TA/TL/2026/2100

JURUSAN
TEKNIK LINGKUNGAN

TUGAS AKHIR

POTENSI EKSTRAK ENZIM KASAR OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH DENGAN SUBSTRAT LIMBAH PERTANIAN SEKAM PADI

Nama Mahasiswa

Annisa Muthmainnah

Dosen Pembimbing I:

Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.

Dosen Pembimbing II:

Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana

Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan

Universitas Islam Indonesia

2026

DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

BACHELOR THESIS

Potential of Crude Enzyme Extraction by White Rot Fungi with Rice Husk Agricultural Waste Substrate

Student's Name

Annisa Muthmainnah

Supervisor I:

Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.

Supervisor II:

Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Environmental Engineering Bachelor Program

Faculty of Civil Engineering and Planning

Universitas Islam Indonesia

2026

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

POTENSI EKSTRAK ENZIM KASAR OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH DENGAN SUBSTRAT LIMBAH PERTANIAN SEKAM PADI

Tugas akhir ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik (S.T.) pada Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.

Nama Mahasiswa

Annisa Muthmainnah

Tugas akhir ini telah diuji pada tanggal 29 Januari 202 dan disetujui oleh:

Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D. (Pembimbing 1)

Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T. (Pembimbing 2)

Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D. (Penguji)

Mengetahui,

Ketua Prodi Teknik Lingkungan Program Sarjana

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
YOGYAKARTA

20/2-26

Any Juliani, S.T., M.Sc (Res.Eng.), Ph.D.

PERNYATAAN

Saya, penyusun tugas akhir ini, menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia, maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini merupakan gagasan, rumusan, dan studi saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dosen pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Perangkat lunak atau program komputer yang digunakan dalam tugas akhir ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya. Bukan tanggung jawab Universitas Islam Indonesia.
5. Tidak ada penggunaan kecerdasan buatan *(artificial intelligence*, AI) dalam penyusunan karya tugas akhir ini kecuali:
   a. untuk membantu dalam kadar yang wajar (seperti membantu mengoreksi, mencari ide, dan mencari referensi), dan
   b. tercantum dan dijelaskan perihal penggunaannya secara eksplisit di dalam karya tugas akhir ini.

   Implikasi dari penggunaan AI tersebut menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.
6. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 29 Januari 2026

Yang membuat pernyataan,



Annisa Muthmainnah

21513172

PRAKATA

Puji dan syukur hanyalah milik Allah ﷻ Dzat Maha Rahman dan Rahim yang telah memberikan penulis kemudahan sehingga dapat menyelesaikan makalah ini dengan tepat waktu. Tanpa pertolongan-Nya tentunya penulis tidak akan sanggup untuk menyelesaikan makalah ini dengan baik. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada panutan kita Nabi Muhammad ﷺ keluarganya, para sahabatnya, dan siapa saja yang mengikhlaskan diri untuk selalu ber-ittibâ' kepada beliau sampai datangnya hari kiamat nanti.

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah ﷻ atas limpahan nikmat sehat- Nya, baik itu berupa sehat fisik maupun akal pikiran, sehingga penulis mampu untuk menyelesaikan penyusunan laporan Tugas Akhir yang berjudul " Potensi Ekstrak Enzim Kasar Oleh Jamur Pelapuk Putih Dengan Substrat Limbah Pertanian Sekam Padi" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.

Penyusunan laporan ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dukungan, serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua tercinta serta abang dan adek tersayang yang selalu memberikan doa, dukungan dan kepercayaan kepada penulis selama penulisan laporan ini.
2. Ibu Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing I dan ibu Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T. selaku Dosen Pembimbing II Tugas Akhir yang selalu membimbing dan memberikan arahan dalam menyelesaikan penulisan tugas akhir ini. Serta dosen penguji Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc (Res. Eng), Ph.D. atas

segala waktu dan kesempatan yang diberikan serta saran dan masukan kepada penulis.

3. Seluruh dosen, staff, dan keluarga besar Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia karena telah memberikan ilmu dan pengalaman berharga selama masa perkuliahan
4. Seluruh staff Laboratorium Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan ilmu, arahan serta masukan selama periode pengujian sampel.
5. Teman-teman mahasiswa Program Studi Teknik Lingkungan Angkatan 2021 yang telah memberikan bantuan selama masa perkuliahan.
6. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih memiliki banyak kekurangan, baik dari segi isi maupun penyajiannya. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan ke depan. Semoga laporan ini dapat memberikan manfaat, baik bagi penulis sendiri maupun bagi pembaca dan pengembangan ilmu pengetahuan di bidang Teknik Lingkungan.

Sleman, 29 Januari 2026

Annisa Muthmainnah

Potensi Ekstrak Enzim Kasar Oleh Jamur Pelapuk Putih Dengan Substrat Limbah Pertanian Sekam Padi

Mahasiswa	: Annisa Muthmainnah
NIM	: 21513172
Program Studi	: Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Pembimbing I	: Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.
Pembimbing II	: Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Abstrak

Enzim lakase merupakan enzim ligninolitik yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih dan memiliki kemampuan mengoksidasi senyawa aromatik kompleks, sehingga berpotensi dimanfaatkan dalam proses bioremediasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak enzim lakase yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih serta respons awal aplikasinya terhadap tanah tercemar Total Petroleum Hydrocarbon (TPH). Jamur pelapuk putih difermentasi pada media sekam padi yang diperkaya Potato Dextrose Broth (PDB) selama 14 hari pada suhu 30 °C dan kecepatan pengadukan 50 rpm. Aktivitas enzim lakase diukur menggunakan metode spektrofotometri dengan substrat ABTS pada beberapa waktu inkubasi. Data diperoleh melalui pengukuran aktivitas enzim (U/L) dan dianalisis secara deskriptif serta menggunakan uji statistik non-parametrik Chi-Square. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim pada perlakuan jamur cenderung lebih tinggi dibandingkan kontrol pada seluruh waktu pengamatan, dengan peningkatan aktivitas pada waktu inkubasi menengah hingga akhir. Namun, secara statistik perbedaan tersebut tidak signifikan. Ekstrak enzim lakase yang dihasilkan kemudian diaplikasikan pada tanah tercemar TPH dengan waktu inkubasi 3 jam, dan perubahan karakteristik hidrokarbon dianalisis menggunakan metode gravimetri. Analisis data dilakukan secara deskriptif dan komparatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih mampu menghasilkan ekstrak enzim lakase dengan aktivitas yang meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi. Aplikasi ekstrak enzim lakase menunjukkan adanya respons awal terhadap senyawa hidrokarbon, meskipun belum menunjukkan penurunan kadar TPH secara optimal dalam waktu inkubasi yang singkat. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak enzim lakase berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai agen bioremediasi berbasis enzim.

Kata kunci: Enzim lakase, jamur pelapuk putih, aktivitas enzim, bioremediasi, TPH.

Potential of Crude Enzyme Extraction by White Rot Fungi with Rice Husk Agricultural Waste Substrate

Student	: Annisa Muthaminnah
Student Number	: 21513172
Study Program	: Environmental Engineering – Bachelor Program
Supervisor I	*:* Annisa Nur Latifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.
Supervisor II	*:* Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Abstract

Laccase enzyme is a ligninolytic enzyme produced by white rot fungi and has the ability to oxidize complex aromatic compounds, so it has the potential to be used in the bioremediation process. This study aims to determine the activity of laccase enzyme extract produced by white rot fungi and the initial response of its application to soil contaminated with Total Petroleum Hydrocarbon (TPH). White rot fungi were fermented in rice husk media enriched with Potato Dextrose Broth (PDB) for 14 days at a temperature of 30 °C and a stirring speed of 50 rpm. Laccase enzyme activity was measured using a spectrophotometric method with ABTS substrate at several incubation times. Data were obtained through enzyme activity measurements (U/L) and analyzed descriptively and using the non-parametric Chi-Square statistical test. The results showed that enzyme activity in the fungal treatment tended to be higher than the control at all observation times, with an increase in activity at the middle to late incubation times. However, statistically the difference was not significant. The resulting laccase enzyme extract was then applied to TPH-contaminated soil with an incubation time of 3 hours, and changes in hydrocarbon characteristics were analyzed using a gravimetric method. Data analysis was carried out descriptively and comparatively. The results showed that white rot fungi were able to produce laccase enzyme extract with activity that increased with increasing incubation time. The application of the laccase enzyme extract showed an initial response to hydrocarbon compounds, although it did not show an optimal reduction in TPH levels in a short incubation time. This study indicates that the laccase enzyme extract has the potential to be further developed as an enzyme-based bioremediation agent.

Keywords: Laccase enzyme, white rot fungi, enzyme activity, bioremediation, TPH.

DAFTAR ISI

PRAKATA i
Abstrak iii
DAFTAR ISI v
DAFTAR TABEL vii
DAFTAR GAMBAR viii
DAFTAR LAMPIRAN ix
BAB I PENDAHULUAN 11
1.1 Latar Belakang 11
1.2 Rumusan Masalah 14
1.3 Tujuan Penelitian 15
1.4 Manfaat Penelitian 15
1.5 Ruang Lingkup 16
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 17
2.1 Sekam Padi sebagai Limbah Pertanian 17
2.1.1 Definisi dan Karakteristik Fisik Sekam Padi 17
2.1.2 Kandungan kimia Lignoselulosa 20
2.2 Jamur Pelapuk Putih 23
2.2.1 Klasifikasi Jamur Pelapuk Putih (*Phanerochaete chrysosporium*) 23
2.2.2 Siklus Hidup dan Morfologi 26
2.2.3 Mekanisme Degradasi Lignoselulosa 30
2.3 Ekstrak Enzim Kasar 33
2.4 Fermentasi Media Cair (Fermentasi Submerged Liquid) 37
2.4.1 Prinsip Fermentasi Media Cair 37
2.4.2 Faktor yang Mempengaruhi Produksi Enzim 38
2.5 Waktu Inkubasi dan Produksi Enzim 38
2.6 Analisis Aktivitas Enzim 39

2.7 Remediasi Tanah Tercemar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) 40
2.8 Studi Litelatur 41
BAB III METODE PENELITIAN 47
3.1 Tahapan Penelitian 47
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian 48
3.3 Alat dan Bahan 48
3.4 Prosedur Penelitian 51
3.4.1 Persiapan Substrat Sekam Padi 51
3.4.2 Isolat Jamur 52
3.4.3 Inokulasi dan Fermentasi 54
3.4.4 Ekstraksi Enzim Kasar 55
3.5 Analisis Hasil Aktivitas Enzim Lakase 56
3.6 Pengujian *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) 57
3.7 Metode Analisis Data 59
3.7.1 Analisis Statistik Deskriptif 59
3.7.2 Analisis Komperatif 60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 62
1.1 Penggunaan PDA dan PDB 62
1.2 Hasil pengukuran Aktivitas Enzim Kasar 64
1.3 Hasil Perhitungan Non-Parametrik 67
1.4 *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) 69
BAB V PENUTUP 72
5.1 Kesimpulan 72
5.2 Saran 72
DAFTAR PUSTAKA 74
LAMPIRAN 77
RIWAYAT HIDUP 82

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu 41

Tabel 3. 1 Alat dan Bahan..... 48

Tabel 4. 1 Hasil Absorbansi Aktivitas Enzim Lakase..... 64
Tabel 4. 2 Aktivitas Enzim Lakase pada Jamur Pelapuk Putih..... 65
Tabel 4. 3 Hasil Perhitungan Statistik Non-Parametrik..... 67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian..... 47
Gambar 3. 2 Proses Pengecilan Ukuran Sekam Padi 52
Gambar 3. 3 Media PDA..... 53
Gambar 3. 4 Inokulasi Jamur di Media PDB Setelah Beberapa Hari 55
Gambar 3. 5 Supernatan yang Telah di Tambahkan Larutan..... 57
Gambar 3. 6 Shaker Tanah Sesudah Perlakuan Enzim Lakase..... 59

Gambar 4. 1 Pertumbuhan Jamur pada Media PDA 62
Gambar 4. 2 Pertumbuhan Jamur pada Media PDB 63
Gambar 4. 3 Grafik Aktivitas Enzim Lakase pada Jamur Pelapuk Putih..... 65
Gambar 4. 4 Grafik Uji *Petroleum Hydrocarbon* 70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Proses Pembuatan Media PDA di LAF 77
Lampiran 2 Proses Penggerusan Jamur dari Media PDA 77
Lampiran 3 Proses Perendaman Sekam Padi 77
Lampiran 4 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 3 Hari 78
Lampiran 5 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 6 Hari 78
Lampiran 6 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 10 Hari 78
Lampiran 7 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 12 Hari 79
Lampiran 8 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 14 Hari 79
Lampiran 9 Suspensi Jamur di Sentrifugasi 79
Lampiran 10 Hasil Absorbansi 80
Lampiran 11 Proses Pengambilan Sampel Tanah di Bengkel Mobil 80
Lampiran 12 Grafik Pertumbuhan Enzim Lakase Selama Inkubasi 14 Hari 81
Lampiran 13 Perhitungan Statistik Non-Parametrik 81

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengolahan limbah pertanian secara berkelanjutan telah menjadi isu strategis dalam konteks pembangunan global, khususnya dalam upaya mitigasi perubahan iklim, konservasi lingkungan, dan pemenuhan kebutuhan sumber energi terbarukan. Saat ini, berbagai negara di dunia tengah menghadapi tantangan kompleks akibat meningkatnya produksi limbah organik, termasuk biomassa pertanian yang belum dikelola dengan baik. Permasalahan ini menjadi semakin penting mengingat sektor pertanian merupakan salah satu sektor produksi terbesar yang menghasilkan limbah dalam jumlah signifikan setiap tahunnya. Limbah pertanian, apabila tidak dikelola secara bijak dan berkelanjutan, tidak hanya menimbulkan masalah pada aspek lingkungan, tetapi juga berdampak pada aspek sosial dan ekonomi masyarakat. Oleh karena itu, pengelolaan limbah pertanian berbasis teknologi dan keberlanjutan menjadi bagian dari agenda penting dalam mendukung prinsip ekonomi sirkular dan pembangunan hijau (*Green Development*) di berbagai negara, termasuk Indonesia.

Di Indonesia, sektor pertanian menghasilkan biomassa dalam jumlah besar sebagai hasil samping proses produksi, khususnya dari komoditas padi. Produksi padi nasional yang mencapai lebih dari 50 juta ton per tahun berkontribusi terhadap tingginya volume limbah biomassa seperti jerami, sekam, dan dedak. Sekam padi sendiri mencapai sekitar 20% dari berat gabah kering giling, sehingga tersedia dalam jumlah melimpah dan berkelanjutan. Biomassa ini kaya akan komponen lignoselulosa yang berpotensi dimanfaatkan sebagai substrat dalam berbagai aplikasi bioteknologi, salah satunya untuk produksi enzim ligninolitik seperti lakase (Prawitasari, 2025).

Pemanfaatan biomassa pertanian di Indonesia masih belum optimal, karena sekam dan jerami padi umumnya dibakar secara terbuka sehingga

menimbulkan pencemaran dan menghilangkan potensi sumber karbon bernilai tambah. Oleh karena itu, pengembangan teknologi berbasis bioteknologi menjadi alternatif strategis untuk mengolah limbah lignoselulosa menjadi produk yang lebih bermanfaat. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan jamur pelapuk putih (*White Rot Fungi*) yang mampu mendegradasi lignoselulosa melalui produksi enzim ligninolitik. Metode ini lebih ramah lingkungan dibandingkan pendekatan fisik atau kimia, serta berpotensi menghasilkan produk bernilai ekonomi seperti enzim dan bioproduk lainnya (Isroi et al., 2011).

Jamur pelapuk putih yang termasuk dalam kelas *Basidiomycetes* dikenal memiliki kemampuan tinggi dalam mendegradasi senyawa lignin, yaitu senyawa kompleks yang menjadi bagian utama penyusun dinding sel tanaman bersama selulosa dan hemiselulosa. Kemampuan biokatalitik ini didukung oleh produksi enzim ligninolitik ekstraseluler yang meliputi *Laccase* (Lac), *Lignin Peroksidase* (LiP), dan *Mangan Peroksidase* (MnP). Ketiga jenis enzim ini memiliki mekanisme kerja berbeda dalam mengoksidasi, memecah, atau merombak struktur aromatik lignin, sehingga memungkinkan proses degradasi lignoselulosa berlangsung secara lebih efisien. Aktivitas enzim-enzim tersebut sangat dipengaruhi oleh kondisi pertumbuhan jamur seperti pH, suhu, ketersediaan nutrisi, serta jenis substrat lignoselulosa yang digunakan. Oleh karena itu, pemanfaatan jamur pelapuk putih sebagai agen biokonversi menjadi relevan untuk dikaji dalam konteks pengelolaan limbah pertanian, khususnya melalui pemanfaatan sekam padi yang tersedia dalam jumlah besar dan memiliki kandungan lignin yang cukup tinggi (Anita et al., 2011).

Lakase adalah enzim oksidase multitembaga yang berperan penting dalam oksidasi senyawa fenolik dan non-fenolik, sehingga berkontribusi besar dalam proses degradasi lignin dan berbagai senyawa aromatik. Di antara berbagai enzim ligninolitik yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih, enzim lakase memiliki keunggulan tersendiri karena relatif stabil, tidak memerlukan kofaktor tambahan seperti hidrogen peroksida, dan dapat bekerja

dalam berbagai kondisi lingkungan. Lakase diketahui memiliki banyak aplikasi selain peranannya dalam degradasi lignoselulosa. Ini dapat digunakan dalam bidang bioremediasi, pengolahan limbah industri, pulp dan kertas, tekstil, dan degradasi senyawa xenobiotik dan hidrokarbon. Lakase memiliki karakteristik yang membuatnya menjadi enzim ligninolitik yang paling banyak diteliti dan dikembangkan. Oleh karena itu, strategi yang relevan dan bernilai aplikatif tinggi adalah mengoptimalkan produksi lakase jamur pelapuk putih dengan memanfaatkan substrat murah dan melimpah seperti limbah pertanian (Anita et al., 2011).

Dalam konteks produksi enzim, penelitian ini menggunakan pendekatan produksi ekstrak enzim kasar (*crude enzyme extract*) tanpa dilakukan proses pemurnian lanjutan. Pemilihan ekstrak enzim kasar dilakukan karena proses pemurnian enzim pada umumnya memerlukan tahapan yang kompleks, peralatan khusus, waktu yang lebih panjang, serta biaya yang relatif tinggi. Hal tersebut menjadi kurang efisien apabila ditujukan untuk aplikasi skala luas, terutama dalam bidang bioremediasi atau pengolahan limbah yang membutuhkan volume enzim lebih besar. Meskipun tidak dimurnikan, ekstrak enzim kasar tetap menunjukkan aktivitas enzimatik yang baik dan mampu memberikan efektivitas biokatalitik yang memadai, sehingga dapat menjadi pilihan yang lebih ekonomis dan aplikatif dalam penelitian maupun penggunaan praktis yang berskala industri. Oleh karena itu, pemanfaatan ekstrak enzim kasar dari jamur pelapuk putih yang ditumbuhkan pada substrat limbah pertanian seperti sekam padi dinilai berpotensi untuk dikembangkan (Kardena dan Dewi, 2019).

Selain digunakan dalam pengolahan limbah lignoselulosa, enzim lakase juga memiliki banyak potensi dalam bidang bioremediasi, khususnya untuk menangani tanah tercemar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH). TPH adalah campuran kompleks senyawa hidrokarbon minyak bumi yang tetap, toksik, dan sulit terdegradasi secara alami di lingkungan tanah. Jika TPH ada dalam tanah, kualitas tanah dapat menurun, mengganggu aktivitas mikroorganisme, dan menyebabkan risiko terhadap kesehatan manusia nan

ekosistem. Enzim lakase diketahui memiliki kemampuan untuk mengoksidasi berbagai senyawa aromatik dan hidrokarbon kompleks melalui mekanisme reaksi oksidatif, yang berpotensi mempercepat degradasi komponen penyusun TPH. Penggunaan ekstrak enzim kasar lakase sebagai agen bioremediasi menarik karena dianggap lebih ramah lingkungan, efektif, dan dapat digunakan tanpa melibatkan organisme hidup secara langsung. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan penelitian tentang kemampuan ekstrak enzim lakase untuk menurunkan atau mendegradasi TPH pada tanah tercemar sebagai alternatif teknologi remediasi yang berkelanjutan (Effendi et al., 2021).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana ekstrak enzim kasar lakase yang dibuat oleh jamur pelapuk putih dapat digunakan sebagai agen bioremediasi untuk membersihkan tanah yang tercemar oleh *Hidrokarbon Total Petroleum* (TPH). Lakase adalah enzim oksidase multitembaga yang mampu mengkatalisis reaksi oksidasi senyawa aromatik dan hidrokarbon kompleks. Karena itu, enzim ini sangat penting dalam proses penghancuran senyawa pencemar minyak bumi. Karena kandungan lignin dan senyawa fenolik dalam sekam padi diketahui mampu menginduksi dan meningkatkan produksi enzim lakase oleh jamur pelapuk putih, ekstrak enzim lakase dibuat dengan memanfaatkan sekam padi sebagai substrat. Karena aktivitas lakase yang meningkat, diharapkan ekstrak enzim ini dapat membantu menurunkan kadar TPH di dalam tanah. Oleh karena itu, penelitian ini berfokus pada potensi enzim lakase sebagai agen utama dalam proses bioremediasi yang berkelanjutan dan ramah lingkungan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah yang dapat disusun adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana tingkat aktivitas enzim dalam ekstrak kasar yang dihasilkan?

2. Bagaimana pengaruh lama waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim dan kapan waktu optimal pencapaian aktivitas tertingginya?
3. Mengidentifikasi potensi ekstrak enzim untuk tanah tercemar TPH.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa tujuan yaitu :

1. Menganalisis tingkat aktivitas enzim pada ekstrak kasar yang dihasilkan.
2. Menentukan pengaruh waktu inkubasi terhadap produksi enzim serta menetapkan waktu inkubasi optimal untuk mencapai aktivitas enzim tertinggi.
3. Untuk mengidentifikasi potensi ekstrak enzim dalam menurunkan kadar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH).

1.4 Manfaat Penelitian

Berikut merupakan beberapa manfaat dari penelitian ini baik bagi mahasiswa dan universitas:

1. Mengurangi dampak pencemaran lingungan dengan mengolah limbah sekam padi menjadi produk bioteknologi yang bernilai tinggi.
2. Memberikan alternatif substrat yang murah dan melimpah untuk menghasilkan enzim, sehingga menekan biaya produksi dibandingkan media komersial.
3. Memberikan data ilmiah mengenai efektivitas Jamur Pelapuk Putih dalam mendegradasi komponen lignoselulosa pada sekam padi.
4. Menjadi acuan bagi industri berbasis bioproses dalam menggunakan ekstrak enzim kasar sebagai agen pengolah yang ramah lingkungan.
5. Memberikan informasi mengenai waktu panen enzim yang paling efisien melalui data durasi inkubasi optimal.
6. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak enzim kasar lakase yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih dalam mendegradasi senyawa *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) pada tanah tercemar.

7. Menjadi dasar pengembangan pemanfaatan enzim lakase sebagai agen bioremediasi alternatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan untuk penanganan pencemaran tanah oleh minyak bumi.
8. Mendukung upaya pengurangan dampak pencemaran lingkungan dengan menyediakan pendekatan remediasi yang lebih aman terhadap ekosistem tanah.

1.5 Ruang Lingkup

Batasan masalah yang akan ditinjau dalam penelitian ini yaitu :

1. Limbah pertanian yang digunakan terbatas pada sekam padi yang diperoleh dari penggilingan padi daerah Kecamatan Kecong, Jawa barat.
2. Jenis jamur pelapuk putih (JPP) yang digunakan adalah Phanerocthaete chrysosporium.
3. Enzim yang diambil adalah ekstrak enzim kasar (*crude enzyme*) yang diperoleh melalui proses ekstraksi sederhana tanpa pemurnian lebih lanjut.
4. Pengujian aktivitas enzim difokuskan pada enzim *Laccase* (Lac).
5. Waktu inkubasi yang diamati dibatasi pada rentang waktu 14 hari dengan interval pengambilan sample setiap 3 hari.
6. Sampel tanah tercemar yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari area bengkel mobil yang berlokasi di wilayah Umbulmartani, Kecamatan Ngemplak, Kabupaten Sleman.
7. Waktu inkubasi tanah tercemar dengan ekstrak enzim lakase dalam penelitian ini ditetapkan selama 3 jam.
8. Penelitian dilaksanakan dalam skala laboratorium dengan kondisi lingkungan yang terkontrol, meliputi suhu, dan kondisi inkubasi, guna meminimalkan pengaruh faktor eksternal terhadap hasil penelitian.

.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sekam Padi sebagai Limbah Pertanian

2.1.1 Definisi dan Karakteristik Fisik Sekam Padi

Sekam padi merupakan lapisan kulit luar yang menyelimuti biji padi dan terpisah pada tahap penggilingan gabah kering, sehingga muncul sebagai material sisa yang umumnya dikategorikan sebagai limbah biomassa. Secara fisik, sekam padi merupakan material lignoselulosa yang kompleks dan tersusun atas beberapa komponen penyusun utama, yaitu selulosa, hemiselulosa, lignin, serta kandungan silika yang relatif tinggi jika dibandingkan dengan biomassa pertanian lainnya. Komposisi kimia tersebut memberikan sekam padi karakteristik yang unik, baik dari segi struktur, sifat fisik, maupun sifat kimianya. Selain itu, sekam padi memiliki berat jenis yang rendah, struktur berpori, dan tingkat kelembapan serta kadar abu tertentu yang memengaruhi cara pemanfaatannya dalam berbagai aplikasi industri maupun bioteknologi. Kandungan silika yang cukup tinggi dalam sekam padi juga menyebabkan sifat hidrofobis dan kestabilan fisik tertentu yang berbeda dengan biomassa lignoselulosa lain, serta memberikan tantangan tersendiri dalam proses pengolahan atau konversi biomassa lebih lanjut, khususnya dalam proses biokonversi berbasis enzim atau mikroorganisme (Morimoto et al., 2023).

Limbah sekam padi dihasilkan melalui proses penggilingan padi atau gabah kering giling. Dalam proses tersebut, biji padi dipisahkan dari lapisan sekam untuk menghasilkan beras sebagai produk utama. Data menunjukkan bahwa sekitar 22–23% dari berat gabah awal merupakan sekam padi. Dengan demikian, hampir seperempat dari total bobot gabah berubah menjadi limbah sekam setelah proses penggilingan selesai. Jumlah yang signifikan ini menunjukkan bahwa sekam padi merupakan sumber biomassa yang melimpah dan memiliki potensi pemanfaatan tinggi dalam berbagai bidang. Ketersediaan sekam padi yang besar tersebut dapat menjadi peluang untuk

dimanfaatkan secara lebih efektif, termasuk sebagai bahan baku dalam produksi enzim, material biokomposit, pupuk organik, sumber energi biomassa, atau media dalam berbagai aplikasi bioteknologi (Oyediran & Fadamoro, 2015).

Secara struktur, sekam padi memiliki karakteristik fisik yang khas berupa tekstur yang kasar, ringan, serta struktur internal yang berpori. Karakteristik ini dipengaruhi oleh komposisi lignoselulosa dan tingginya kandungan silika yang terdistribusi pada permukaan maupun bagian dalam material biomassa tersebut. Struktur berpori dan densitas rendah membuat sekam padi bersifat hidrofobis serta relatif tahan terhadap proses degradasi alami apabila dibandingkan dengan limbah pertanian lainnya seperti jerami atau dedak. Hal ini disebabkan oleh ikatan serat lignoselulosa dan partikel mineral (silika) yang cukup kuat, sehingga menyebabkan proses biodegradasi oleh mikroorganisme berlangsung relatif lambat tanpa adanya perlakuan awal (*pretreatment*). Oleh karena itu, ketika sekam padi dimanfaatkan sebagai substrat dalam aplikasi bioteknologi atau teknik konversi biomassa, karakteristika fisik tersebut perlu dipertimbangkan karena akan mempengaruhi interaksi antara enzim atau mikroorganisme dengan permukaan biomassa.

Penelitian mikroskopis terhadap struktur permukaan sekam padi menunjukkan bahwa material ini memiliki morfologi permukaan dengan pori dan celah tertentu yang dipenuhi oleh struktur amorf silika. Silika pada sekam padi dapat berbentuk silika amorf dan sebagian kecil berbentuk kristalin, tergantung pada metode perlakuan termal dan kondisi pertumbuhan padi. Sifat fisik yang ringan dan stabil secara mekanik menjadikan sekam padi cukup tahan terhadap serangan biologis maupun kimia, sehingga sering dikategorikan sebagai biomassa yang sulit diproses tanpa perlakuan pendahuluan (Morimoto et al., 2023). Namun demikian, karakter inilah yang justru memberikan nilai tambah dalam aplikasi tertentu, misalnya sebagai bahan penguat komposit, bahan isolator termal, atau sumber silika industri.

Komposisi kimia sekam padi umumnya berkisar antara 30–50% selulosa, 15–25% hemiselulosa, 15–25% lignin, serta abu berkisar 15–20% yang sebagian besar berupa silika. Perbedaan komposisi dapat dipengaruhi oleh varietas padi, kondisi pertumbuhan, metode penggilingan, hingga proses pascapanen. Selulosa sebagai komponen penyusun utama merupakan polisakarida berantai panjang yang berperan membentuk struktur serat. Hemiselulosa terdiri dari polisakarida bercabang yang lebih mudah terdegradasi dibandingkan selulosa, sementara lignin adalah polimer aromatik kompleks yang berfungsi memberikan kekuatan struktural dan ketahanan biologis terhadap degradasi mikroba. Kandungan lignin inilah yang menyebabkan sekam padi termasuk biomassa yang relatif resisten terhadap pemrosesan biologis, sehingga memerlukan perlakuan awal tertentu untuk memecah struktur lignin dan meningkatkan aksesibilitas selulosa (Prasad et al., 2018).

Selain digunakan sebagai bahan bioteknologi, sekam padi juga telah dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri. Dalam sektor energi, sekam padi digunakan sebagai bahan bakar biomassa melalui proses pembakaran langsung maupun konversi menjadi arang sekam, briket, atau biochar. Biochar dari sekam padi memiliki kemampuan meningkatkan kualitas tanah dan retensi air, sehingga digunakan dalam pertanian. Pada sektor industri, silika dari sekam padi dapat dimanfaatkan sebagai bahan aditif, bahan penyerap, maupun bahan baku dalam pembuatan katalis, keramik, dan material bangunan. Di bidang lingkungan, sekam padi telah diteliti sebagai bahan adsorben untuk pengolahan air limbah karena strukturnya yang poros dan kaya gugus fungsi. Hal ini menunjukkan bahwa sekam padi memiliki fleksibilitas pemanfaatan yang luas dan tidak hanya terbatas pada fungsi tradisional seperti bahan bakar biomassa skala rumah tangga.

Dalam konteks bioteknologi enzim, sekam padi menjadi salah satu substrat yang potensial untuk digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Kandungan lignin dan fenolik pada sekam padi diketahui mampu menginduksi produksi enzim ligninolitik, terutama oleh kelompok

mikroorganisme seperti jamur pelapuk putih. Karakter ini menjadikan sekam padi menarik untuk diteliti dalam produksi enzim seperti lakase, mangan peroksidase, dan lignin peroksidase. Selain itu, struktur berpori sekam padi dapat berfungsi sebagai permukaan kolonisasi bagi hifa jamur sepanjang proses fermentasi. Meskipun demikian, resistensi sekam padi terhadap degradasi menyebabkan beberapa penelitian menggunakan metode pretreatment fisik, kimia, atau biologis untuk meningkatkan efisiensi produksi enzim.

2.1.2 Kandungan kimia Lignoselulosa

Sekam padi merupakan biomassa berbasis lignoselulosa yang tersusun atas tiga komponen utama, yakni selulosa, hemiselulosa, dan lignin, yang secara bersama membentuk struktur dinding sel (Malik et al., 2024). Biomassa lignoselulosa seperti sekam padi umumnya berasal dari limbah pertanian dan perkebunan yang melimpah, namun memiliki nilai strategis dalam penelitian bioteknologi karena komponen kimia penyusunnya dapat dimanfaatkan sebagai substrat dalam proses biokonversi, fermentasi, maupun produksi enzim. Dalam konteks pertanian, sekam padi dihasilkan selama proses penggilingan gabah dan jumlahnya cukup besar mengingat lahan sawah di Indonesia sangat luas, sehingga potensi pemanfaatannya dalam bidang ilmu hayati dan teknologi dinilai relevan untuk dikembangkan. Struktur lignoselulosa pada sekam padi juga menentukan sifat fisik dan kimia dari biomassa tersebut, termasuk kelarutan, porositas, reaktivitas, dan ketahanan terhadap serangan biologi, sehingga pengetahuan mengenai komposisi sekam padi menjadi penting dalam merancang metode pemanfaatan yang sesuai.

a. Selulosa merupakan polimer glukosa linear yang tersusun oleh ikatan β-1,4-glikosidik dan menjadi komponen utama penyusun dinding sel sekam padi. Senyawa ini berperan sebagai sumber karbon utama bagi jamur, karena dapat dimanfaatkan dalam proses metabolisme untuk pertumbuhan dan produksi enzim. Selulosa tersusun dalam bentuk mikrofibril yang tersusun rapi dan kristalin, sehingga memberikan

kekuatan dan stabilitas terhadap tekanan mekanik. Dalam skala molekuler, rantai polimer selulosa memiliki derajat polimerisasi yang tinggi, dan ikatan hidrogen internal yang kuat menjadikan struktur ini relatif sulit dipecah secara alami tanpa bantuan enzim atau perlakuan kimia. Kondisi ini penting diketahui terutama dalam kajian yang melibatkan proses biodegradasi lignoselulosa. Berdasarkan analisis komposisi kimia, kandungan selulosa pada sekam padi dilaporkan berada pada kisaran 25–40%, menunjukkan potensi tinggi sekam padi sebagai substrat biologis. Kandungan selulosa yang relatif tinggi ini menjadikan sekam padi dapat digunakan sebagai sumber karbon untuk mikroorganisme, termasuk jamur pelapuk putih yang mampu menghasilkan berbagai jenis enzim ekstraseluler. Dalam konteks proses bioteknologi, selulosa tidak hanya berfungsi sebagai sumber nutrisi, tetapi juga dapat menjadi faktor pemicu aktivitas enzim spesifik karena struktur lignoselulosa yang kompleks memerlukan serangkaian enzim untuk dapat terdegradasi dengan optimal.

b. Hemiselulosa merupakan polisakarida heterogen yang tersusun dari berbagai unit gula seperti xilosa, arabinosa, dan mannosa, dengan struktur yang lebih amorf dibandingkan selulosa. Hemiselulosa berfungsi mengisi celah antara serat selulosa dan lignin, sehingga berperan dalam memperkuat struktur dinding sel tanaman. Tidak seperti selulosa yang memiliki struktur linear dan kristalin, hemiselulosa memiliki struktur bercabang yang lebih mudah larut dan lebih cepat mengalami hidrolisis baik secara kimia maupun biologis. Kandungan hemiselulosa dalam sekam padi umumnya berada pada kisaran 20–25%, dan relatif lebih mudah terdegradasi dibandingkan selulosa. Hal ini menjadikan hemiselulosa sebagai salah satu komponen yang lebih dahulu dihidrolisis dalam proses biodegradasi lignoselulosa. Dalam konteks fermentasi dan biokonversi, hemiselulosa dapat menjadi sumber gula pentosa dan heksosa yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme tertentu. Selain itu, peran hemiselulosa dalam memperkuat jaringan lignoselulosa

berimplikasi pada bagaimana proses pretreatment dilakukan, karena penghilangan hemiselulosa dapat meningkatkan aksesibilitas selulosa terhadap enzim selulase.

c. Lignin merupakan senyawa aromatik kompleks yang bersifat hidrofobik dan berfungsi sebagai pengikat serat selulosa dan hemiselulosa dalam struktur lignoselulosa sekam padi. Keberadaan lignin memberikan kekuatan mekanik dan ketahanan terhadap degradasi biologis, sehingga menjadikannya komponen yang paling sulit diurai secara alami. Struktur lignin terdiri dari unit fenilpropanoid yang membentuk jaringan tiga dimensi yang tidak beraturan, sehingga lignin bersifat sangat resisten terhadap serangan enzimatik dan kimia. Kandungan lignin pada sekam padi dilaporkan berada pada kisaran 15–30%, menjadikannya target utama degradasi oleh enzim ligninolitik yang dihasilkan jamur pelapuk putih. Enzim ligninolitik seperti laccase, mangan peroksidase, dan lignin peroksidase merupakan enzim kunci dalam proses degradasi lignin, khususnya dalam sistem biodegradasi yang melibatkan jamur *Basidiomycota*. Degradasi lignin menjadi penting karena struktur lignin yang kompleks dapat menghalangi akses enzim lain terhadap selulosa dan hemiselulosa, sehingga proses pembongkaran lignoselulosa secara keseluruhan seringkali bergantung pada efektivitas enzim ligninolitik dalam memecah struktur aromatik lignin.

Komposisi lignoselulosa sekam padi didominasi oleh selulosa, hemiselulosa, dan lignin dengan proporsi yang bervariasi. Kandungan selulosa pada umumnya berkisar 25-40%, hemiselulosa sekitar 20-25%, dan lignin berada pada kisaran 15-30%. Variasi ini dapat disebabkan oleh faktor agronomis seperti varietas padi, kondisi tanah, suhu, kelembapan lingkungan, metode budidaya, serta proses penggilingan dan perlakuan pascapanen. Analisis komposisi menunjukkan bahwa sekam padi mengandung sekitar 38,64% selulosa, 21,07% hemiselulosa, dan 17,21% lignin, yang menegaskan karakter sekam padi sebagai biomassa lignoselulosa yang potensial dimanfaatkan sebagai substrat penelitian bioteknologi (Malik et al., 2024).

Dengan komposisi tersebut, sekam padi berpotensi digunakan dalam penelitian yang melibatkan proses biodegradasi lignoselulosa, biokonversi biomassa menjadi bioenergi, atau produksi enzim oleh mikroorganisme. Keberadaan lignin sebagai komponen struktural utama juga menjadikan sekam padi relevan dalam penelitian enzim ligninolitik, terutama yang terkait dengan jamur pelapuk putih yang mampu mendegradasi lignin melalui sistem enzimatik yang kompleks. Oleh karena itu, sekam padi memiliki nilai aplikatif tinggi dalam bidang teknologi lingkungan, mikrobiologi industri, serta bioproses berbasis biomassa terbarukan.

2.2 Jamur Pelapuk Putih

2.2.1 Klasifikasi Jamur Pelapuk Putih (*Phanerochaete chrysosporium*)

Phanerochaete chrysosporium merupakan salah satu spesies jamur pelapuk putih (white rot fungi) yang berperan penting dalam proses dekomposisi kayu di alam. Jamur ini umumnya ditemukan tumbuh secara saprofit pada kayu mati, batang lapuk, dan serpihan kayu, di mana ia memanfaatkan komponen lignoselulosa sebagai sumber nutrisi. Kemampuannya dalam mendegradasi lignin menjadikan Phanerochaete chrysosporium sebagai organisme yang banyak diteliti dalam bidang bioteknologi dan bioremediasi. Secara taksonomi, jamur ini diklasifikasikan ke dalam filum *Basidiomycota*, kelas *Agaricomycetes*, ordo *Polyporales*, famili *Phanerochaetaceae*, genus *Phanerochaete*, dengan spesies *Phanerochaete chrysosporium* (Sari, 2018).

Phanerochaete chrysosporium serta anggota genus *Phanerochaete* umumnya dijumpai tumbuh pada material kayu mati, serpihan kayu, dan sisa serasah di lingkungan hutan dan vegetasi alami. Jamur ini merupakan organisme saprofitik yang memperoleh nutrisi dengan cara menguraikan komponen lignoselulosa pada jaringan kayu, sehingga berperan penting dalam siklus dekomposisi bahan organik di alam. Habitat alaminya mencakup hutan tropis maupun beriklim sedang, di mana jamur pelapuk putih ini berkembang pada berbagai jenis substrat kayu. Dalam kajian ekologi, spesies *Phanerochaete* sering dikaitkan dengan proses pelapukan putih (*white rot*

decay), yaitu mekanisme pelapukan kayu yang ditandai oleh degradasi lignin secara dominan, baik pada pohon berkayu keras (*hardwoods*) maupun berkayu lunak (*softwoods*) (Suzuki et al., 2012).

Peran ekologis *Phanerochaete chrysosporium* di alam sangat signifikan, sebab organisme ini mampu mendegradasi salah satu senyawa penyusun tumbuhan yang paling kompleks dan resisten terhadap pembusukan, yaitu lignin. Senyawa lignin merupakan komponen aromatik kompleks yang memberikan kekuatan struktural pada dinding sel tumbuhan, namun sifatnya yang recalcitrant menyebabkan lignin sulit terurai secara biologis oleh sebagian besar mikroorganisme. *Phanerochaete chrysosporium* menunjukkan keunggulan fisiologis dalam menangani kendala tersebut melalui produksi enzim ligninolitik. Enzim-enzim tersebut bertanggung jawab dalam pemutusan ikatan aromatik pada lignin yang selanjutnya akan membuka akses bagi mikroorganisme lain untuk memanfaatkan selulosa dan hemiselulosa di dalam kayu. Dengan demikian, keberadaan jamur ini memfasilitasi perubahan biomassa lignoselulosa menjadi senyawa organik yang lebih sederhana yang dapat diserap kembali dalam siklus nutrisi ekosistem.

Secara fisiologis, *Phanerochaete chrysosporium* diketahui menghasilkan sistem enzim ligninolitik yang sangat kuat, terutama *lignin peroksidase* (LiP) *dan mangan peroksidase* (MnP). Kedua enzim tersebut merupakan komponen utama dalam sistem degradasi lignin secara oksidatif melalui mekanisme radikal bebas. Aktivitas enzimatik ini umumnya terinduksi dalam kondisi lingkungan tertentu, seperti keterbatasan nitrogen dan ketersediaan oksigen yang memadai. Kondisi keterbatasan nutrisi, khususnya nitrogen, diketahui memicu jamur pelapuk putih untuk mengalihkan metabolisme dari pertumbuhan vegetatif menuju produksi enzim sekunder yang berfungsi dalam memperoleh sumber karbon dari lignin. Fenomena tersebut menjadi salah satu alasan mengapa *Phanerochaete chrysosporium* banyak dikembangkan dalam penelitian bioteknologi, baik dalam skala kultur cair, fermentasi padat, maupun sistem reaktor biologi.

Selain adaptasi fisiologisnya yang unik, karakter genetik *Phanerochaete chrysosporium* juga menjadi perhatian ilmiah karena memiliki gen-gen pengkode enzim ligninolitik dalam jumlah signifikan. Analisis genom menunjukkan adanya regulasi kompleks terhadap gen penghasil LiP dan MnP yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, konsentrasi ion logam, serta ketersediaan karbon dan nitrogen. Sebagai contoh, ion mangan (Mn^{2+}) diketahui menjadi kofaktor penting dalam produksi MnP, sehingga pemberian mangan dalam medium kultur dapat meningkatkan aktivitas enzim dan mempercepat proses biodegradasi lignin. Hal ini menjadikan jamur ini sebagai model biologis dalam pengembangan teknologi pengolahan biomassa lignoselulosa dan konversi bahan alami menjadi senyawa penting secara industri.

Dalam bidang bioteknologi lingkungan, *Phanerochaete chrysosporium* mendapat perhatian luas sebagai agen bioremediasi yang potensial. Kemampuannya dalam mendegradasi lignin yang kompleks juga berhubungan erat dengan kemampuannya mendegradasi berbagai polutan organik persisten (*persistent organic pollutants*/POPs), termasuk hidrokarbon aromatik polisiklik (PAHs), pestisida, zat pewarna industri, dan senyawa xenobiotik lainnya. Senyawa-senyawa tersebut umumnya sulit terurai dan dapat mencemari lingkungan dalam jangka panjang. Sistem enzimatik *Phanerochaete chrysosporium* memungkinkan terjadinya oksidasi non-spesifik terhadap senyawa aromatik beracun, sehingga mempercepat proses detoksifikasi di lingkungan. Oleh karena itu, jamur ini banyak digunakan dalam penelitian yang berkaitan dengan bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi, limbah tekstil, limbah pestisida, serta limbah kayu dari industri pulp dan kertas.

Selain aspek bioremediasi, *Phanerochaete chrysosporium* juga memiliki potensi dalam bidang bioenergi dan biokonversi biomassa. Biomassa lignoselulosa dari limbah pertanian dan kehutanan dapat diolah menggunakan jamur pelapuk putih untuk meningkatkan ketersediaan selulosa melalui pra-perlakuan biologi (*biological pretreatment*). Dengan terdegradasinya lignin

secara selektif, struktur dinding sel tanaman menjadi lebih terbuka sehingga proses hidrolisis enzimatik selulosa dapat berlangsung lebih efisien untuk tujuan produksi bioetanol. Metode pra-perlakuan berbasis jamur pelapuk putih dinilai lebih ramah lingkungan dibanding metode kimia atau fisika, karena tidak menghasilkan polutan berbahaya dan membutuhkan energi yang rendah. Hal ini menjadikan *P. chrysosporium* sebagai salah satu organisme kandidat dalam pengembangan teknologi energi terbarukan.

Dari sudut pandang kultur dan laboratorium *Phanerochaete chrysosporium* umumnya dapat tumbuh pada berbagai media nutrisi baik padat maupun cair. Medium yang sering digunakan antara lain *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk tujuan pemeliharaan kultur, serta medium fermentasi berbasis glukosa atau lignoselulosa untuk tujuan produksi enzim. Suhu optimum pertumbuhan jamur ini berkisar antara 30–39°C, dengan rentang pH relatif luas namun lebih efektif pada kondisi sedikit asam hingga netral. Sebagai jamur aerob, ketersediaan oksigen menjadi faktor kunci dalam proses degradasi lignin, sehingga kondisi kultur perlu dijaga agar tidak terjadi anaerobiosis. Faktor-faktor tersebut turut menentukan keberhasilan pemanfaatan *P. chrysosporium* dalam penelitian maupun aplikasi industri.

Dengan berbagai karakteristik tersebut, *Phanerochaete chrysosporium* dapat dikatakan sebagai organisme model dalam studi ligninolitik dan biodegradasi lignin. Selain karena kemampuan enzimatiknya, jamur ini juga tersedia luas di alam dan dapat dikultivasi dengan mudah dalam berbagai kondisi eksperimental. Hingga saat ini, penelitian mengenai jamur pelapuk putih terus berkembang menuju aplikasi yang lebih luas seperti produksi biokatalis, pengolahan limbah cair berwarna, pengolahan limbah kayu, serta pemulihan lahan tercemar. Ketersediaan informasi ilmiah yang semakin banyak juga mendukung proses domestikasi jamur ini untuk tujuan bioteknologi skala industri di masa depan.

2.2.2 Siklus Hidup dan Morfologi

Miselium jamur pelapuk putih seperti *Phanerochaete chrysosporium* terdiri dari hifa bercabang yang aktif menembus jaringan substrat padat, baik

pada media kayu maupun limbah lignoselulosa lainnya. Hifa ini secara mekanis dan kimiawi mengkolonisasi substrat dengan menghasilkan enzim ekstraseluler yang berfungsi menguraikan komponen kompleks seperti lignin, selulosa, dan hemiselulosa menjadi molekul yang lebih sederhana. Studi proteomik menunjukkan bahwa *Phanerochaete chrysosporium* mensekresikan berbagai enzim hidrolitik dan oksidatif pada permukaan substrat untuk memecah struktur dinding sel tanaman, memungkinkan produk degradasi tersebut diserap oleh jamur sebagai sumber nutrisi selama pertumbuhan (Sato et al., 2007).

Dalam sistem pertumbuhan jamur, miselium memegang peran yang sangat fundamental. Miselium merupakan jaringan vegetatif jamur yang tersusun atas kumpulan hifa bercabang berbentuk benang-benang halus yang menyebar dan berinteraksi langsung dengan substrat. Hifa berperan sebagai unit dasar pertumbuhan jamur, dengan ujung hifa yang aktif mengalami pertumbuhan apikal sehingga mampu memanjang, menjelajah, dan menembus substrat padat seperti jaringan kayu atau bahan lignoselulosa. Pertumbuhan apikal ini dikenal dengan istilah *apical growth*, yaitu pertumbuhan yang hanya terjadi pada ujung hifa, sehingga arah kolonisasi jamur sangat bergantung pada kemampuan ujung hifa dalam merespons kondisi lingkungan.

Kemampuan penetrasi ini didukung oleh morfologi hifa yang tipis, bercabang, dan memiliki kekuatan mekanik yang memadai, memungkinkan jamur mengakses celah serta rongga dalam substrat. Pada kayu atau limbah lignoselulosa, pori-pori dan rongga interseluler menjadi jalur masuk hifa untuk memperluas area kolonisasi. Struktur miselium yang luas dan bercabang tersebut memberikan luas permukaan kontak yang besar, sehingga meningkatkan efisiensi jamur dalam menyerap nutrisi dari lingkungan sekitarnya (Sato et al., 2007). Semakin besar jaringan hifa yang terbentuk, semakin besar kemampuan jamur dalam mengeksplorasi substrat dan menguasai sumber nutrisi.

Secara fisiologis, miselium tidak hanya berfungsi sebagai sistem penyerap nutrisi, tetapi juga sebagai sistem distribusi internal. Hifa memiliki lumen sentral yang memungkinkan terjadinya transport nutrisi melalui mekanisme aliran sitoplasma (*cytoplasmic streaming*). Proses ini merupakan mekanisme transport internal yang memindahkan molekul hasil degradasi dari ujung hifa menuju bagian lain miselium sehingga kebutuhan energi dapat dipenuhi secara merata. Hal ini penting terutama pada jamur pelapuk putih yang tumbuh pada substrat padat dan minim nutrisi terlarut.

Jamur memperoleh nutrisi dari substrat dengan cara mensekresikan enzim ekstraseluler ke lingkungan luar selnya. Enzim-enzim ini bekerja di luar dinding sel untuk menguraikan makromolekul kompleks (seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, protein) menjadi molekul yang lebih sederhana (misalnya gula, asam amino) yang dapat diserap oleh hifa jamur. Produk hasil degradasi tersebut kemudian masuk ke dalam sel jamur melalui difusi atau transport aktif melintasi dinding sel (Takano et al., 2009). Dengan cara ini, jamur berbeda dengan organisme *heterotrof* lain seperti hewan yang melakukan pencernaan secara internal, karena jamur melakukan pencernaan secara eksternal (*external digestion*).

Pada jamur pelapuk putih, sekresi enzim ekstraseluler bukan hanya terbatas pada enzim hidrolitik seperti selulase dan hemiselulase, tetapi juga enzim oksidatif kompleks yang mampu memutus ikatan aromatik lignin. Sistem enzim ini meliputi lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase, yang keseluruhannya berperan dalam sistem degradasi lignin non-spesifik. Keberadaan enzim-enzim ini menjadikan jamur pelapuk putih seperti *P. chrysosporium* sebagai organisme yang unik karena mampu mendegradasi lignin secara efisien, sesuatu yang tidak dapat dilakukan oleh mikroorganisme lain secara efektif.

Selain itu, interaksi antara hifa dan substrat tidak hanya bersifat kimiawi, tetapi juga fisik. Hifa memiliki kemampuan menghasilkan tekanan mekanik pada ujung pertumbuhannya (*hyphal tip pressure*), yang memungkinkannya menembus struktur padat seperti dinding sel kayu. Tekanan internal pada

ujung hifa dapat mencapai nilai yang tinggi, mendukung daya penetrasi melalui celah mikroskopis pada substrat. Adaptasi mekanik ini dipadukan dengan sekresi enzim yang melemahkan struktur lignoselulosa sehingga penetrasi menjadi lebih mudah dan efisien.

Pertumbuhan miselium juga sangat dipengaruhi faktor lingkungan seperti kelembapan, suhu, pH, aerasi, serta ketersediaan nutrisi anorganik. Jamur pelapuk putih umumnya merupakan organisme aerob obligat, sehingga ketersediaan oksigen menjadi faktor penting dalam merangsang produksi enzim ligninolitik. Selain itu, keterbatasan nitrogen pada substrat diketahui menyebabkan induksi enzim oksidatif pada *P. chrysosporium*, sehingga mekanisme pertumbuhan jamur ini dapat dimodulasi melalui manipulasi nutrisi. Hal ini telah dimanfaatkan dalam penelitian fermentasi untuk meningkatkan produksi enzim ligninolitik guna aplikasi industri maupun bioremediasi.

Dalam konteks biokonversi biomassa lignoselulosa, miselium jamur pelapuk putih berperan sebagai sistem pra-perlakuan biologis (*biological pretreatment*). Dengan adanya jaringan hifa yang mengurai lignin secara selektif, struktur dinding sel tanaman menjadi lebih terbuka, sehingga mempermudah akses enzim selulase dalam proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa. Metode ini dinilai lebih ramah lingkungan dibandingkan metode kimia atau fisika karena tidak memerlukan bahan kimia keras maupun energi tinggi.

Secara keseluruhan, keberadaan miselium sebagai struktur vegetatif jamur pelapuk putih memiliki peranan multidimensi, mulai dari kolonisasi substrat, pencernaan eksternal, penyerapan nutrisi, hingga transport internal. Sifat-sifat ini menjadi landasan biologis bagi kemampuan jamur pelapuk putih dalam mendegradasi lignin dan biomassa lignoselulosa, sehingga menjadikannya objek penelitian penting dalam bidang mikologi, bioteknologi, dan bioremediasi.

2.2.3 Mekanisme Degradasi Lignoselulosa

Jamur pelapuk putih seperti *Phanerochaete chrysosporium* memiliki kemampuan unik dalam degradasi lignoselulosa, terutama lignin, sehingga disebut white rot fungi karena setelah lignin terurai hampir lengkap, residu yang tertinggal tampak berwarna putih akibat dominasi selulosa dan hemiselulosa yang lebih mudah terdegradasi. Berbeda dengan jamur lain, *white-rot fungi* dapat menguraikan lignin secara lengkap melalui sekresi berbagai enzim oksidatif ekstraseluler seperti lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan laccase yang mampu mengoksidasi struktur aromatik kompleks lignin (Jin et al., 2021).

Dalam mekanisme ini, enzim seperti lignin peroksidase juga dapat menghasilkan radikal bebas, termasuk radikal hidroksil, yang ikut memecah ikatan aromatik dalam lignin sehingga mempercepat degradasinya. Secara umum, *white-rot fungi* menggunakan kombinasi reaksi oksidatif dan peroksidatif untuk memanfaatkan lignin sebagai sumber karbon pada kondisi tertentu, yang menjelaskan kemampuan ekologisnya dalam siklus karbon alami (Camarero et al., 2014). Jamur pelapuk putih seperti *Phanerochaete chrysosporium* memiliki kemampuan unik dalam degradasi lignoselulosa, terutama lignin, sehingga disebut white rot fungi karena setelah lignin terurai hampir lengkap, residu yang tertinggal tampak berwarna putih akibat dominasi selulosa dan hemiselulosa yang lebih mudah terdegradasi. Berbeda dengan jenis pelapukan lain seperti *brown rot* dan *soft rot*, kelompok *white rot fungi* melakukan degradasi lignin secara lebih menyeluruh dan tidak meninggalkan struktur lignin yang resisten dalam jumlah signifikan. Hal ini membuat *white rot fungi* dikategorikan sebagai mikroorganisme dengan kemampuan ligninolitik tertinggi di alam. Secara ekologis, peran ini sangat penting karena lignin adalah senyawa aromatik kompleks yang berfungsi sebagai pengikat dan pelindung jaringan tanaman, sehingga sifatnya cenderung sulit terdegradasi dan menjadi komponen yang paling tahan terhadap pelapukan alami pada biomassa lignoselulosa.

Kemampuan jamur pelapuk putih dalam menguraikan lignin berhubungan dengan sistem enzimatik yang sangat khas, di mana jamur ini mensekresikan enzim-enzim oksidatif ekstraseluler seperti lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan laccase yang mampu mengoksidasi struktur aromatik kompleks lignin (Jin et al., 2021). Enzim lignin peroksidase (*lignin peroxidase*, LiP) berperan dalam memutus ikatan C–C dan C–O pada struktur aromatik lignin melalui mekanisme berbasis radikal. Sementara itu, mangan peroksidase (*manganese peroxidase*, MnP) menggunakan ion mangan sebagai mediator untuk membentuk radikal fenolik yang selanjutnya merusak struktur lignin. Sedangkan *laccase* bekerja melalui mekanisme oksidasi menggunakan oksigen molekuler sebagai akseptor elektron. Kombinasi dari berbagai enzim ini memberikan fleksibilitas tinggi pada jamur pelapuk putih dalam melakukan degradasi lignin di berbagai kondisi lingkungan. Keunikan sistem enzimatik ini menjadikan jamur pelapuk putih sebagai organisme model dalam penelitian bioremediasi, biokonversi biomassa, biosintesis bahan kimia, hingga pengolahan limbah industri. Dalam berbagai studi, *white rot fungi* terbukti memiliki kemampuan mendegradasi senyawa aromatik xenobiotik seperti polutan hidrokarbon polisiklik aromatik (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*, PAHs), zat warna sintetik, pestisida, dan senyawa kimia kompleks lainnya yang sulit didegradasi oleh mikroorganisme konvensional. Hal ini menunjukkan bahwa sistem degradasi lignin pada *white rot fungi* bersifat non-spesifik, sehingga dapat diarahkan untuk mendegradasi struktur aromatik selain lignin, menjadikannya kandidat unggul dalam sektor bioteknologi lingkungan.

Dalam mekanisme ini, enzim seperti lignin peroksidase juga dapat menghasilkan radikal bebas, termasuk radikal hidroksil, yang ikut memecah ikatan aromatik dalam lignin sehingga mempercepat degradasinya. Reaksi berbasis radikal ini memberikan keuntungan adaptif bagi jamur karena tidak memerlukan enzim yang secara spesifik berinteraksi dengan setiap gugus aromatik, melainkan memicu reaksi kimia berantai yang dapat mempercepat fragmentasi struktur lignin. Selain itu, proses ini memungkinkan jamur

pelapuk putih memanfaatkan lignin bukan hanya sebagai sumber karbon, tetapi juga sebagai jalur adaptasi terhadap kondisi nutrisi yang terbatas.

Secara umum, *white rot fungi* menggunakan kombinasi reaksi oksidatif dan peroksidatif untuk memanfaatkan lignin sebagai sumber karbon pada kondisi tertentu, yang menjelaskan kemampuan ekologisnya dalam siklus karbon alami (Camarero et al., 2014). Dalam kondisi pertumbuhan dengan keterbatasan nitrogen, karbon, atau sulfur, produksi enzim ligninolitik pada jamur pelapuk putih cenderung meningkat sebagai bentuk respons fisiologis terhadap perubahan lingkungan. Hal ini memberikan gambaran bahwa regulasi produksi enzim pada jamur pelapuk putih sangat dipengaruhi oleh variabel nutrisi dan faktor lingkungan fisik seperti pH, suhu, aerasi, serta ketersediaan ion logam sebagai kofaktor enzimatis.

Selain itu, proses pelapukan putih menghasilkan perubahan struktur dan komposisi kayu atau biomassa lignoselulosa. Setelah lignin terdegradasi, selulosa dan hemiselulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim hidrolitik seperti selulase dan hemiselulase. Oleh karena itu, kehadiran *white rot fungi* sering diidentifikasi sebagai tahap awal dalam proses pelapukan biomassa di hutan, sebelum mikroorganisme lain menguraikan komponen yang lebih sederhana. Interaksi ekologis ini memperlihatkan peran penting jamur pelapuk putih dalam menjaga keseimbangan siklus karbon dan mineral di ekosistem terestrial.

Di bidang industri, pemanfaatan kemampuan ligninolitik jamur pelapuk putih semakin dikembangkan. Dalam industri pulp dan kertas, jamur pelapuk putih menjadi alternatif pra-perlakuan biologis (*biological pretreatment*) untuk mengurangi kebutuhan bahan kimia dalam proses *bleaching*. Pada industri bioenergi, jamur pelapuk putih diterapkan dalam proses *biodelignification* sebelum biomassa lignoselulosa dihidrolisis menjadi gula reduksi untuk produksi bioetanol. Sementara dalam bioremediasi, *white rot fungi* dimanfaatkan dalam pengolahan limbah cair tekstil, biodegradasi polutan tanah, serta pengolahan limbah petrokimia.

Keunggulan jamur pelapuk putih sebagai organisme aerob obligat menjadikannya sangat sesuai untuk diterapkan pada sistem fermentasi *Submerged Liquid Fermentation* (SLF) yang bergantung pada suplai oksigen terlarut. Pada SLF, ketersediaan oksigen dapat diatur secara efektif melalui mekanisme agitasi dan sparging, sehingga kondisi oksidatif yang dibutuhkan untuk produksi enzim ligninolitik dapat tercapai secara optimal. Dengan demikian, desain fermentor dan pengaturan parameter proses seperti laju agitasi, aerasi, dan transfer oksigen sangat menentukan efisiensi biosintesis enzim pada sistem SLF.

Secara keseluruhan, kemampuan *white rot fungi* seperti *Phanerochaete chrysosporium* dalam mendegradasi lignin dan senyawa aromatik kompleks menjadikannya sebagai salah satu organisme kunci dalam bidang bioteknologi modern. Karakter tersebut tidak hanya memainkan peran ekologis pada dekomposisi biomassa di lingkungan alam, tetapi juga memberikan potensi pengembangan teknologi yang ramah lingkungan melalui pendekatan biologi yang berkelanjutan.

2.3 Ekstrak Enzim Kasar

Dalam konteks produksi enzim mikroba, istilah enzim kasar (*crude enzyme*) merujuk pada ekstrak awal yang diperoleh langsung dari filtrat atau supernatan kultur mikroorganisme setelah sentrifugasi, tanpa melalui tahapan pemurnian protein lebih lanjut seperti kromatografi atau pengendapan garam. Proses ini biasanya dilakukan dengan cara menumbuhkan mikroorganisme pada media fermentasi tertentu, kemudian massa kultur dipisahkan antara sel dan cairan menggunakan sentrifugasi. Fase cair hasil sentrifugasi tersebut yang tidak mengalami proses pemurnian lanjutan kemudian disebut sebagai *crude enzyme*. Dalam ekstraksi awal ini, enzim tidak diisolasi secara spesifik melainkan tetap bercampur dengan berbagai biomolekul lain yang ada dalam medium fermentasi. Oleh karena itu, *crude enzyme* masih mengandung campuran protein, metabolit, dan enzim lain yang dihasilkan selama fermentasi, serta digunakan untuk pemeriksaan awal aktivitas enzim sebelum dilakukan pemurnian lebih lanjut. Preparat enzim kasar juga dapat diperoleh

melalui metode filtrasi menggunakan kertas saring atau membran mikrofiltrasi untuk memisahkan komponen padat dari cairan fermentasi sebelum dilanjutkan pada pengujian aktivitas enzim tertentu. Sebagai contoh, supernatan kultur bakteri yang disentrifugasi pada kondisi tertentu langsung dimanfaatkan sebagai sumber *crude enzyme* untuk uji aktivitas *xylanase*, sehingga definisi ekstrak kasar ini penting untuk memahami proses produksi enzim dalam penelitian bioteknologi (Maysa E. Moharam et al., 2023).

Dalam praktik bioteknologi dan mikrobiologi terapan, penggunaan *crude enzyme* menjadi tahap penting dalam skema kerja penelitian, khususnya pada tahap eksplorasi awal atau screening kandidat mikroorganisme penghasil enzim. Pada tahap ini, fokus penelitian belum diarahkan pada kemurnian protein enzim tertentu, tetapi lebih kepada kemampuan mikroba dalam mensekresikan enzim dengan aktivitas yang diharapkan. Misalnya, pada penelitian untuk mencari strain mikroba penghasil selulase, xilanase, amilase, atau protease, tahapan evaluasi aktivitas enzim hampir selalu dilakukan menggunakan ekstrak enzim kasar, karena tujuannya adalah mengetahui apakah mikroorganisme tersebut mampu menghasilkan enzim yang aktif tanpa mempertimbangkan kemurnian. Jika aktivitas enzim menunjukkan hasil yang positif dan prospektif, barulah dilakukan proses pemurnian lanjutan untuk isolasi protein secara spesifik guna karakterisasi lebih mendalam.

Selain digunakan dalam penelitian dasar, penggunaan *crude enzyme* juga penting dalam bidang industri, terutama ketika tujuan penggunaan enzim tidak memerlukan kemurnian tinggi. Hal ini umumnya dijumpai pada sektor agroindustri, pengolahan limbah, produksi bioetanol, industri pakan ternak, dan biodegradasi limbah lignoselulosa. Pada bidang tersebut, faktor terpenting adalah kemampuan enzim dalam mendegradasi substrat dalam jumlah besar secara efisien, bukan tingkat kemurnian molekul enzim itu sendiri. Oleh karena itu, pendekatan berbasis *crude enzyme* dinilai lebih realistis dan ekonomis dalam skala aplikasi yang luas.

Penggunaan enzim kasar (*crude enzyme*) sebagai produk awal dari fermentasi mikroba dipilih karena memberikan keuntungan ekonomis dan efisiensi produksi dibandingkan enzim yang dimurnikan secara lengkap. Preparat enzim kasar diperoleh melalui sedikit tahapan pemrosesan, sehingga memerlukan biaya produksi yang lebih rendah dan waktu yang lebih singkat, serta tersedia dalam jumlah yang lebih besar karena tidak melalui tahapan pemurnian yang kompleks. Hal ini berbeda dengan proses pemurnian enzim yang melibatkan metode seperti pengendapan dengan ammonium sulfat, dialisis, kromatografi pertukaran ion, kromatografi filtrasi gel, hingga kromatografi afinitas yang umumnya mahal, memakan waktu, membutuhkan reagen khusus, serta memerlukan peralatan laboratorium canggih. Karena alasan tersebut, enzim kasar menjadi pilihan rasional dalam aplikasi industri berskala besar.

Kelebihan lain dari preparat *crude enzyme* adalah bahwa enzim kasar sering kali masih mengandung komponen lain seperti protein pendukung atau ko-faktor alami yang secara tidak langsung dapat membantu mempertahankan aktivitas enzim yang tinggi di lingkungan aplikasi. Beberapa enzim memerlukan kofaktor seperti ion logam (misalnya Ca^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, atau Cu^{2+}) untuk mempertahankan struktur aktifnya, atau memerlukan senyawa organik seperti flavin, piridoksal, atau koenzim tertentu. Pada enzim kasar, komponen-komponen ini masih berada dalam campuran supernatan sehingga dapat meningkatkan stabilitas atau aktivitas enzim pada kondisi aplikasi tertentu. Kondisi ini berbeda dengan enzim yang telah dimurnikan, di mana komponen-komponen pendukung tersebut sering hilang sepanjang proses pemurnian sehingga dibutuhkan penambahan kembali dalam aplikasi untuk mempertahankan aktivitas optimal.

Dari sudut pandang teknis, penggunaan *crude enzyme* juga dapat mengurangi risiko kerusakan enzim akibat tahapan pemurnian yang berulang. Pada beberapa jenis protein, proses pemurnian dapat mengakibatkan denaturasi parsial, penurunan aktivitas biologis, atau hilangnya stabilitas termal yang semula dimiliki enzim dalam kondisi alami. Oleh karena itu,

mempertahankan enzim dalam bentuk kasarnya dapat membantu menjaga struktur tiga dimensi (*three-dimensional structure*) protein dan memastikan enzim tetap aktif pada saat diaplikasikan. Hal ini menjadi pertimbangan penting dalam aplikasi industri seperti proses hidrolisis biomassa lignoselulosa.

Dalam konteks ekonomi, penggunaan enzim kasar dinilai lebih kompetitif untuk aplikasi volume tinggi, terutama pada sektor pengolahan bahan baku biomassa, bioremediasi lingkungan, produksi kompos, dan pengolahan limbah cair industri. Misalnya, dalam industri bioetanol generasi kedua yang menggunakan substrat lignoselulosa, produksi enzim hidrolytik seperti selulase dan xilanase dalam bentuk *crude enzyme* lebih menguntungkan karena biaya produksi enzim dapat mencapai 20–40% dari total biaya proses. Dengan penggunaan ekstrak enzim kasar, pengeluaran dapat ditekan dan proses dapat dilakukan secara berkelanjutan karena mikroorganisme dapat ditumbuhkan kembali dalam skala besar melalui fermentasi berulang. Selain itu, enzim kasar dapat dengan mudah diaplikasikan dalam sistem fermentasi padat ataupun fermentasi cair, tergantung kebutuhan produksi dan kondisi substrat.

Keuntungan-keuntungan tersebut menjadikan *crude enzyme* sebagai komponen penting dalam pengembangan teknologi berbasis bioproses. Sementara itu, penggunaan enzim murni biasanya lebih relevan pada skala penelitian molekuler, analisis struktur protein, karakterisasi kinetika enzim, dan aplikasi medis di mana kemurnian dan konsistensi molekuler sangat diperlukan. Karena perbedaan kebutuhan ini, proses produksi enzim pada umumnya dibagi dalam dua jalur besar berdasarkan target penggunaan: yaitu jalur produksi *crude enzyme* untuk aplikasi teknis dan jalur produksi enzim murni untuk aplikasi klinis, farmasi, atau penelitian lanjutan (Sakhuja et al., 2021).

Berdasarkan uraian tersebut, dapat dipahami bahwa enzim kasar memainkan peranan fundamental dalam bioteknologi mikroba, baik sebagai produk awal untuk eksplorasi mikroorganisme penghasil enzim maupun

sebagai produk akhir untuk aplikasi industri yang menekankan efisiensi biaya dan ketersediaan produk dalam jumlah besar. Oleh karena itu, pemahaman mengenai konsep *crude enzyme* menjadi bagian penting dalam pengembangan teknologi bioproses, terutama di bidang biokonversi, bioremediasi, dan pengolahan limbah berbasis pendekatan enzimatis.

2.4 Fermentasi Media Cair (Fermentasi Submerged Liquid)

2.4.1 Prinsip Fermentasi Media Cair

Fermentasi media cair, juga dikenal sebagai *Fermentasi Submerged Liquid* (SLF), adalah teknik fermentasi di mana mikroorganisme berkembang biak dalam fase cair yang mengandung nutrien terlarut. Karena memungkinkan pengaturan kondisi proses yang lebih tepat daripada fermentasi padat, metode ini banyak digunakan dalam pembuatan biomassa dan metabolit mikroba. Kapang entomopatogen dapat menghasilkan metabolit bioaktif melalui fermentasi cair. Ini menunjukkan bahwa faktor-faktor seperti pH, suhu, aerasi, dan agitasi dapat diatur secara efektif pada sistem SLF untuk mendukung pertumbuhan dan biosintesis metabolit (Mascarin et al, 2024).

Secara operasional, fermentasi media cair menawarkan keunggulan dalam efisiensi proses dan kemudahan pemrosesan di kemudian hari karena biomassa atau metabolit berada dalam fase cair, yang memungkinkan pemrosesan melalui filtrasi atau sentrifugasi. SLF juga dapat digunakan dari skala laboratorium hingga industri melalui penggunaan fermentor atau bioreactor, yang memberikan kontrol otomatis terhadap suplai nutrisi dan kondisi lingkungan, yang memastikan proses produksi yang stabil dan terukur. Dalam kaitannya dengan fase pertumbuhan mikroorganisme, sistem ini memungkinkan peningkatan produksi biomassa dan metabolit sekunder. Ini terutama berlaku saat mikroorganisme memasuki fase stasioner, di mana biosintesis metabolit bioaktif cenderung meningkat (Mascarin et al, 2024).

Prinsip kerja fermentasi media cair menekankan interaksi antara komposisi media, mikroorganisme, dan parameter proses. Media cair harus menyediakan sumber karbon, nitrogen, mineral, dan faktor pertumbuhan lain

untuk mendukung metabolisme mikroba, sementara parameter seperti aerasi, agitasi, dan kebutuhan oksigen terlarut sangat mempengaruhi morfologi dan produksi metabolit. Penelitian menunjukkan bahwa variasi komposisi nutrisi, rasio karbon-nitrogen, serta intensitas aerasi dan agitasi dapat memodifikasi output biomassa maupun metabolit sekunder, sehingga pengendalian proses menjadi elemen kunci dalam optimasi fermentasi cair (Mascarin et al, 2024).

2.4.2 Faktor yang Mempengaruhi Produksi Enzim

Produksi enzim dalam fermentasi media cair dipengaruhi oleh faktor nutrisi dan kondisi lingkungan yang mengatur metabolisme mikroorganisme. Nutrisi seperti sumber karbon dan nitrogen berperan dalam pertumbuhan sel dan sintesis protein enzim, sementara senyawa tertentu dapat bertindak sebagai induktor untuk meningkatkan produksi enzim spesifik. Selain itu, pH dan suhu menentukan stabilitas enzim dan aktivitas metabolik mikroorganisme sehingga masing-masing mikroba memerlukan kondisi optimum yang berbeda selama fermentasi. (Borkertas et al, 2025).

Faktor lain seperti aerasi dan agitasi penting untuk menjamin distribusi oksigen dan homogenitas medium, terutama bagi mikroorganisme aerob. Konsentrasi inokulum dan lama inkubasi juga berpengaruh karena menentukan fase pertumbuhan mikroba dan waktu produksi enzim maksimum. Kombinasi faktor-faktor tersebut perlu dikontrol agar proses fermentasi menghasilkan aktivitas enzim yang optimal secara konsisten. (Abena dan Simachew, 2024).

2.5 Waktu Inkubasi dan Produksi Enzim

Pertumbuhan jamur umumnya mengikuti kurva sigmoidal yang mencerminkan perubahan laju pertumbuhan sel seiring waktu, yang terdiri atas beberapa fase utama, yaitu *fase lag*, *fase logaritmik* (eksponensial), dan *fase stasioner*(Apriliahetty et al, 2023).

a. *Fase lag*, jamur berada pada tahap adaptasi awal terhadap kondisi lingkungan dan substrat yang digunakan; pada fase ini sel belum mengalami pembelahan secara signifikan, tetapi telah aktif melakukan penyesuaian

fisiologis melalui sintesis enzim-enzim awal yang diperlukan untuk metabolisme dan pemanfaatan nutrisi.

b. *Fase logaritmik*, yang ditandai dengan laju pertumbuhan yang sangat cepat dan pembelahan sel secara eksponensial akibat tersedianya nutrisi dalam jumlah cukup dan kondisi lingkungan yang mendukung.

c. *Fase stasioner*, yaitu kondisi ketika laju pertumbuhan menurun dan cenderung stabil karena ketersediaan nutrisi mulai berkurang serta terjadi akumulasi produk metabolit atau senyawa penghambat, sehingga jumlah sel yang baru terbentuk menjadi seimbang dengan jumlah sel yang mengalami kematian.

Aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme cenderung meningkat seiring bertambahnya waktu inkubasi selama fase pertumbuhan aktif, sejalan dengan meningkatnya jumlah biomassa mikroba serta intensitas aktivitas metabolik yang mendukung sintesis enzim. Namun, apabila proses inkubasi berlangsung melebihi waktu optimum, aktivitas enzim yang terdeteksi dapat mengalami penurunan. Kondisi ini disebabkan oleh menurunnya ketersediaan nutrisi substrat, sehingga mikroorganisme tidak lagi memproduksi enzim secara optimal, serta kemungkinan terjadinya degradasi protein enzim oleh aktivitas protease atau perubahan kondisi lingkungan yang tidak lagi mendukung stabilitas dan aktivitas enzim (Apriliahetty et al, 2023).

2.6 Analisis Aktivitas Enzim

Pengukuran aktivitas enzim dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode spektrofotometri, yaitu teknik analisis yang didasarkan pada pengukuran perubahan absorbansi larutan akibat reaksi enzimatik pada panjang gelombang tertentu. Prinsip metode ini adalah memantau laju pembentukan produk atau penguraian substrat yang memiliki sifat menyerap cahaya, sehingga aktivitas enzim dapat dihitung secara kuantitatif berdasarkan perubahan nilai absorbansi per satuan waktu. Metode spektrofotometri banyak digunakan dalam analisis aktivitas enzim karena sensitif, relatif sederhana, serta mampu memberikan hasil yang akurat dan

reproducible, khususnya untuk pengujian aktivitas enzim dari ekstrak kasar (Ou et al, 2018).

Pengukuran aktivitas enzim lakase dilakukan menggunakan metode spektrofotometri dengan 2,2′ -azino-bis(3-*ethylbenzothiazoline*-6-*sulfonic acid*) (ABTS) sebagai substrat kromogenik. Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan lakase mengoksidasi ABTS menjadi radikal kation berwarna hijau kebiruan, yang ditandai dengan peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm. Perubahan absorbansi tersebut diukur secara periodik menggunakan spektrofotometer dan digunakan untuk menghitung aktivitas enzim berdasarkan laju reaksi oksidasi ABTS per satuan waktu. Metode ini banyak digunakan karena memiliki sensitivitas tinggi, selektivitas yang baik terhadap aktivitas lakase, serta sesuai untuk analisis aktivitas enzim dari ekstrak kasar (Oud et al, 2019).

2.7 Remediasi Tanah Tercemar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH)

Salah satu pendekatan utama dalam upaya pemulihan lingkungan yang terkontaminasi oleh minyak bumi dan produk turunannya adalah remediasi tanah yang tercemar TPH. *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) adalah ukuran yang menggambarkan semua senyawa hidrokarbon yang ada di tanah yang berasal dari tumpahan bahan bakar, limbah minyak industri, atau aktivitas eksploitasi minyak dan gas. Senyawa hidrokarbon ini berbahaya bagi makhluk hidup dan ekosistem tanah jika dibiarkan tanpa pengawasan yang tepat. Bioremediasi, yang melibatkan penggunaan mikroorganisme untuk mengubah senyawa hidrokarbon menjadi produk yang kurang berbahaya, adalah metode remediasi yang banyak digunakan. Mikroorganisme yang terlibat dalam proses ini memiliki enzim tertentu yang dapat mengoksidasi dan memecah rantai hidrokarbon. Aktivitas mikroba ini memungkinkan penurunan TPH dalam tanah secara biologis (Fierdaus, 2015).

Karena enzim oksidatif memiliki kemampuan untuk mengubah struktur hidrokarbon aromatik menjadi senyawa yang lebih sederhana dan kurang toksik, penerapan bioremediasi pada tanah yang tercemar TPH biasanya

berfokus pada penggunaan enzim oksidatif. Jamur pelapuk putih, menjadi sumber enzim ligninolitik seperti lakase, mangan peroksidase (MnP), dan lignin peroksidase (LiP). Enzim-enzim ini diketahui memiliki aktivitas terhadap senyawa aromatik dan fenolik, termasuk bagian hidrokarbon minyak bumi. Karena tidak memerlukan proses pemurnian, ekstrak enzim kasar dari jamur pelapuk putih tetap memiliki aktivitas enzimatik yang relevan, dan dapat digunakan dalam volume besar secara lebih hemat daripada enzim murni, ekstrak enzim kasar dari jamur pelapuk putih memiliki potensi untuk berfungsi sebagai agen bioremediasi dalam situasi ini (Diefenbach et al. 2024).

2.8 Studi Litelatur

Berikut adalah Tabel 2.1 yang menunjukkan penelitian terdahulu yang relevan dengan penelitian ini :

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

Nama Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
(Wang *et al*., 2019)	*Fungal Laccase Production from Lignocellulosic Agricultural Wastes by Solid-State*	Jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim lakase dengan aktivitas tinggi ketika ditumbuhkan pada limbah pertanian lignoselulosa melalui metode *solid-state fermentation* (SSF). Berbagai substrat seperti jerami padi, sekam padi, serbuk kayu, dan tongkol jagung terbukti efektif sebagai media pertumbuhan dan induktor produksi

Nama Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
	Fermentation: A Review	lakase. Hasil kajian menunjukkan bahwa SSF lebih efisien dibandingkan fermentasi terendam karena kondisi aerasi yang baik dan kemiripannya dengan habitat alami jamur. Aktivitas lakase dipengaruhi oleh jenis jamur, substrat, dan lama inkubasi, dengan aktivitas maksimum umumnya dicapai pada fase stasioner awal.
(Hultberg and Golovko., 2024)	*Use of sawdust for production of ligninolytic enzymes by white-rot fungi and pharmaceutical removal*	Jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim lakase dengan aktivitas tinggi ketika ditumbuhkan pada limbah pertanian lignoselulosa melalui metode *solid-state fermentation* (SSF). Berbagai substrat seperti jerami padi, sekam padi, serbuk kayu, dan tongkol jagung terbukti efektif sebagai media pertumbuhan dan induktor produksi lakase. Hasil kajian menunjukkan bahwa SSF

Nama Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
		lebih efisien dibandingkan fermentasi terendam karena kondisi aerasi yang baik dan kemiripannya dengan habitat alami jamur. Aktivitas lakase dipengaruhi oleh jenis jamur, substrat, dan lama inkubasi, dengan aktivitas maksimum umumnya dicapai pada fase stasioner awal.
(Risdianto *et al*., 2012)	*Optimization of Laccase Production using White Rot Fungi and Agricultural*	Hasil penelitian menunjukkan bahwa produksi enzim lakkase melalui fermentasi padat (SSF) sangat dipengaruhi oleh jenis jamur pelapuk putih dan substrat lignoselulosa yang digunakan. Dari empat jamur yang diuji (*Marasmius sp., Trametes hirsuta, T. versicolor,* dan *Phanerochaete chrysosporium*), *Marasmius sp.* menunjukkan aktivitas lakkase tertinggi pada seluruh substrat. Substrat jerami padi menghasilkan

Nama Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
	Wastes in Solid-State Fermentation	aktivitas lakkase paling optimal, dengan nilai maksimum sebesar 1116,11 U/L pada hari ke-10. Optimasi menggunakan metode *Response Surface Method* (RSM) menunjukkan kondisi optimum produksi lakkase pada pH 4,9, suhu 31°C, dan konsentrasi yeast extract 0,36 g/L, dengan aktivitas lakkase tervalidasi mencapai 1564 U/L. Hasil ini menegaskan bahwa kombinasi *Marasmius sp.* dan jerami padi berpotensi besar untuk produksi lakkase skala besar berbasis limbah pertanian berbiaya rendah
		Penelitian ini menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih *Trametes hirsuta* D7, *T. hirsuta* EDN 082, *Leiotrametes menziesii* BRB 73, dan *Lentinus sajor-caju* BRB 12 mampu menghasilkan enzim lakkase

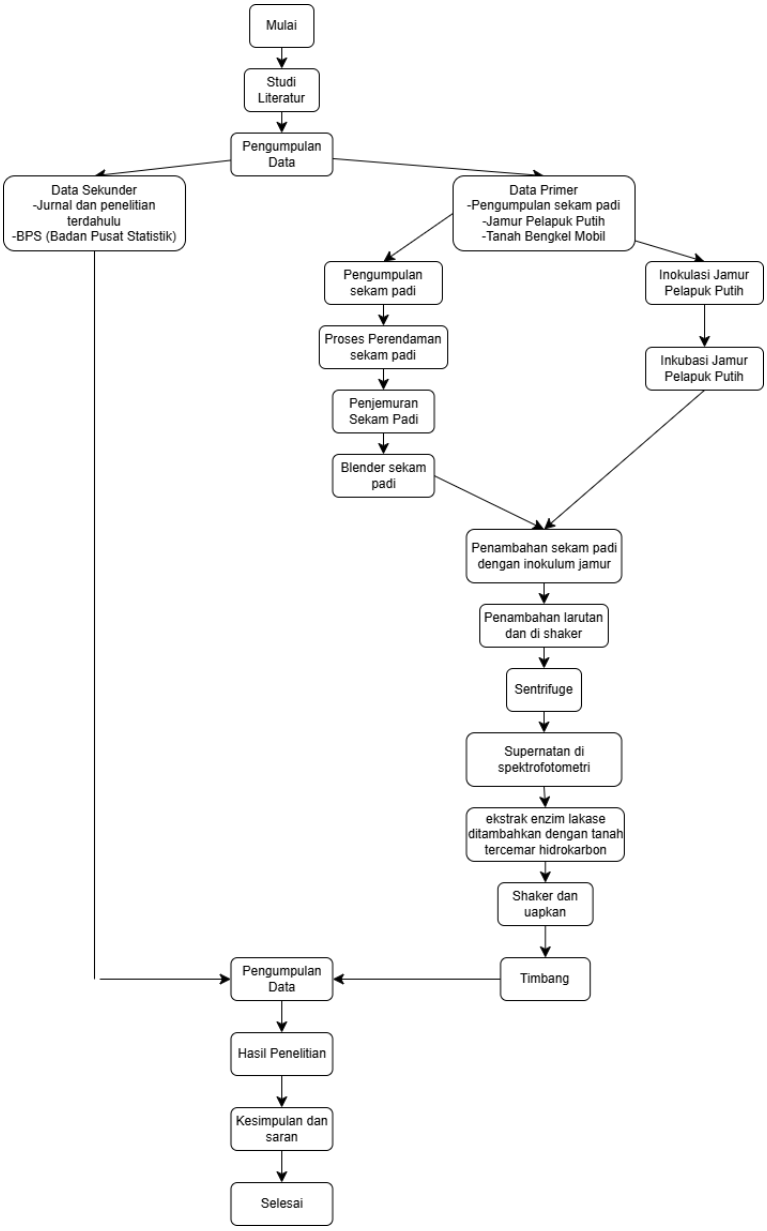
Nama Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
(Anita *et al*., 2024)	*The First Evidence of Potential Antibacterial Activity of Laccase Enzyme from Indonesian White Rot Fungi against Pathogenic Bacteria*	ekstrak kasar berwarna kuning kecokelatan dengan karakteristik gugus fungsi khas protein berdasarkan analisis FTIR. Lakkase dari *T. hirsuta* D7 memiliki aktivitas tertinggi (0,044 U/ml) dan aktivitas spesifik terbesar, yang meningkat hingga 12 kali lipat setelah proses pemekatan. Uji antibakteri menunjukkan bahwa lakkase mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) dengan nilai MIC berkisar 0,001–0,044 U/ml. Aktivitas bakterisidal hanya teramati pada *S. aureus* dan *E. coli*, sedangkan terhadap *P. acnes* dan *P. aeruginosa* bersifat bakteriostatik, sehingga lakkase berpotensi dikembangkan sebagai agen antibakteri alami

Berdasarkan hasil kajian penelitian terdahulu, terdapat beberapa perbedaan mendasar antara penelitian ini dan empat penelitian sebelumnya. Wang et al. (2019) hanya melakukan telaah literatur terkait produksi laccase melalui fermentasi padat tanpa pengujian eksperimental, sedangkan penelitian ini melakukan percobaan langsung dengan sekam padi sebagai substrat. Hultberg & Golovko (2024) menggunakan serbuk gergaji dan fokus pada aplikasi bioremediasi senyawa farmasi, sedangkan penelitian ini berfokus pada produksi ekstrak enzim kasar dan pengaruh lama inkubasi. Risdianto et al. (2012) melakukan optimasi produksi laccase menggunakan RSM pada substrat berbeda (terutama jerami padi), sementara penelitian ini mengevaluasi yield dan aktivitas enzim tanpa pemurnian. Anita et al. (2024) mempelajari aktivitas antibakteri enzim laccase, bukan karakter produksi berdasarkan waktu inkubasi dan substrat. Meskipun demikian, penelitian-penelitian tersebut memiliki kesamaan dengan penelitian ini, yaitu sama-sama menggunakan jamur pelapuk putih, substrat lignoselulosa, dan metode fermentasi padat untuk menghasilkan enzim laccase. Berdasarkan alasan tersebut, jurnal-jurnal tersebut relevan digunakan sebagai penelitian terdahulu karena memberikan dasar teori, parameter pembanding, serta menunjukkan adanya celah penelitian terkait pemanfaatan sekam padi dan evaluasi ekstrak enzim kasar yang menjadi fokus penelitian ini.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Tahap penelitian diawali dengan pengumpulan data sekunder. Data sekunder diperoleh dari jurnal, literatur, buku-buku terkait penelitian serta. Berikut merupakan tahapan penelitian yang akan dilakukan :



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2025, yang diawali dengan tahap persiapan bahan penelitian berupa sekam padi sebagai substrat, kemudian dilanjutkan dengan proses pelaksanaan percobaan dan analisis sampel secara bertahap di laboratorium. Seluruh rangkaian kegiatan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan (FTSP), Universitas Islam Indonesia, yang meliputi tahap preparasi substrat, produksi ekstrak enzim kasar oleh jamur pelapuk putih, serta pengujian aktivitas enzim lakase.

3.3 Alat dan Bahan

Berikut adalah Tabel 3.1, alat dan bahan yang digunakan selama penelitian mulai dari pengambilan hingga pengujian di laboratorium :

Tabel 3. 1 Alat dan Bahan

No	Nama Alat	Jumlah	Satuan	Fungsi
1	Blender	1	Buah	Mengecilkan dan meratakan ukuran sekam padi
2	*Aluminium foil*	1	Gulung	Membungkus sampel
3	Kapas	1	Bungkus	Menutup sampel
4	Erlenmenyer 250 ml	2	Buah	Wadah pembuatan PDA
5	Erlenmenyer 500 ml	2	Buah	Wadah inokulasi jamur dan sekam padi
6	*Magnetic Stirrer*	1	Buah	Untuk pengadukan pembutan PDA
7	Cawan Petri	10	Buah	Wadah inokulasi jamur
8	Sendok Porselin	1	Buah	Pengambilan PDA dan PDB
9	Gelas ukur	1	Buah	Mengukur supernatant
10	Gelas Beaker	2	Buah	Wadah penyimpanan sementara

No	Nama Alat	Jumlah	Satuan	Fungsi
11	Pembakar bunsen	1	Buah	Mensterilkan jarum ose
12	Jarum ose	1	Buah	Untuk pengambilan kultur jamur
13	Autoklaf	1	Buah	Sterilisasi alat dan bahan
14	Neraca analitik	1	Buah	Menimbang bahan
15	*Laminar Air Flow*	1	Buah	Pengerjaan seecara aseptis
16	Inkubator	1	Buah	Inkubasi Jamur
17	*Centrifuge*	1	Buah	Memisahkan sekam padi dari jamur
18	*Spektrofotometer*	1	Buah	Mengukur nilai lakase
19	*Hot plate*	1	Buah	Memanaskan media PDA
20	*Water Bath*	1	Buah	Inokulasi jamur dan sekam padi pada suhu dan goyangan yang konstan
21	Kertas Saring	1	Lembar	Menyaring jamur untuk didapatkan berat basahnya
22	Kuvet	2	Buah	Wadah pengukuran supernatan
23	*Shaker*	1	Buah	Menggoyangkan supernatant yang ditambahkan buffer
24	Botol vial	12	Buah	Penyimpanan hasil supernatan
25	Bor Tangan	1	Buah	Untuk Mengambil sampel tanah
26	Plastik ziplock	1	Pak	Membungkus sampel tanah
27	Meteran	1	Buah	Mengukur kedalaman tanah
No	**Nama Bahan**	**Jumlah**	**Satuan**	**Fungsi**
1	Aquades	Secukupnya	mL	Pengencer larutan

No	Nama Alat	Jumlah	Satuan	Fungsi
2	*Potato Dextrose Agar* (PDA)	3,9	Gram	Media kultur penumbuhan jamur
3	*Potato Dextrose Brot* (PDB)	18	Gram	Media nutrisi jamur
4	Jamur Pelapuk Putih	10	Cawan	Agen biologis utama penghasil enzim ligninolitik
5	*Tween* 80	10	Gram	Membantu pendispersian dan homogenisasi miselium jamur saat penggerusan
6	Alkohol	Secukupnya	mL	Untuk Mensterilkan
7	Sekam Padi	45	Gram	substrat lignoselulosa sebagai sumber nutrisi dan induktor produksi lakase
8	NaOH 1 N	Secukupnya	mL	Merendam sekam padi
9	ABTS	4,5	mL	Substrat kromogenik dalam analisis aktivitas enzim lakase
10	Buffer *Phosphate*	60	mL	Menjaga stabilitas pH dan aktivitas enzim selama ekstraksi enzim kasar
11	Buffer *Sodium asetat*	15	mL	Menyediakan pH optimum selama analisis aktivitas enzim lakase
12	N-hexane	20	mL	Pelarut non-polar untuk mengekstraksi senyawa hidrokarbon dari matriks tanah

Terdapat berbagai alat dan bahan yang digunakan dalam mendukung berjalannya penelitian. Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya plastik, kertas label, aluminium foil, ember, sarung tangan, kapas pembalut,

erlenmenyer, magnetic stirrer, cawan petri, sendok porselin, gelas ukur, pembakar bunsen, jarum ose, gelas beaker, autoklaf, neraca analitik, Laminar Air Flow(LAF), inkubator, centrifuge, spektofotometer, hotplate, kertas saring. Bahannya adalah akuades, Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Dextrose Brot (PDB), jamur pelapuk putih, tween 80, HCL, alkohol, NaOH 1 N.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Substrat Sekam Padi

Sekam padi yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tempat penggilingan padi di Kecamatan Kencong, Kabupaten Jember. Tahap awal perlakuan terhadap sekam padi dilakukan melalui proses perendaman menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 1 M selama 24 jam dengan tujuan untuk membantu melonggarkan struktur lignoselulosa. Setelah proses perendaman, sekam padi dikeringkan dengan cara penjemuran selama dua hari hingga kadar airnya berkurang. Selanjutnya, sekam padi mengalami proses pengecilan ukuran menggunakan blender hingga diperoleh ukuran partikel yang lebih halus dan seragam, sehingga diharapkan dapat meningkatkan luas permukaan substrat untuk mendukung pertumbuhan jamur dan produksi enzim (Naher et al, 2021).

Sekam padi terlebih dahulu direndam menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 1 M selama 24 jam untuk membantu melonggarkan struktur lignoselulosa pada substrat. Setelah proses perendaman selesai, sekam padi dikeringkan melalui penjemuran selama dua hari hingga kadar airnya berkurang. Selanjutnya, sekam padi yang telah kering dikecilkan ukurannya menggunakan blender hingga diperoleh partikel yang lebih halus dan seragam. Proses pengecilan ukuran ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan substrat sehingga dapat mendukung pertumbuhan jamur pelapuk putih dan meningkatkan produksi enzim.

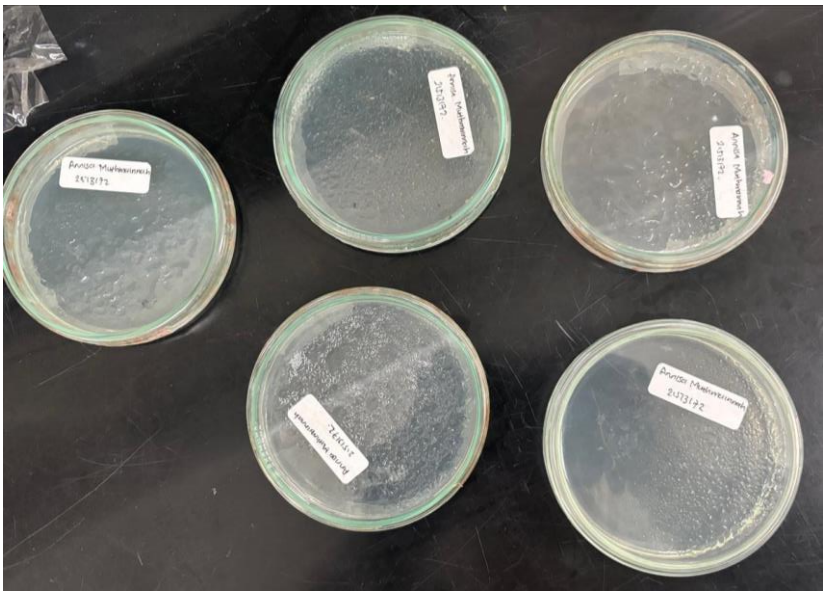


Gambar 3. 2 Proses Pengecilan Ukuran Sekam Padi

3.4.2 Isolat Jamur

Perlakuan awal terhadap isolat jamur pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan media Potato Dextrose Agar (PDA) sebagai media pertumbuhan padat. Media PDA digunakan karena mampu menyediakan nutrisi yang memadai untuk mendukung pertumbuhan dan pemeliharaan isolat jamur secara optimal. Proses pembuatan media PDA dilakukan melalui beberapa tahapan yang sistematis untuk menghasilkan media yang homogen, steril, dan siap digunakan dalam proses inokulasi isolat jamur (Kavitha dan Ranganayakulu, 2025).

Serbuk Potato Dextrose Agar (PDA) ditimbang sebanyak 3,9 g untuk setiap 100 mL media, kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berkapasitas 250 mL dan ditambahkan 100 mL akuades. Campuran dipanaskan menggunakan hot plate dengan pengadukan pada suhu 120°C dan kecepatan 350 rpm hingga serbuk larut sempurna dan larutan tampak homogen. Media yang telah homogen selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf untuk memastikan kondisi bebas dari kontaminan. Setelah proses sterilisasi selesai, media PDA dituangkan ke dalam cawan petri di dalam Laminar Air Flow (LAF) dan dibiarkan memadat sebelum digunakan untuk inokulasi isolat jamur.



Gambar 3. 3 Media PDA

Setelah proses pembuatan media Potato Dextrose Agar (PDA) selesai dan media telah berada dalam kondisi steril, tahap selanjutnya adalah proses inokulasi isolat jamur ke dalam media PDA. Inokulasi dilakukan secara aseptik untuk memastikan bahwa pertumbuhan jamur berlangsung optimal tanpa adanya kontaminasi dari mikroorganisme lain (Sanders, 2012).

Jarum ose disterilkan dengan cara dipanaskan menggunakan nyala api Bunsen hingga memijar, kemudian dibiarkan beberapa saat hingga suhunya menurun sebelum digunakan. Mulut tabung reaksi yang berisi isolat jamur dipanaskan di atas nyala api Bunsen, kemudian sebagian miselium diambil menggunakan jarum ose steril. Setelah pengambilan isolat, mulut tabung kembali dipanaskan dan segera ditutup untuk mencegah kontaminasi. Selanjutnya, tepi media PDA pada cawan petri dipanaskan secara singkat sebelum penutup dibuka secara aseptik, kemudian isolat jamur diinokulasikan ke permukaan media dengan cara digoreskan secara perlahan. Setelah proses inokulasi selesai, cawan petri ditutup kembali, bagian tepinya dipanaskan, dan media diinkubasi dalam inkubator selama satu minggu pada suhu 30°C untuk mendukung pertumbuhan jamur.

3.4.3 Inokulasi dan Fermentasi

Pada tahap pencampuran sekam padi dengan inokulum jamur pelapuk putih, dilakukan serangkaian tahapan yang terkontrol untuk memastikan homogenitas media fermentasi, ketersediaan nutrisi yang merata, serta kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan jamur dan produksi enzim secara optimal. Tahapan ini menjadi bagian penting dalam proses fermentasi karena keberhasilan kolonisasi jamur pada substrat sekam padi sangat bergantung pada keseragaman pencampuran antara substrat, media nutrisi, dan inokulum. Oleh karena itu, prosedur pencampuran dilakukan secara sistematis dan aseptik dengan tahapan sebagai berikut (Naher et al, 2021).

Sekam padi sebanyak 15 g ditimbang dan dicampurkan dengan 6 g media Potato Dextrose Broth (PDB) ke dalam labu Erlenmeyer berkapasitas 500 mL, kemudian ditambahkan 250 mL akuades. Campuran tersebut disterilkan menggunakan autoklaf untuk memastikan media bebas dari kontaminasi. Suspensi inokulum jamur disiapkan dengan menambahkan 10 mL larutan Tween ke dalam cawan petri yang telah ditumbuhi jamur pelapuk putih, lalu miselium digerus hingga terbentuk suspensi homogen. Sebanyak 10 mL suspensi jamur kemudian diinokulasikan ke dalam media sekam padi steril dan diinkubasi menggunakan water bath shaker pada suhu 30 °C dengan kecepatan 50 rpm selama 14 hari untuk mendukung pertumbuhan jamur dan produksi enzim secara optimal.



Gambar 3. 4 Inokulasi Jamur di Media PDB Setelah Beberapa Hari

3.4.4 Ekstraksi Enzim Kasar

Tahapan ekstraksi enzim kasar dalam penelitian ini dilakukan melalui serangkaian prosedur yang terkontrol dan sistematis dengan tujuan untuk ekstrak enzim dari biomassa jamur pelapuk putih secara optimal. Seluruh rangkaian proses ekstraksi dilaksanakan dalam kondisi aseptik guna mencegah terjadinya kontaminasi serta menjaga stabilitas dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Prosedur ekstraksi enzim kasar tersebut dilaksanakan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut (Effendi et al., 2021).

Sebanyak 25 mL suspensi jamur diambil dan dimasukkan ke dalam botol vial, dengan seluruh proses dilakukan secara aseptik di dalam Laminar Air Flow (LAF) untuk mencegah kontaminasi. Selanjutnya, ditambahkan 5 mL larutan buffer fosfat ke dalam vial untuk menjaga kestabilan pH selama proses ekstraksi enzim. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan menggunakan shaker selama 1 jam pada kecepatan 100 rpm guna membantu pelepasan enzim dari biomassa jamur ke dalam larutan buffer. Setelah proses pengocokan selesai, suspensi dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi pada kecepatan 7.500 rpm pada suhu 5 °C selama 15 menit untuk memisahkan supernatan yang mengandung enzim kasar dari endapan biomassa. Supernatan yang diperoleh selanjutnya dikumpulkan dan diukur volumenya sebelum digunakan untuk analisis lebih lanjut.

3.5 Analisis Hasil Aktivitas Enzim Lakase

Aktivitas enzim lakase dalam penelitian ini dianalisis menggunakan metode spektrofotometri dengan ABTS (2,2 ′ -azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) sebagai substrat indikator. Metode ini didasarkan pada kemampuan enzim lakase dalam mengoksidasi ABTS menjadi radikal kation yang menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kebiruan. Reaksi oksidasi tersebut menyebabkan peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 420 nm, yang selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk menentukan aktivitas enzim lakase secara kuantitatif. Prosedur pengujian aktivitas enzim lakase dilakukan melalui beberapa tahapan kerja sebagai berikut (Effendi et al., 2021).

Sebanyak 1,5 mL supernatan hasil ekstraksi enzim dicampurkan dengan 1,5 mL larutan buffer natrium asetat dan 0,45 mL larutan ABTS dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan. Kuvet yang akan digunakan terlebih dahulu dibersihkan dan dikeringkan untuk memastikan tidak terdapat residu yang dapat memengaruhi pembacaan absorbansi. Akuades dimasukkan ke dalam kuvet sebagai larutan blanko, lalu dilakukan pengaturan nol (blanking) pada spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm. Selanjutnya, campuran reaksi dituangkan ke dalam kuvet hingga volume mencukupi untuk pengukuran, kemudian kuvet dimasukkan ke dalam spektrofotometer dengan posisi tanda panah menghadap sumber cahaya guna memastikan jalur optik yang tepat. Nilai absorbansi yang terbaca dicatat dan digunakan sebagai dasar dalam perhitungan aktivitas enzim lakase.

$$\text{U/L} = \frac{(A_t - A_0)\,.\,Vtot\,(ml)\,.\,10^6}{\epsilon\,.\,Venzim\,(ml)}$$

A	: Absorbansi
V total	: Volume total bahan (ml)
Venzim	: Volume ekstrak enzim / supernatant (ml)
ϵ	: Absoptivitas molar reagen Lakase (36000 M^{-1} cm^{-1})



Gambar 3. 5 Supernatan yang Telah di Tambahkan Larutan

3.6 Pengujian *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH)

Sebelum pengujian kadar *Total Hidrokarbon Petroleum* (TPH), sampel tanah yang tercemar hidrokarbon diinkubasi dengan penambahan ekstrak enzim lakase selama tiga jam pada kondisi terkontrol. Ini dilakukan untuk memberi enzim lakase waktu yang cukup untuk mengkatalisis reaksi oksidasi senyawa hidrokarbon di dalam matriks tanah. Akibatnya, fraksi TPH pertama-tama didegradasi sebelum tahap ekstraksi dan analisis (Effendi et al., 2021):

Sampel tanah tercemar ditimbang sebanyak 15 gram kemudian dicampurkan dengan 30 mL ekstrak enzim lakase hingga diperoleh rasio tanah terhadap enzim sebesar 1:2, selanjutnya dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL sebagai wadah inkubasi. Campuran tersebut diinkubasi menggunakan water bath shaker pada suhu 25°C dengan kecepatan 100 rpm untuk menjaga homogenitas reaksi dan mendukung aktivitas enzim lakase. Setelah proses inkubasi selesai, campuran disaring menggunakan kertas saring untuk keperluan analisis gravimetri sehingga diperoleh filtrat dan residu, kemudian pH sampel diukur menggunakan indikator pH universal guna mengetahui kondisi keasaman media selama perlakuan.

Selanjutnya, kadar Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) dianalisis dengan metode gravimetri. Metode ini digunakan untuk mengekstraksi senyawa hidrokarbon dari sampel tanah menggunakan pelarut non-polar, kemudian pelarut diuapkan hingga residu hidrokarbon dihasilkan. Selanjutnya, berat residu yang tersisa ditimbang untuk mengetahui jumlah TPH (Juliani dan Rahman, 2011).

Botol vial terlebih dahulu dipanaskan dalam oven pada suhu 105 °C selama 30 menit untuk menghilangkan sisa kadar air, kemudian didinginkan di dalam desikator selama 30 menit hingga mencapai suhu ruang. Vial yang telah kering selanjutnya ditimbang menggunakan neraca analitik untuk memperoleh berat awal. Sebanyak 5 mL sampel hasil inkubasi ditambahkan dengan 10 mL pelarut n-heksana, kemudian campuran dimasukkan ke dalam botol vial sebagai tahap ekstraksi hidrokarbon. Campuran tersebut dikocok menggunakan shaker selama 2 jam pada kecepatan 400 rpm untuk mengoptimalkan proses ekstraksi. Setelah itu, larutan diuapkan menggunakan hot plate pada suhu 70 °C selama 2 jam hingga pelarut menguap dan tersisa residu hidrokarbon. Vial yang berisi residu kemudian didinginkan kembali hingga suhu ruang dan ditimbang untuk memperoleh berat akhir, yang digunakan dalam perhitungan kadar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH).

$$\text{TPH}(\%) = \frac{w2-w1}{V}\ x\ 100\%$$

W_1 : Berat botol vial kosong (g)

W_2 : Berat botol vial+ residu hidrokarbon setelah penguapan (g)

V : Berat sampel



Gambar 3. 6 Shaker Tanah Sesudah Perlakuan Enzim Lakase

3.7 Metode Analisis Data

Penelitian ini mengumpulkan data tentang nilai aktivitas enzim lakase (U/L) yang dihasilkan dari ekstrak enzim kasar jamur pelapuk putih pada berbagai waktu inkubasi serta kadar total hidrokarbon petroleum (TPH) baik sebelum maupun sesudah perlakuan ekstrak enzim lakase. Analisis komparatif dan deskriptif statistik digunakan untuk menggambarkan kecenderungan dan membandingkan perbedaan antar perlakuan.

3.7.1 Analisis Statistik Deskriptif

Analisis statistik deskriptif merupakan metode statistik yang berfungsi untuk mendiskripsikan, merangkum, dan menampilkan data secara jelas dan mudah dipahami. Penyajian data disajikan dalam bentuk dalam bentuk tabel dan visual seperti grafik, sehingga dapat dilihat kecenderungan hasil penelitian apakah termasuk kategori rendah, sedang, atau tinggi (Muhson, 2020).

Analisis statistik deskriptif digunakan untuk menggambarkan pola dan dinamika aktivitas enzim lakase selama waktu inkubasi. Untuk menunjukkan bagaimana nilai aktivitas enzim berubah setiap saat, data aktivitas enzim disajikan dalam bentuk grafik dan tabel. Nilai rata-rata, nilai maksimum, dan nilai minimum aktivitas enzim lakase digunakan sebagai parameter statistik deskriptif dalam analisis ini. Tujuan analisis ini adalah untuk memberikan gambaran umum tentang tren produksi enzim lakase serta menemukan waktu inkubasi yang menghasilkan aktivitas enzim tertinggi.

3.7.2 Analisis Komperatif

Analisis komparatif merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk membandingkan dua atau lebih kelompok data atau variabel dengan tujuan mengidentifikasi persamaan maupun perbedaan yang muncul di antara kelompok yang dibandingkan. Pendekatan ini banyak diterapkan untuk mengevaluasi sejauh mana suatu fenomena menunjukkan variasi atau kesesuaian ketika diamati pada kondisi yang berbeda atau dibandingkan dengan suatu kondisi acuan atau standar tertentu (Ary et al., 1982).

Pada penelitian ini, analisis komparatif digunakan untuk membandingkan dua kelompok perlakuan kontrol dan perlakuan jamur pelapuk putih. Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengetahui seberapa besar pengaruh keberadaan jamur terhadap parameter biologis yang diamati. Parameter yang dibandingkan termasuk pertumbuhan biomassa jamur berdasarkan jumlah koloni dan nilai absorbansi kultur. Aktivitas enzim lakase (U/L) diukur menggunakan spektrofotometer yang menggunakan substrat ABTS. Perbandingan dilakukan pada lima titik waktu selama periode fermentasi, yaitu hari ke-3, 6, 10, 12, dan 14. Ini dilakukan untuk melihat pola perubahan reaksi biologis selama periode fermentasi. Hasil observasi dievaluasi secara deskriptif untuk mengidentifikasi perbedaan kecenderungan nilai antara jamur dan kontrol. Selain itu, uji Chi-Square non-parametrik digunakan untuk mengukur signifikansi perbedaan. Metode ini memungkinkan penelitian untuk menentukan apakah aktivitas metabolik jamur pelapuk putih menghasilkan aktivitas enzim yang berbeda secara statistik dan biologis dibandingkan dengan perlakuan kontrol selama inkubasi.

Adapun rumus yang digunakan dalam perhitungan statistik non-parametrik pada penelitian ini disajikan sebagai berikut.

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

H : nilai statistik Kruskal–Wallis

N : jumlah seluruh data dari semua kelompok

R : jumlah hasil sebelum dan sesudah

R^2 : jumlah hasil sebelum dan sesudah pangkat 2

R^2_i : jumlah peringkat (ranking) pada kelompok ke-i

n_i : jumlah data pada kelompok ke-i

$\sum$: penjumlahan seluruh kelompok

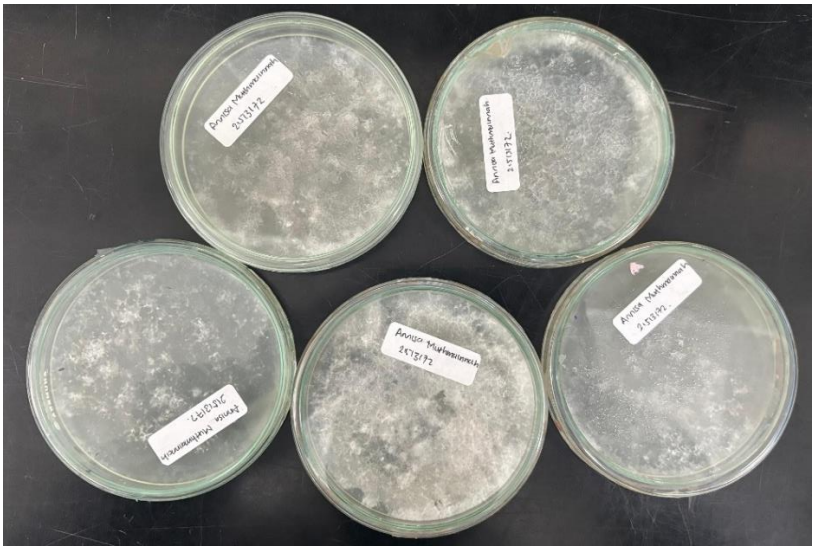
Aktivitas enzim lakase berbeda antar kelompok perlakuan dengan menggunakan uji statistik non-parametrik Kruskal–Wallis (uji H). Data aktivitas enzim dari masing-masing kelompok perlakuan digunakan untuk menghitung nilai H. Nilai H hitung dibandingkan dengan nilai Chi-Square pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ untuk menentukan keputusan uji. Apabila nilai H hitung lebih besar dari nilai χ^2 tabel, maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Sebaliknya, apabila nilai H hitung lebih kecil atau sama dengan nilai χ^2 tabel, maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan.

Analisis komparatif juga digunakan untuk membandingkan kadar Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) sebelum dan sesudah perlakuan kontrol dan jamur pelapuk putih. Ini dilakukan untuk mengetahui seberapa efektif ekstrak enzim lakase yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih dalam mengurangi konsentrasi TPH pada tanah tercemar. Data kadar TPH dianalisis secara deskriptif untuk melihat kecenderungan penurunan nilai TPH pada masing-masing perlakuan. Kemudian, data dibandingkan antar perlakuan untuk menilai perbedaan respons yang dihasilkan. Hasil analisis komparatif ini digunakan sebagai dasar untuk menilai fungsi enzim lakase sebagai agen bioremediasi. Selain itu, hasil ini meningkatkan pemahaman tentang hubungan antara aktivitas enzim lakase dan penurunan kadar TPH selama periode inkubasi.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Penggunaan PDA dan PDB

Media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA) memiliki nutrisi yang sama karena kaduanya terbuat dari infus kentang dan dekstrosa. PDB diformulasi sama dengan PDA tetapi tanpa agar, PDA mengandung agar sebagai agen Pengental (Sekitar 15 g/L) sehingga berbentuk padat yang merupakan perbedaan utamanya. Oleh karena itu, kedua media ini hampir identic diluar kekakuan permukaan yang dihasilkan oleh agar (Westrick et al, 2024). Akibatnya, nutrisi pada PDB terkonsentrasi di seluruh volume cairan, sedangkan pada PDA terkonsentrasi di permukaan media. PDA menyediakan kondisi pertumbuhan permukaan dengan radiasi oksigen tinggi di atas agar tetapi rendah di dalam agar, sedangkan PDB dapat dengan mudah melakukan sirkulasi atau pergantian medium.



Gambar 4. 1 Pertumbuhan Jamur pada Media PDA



Gambar 4. 2 Pertumbuhan Jamur pada Media PDB

Gambar diatas menunjukkan perbedaan pertumbuhan miselium jamur pada media PDA dan PDB. Pada media PDA, miselium berkembang membentuk koloni lempeng di permukaan, sementara pada media PDB miselium berkembang untuk memenuhi volume cairan dengan massa yang lebih besar. Sebuah studi eksperimental menemukan bahwa jamur Phanerocheate chrysosporium yang dibiakkan dalam kultur cair (PDB) mendukung pertumbuhan miselium lebih massif atau seluruh volume, sementara media padat membatasi perluasan miselium pada permukaan saja (Westrick et al, 2024).

Perbedaan pencapaian pertumbuhan miselium ini juga diamati secara umum. Pada PDB, kultur miselium cair sering membentuk gumpalan atau mengapung sebagai filamen dalam medium. Sebaliknya, pada PDA, pertumbuhan jamur cenderung berbentuk koloni melingkar (koloni radial) dengan tepi miselial yang jelas terlihat. Di PDA, pertumbuhan jamur bergantunng pada penyebaran jamur di permukaan agar, di PDB, sebaliknya, medium dapat diaduk atau berrgoyang, yang memungkinkan jamur mengakses lebih banyak oksigen dan nutrisi. Oleh karena itu, perbedaan tahap

pertumbuhan ini berdampak pada struktur miselium dan kecepatan kolonisasi setiap media.

Studi yang dilakukan oleh Wang et al. (2019) menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih yang ditumbuhkan pada media berbasis lignoselulosa menghasilkan peningkatan biomassa yang signifikan seiring dengan waktu inkubasi. Ini disebabkan oleh kemampuan jamur untuk menggunakan senyawa lignin dan selulosa sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan miselium.

1.2 Hasil pengukuran Aktivitas Enzim Kasar

Berdasarkan hasil perhitungan dan pemeriksaan yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, diperoleh data pertumbuhan enzim lakase selama masa inkubasi selama 14 hari, sebagaimana disajikan pada Tabel 4.1. Nilai pertumbuhan enzim tersebut diperoleh melalui perhitungan rata-rata dari hasil pengukuran duplo pada setiap waktu pengamatan, sehingga data yang disajikan mencerminkan nilai yang lebih representatif dan dapat meminimalkan kesalahan pengukuran.

Tabel 4. 1 Hasil Absorbansi Aktivitas Enzim Lakase

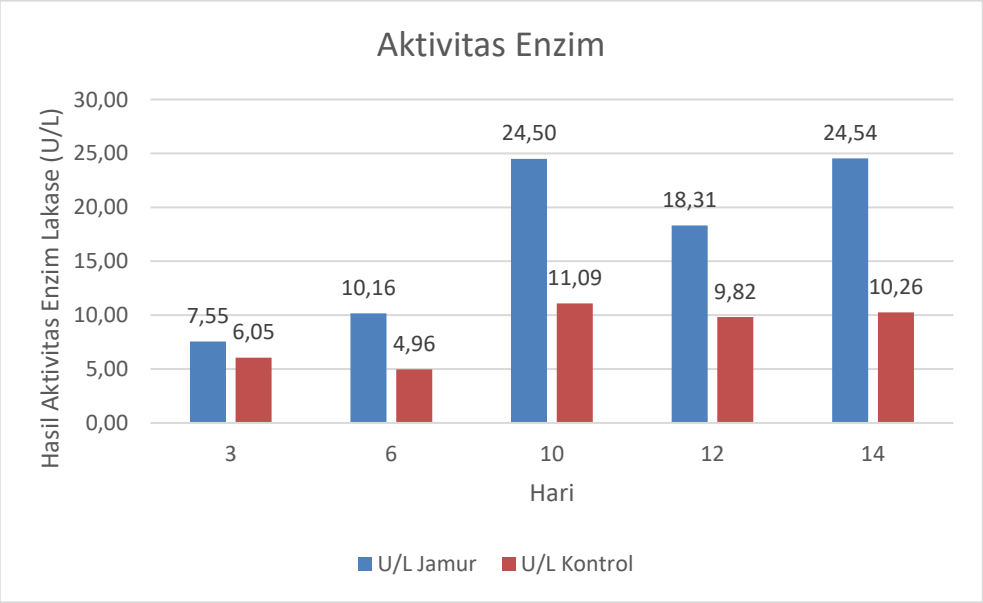
Hari	Jamur	Kontrol
3	0,38	0,26
6	0,56	0,27
10	0,88	0,60
12	0,97	0,55
14	1,24	0,52

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Wang et al. (2019), produksi enzim lakase jamur pelapuk putih cenderung meningkat pada fase pertumbuhan aktif dan mencapai tingkat aktivitas maksimum pada fase logaritmik hingga awal fase stasioner. Namun, kekurangan nutrien dan perubahan kondisi lingkungan selama fase fermentasi dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim.

Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk melihat aktivitas enzim lakase pada jamur pelapuk putih, hasil perhitungan aktivitas enzim lakase dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.3.

Tabel 4. 2 Aktivitas Enzim Lakase pada Jamur Pelapuk Putih

U/L		
Jamur	Kontrol	eror bar
7,55	6,05	0,75
10,16	4,96	2,60
24,50	11,09	6,70
18,31	9,82	4,25
24,54	10,26	7,14



Gambar 4. 3 Grafik Aktivitas Enzim Lakase pada Jamur Pelapuk Putih

Hasil pengukuran aktivitas enzim lakase selama masa inkubasi menunjukkan perbedaan yang jelas antara perlakuan jamur pelapuk putih dan perlakuan kontrol. Pengukuran dilakukan secara berkala selama lima titik waktu inkubasi, yang menunjukkan aktivitas enzim berubah dari awal fase fermentasi hingga akhir fasenya.

Pada hari ketiga, aktivitas enzim lakase tercatat sebesar 7,55 U/L pada perlakuan jamur dan 6,05 U/L pada kontrol. Nilai-nilai ini menunjukkan

bahwa jamur pelapuk putih mulai beradaptasi dengan media dan menghasilkan enzim lakase, meskipun aktivitas yang dihasilkan masih relatif rendah.

Pada hari keenam, aktivitas enzim lakase pada perlakuan jamur meningkat menjadi 10,16 U/L, sementara aktivitas pada kontrol turun menjadi 4,96 U/L. Peningkatan aktivitas enzim pada perlakuan jamur menunjukkan bahwa jamur telah memasuki fase pertumbuhan aktif, di mana proses metabolisme berlangsung lebih intensif. Pada tahap ini, produksi enzim lakase meningkat seiring dengan pertumbuhan biomassa jamur

Pada hari kesepuluh, aktivitas enzim lakase pada perlakuan jamur mencapai titik tertinggi sebesar 24,50 U/L, sedangkan aktivitas kontrol hanya 11,09 U/L. Nilai tertinggi ini menunjukkan bahwa jamur berada pada fase logaritmik hingga awal fase stasioner, di mana produksi enzim ekstraseluler berlangsung secara optimal. Meskipun nilai error bar yang relatif besar (6,70) menunjukkan variasi antar pengukuran, aktivitas enzim lakase umumnya tetap jauh lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Pada hari kedua belas, aktivitas enzim lakase turun menjadi 18,31 U/L pada perlakuan jamur, sedangkan pada kontrol sebesar 9,82 U/L. Ada dua alasan untuk penurunan ini: kurangnya nutrien dalam media atau akumulasi metabolit sekunder yang dapat menghambat aktivitas enzim. Meskipun demikian, aktivitas enzim lebih tinggi pada perlakuan jamur daripada kontrol, menunjukkan bahwa jamur masih berperan aktif dalam pembuatan enzim lakase.

Pada hari keempat belas, aktivitas enzim lakase kembali meningkat menjadi 24,54 U/L pada perlakuan jamur dan 10,26 U/L pada kontrol. Peningkatan kembali aktivitas ini menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih masih dapat mempertahankan produksi enzim lakase hingga akhir periode inkubasi. Ada variasi aktivitas enzim yang signifikan, yang mungkin disebabkan oleh perubahan kondisi mikro lingkungan selama proses fermentasi.

Secara keseluruhan, hasil tes menunjukkan bahwa, selama seluruh waktu inkubasi, perlakuan jamur pelapuk putih menghasilkan aktivitas enzim lakase yang lebih tinggi daripada kontrol. Selama fermentasi, pola peningkatan dan penurunan aktivitas enzim lakase mencerminkan dinamika pertumbuhan dan metabolisme jamur. Aktivitas enzim lakase yang tinggi, terutama pada hari ke-10 dan ke-14, menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih dapat menyediakan enzim lakase yang penting untuk proses biodegradasi senyawa kompleks, seperti hidrokarbon minyak bumi. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wang et al. (2019), enzim lakase yang berasal dari jamur pelapuk putih memiliki kemampuan untuk menghancurkan hidrokarbon kompleks dan senyawa aromatik melalui mekanisme oksidasi yang tidak spesifik. Ini menunjukkan bahwa enzim ini dapat digunakan sebagai agen bioremediasi pada tanah yang tercemar hidrokarbon minyak bumi.

1.3 Hasil Perhitungan Non-Parametrik

Analisis statistik non-parametrik dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan aktivitas enzim lakase antara perlakuan kontrol dan perlakuan jamur pelapuk putih selama periode inkubasi. Penggunaan uji statistik non-parametrik dipilih karena data yang diperoleh tidak memenuhi asumsi distribusi normal serta jumlah pengamatan yang relatif terbatas. Melalui analisis ini, dapat diketahui apakah perbedaan aktivitas enzim lakase yang dihasilkan oleh perlakuan jamur pelapuk putih bersifat signifikan secara statistik dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Ringkasan hasil perhitungan uji statistik non-parametrik disajikan pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Hasil Perhitungan Statistik Non-Parametrik

R	0,64	0,84	1,48	1,52	1,75
R^2	0,41	0,70	2,19	2,31	3,08
n	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
N	10,00				
R^2_i / n_i	0,21	0,35	1,10	1,16	1,54

Σ	4,35
H	-32,53

Nilai statistik H diperoleh sebesar -32,53 berdasarkan hasil analisis statistik non-parametrik menggunakan uji Kruskal–Wallis. secara teoritis, nilai statistik H pada uji Kruskal–Wallis bernilai nol atau positif. Nilai H negatif dalam penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan peringkat yang signifikan antara kelompok perlakuan yang dibandingkan. Oleh karena itu, perbedaan antar kelompok dapat dianggap tidak signifikan secara statistik.

Namun, perbedaan antara perlakuan jamur dan kontrol tidak signifikan secara statistik, menurut hasil analisis statistik menggunakan uji Chi-Square. Ini menunjukkan bahwa, meskipun ada perbedaan nilai secara deskriptif, perbedaan tersebut belum cukup signifikan untuk ditunjukkan sebagai perbedaan statistik yang nyata pada tingkat kepercayaan yang digunakan.

Ada banyak alasan mengapa hasil uji Chi-Square tidak signifikan. Kekuatan uji statistik dapat dipengaruhi oleh variasi data antar ulangan karena jumlah sampel yang relatif kecil. Selain itu, perbedaan antar kelompok tidak terlalu kontras secara statistik karena masing-masing perlakuan memiliki jumlah nilai yang sangat kecil.

Stabilitas nilai antar waktu inkubasi adalah komponen tambahan yang dapat memengaruhi hasil uji statistik. Nilai respons pada perlakuan jamur relatif stabil dari hari ke-6 hingga hari ke-14, sementara nilai kontrol juga relatif stabil. Uji Chi-Square tidak menemukan perbedaan yang signifikan dalam situasi ini karena variasi antar kelompok relatif sama.

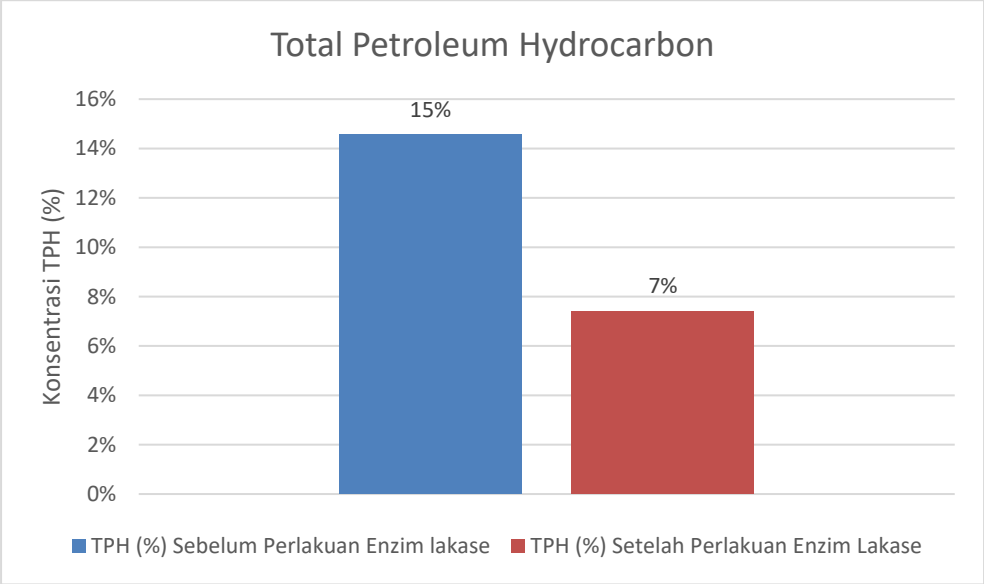
Meskipun hasil uji statistik tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, kecenderungan nilai yang lebih tinggi pada perlakuan jamur tetap menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih melakukan aktivitas biologis selama proses inkubasi. Dengan kata lain, temuan ini menunjukkan bahwa jamur mungkin memengaruhi respons yang diamati secara biologis. Namun,

pengaruh ini belum dapat dibuktikan secara statistik dalam kondisi penelitian ini.

Oleh karena itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan jamur pelapuk putih belum menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol berdasarkan uji Chi-Square. Namun, pola peningkatan dan kestabilan nilai perlakuan jamur tetap menunjukkan aktivitas jamur. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan dengan jumlah ulangan yang lebih besar, rentang waktu inkubasi yang diperpanjang, atau parameter pengamatan tambahan untuk menentukan perbedaan.

1.4 *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH)

Setelah perlakuan dengan ekstrak enzim lakase yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih, uji total hidrokarbon minyak bumi (TPH) dilakukan untuk mengetahui perubahan kadar hidrokarbon minyak bumi pada tanah tercemar. Selama tiga jam, proses inkubasi dilakukan untuk menguji kemampuan awal enzim lakase untuk mengkatalisis reaksi degradasi hidrokarbon. Penurunan kadar TPH selama proses inkubasi diduga terkait dengan aktivitas enzim lakase dalam mengoksidasi senyawa hidrokarbon kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Untuk menilai efektivitas perlakuan secara deskriptif dan komparatif, perbandingan hasil uji TPH antara perlakuan ekstrak enzim lakase dan perlakuan kontrol tanpa enzim digunakan. Hasil ini dapat digunakan sebagai indikator kemungkinan ekstrak enzim lakase sebagai agen bioremediasi untuk tanah yang tercemar minyak bumi. Maka, hasil yang didapat setelah uji TPH yaitu



Gambar 4. 4 Grafik Uji *Petroleum Hydrocarbon*

Berdasarkan grafik hasil pengujian, konsentrasi TPH sebelum perlakuan enzim lakase sebesar 15%, sedangkan setelah perlakuan menurun menjadi 7%. Hasil ini menunjukkan adanya penurunan kadar TPH sebesar 8%, yang mengindikasikan bahwa ekstrak enzim lakase memberikan pengaruh terhadap fraksi hidrokarbon dalam tanah tercemar. Penurunan tersebut berkaitan dengan mekanisme kerja enzim lakase yang mampu mengoksidasi senyawa aromatik dan hidrokarbon kompleks melalui reaksi oksidatif non-spesifik. Proses oksidasi ini menyebabkan perubahan struktur kimia hidrokarbon menjadi senyawa yang lebih sederhana, lebih polar, atau lebih mudah terdegradasi lebih lanjut. Dalam konteks bioremediasi, tahap ini merupakan fase awal transformasi senyawa pencemar sebelum terjadi mineralisasi atau degradasi lanjutan.

Jika dibandingkan dengan baku mutu lingkungan berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor 6 Tahun 2021, batas maksimum TPH dalam tanah adalah 15%. Nilai awal sebesar 15% berada tepat pada ambang batas, sedangkan nilai setelah perlakuan sebesar 7% telah berada di bawah batas maksimum yang diperbolehkan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan enzim lakase

berpotensi meningkatkan kualitas tanah tercemar hingga berada dalam kategori yang lebih aman secara regulatif.

Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Effendi et al (2021), yang menyatakan bahwa pendekatan bioremediasi menggunakan agen biologis mampu menurunkan kadar TPH melalui proses biodegradasi senyawa hidrokarbon menjadi bentuk yang lebih sederhana. Dalam jurnal tersebut dijelaskan bahwa keberhasilan penurunan TPH sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzimatik serta kondisi lingkungan yang mendukung proses degradasi. Hal ini memperkuat bahwa penurunan TPH pada penelitian Saudari merupakan indikasi adanya proses biodegradasi yang dipicu oleh aktivitas enzim lakase.

Meskipun demikian, efektivitas penurunan TPH sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti waktu inkubasi, konsentrasi enzim, karakteristik tanah, serta komposisi hidrokarbon awal. Waktu kontak yang lebih panjang dan optimasi kondisi reaksi berpotensi menghasilkan penurunan TPH yang lebih signifikan. Oleh karena itu, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak enzim lakase memiliki potensi sebagai agen bioremediasi berbasis enzim, khususnya dalam tahap awal oksidasi hidrokarbon pada tanah tercemar.

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data dapat ditarik kesimpulan, yaitu :

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur pelapuk *putih Phanerochaete chrysosporium* mampu menghasilkan ekstrak enzim kasar lakase dengan aktivitas enzim yang terukur pada seluruh waktu pengamatan, yang menandakan adanya aktivitas biologis jamur dalam memproduksi enzim ligninolitik menggunakan substrat sekam padi.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu inkubasi memengaruhi dinamika aktivitas enzim lakase, di mana aktivitas enzim pada perlakuan jamur cenderung meningkat pada waktu inkubasi menengah hingga akhir. Namun, berdasarkan hasil uji statistik non-parametrik, perbedaan aktivitas enzim antar waktu inkubasi dan dibandingkan dengan kontrol tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik.
3. Ekstrak enzim kasar lakase yang dihasilkan menunjukkan potensi awal untuk diaplikasikan sebagai agen pendukung dalam proses bioremediasi tanah tercemar TPH, efektivitas menurukan kadar TPH.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran dari penulis untuk penelitian selanjutnya, yaitu :

1. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan jumlah ulangan yang lebih banyak agar hasil analisis statistik, baik aktivitas enzim maupun penurunan TPH, dapat menunjukkan signifikansi yang lebih kuat.
2. Perlu dilakukan optimasi kondisi produksi enzim, seperti pengaturan pH, suhu, aerasi, rasio nutrisi, serta waktu inkubasi optimal untuk meningkatkan aktivitas lakase yang dihasilkan.

3. Disarankan untuk melakukan pengujian lebih lanjut terhadap efektivitas ekstrak enzim kasar lakase dalam menurunkan kadar TPH, dengan variasi waktu kontak, konsentrasi enzim, dan kondisi tanah tercemar.
4. Penelitian lanjutan sebaiknya mengevaluasi hubungan antara aktivitas enzim lakase dengan persentase penurunan TPH, sehingga mekanisme bioremediasi dapat dijelaskan secara lebih komprehensif.
5. Perlu dilakukan kajian terhadap stabilitas dan ketahanan enzim lakase dalam kondisi lingkungan tanah yang berbeda, seperti variasi pH, kelembapan, dan kandungan bahan organik.
6. Disarankan untuk mengombinasikan ekstrak enzim kasar dengan pendekatan bioremediasi lain, seperti bioaugmentasi atau biostimulasi, guna meningkatkan efisiensi penurunan TPH.
7. Untuk pengembangan skala aplikatif, diperlukan penelitian lanjutan mengenai potensi penerapan ekstrak enzim kasar lakase pada skala lapangan, termasuk analisis teknis, lingkungan, dan ekonomi.

DAFTAR PUSTAKA

Abena, T., & Simachew, A. (2024). Production and characterization of acidophilic xylanase from wood-degrading white rot fungus by solid-state fermentation of wheat straw. *Heliyon*, *10*(15), e35496. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e35496

Anita, S. H., Yanto, D. H. Y., & Fatriasari, W. (2011). Pemanfaatan lignin hasil isolasi dari lindi hitam proses biopulping bambu betung (*Dendrocalamus asper*) sebagai media selektif jamur pelapuk putih.

Apriliahetty, L. A., Afifah, L., Samaullah, Y., & Lestari, A. (2023). Respon pertumbuhan dan karakteristik miselia F3 isolat FP007 jamur merang (*Volvariella volvacea*) pada media yang berbeda secara *in vitro*. *Jurnal Agroplasma*, *10*(2).

Borkertas, S., Viskelis, J., Viskelis, P., Streimikyte, P., Gasiunaite, U., & Urbonaviciene, D. (2025). Fungal biomass fermentation: Valorizing the food industry's waste. *Fermentation*, *11*(6), 351. https://doi.org/10.3390/fermentation11060351

Camarero, S., Martínez, M. J., & Martínez, A. T. (2014). Understanding lignin biodegradation for the improved utilization of plant biomass in modern biorefineries. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, *8*(5), 615–625. https://doi.org/10.1002/bbb.1467

Effendi, A. J., Suhardi, S. H., Widi, Y. C. K. A. S., Hasan, K., Awfa, D., & Saputra, R. (2021). Optimization of enzymatic bioremediation of oil-contaminated soil by laccase from *Marasmiellus palmovorus* using response surface methodology. *Jurnal Presipitasi: Media Komunikasi dan Pengembangan Teknik Lingkungan*, *18*(3), 453–463.

Isroi, Millaati, R., Syamsiah, S., Niklasson, C., Cahyanto, M. N., Lundquist, K., & Taherzadeh, M. J. (2011). Pra-perlakuan biologis lignoselulosa dengan jamur pembusuk putih dan aplikasinya: Tinjauan.

Malik, S., Omre, P. K., & Sivadas, S. (2024). Compositional analysis of the lignocellulosic biomass from agricultural waste (rice husk). *Archives of*

Current Research International, 24(6), 78–84. https://doi.org/10.9734/acri/2024/v24i6766

Moharam, M. E., El-Bendary, M. A., Abo Elsoud, M. M., El-Beih, F., Hassnin, S. M., Salama, A., Omara, E. A., & Elgamal, N. N. (2023). Modeling and *in vivo* evaluation of fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus subtilis* Egy under solid-state fermentation.

Morimoto, K., Tsuda, K., & Mizuno, D. (2023). Literature review on the utilization of rice husks: Focus on application of materials for digital fabrication. *Materials, 16*(16), 5597. https://doi.org/10.3390/ma16165597

Ou, Y., Wilson, R. E., & Weber, S. G. (2018). Methods of measuring enzyme activity *ex vivo* and *in vivo*. *Annual Review of Analytical Chemistry*.

Prawitasari, D. A. (2025). Potensi limbah hasil pertanian padi menjadi sumber bioenergi melalui konsep biorefineri dengan pendekatan P-Graph dan analisis ekonomi teknik di Kabupaten Sleman, Yogyakarta. *AJIE, 9*(1), 16–32. https://doi.org/10.20885/ajie.vol9.iss1.art2

Sakhuja, D., Ghai, H., Rathour, R. K., Kumar, P., Bhatt, A. K., & Bhatia, R. K. (2021). Cost-effective production of biocatalysts using inexpensive plant biomass: A review. *3 Biotech, 11*(6), 278. https://doi.org/10.1007/s13205-021-02847-z

Sato, S., Liu, F., Koc, H., & Tien, M. (2007). Expression analysis of extracellular proteins from *Phanerochaete chrysosporium* grown on different liquid and solid substrates. *Microbiology, 153*(9), 3023–3033. https://doi.org/10.1099/mic.0.2006/000513-0

Suzuki, H., MacDonald, J., Syed, K., Salamov, A., Hori, C., Aerts, A., Henrissat, B., Wiebenga, A., van Kuyk, P. A., Barry, K., Lindquist, E., LaButti, K., Lapidus, A., Lucas, S., Coutinho, P., Gong, Y., Samejima, M., Mahadevan, R., Abou-Zaid, M., & Master, E. R. (2012). Comparative genomics of the white-rot fungi *Phanerochaete carnosa* and *Phanerochaete chrysosporium* to elucidate the genetic basis of the distinct wood types they colonize. *BMC Genomics, 13*, 444. https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-444

Takano, M., Hayashi, N., Nakamura, M., & Yamaguchi, M. (2009). Extracellular peroxidase reaction at hyphal tips of white-rot fungus *Phanerochaete crassa* WD1694 and in fungal slime. *Journal of Wood Science, 55*(4), 302–307. https://doi.org/10.1007/s10086-009-1030-8

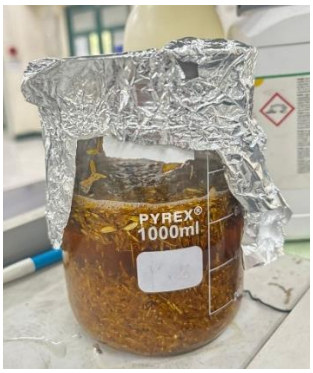
LAMPIRAN



Lampiran 1 Proses Pembuatan Media PDA di LAF



Lampiran 2 Proses Penggerusan Jamur dari Media PDA



Lampiran 3 Proses Perendaman Sekam Padi



Lampiran 4 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 3 Hari



Lampiran 5 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 6 Hari



Lampiran 6 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 10 Hari



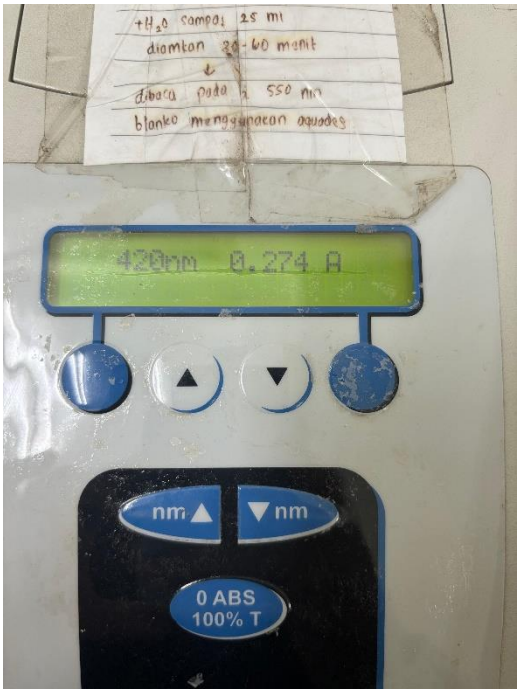
Lampiran 7 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 12 Hari



Lampiran 8 Inkubasi Jamur pada Substrat Sekam Padi Selama 14 Hari



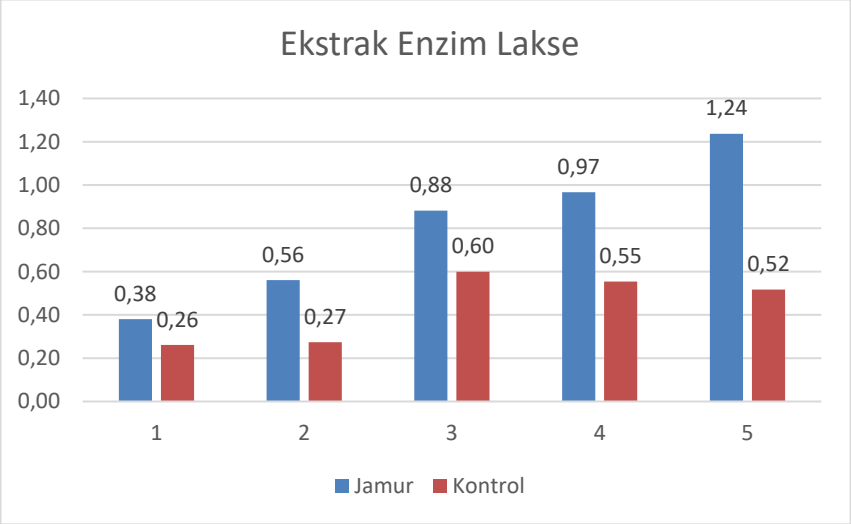
Lampiran 9 Suspensi Jamur di Sentrifugasi



Lampiran 10 Hasil Absorbansi



Lampiran 11 Proses Pengambilan Sampel Tanah di Bengkel Mobil



Lampiran 12 Grafik Pertumbuhan Enzim Lakase Selama Inkubasi 14 Hari

Hari	3	6	10	12	14
Jamur	0,38	0,56	0,88	0,97	1,24
Kontrol	0,26	0,27	0,60	0,55	0,52
R	0,64	0,84	1,48	1,52	1,75
R^2	0,41	0,70	2,19	2,31	3,08
n	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
N	10,00				
R^2_i / n_i	0,21	0,35	1,10	1,16	1,54
Σ	4,35				
H	-32,53				

Lampiran 13 Perhitungan Statistik Non-Parametrik

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Annisa Muthmainnah yang lahir di Koto Baru Simalanggang, 23 Juni 2003. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Gustrianto dan Ibu Foni Susanti. Pendidikan dasar ditempuh di SDN 03 Koto Baru Simalanggang, kemudian melanjutkan jenjang menengah di SMPN 01 Kec. Payakumbuh dan SMKN 02 Payakumbuh. Setelah menyelesaikan pendidikan menengah atas, penulis melanjutkan studi di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.