (2008). Activity of Ligninolytic Enzymes during Growth and Fruiting Body Development of White Rot Fungi *Omphalina* Sp. and *Pleurotus Ostreatus*. *Hayati Journal of Biosciences*, 15(4), 140–144. doi:10.4308/hjb.15.4.140.
- Wingfield, P. (2016). Protein Precipitation Using Ammonium Sulfate. *Current Protocols in Protein Science*, 1.
- Wirajana, I. N., Sirait, R. R., & Suarya, P. (2021). Pemurnian Amilase Mikroba Amilolitik Dengan Fraksinasi Amonium Sulfat Dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Jurnal Kimia*, 41, doi:10.24843/JCHEM.2021.v15.i01.p07.
- Xue, H., Meng, Y. G., Yan, H. G., Xiao, H. B., & Xuan, W. Z. (2017). Expression and characteristics of manganese peroxidase from *Ganoderma lucidum* in *Pichia pastoris* and its application in the degradation of four dyes and phenol. *BMC Biotechnol*, 17, 19.
- Yuniati., Rani., Titania, T. N., & Fifi., P. (2015). Uji Aktivitas Enzim Protease Dari Isolat *Bacillus* Sp. Galur Lokal Riau. *Jom Fmipa*, 1(3).
- Zhang., Percival, Y. H., Jiong, H., & Xinhao, Y. (2009). Cellulase Assays. *In Biofuels*, 581, 213–231. doi:10.1007/978-1-60761-214-8_14.
- Zheng, B. (2022). A consolidated review of commercial-scale high-value products from lignocellulosic biomass. *Front Microbiol*, 13, 933882.
- Zoghلامي, A., & Paës, G. (2019). Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis. *Frontiers in Chemistry*, 7, 874.

