

**OPTIMASI DEGRADASI LIGNOSELULOSA TANDAN KOSONG
KELAPA SAWIT (TKKS) OLEH *Phanerochaete chrysosporium*
MENGGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHODOLOGY**

*Optimization of Lignocellulose Degradation of Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) by *Phanerochaete chrysosporium* Using Response Surface Methodology*

Sarah Chairunnisa, Imania Nurika*, Nur Hidayat

Departemen Teknologi Industri Pertanian –Fakultas Teknologi Pertanian –Universitas Brawijaya
Jl. Veteran –Malang 65145

*Penulis Korespondensi, email : imania@ub.ac.id

Disubmit : 10 Desember 2023 Direvisi : 17 Desember 2024 Diterima : 28 Desember 2024

ABSTRAK

Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) merupakan biomassa lignoselulosa yang memiliki potensi untuk dikonversi menjadi produk *bio-based* melalui proses degradasi. Proses degradasi ini dapat dilakukan secara enzimatik oleh *Phanerochaete chrysosporium*, salah satu jamur pelapuk putih yang mampu memecah struktur kompleks lignoselulosa pada TKKS. Dalam penelitian ini, dilakukan optimasi faktor seperti konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi agar memperoleh degradasi lignoselulosa TKKS yang optimal oleh *P. chrysosporium* dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Variabel respon penelitian ini yaitu total gula reduksi (TGR), *total soluble phenol* (TSP), susut berat dan pH. Hasil solusi optimal diperoleh pada perlakuan konsentrasi glukosa 30 g/L, konsentrasi *yeast extract* 0,5 g/L dan waktu inkubasi selama 21 hari menghasilkan nilai prediksi TGR sebesar 7,244 mg/g, nilai TSP sebesar 0,036 mg/g, pH sebesar 5,69, dan susut berat sebesar 17,085 %, dengan nilai *desirability* sebesar 0,844. Berdasarkan hasil verifikasi, respon TGR sebesar 7,874 mg/g, respon TSP sebesar 0,031 mg/g, respon pH sebesar 5,69, dan respon susut berat sebesar 16,702%.

Kata Kunci: Biodegradasi; Optimasi dengan RSM; *Phanerochaete chrysosporium*; TKKS

ABSTRACT

*Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) is a lignocellulosic biomass with the potential to be converted into bio-based products through degradation processes. This degradation can be enzymatically performed by *Phanerochaete chrysosporium*, a white-rot fungus capable of breaking down the complex lignocellulosic structure of OPEFB. In this study, the optimization of factors such as glucose concentration, yeast extract concentration, and incubation time was conducted to achieve optimal lignocellulosic degradation of OPEFB by *Phanerochaete chrysosporium* using Response Surface Methodology (RSM). The response variables in this study were total reducing sugar (TRS), total soluble phenol (TSP), weight loss, and pH. The optimal solution was obtained with a glucose concentration of 30 g/L, yeast extract concentration of 0.5 g/L, and an incubation time of 21 days, resulting predicted values of TRS at 7.244 mg/g, TSP at of 0.036 mg/g, pH at 5.69, and weight loss at 17.085%, with a desirability value of 0.844. Based on the verification results, the TRS response was 7.874 mg/g, the TSP response was 0.031 mg/g, the pH response was 5.69, and the weight loss response was 16.702%.*

Keywords: Biodegradation; OPEFB; Optimization with RSM; *Phanerochaete chrysosporium*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu produsen kelapa sawit terbesar dengan total produksi 45,74 ton pada tahun 2020 dan diperkirakan terus meningkat menjadi 48,23 ton pada tahun 2022 (Direktorat Jendral Perkebunan, 2021). Ohimain dan Izah (2017) menyatakan bahwa konversi tandan buah segar (TBS) menghasilkan 10–30% *crude palm oil* (CPO) sebagai produk utama dengan produk sampingan 30–70% limbah padat. Komposisi limbah padat yang dihasilkan terdiri dari serat (12–15%), cangkang (5–7%) dan tandan kosong kelapa sawit (TKKS) (20–23%). Peningkatan produksi CPO mendorong bertambahnya limbah TKKS sebanyak 20–23% dari berat TBS, yang setara dengan 9,148–10,523 juta ton pada 2020, yang diperkirakan meningkat menjadi 9,646–11,087 juta ton pada 2022 (Shahidul *et al.*, 2020).

TKKS saat ini memiliki nilai ekonomi yang rendah karena pemanfaatannya terbatas dan belum maksimal, baru sekitar 10% limbah TKKS dimanfaatkan sebagai bahan bakar boiler (Olisa *et al.*, 2014; Nnaemeka *et al.*, 2018), kompos (Hastuti and Rohmiyati, 2020), mulsa kebun (Sari *et al.*, 2022), dan 90% sisanya tidak terolah (Mardawati *et al.*, 2022). Akumulasi TKKS yang tidak dikelola dengan baik dapat menimbulkan pencemaran lingkungan dan membutuhkan lahan pembuangan yang luas (Yin *et al.*, 2020; Azizah *et al.*, 2021). TKKS kini mendapat perhatian sebagai bahan baku potensial untuk menghasilkan bioenergi dan bioproduk (Majesty and Herdiansyah, 2019; Suhartini *et al.*, 2022). Biomassa TKKS terdiri dari 31–43% selulosa, 23–35% hemiselulosa, dan 11–23% lignin (Hidayatullah *et al.*, 2021). Keterbatasan pemanfaatan TKKS untuk dikonversi menjadi produk *bio-based* yang mempunyai nilai ekonomi tinggi disebabkan oleh kompleksitas struktur lignoselulosa TKKS yang dapat menghambat efektivitas bioproses yang berhubungan dengan aktivitas enzim atau mikroorganisme (Lee *et al.*, 2014).

Jamur *Phanerochaete chrysosporium* merupakan salah satu jamur pelapuk putih yang mampu menguraikan struktur kompleks lignoselulosa dengan mensintesis

enzim mangan peroksidase (MnP), lakase, dan lignin peroksidase (LiP) (Patil and Yadav, 2018; Saldarriaga-Hernández *et al.*, 2020). Pertumbuhan dan metabolisme jamur merupakan aspek penting dalam memastikan keberhasilan *pretreatment* biologis menggunakan mikroorganisme (Abraham *et al.*, 2020). Faktor-faktor seperti nutrisi media (konsentrasi karbon dan nitrogen), pH, suhu inkubasi, serta waktu inkubasi memainkan peran kunci dalam mendukung pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (da Silva Ferreira and Sant' Anna, 2017; Bellettini *et al.*, 2019).

Sumber karbon dan nitrogen telah dilaporkan dapat mengatur aktivitas enzim lignolitik pada jamur pelapuk (Reddy and Kanwal, 2022). Glukosa merupakan salah satu sumber karbon yang umum digunakan dalam media fermentasi karena mendukung pertumbuhan jamur dengan menyediakan energi yang mudah diakses (Sargeant *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2018). Penambahan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen juga penting, karena tidak hanya melengkapi kebutuhan nutrisi mikroorganisme, tetapi mampu meningkatkan produksi enzim lignolitik yang berperan dalam degradasi lignoselulosa (Civzele *et al.*, 2023). Selain nutrisi, waktu inkubasi juga menjadi faktor penting karena mempengaruhi efisiensi pemanfaatan sumber karbon dalam media yang memungkinkan akumulasi miselium jamur dan mendukung aktivitas enzim lignolitik, sehingga meningkatkan degradasi lignoselulosa (Abdelhamid *et al.*, 2019; Nurika *et al.*, 2021). Kombinasi antara nutrisi dan waktu inkubasi yang tepat penting untuk mencapai efisiensi *pretreatment* yang maksimal.

Dalam konteks ini, *biorefinery* muncul sebagai solusi untuk mengelola biomassa secara berkelanjutan, mengintegrasikan daur ulang, sehingga dapat memproduksi bioproduk yang bernilai tambah (Mutsengerere *et al.*, 2019; Saratale *et al.*, 2022). Penelitian-penelitian sebelumnya telah menyoroti pentingnya *pretreatment* ramah lingkungan dan hemat biaya untuk mendukung penerapan *biorefinery* biomassa lignoselulosa yang berkelanjutan (Rasid *et al.*, 2021; Suhartini *et al.*, 2022). Namun, penelitian yang mengoptimalkan parameter

pretreatment biologis pada degradasi TKKS menggunakan jamur pelapuk putih, seperti *P. chrysosporium*, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengoptimalkan *pretreatment* biologis menggunakan *P. chrysosporium* untuk mendegradasi lignoselulosa TKKS dengan menentukan konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi menggunakan *Response surface methodology* (RSM).

METODE

Persiapan Bahan dan Mikroorganisme

Limbah TKKS diperoleh dari PT Sawit Arum Madani, Blitar, Indonesia. TKKS dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 48 jam. Kemudian, pengecilan ukuran menggunakan metode *chipping* hingga TKKS berukuran $2 \pm 0,5$ cm. Bahan yang digunakan adalah kalsium karbonat (CaCO_3) (Merck), kalsium sulfat (CaSO_4) (Merck), glukosa (Merck), *yeast extract* (Merck), 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) (Sigma-Aldrich), dan Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich). Semua reagen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Pro-Analysis* (PA). Adapun bahan lain yang digunakan seperti hydrobat, aquades, spiritus, plastik *wrap*, kain saring, kertas saring dan aluminium foil.

Kultur jamur *P. chrysosporium* diperoleh dari Laboratorium Bioindustri, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Universitas Brawijaya, Indonesia. Kultur disimpan pada suhu 4°C dan ditumbuhkan pada *Malt Extract Agar* (MEA)(Difco). Kemudian MEA yang telah ditumbuhi kultur *P. chrysosporium* diinokulasikan ke media *grain spawn* yang telah ditambahkan CaSO_4 10 mg dan CaCO_3 3 mg, kemudian diinkubasi pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan untuk optimasi menggunakan *Response Surface Method* (RSM) adalah *Central Composite Design* (CCD). Rancangan ini digunakan untuk mengalokasikan kombinasi perlakuan dari faktor-faktor yang diuji terhadap total gula reduksi (TGR), *total soluble phenol* (TSP), susut berat, dan pH. Faktor yang diteliti pada penelitian

adalah konsentrasi glukosa (X_1), konsentrasi *yeast extract* (X_2), serta waktu inkubasi (X_3).

Nilai α diperoleh dari perhitungan $\alpha = 2^{k/4}$, karena penelitian ini menggunakan tiga faktor maka nilai $k = 3$, sehingga $\alpha = 2^{3/4} = 1,681$. Adapun level dari faktor yang digunakan yakni:

1. Konsentrasi glukosa (A), level faktor:
 - a. Konsentrasi 10 g/L ($X_1 = -1$)
 - b. Konsentrasi 20 g/L ($X_1 = 0$)
 - c. Konsentrasi 30 g/L ($X_1 = +1$)
2. Konsentrasi *yeast extract* (B), level faktor:
 - a. Konsentrasi 0,5 g/L ($X_2 = -1$)
 - b. Konsentrasi 0,75 g/L ($X_2 = 0$)
 - c. Konsentrasi 1 g/L ($X_2 = +1$)
3. Waktu inkubasi (C), level faktor:
 - a. Waktu Inkubasi 7 hari ($X_3 = -1$)
 - b. Waktu Inkubasi 14 hari ($X_3 = 0$)
 - c. Waktu Inkubasi 21 hari ($X_3 = +1$)

Level-level faktor selanjutnya ditetapkan sesuai dengan titik pusat $X_1 = 0$, $X_2 = 0$, dan $X_3 = 0$. Hubungan antar variabel X_1 dengan variabel asli dapat dilihat pada Persamaan (1). Hubungan antara variabel X_2 dengan variabel asli dapat dilihat pada Persamaan (2). Hubungan antara variabel X_3 dengan variabel asli dapat dilihat pada Persamaan (3).

$$X_1 = \frac{A-20}{10}; A = 10 X_1 + 20 \dots \dots \dots (1)$$

$$X_2 = \frac{B-0,75}{0,25}; B = 0,25 X_2 + 0,75 \dots \dots \dots (2)$$

$$X_3 = \frac{C-14}{7}; C = 7 X_3 + 14 \dots \dots \dots (3)$$

Level faktor yang sesuai dengan nilai $-\alpha = -1,681$ dan $\alpha = 1,681$ ditetapkan dengan perhitungan melalui hubungan variabel X_1 , X_2 dan X_3 dengan variabel asli dalam Persamaan (1), (2) dan (3).

Dari persamaan (1) diketahui bahwa :
 $X_1 = 1,681$, maka $A = 10 (1,681) + 20 = 36,81$
 g/L

$X_1 = -1,681$, maka $A = 10 (-1,681) + 20 = 3,18$
 g/L

Dari persamaan (2) diketahui bahwa:
 $X_2 = 1,681$, maka $B = 0,25 (1,681) + 0,75 = 1,17$
 g/L

$X_2 = -1,681$, maka $B = 0,25 (-1,681) + 0,75 = 0,329$ g/L

Dari Persamaan (3) diketahui bahwa :
 $X_3 = 1,681$, maka $C = 7 (1,681)+14 = 25,76 \sim 26$ hari
 $X_3 = -1,681$, maka $C = 7 (-1,681)+14 = 2,23 \sim 2$ hari

Berdasarkan nilai masing-masing level tersebut, diketahui kondisi level optimasi pada Tabel 1.

Tabel 1. Kondisi level optimasi dari rancangan percobaan

Faktor Optimasi	Level Optimasi				
	- α	-1	0	+1	α
Konsentrasi glukosa (g/L)	3,18	10	20	30	36,81
Konsentrasi yeast extract (g/L)	0,329	0,5	0,75	1	1,17
Waktu Inkubasi (hari)	2	7	14	21	26

Proses Pretreatment

10 g TKKS dimasukkan ke dalam jar dan ditambahkan 10 mL air. Kemudian disterilisasi sebanyak dua kali pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan autoklaf (Hirayama HVE-50). Selanjutnya, ditambahkan masing-masing 1mL larutan glukosa dan yeast extract dengan konsentrasi berdasarkan desain RSM. Konsentrasi glukosa terdiri dari 3,18 g/L; 10 g/L; 20 g/L; 30 g/L; dan 36,81 g/L. Sedangkan konsentrasi yeast extract terdiri dari 0,329 g/L; 0,5 g/L; 0,75 g/L; 1 g/L; dan 1,17 g/L. TKKS kemudian diinokulasikan dengan $2\pm 0,2$ g grain spawn yang telah ditumbuhi *P. chrysosporium* dan diinkubasi pada suhu 30 ± 2 °C selama 2, 7, 14, 21, dan 26 hari.

Proses Ekstraksi

Hasil pretreatment TKKS pada 2, 7, 14, 21 dan 26 hari masing-masing diekstraksi dengan menambahkan 100 mL aquades yang telah dipanaskan hingga suhu 80°C. Kemudian dihomogenkan menggunakan waterbath shaker (Julabo SW 22) pada suhu 40°C, 150 rpm selama 1 jam. Sampel padat diambil untuk perhitungan susut berat. Sedangkan supernatant atau cairan hasil ekstraksi disaring kembali menggunakan kertas saring dan hasil ekstrak digunakan

untuk analisis TGR, TSP dan pengukuran pH.

Analisis TGR, TSP, pH, dan Susut Berat

Analisis TGR dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 10 UV). TGR dianalisis menggunakan reagen 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) pada panjang gelombang 540 nm (Miller, 1959). TSP dianalisis menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm (Singleton and Rossi, 1965). Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Kulasekaran *et al.*, 2015). Selanjutnya, perhitungan susut berat mengacu pada Pitt and Hocking (2009), dengan cara mengeringkan sampel di dalam ovens pada suhu 80°C selama 16–24 jam hingga bobot konstan. Perhitungan susut berat kering dapat dihitung menggunakan Persamaan (4).

Susut berat kering hari ke-t (%) =

$$\frac{(BKO \text{ hari ke } 0 - BKO \text{ hari ke } t)}{(BKO \text{ hari ke } 0)} \times 100\% \dots \dots \dots (4)$$

Keterangan: BKO = Berat Kering Oven (g)

Pengolahan dan Analisa Data

Data hasil penelitian yang diperoleh berupa TGR, TSP, pH, dan susut berat diolah serta dianalisa menggunakan software Design Expert 13.0. Data dimasukkan pada rancangan komposit terpusat 3 faktor dengan respon TGR, TSP, pH, dan susut berat. Faktor perlakuan terdiri dari konsentrasi glukosa, konsentrasi yeast extract, dan waktu inkubasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Hasil Biodegradasi Tandan Kosong Kelapa Sawit

Optimasi hasil pretreatment TKKS dilakukan dengan mencari respon terbaik dari faktor berupa konsentrasi glukosa, konsentrasi yeast extract, dan waktu inkubasi. Respon yang digunakan adalah TGR, TSP, pH, dan susut berat. Data respon yang diperoleh dari kombinasi faktor pada penelitian yang dilakukan dapat dilihat

pada Tabel 2. Data yang diperoleh selanjutnya diolah dengan analisa statistika yang bertujuan untuk mengoptimalkan faktor konsentrasi glukosa (X_1), konsentrasi yeast extract (X_2), dan waktu inkubasi (X_3).

Pemilihan model untuk masing-masing respon ditentukan berdasarkan kriteria *Sequential Model Sum of Squares*, *Lack of Fit*, *Adjusted R²*, dan *Predicted R²*.

Tabel 2. Data respon yang diperoleh dari kombinasi faktor

Faktor			Respon			
X_1	X_2	X_3	TGR (mg/g)	TSP (mg/g)	pH	Susut Berat (%)
10	0,50	7	6,124	0,027	5,93	12,247
30	0,50	7	6,660	0,034	6,16	15,160
10	1,00	7	5,381	0,024	6,00	13,062
30	1,00	7	6,127	0,030	6,10	13,867
10	0,50	21	7,333	0,037	5,68	17,119
30	0,50	21	7,573	0,037	5,71	18,439
10	1,00	21	6,908	0,036	5,66	15,792
30	1,00	21	7,432	0,035	5,35	17,050
3,18	0,75	14	6,140	0,033	6,09	13,604
36,81	0,75	14	7,215	0,037	5,98	15,044
20	0,33	14	6,642	0,035	5,86	14,542
20	1,17	14	5,092	0,026	5,82	13,954
20	0,75	2	5,064	0,025	6,39	12,145
20	0,75	26	6,539	0,038	5,90	17,502
20	0,75	14	6,460	0,028	6,05	13,662
20	0,75	14	6,017	0,027	5,94	14,172
20	0,75	14	6,749	0,033	6,05	15,549
20	0,75	14	6,285	0,032	5,95	14,391
20	0,75	14	6,879	0,031	6,01	14,116
20	0,75	14	6,029	0,030	6,04	14,209

Ket.: X_1 = konsentrasi glukosa (g/L); X_2 = konsentrasi yeast extract (g/L); X_3 = waktu inkubasi (hari)

Total Gula Reduksi (TGR)

Nilai Total Gula Reduksi (TGR) diukur untuk menunjukkan kemampuan jamur *P. chrysosporium* dalam mendegradasi TKKS. Nilai TGR yang terukur pada filtrat hasil degradasi mewakili pelepasan gula dari depolimerisasi selulosa dan hemiselulosa (Nurika et al., 2022; Ma et al., 2022). Berdasarkan analisis kriteria optimasi TGR dapat diketahui bahwa model yang disarankan adalah model linear dimana *Sequential Model Sum of Squares* memiliki *p-value* paling rendah (0,0004). *Lack of Fit* pada model linear memiliki *p-value* 0,2744 (>0,05) yang menunjukkan bahwa model linear sesuai. Pemilihan model berdasarkan nilai *Adjusted R-squared* dan *predicted R-squared* didasarkan pada hasil nilai yang terbesar. Nilai R^2 sebesar 0,6729 dengan Adj R^2 sebesar 0,6116. Hasil ANOVA menunjukkan nilai *p-value* untuk model terpilih yakni linear memiliki pengaruh nyata dan signifikan terhadap respon TGR. Persamaan

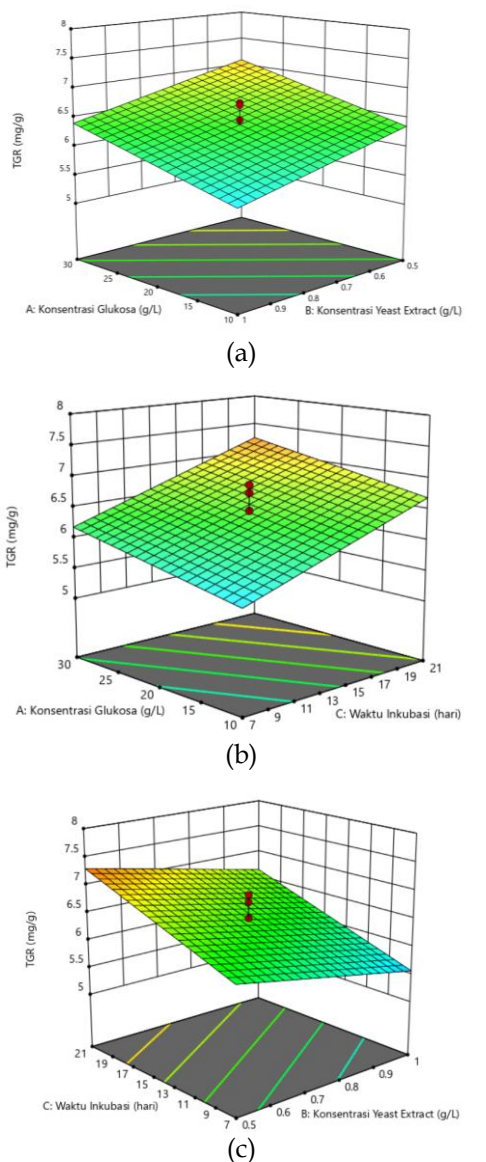
regresi pada model linear untuk respon TGR ditunjukkan pada Persamaan (5). Kurva *Response Surface* Tiga Dimensi untuk konsentrasi glukosa, konsentrasi yeast extract dan waktu inkubasi terhadap respon TGR dapat dilihat pada Gambar 1.

$$TGR \text{ (mg/g)} = 5,766 + 0,028 X_1 - 1,302 X_2 + 0,077 X_3 \dots\dots\dots (5)$$

Di mana:
 X_1 = Faktor konsentrasi glukosa (g/L)
 X_2 = Faktor konsentrasi yeast extract (g/L)
 X_3 = Faktor waktu inkubasi (hari)

Model respon TGR bersifat linear, yang berarti hanya mempertimbangkan efek masing-masing faktor (X_1 , X_2 , X_3) terhadap respon TGR. Interaksi antar faktor (X_1X_2 , X_1X_3 , dan X_2X_3) tidak terjadi pada model linier. Dengan kata lain, model ini mengasumsikan bahwa setiap faktor memengaruhi TGR secara independen,

tanpa adanya hubungan saling memengaruhi antar faktor. Hal ini terlihat pada bentuk persamaan (5) yang hanya memuat koefisien linier untuk masing-masing faktor.



Gambar 1. Kurva *response surface* 3D untuk interaksi antara (a) konsentrasi glukosa dan *yeast extract*, (b) konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi, (c) konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi, terhadap respon TGR

Gambar 1 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi glukosa (X_1), semakin tinggi nilai TGR yang dihasilkan. Barborakova *et al.* (2012) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi glukosa dalam media berdampak positif pada peningkatan

berat kering miselium jamur. Hal ini dikarenakan penambahan glukosa yang optimum pada jamur pelapuk putih lignolitik mampu mempercepat pertumbuhan jamur akibat adanya karbohidrat yang lebih mudah terurai. Selain itu, glukosa juga digunakan sebagai sumber energi untuk memecah struktur lignoselulosa menjadi gula sederhana yang terdeteksi sebagai gula reduksi (Sarria-Alfonso *et al.*, 2013).

Faktor konsentrasi *yeast extract* (X_2) menunjukkan penurunan linier pada TGR. Semakin tinggi konsentrasi *yeast extract* yang ditambahkan, TGR yang diperoleh semakin menurun. Hal ini dapat disebabkan karena konsentrasi *yeast extract* yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan jamur sehingga mengakibatkan menurunnya kemampuan jamur dalam mendegradasi sehingga tidak terjadi peningkatan jumlah gula yang tereduksi (Kim *et al.*, 2014). Nitrogen yang rendah dilaporkan sebagai faktor utama yang mendorong delignifikasi, karena adanya peningkatan produksi enzim lignolitik oleh jamur pelapuk putih. Menurut Kirk *et al.* (1987), kondisi nitrogen rendah merangsang produksi enzim lignolitik oleh *P. chrysosporium*. Sebaliknya, kadar nitrogen yang tinggi menghambat proses degradasi lignin karena mengganggu metabolisme jamur dan menurunkan efisiensi produksi enzim (Rouches *et al.*, 2016; Ho *et al.*, 2020).

Faktor waktu inkubasi (X_3) memberikan efek positif terhadap TGR. Semakin lama waktu inkubasi memungkinkan enzim dari *P. chrysosporium* untuk bekerja lebih efektif yang mengakibatkan semakin tingginya nilai TGR. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan waktu inkubasi dapat meningkatkan degradasi lignoselulosa (Mustabi *et al.*, 2018). Seperti pada Tabel 2, konsentrasi glukosa 30 g/L dan konsentrasi *yeast extract* 0,5 g/L yang sama, namun dengan waktu inkubasi yang berbeda, diperoleh nilai TGR yang berbeda. Pada waktu inkubasi 7 hari, TGR tercatat sebesar 6,660 mg/g, sementara pada hari ke-21 meningkat menjadi 7,573 mg/g. Hasil ini didukung oleh Nurika *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu inkubasi hingga titik optimum,

semakin banyak lignin yang terdegradasi karena pemanfaatan struktur lignin untuk pertumbuhan jamur pelapuk putih.

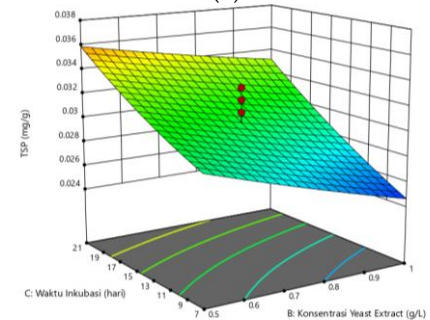
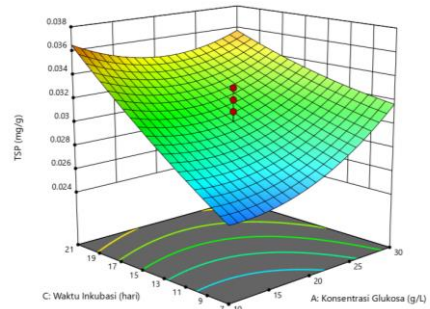
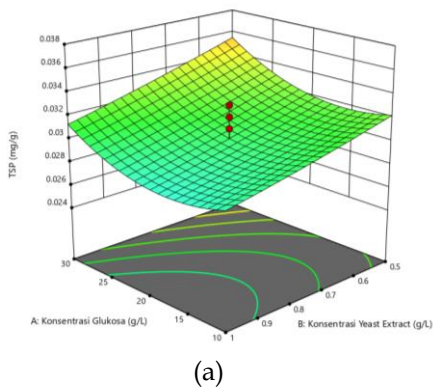
Total Soluble Phenol (TSP)

Nilai *total soluble phenol* (TSP) menjadi salah satu indikator pengukuran lignin hasil degradasi lignoselulosa. Hal ini dikarenakan fenol merupakan bentuk turunan lignin yang terlarut dalam ekstrak filtrat hasil degradasi (Nurika et al., 2023). Berdasarkan kriteria pemilihan model, model kuadratik adalah model yang disarankan untuk respon TSP. *Sequential Model Sum of Squares* memiliki *p-value* 0,0338 dan *Lack of Fit* pada model kuadratik memiliki *p-value* 0,9153 (>0,05). Pemilihan model kuadratik berdasarkan nilai *Adjusted R-squared* dan *predicted R-squared* dengan nilai terbesar. Nilai R² sebesar 0,9093 dengan Adj R² sebesar 0,8277. Hasil ANOVA menunjukkan *p-value* untuk model kuadratik memiliki pengaruh nyata dan signifikan terhadap respon TSP. Persamaan regresi untuk respon TSP ditunjukkan pada Persamaan (6). Kurva *Response Surface* Tiga Dimensi untuk interaksi antara konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi terhadap respon TSP dapat dilihat pada Gambar 2.

$$TSP \text{ (mg/g)} = 0,030 - 0,00013 X_1 - 0,0125 X_2 + 0,00056 X_3 - 0,0001 X_1X_2 - 0,000025 X_1X_3 + 0,00029 X_2X_3 + 0,000017X_1^2 + 0,0021X_2^2 + 9,481E-0X_3^2 \dots\dots\dots (6)$$

Di mana:

- X₁ = Faktor konsentrasi glukosa (g/L)
- X₂ = Faktor konsentrasi *yeast extract* (g/L)
- X₃ = Faktor waktu inkubasi (hari)



Gambar 2. Kurva *response surface* 3D untuk interaksi antara (a) konsentrasi glukosa dan *yeast extract*, (b) konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi, (c) konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi, terhadap respon TSP

Kurva interaksi faktor konsentrasi glukosa dan konsentrasi *yeast extract* (X₁X₂) pada Gambar 2a menunjukkan efek positif yang meningkatkan TSP saat mencapai titik optimum. Peningkatan konsentrasi keduanya mendukung aktivitas enzimatik mikroorganisme, sehingga mendorong degradasi lignin lebih efektif dan menghasilkan senyawa fenol (Nanayakkara et al., 2014; Chen et al., 2018). Konsentrasi glukosa dan konsentrasi *yeast extract* dapat memengaruhi nutrisi yang tersedia bagi jamur. Glukosa berfungsi sebagai sumber karbon, sementara *yeast extract* dapat menyediakan nutrisi tambahan seperti vitamin, mineral yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme (Tao et al., 2023). Interaksi positif ini mencerminkan pengaruh glukosa sebagai sumber energi dan *yeast extract* sebagai sumber nitrogen yang bersinergi mengoptimalkan metabolisme mikroorganisme sehingga meningkatkan nilai TSP.

Nilai TSP menurun setelah melebihi konsentrasi optimum yakni pada konsentrasi *yeast extract* 0,5-0,6 g/L.

Semakin meningkatnya konsentrasi *yeast extract*, terjadi penurunan dari hasil biodegradasi. Penurunan ini dikarenakan konsentrasi *yeast extract* terlalu tinggi, diduga dapat menghambat pertumbuhan *P.chrysosporium* dikarenakan kandungan amonium (NH₄⁺) yang tinggi dalam *yeast extract* dapat menghambat aktivitas enzim ligninolitik (Alexandropoulou *et al.*, 2017).

Pengaruh interaksi konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi (X₁X₃) diilustrasikan pada Gambar 2b. Peningkatan nilai TSP menunjukkan adanya beberapa enzim ligninolitik yang dihasilkan oleh jamur pelapuk putih untuk mendegradasi lignoselulosa selama masa inkubasi (Nurika *et al.*, 2020). Penelitian Li *et al.* (2020) menunjukkan bahwa keberadaan lignin meningkatkan pemanfaatan glukosa, terutama pada konsentrasi glukosa yang relatif lebih tinggi. Ketika konsentrasi glukosa 10 g/L, lignin terdegradasi lebih tinggi dibandingkan dengan degradasi lignin tanpa glukosa, lebih banyak lignin yang terdegradasi sehingga meningkatkan kandungan fenol. Konsentrasi glukosa yang optimum dapat meningkatkan ketersediaan substrat, meningkatkan aktivitas enzim, dan memberikan nutrisi tambahan untuk mikroorganisme mempercepat degradasi lignoselulosa.

Waktu inkubasi yang lebih lama memberikan lebih banyak waktu untuk aktivitas jamur pelapuk putih, meningkatkan produksi enzim, dan meningkatkan degradasi lignoselulosa karena proses degradasi lignoselulosa berlangsung lebih lama sehingga menghasilkan senyawa fenol terlarut yang lebih tinggi (Li *et al.*, 2018). Interaksi konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi (X₂X₃) diilustrasikan pada Gambar 2c yang menunjukkan bahwa nilai TSP tertinggi didapatkan setelah waktu inkubasi oleh *P. chrysosporium* semakin bertambah, yakni pada waktu inkubasi terlama selama 21 hari.

Selanjutnya, semakin meningkatnya konsentrasi *yeast extract*, terjadi penurunan dari hasil biodegradasi. Hal ini menunjukkan bahwa sumber nitrogen menginduksi perolehan kinerja terbaik pada konsentrasi optimal (Ungureanu *et al.*, 2020). Efek interaksi positif menunjukkan bahwa

peningkatan TSP dapat dicapai dengan kombinasi optimal keduanya. Konsentrasi *yeast extract* menyediakan nitrogen untuk mendukung pertumbuhan jamur (Tao *et al.*, 2023), sementara waktu inkubasi memungkinkan produksi enzim lignolitik sehingga mendorong terjadinya degradasi lignin (Nurika *et al.*, 2020).

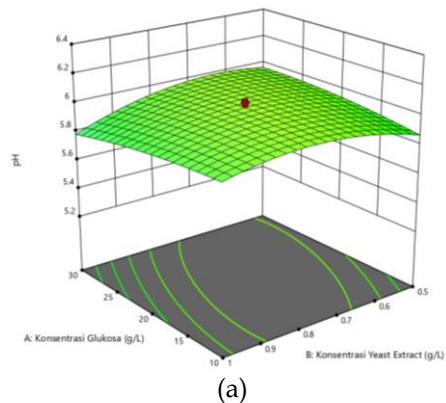
pH

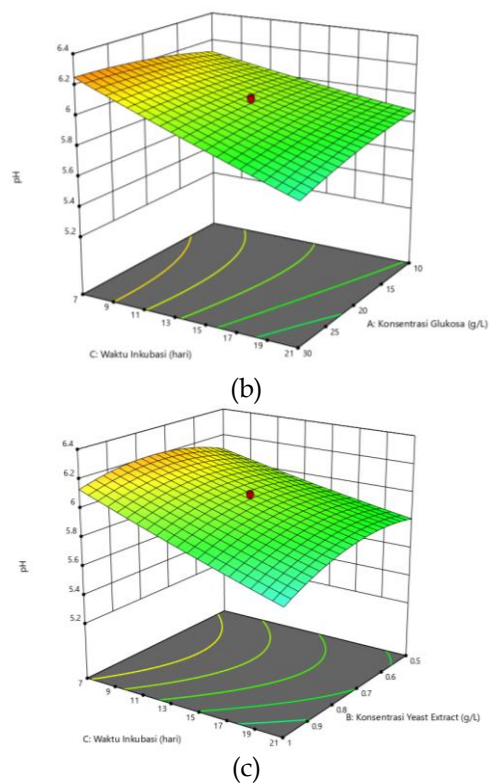
Nilai pH menunjukkan adanya asam organik yang dihasilkan oleh jamur selama proses metabolisme dan degradasi (Shoab *et al.*, 2018). Minhas *et al.* (2016) melaporkan bahwa pH media fermentasi merupakan faktor lingkungan penting yang mempengaruhi pertumbuhan sel. Model yang disarankan untuk respon pH adalah model kuadratik, dimana nilai *Sequential Model Sum of Squares* memiliki *p-value* 0,0035 untuk model kuadratik yang menunjukkan peluang kesalahan model paling kecil. *Lack of Fit* model kuadratik dengan *p-value* 0,0046. Nilai *Adjusted R-squared* dan *predicted R-squared* untuk model kuadratik juga yang tertinggi. Nilai R² sebesar 0,8296 dengan Adj R² sebesar 0,6762. Persamaan regresi untuk respon pH ditunjukkan pada Persamaan (7). Kurva *Response Surface* Tiga Dimensi untuk interaksi antara konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi terhadap respon pH dapat dilihat pada Gambar 3.

$$\text{pH} = 4,614 + 0,043 X_1 + 3,066 X_2 - 0,009 X_3 - 0,023 X_1X_2 - 0,001 X_1X_3 - 0,028 X_2X_3 - 0,0003 X_1^2 - 1,556X_2^2 + 0,00023X_3^2 \dots (7)$$

Di mana:

- X₁ = Faktor konsentrasi glukosa (g/L)
- X₂ = Faktor konsentrasi *yeast extract* (g/L)
- X₃ = Faktor waktu inkubasi (hari)





Gambar 3. Kurva *response surface* 3D untuk interaksi antara (a) konsentrasi glukosa dan *yeast extract*, (b) konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi, (c) konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi, terhadap respon pH

Grafik interaksi faktor konsentrasi glukosa dan konsentrasi *yeast extract* (X_1X_2) pada Gambar 3a menunjukkan penurunan pada nilai pH. Kombinasi konsentrasi glukosa tinggi ($X_1 > 20$ g/L) dan *yeast extract* ($X_2 > 0,8$ g/L) menurunkan pH secara signifikan. Ungureanu *et al.* (2020) melaporkan bahwa konsentrasi glukosa yang tinggi menyebabkan penurunan pH dalam media kultur. Hal ini dikarenakan pertumbuhan biomassa jamur meningkat pada konsentrasi glukosa yang lebih tinggi hingga mencapai titik optimum. Sedangkan *yeast extract* berperan sebagai sumber nitrogen yang meningkatkan produksi enzim ligninolitik. Metabolisme jamur menghasilkan asam organik, seperti asam oksalat dan ceriporic, yang berakumulasi dalam media fermentasi, sehingga pH turun. Penurunan ini menunjukkan keberhasilan degradasi lignoselulosa melalui aktivitas enzimatik yang lebih intensif (Mao *et al.*, 2018).

Gambar 3b memperlihatkan interaksi konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi (X_1X_2) terhadap nilai pH. Waktu inkubasi panjang ($X_3 > 20$ hari) pada konsentrasi glukosa tinggi ($X_1 > 20$ g/L) mempercepat degradasi lignoselulosa sehingga nilai pH yang dihasilkan rendah. Glukosa mendukung pertumbuhan jamur dengan meningkatkan produksi biomassa, sedangkan waktu inkubasi yang panjang memungkinkan akumulasi lebih banyak asam organik sebagai hasil dari pertumbuhan biomassa yang signifikan. Penurunan pH yang terjadi mencerminkan peningkatan aktivitas metabolik dan efisiensi proses delignifikasi (Hong *et al.*, 2012; Mao *et al.*, 2018).

Interaksi *yeast extract* dan waktu inkubasi (X_2X_3) seperti pada Gambar 3c, memperlihatkan konsentrasi *yeast extract* tinggi ($X_2 > 0,8$ g/L) dan waktu inkubasi panjang ($X_3 > 20$ hari) menghasilkan aktivitas metabolik yang intensif. *Yeast extract* mendukung produksi enzim ligninolitik, yang dipadukan dengan waktu inkubasi lama menghasilkan degradasi lignin lebih efektif. Seperti yang terlihat pada Tabel 2, pada konsentrasi *yeast extract* 1 g/L namun dengan waktu inkubasi yang berbeda, diperoleh nilai pH yang berbeda. Pada waktu inkubasi 7 hari, nilai pH tercatat sebesar 6,1, sementara pada hari ke-21 nilai pH menurun menjadi 5,35. Hal ini berarti menunjukkan nilai pH yang semakin menurun dapat mengindikasikan lignin pada TKKS yang semakin terdegradasi seiring bertambahnya waktu inkubasi. Kondisi ini menunjukkan hubungan sinergis antara waktu yang cukup untuk metabolisme jamur dan ketersediaan *yeast extract* sebagai nutrisi pendukung (Galkin *et al.*, 1998; Makela *et al.*, 2002).

Susut Berat

Peningkatan susut berat pada proses delignifikasi disebabkan oleh depolimerisasi lignin yang mempengaruhi massa substrat. Persentase susut berat terkait dengan degradasi komponen selulosa dan hemiselulosa, yang dihasilkan dari pelepasan ikatan lignin oleh *P. chrysosporium* (Nurika, 2019). Model yang disarankan untuk respon susut berat adalah

model linear. Hal tersebut dilihat pada *p-value Sequential Model Sum of Squares* paling rendah <0,0001. *Lack of Fit* pada model linear dengan *p-value* 0,307 (>0,05) yang berarti model paling sesuai untuk respon susut berat. Nilai *Adjusted R-squared* dan *predicted R-squared* untuk model linear juga yang tertinggi. Nilai R² sebesar 0,8317 dengan Adj R² sebesar 0,8001. Persamaan regresi untuk respon susut berat dinyatakan pada Persamaan (8). Kurva *Response Surface* Tiga Dimensi untuk konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi terhadap respon susut berat dapat dilihat pada Gambar 4.

$$\text{Susut berat (\%)} = 11,073 + 0,063 X_1 - 1,224 X_2 + 0,239 X_3 \dots \dots \dots (8)$$

Di mana:

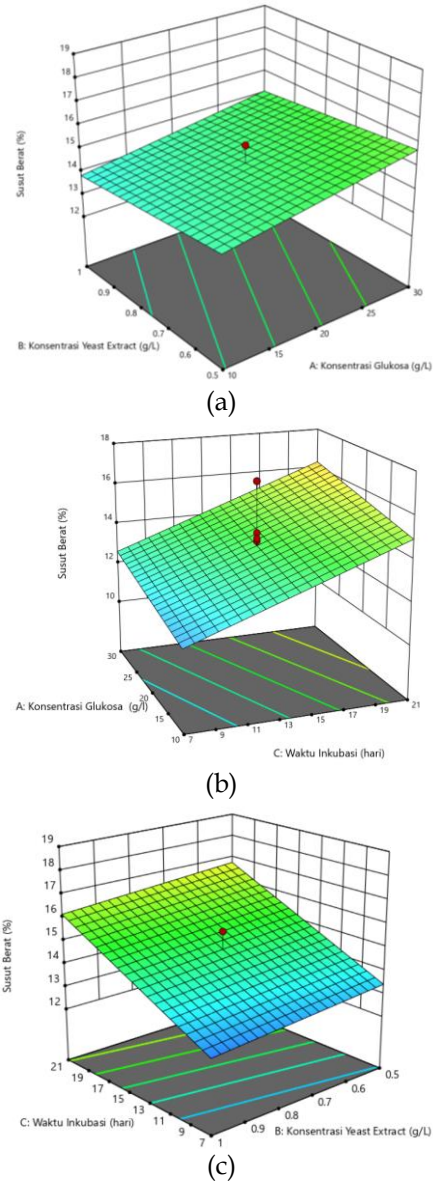
X₁ = Faktor konsentrasi glukosa (g/L)

X₂ = Faktor konsentrasi *yeast extract* (g/L)

X₃ = Faktor waktu inkubasi (hari)

Model respon susut berat bersifat linear, yang berarti hanya mempertimbangkan efek masing-masing faktor (X₁, X₂, X₃) terhadap respon susut berat. Dalam model linear, tidak terjadi interaksi antar faktor (seperti X₁X₂, X₁X₃, dan X₂X₃). Dengan kata lain, model ini mengasumsikan bahwa setiap faktor memengaruhi susut berat secara independen, tanpa adanya hubungan saling memengaruhi antar faktor. Hal ini terlihat pada bentuk Persamaan (8) yang hanya memuat koefisien linier untuk masing-masing faktor.

Penurunan bobot pada proses delignifikasi disebabkan oleh depolimerisasi lignin yang mempengaruhi massa substrat. Persentase susut berat berkaitan dengan degradasi komponen selulosa dan hemiselulosa, yang dihasilkan dari pelepasan ikatan lignin (Nurika *et al.*, 2020). Gajendiran *et al.* (2016) menyebutkan bahwa saat proses degradasi lignoselulosa, terjadi penguraian struktur bahan hingga menjadi lebih sedikit dan terbentuk suspensi halus, dimana kondisi struktur bahan yang terurai menyebabkan terjadinya penurunan berat bahan.



Gambar 4. Kurva *response surface* 3D untuk interaksi antara (a) konsentrasi glukosa dan *yeast extract*, (b) konsentrasi glukosa dan waktu inkubasi, (c) konsentrasi *yeast extract* dan waktu inkubasi, terhadap respon susut berat

Gambar 4 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi glukosa (X₁) dan semakin lama waktu inkubasi (X₃) semakin tinggi persentase susut berat yang dihasilkan. Arora dan Sharma (2010) menyatakan bahwa penambahan glukosa pada jamur pelapuk putih dapat mempercepat pertumbuhan jamur karena adanya ketersediaan sumber energi yang lebih mudah terdegradasi. Peningkatan konsentrasi glukosa mendukung akumulasi

biomassa jamur (Xu *et al.* 2018), yang secara signifikan meningkatkan efisiensi proses degradasi. Temuan ini didukung oleh Sarria-Alfonso *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa ketersediaan glukosa sebagai substrat utama sangat berpengaruh terhadap aktivitas metabolik jamur dan produktivitas degradasi biomassa. Menurut Zhang *et al.* (2012), semakin lama periode inkubasi maka dapat menghasilkan penyusutan yang lebih besar. Hal tersebut juga mengakibatkan produk degradasi lignoselulosa yang meningkat seiring penyusutan berat sampel. Hasil penelitian Nurika *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa meningkatnya waktu inkubasi menyebabkan peningkatan derajat polimerisasi selulosa yang diikuti dengan meningkatnya nilai susut berat TKKS.

Faktor konsentrasi *yeast extract* (X_2) menunjukkan koefisien negatif dalam persamaan, yang berarti bahwa peningkatan konsentrasi *yeast extract* cenderung menurunkan persentase susut berat. Konsentrasi *yeast extract* berlebih dapat menghambat produksi enzim ligninolitik, yang berperan penting dalam degradasi lignoselulosa (Rouches *et al.*, 2016). Degradasi lignoselulosa adalah

proses utama yang berkontribusi pada penurunan berat biomassa atau *susut berat*. Enzim ligninolitik memecah lignin, memungkinkan komponen hemiselulosa dan selulosa terdegradasi lebih lanjut menjadi molekul yang lebih kecil. Namun, jika konsentrasi *yeast extract* terlalu tinggi, sintesis enzim ini terhambat, sehingga degradasi lignoselulosa menjadi kurang efisien (Ho *et al.*, 2020). Akibatnya, komponen biomassa lignoselulosa tidak terurai sepenuhnya, yang menyebabkan nilai susut berat lebih rendah dibandingkan kondisi dengan konsentrasi *yeast extract* yang optimal.

Solusi Optimal Respon

Proses optimasi merupakan tahapan untuk memperoleh taraf atau nilai faktor percobaan yang menghasilkan respon berupa nilai total gula reduksi (TGR), *total soluble phenol* (TSP), pH, dan susut berat dalam batas-batasan faktor yang telah ditentukan yakni konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast extract*, dan waktu inkubasi. Batasan optimasi respon yang diolah pada aplikasi *Design Expert* 13.0 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Batasan optimasi untuk respon dari kombinasi faktor

Kriteria	Nama (Satuan)	Batas			Tingkat Kepentingan
		Target	Bawah	Atas	
Faktor	Konsentrasi glukosa (g/L)	<i>in range</i>	10	30	3
	Konsentrasi <i>yeast extract</i> (g/L)	<i>in range</i>	0,5	1	3
	Waktu inkubasi (hari)	<i>in range</i>	7	21	3
Respon	Total gula reduksi (mg/g)	<i>maximize</i>	5,064	7,573	3
	<i>Total soluble phenol</i> (mg/g)	<i>maximize</i>	0,024	0,038	4
	pH	<i>minimize</i>	5,35	6,39	3
	Susut berat (%)	<i>maximize</i>	12,145	18,439	3

Ket.: 1. Sangat tidak penting; 2. Tidak penting; 3. Cukup penting; 4. Penting; 5. Sangat penting

Berdasarkan Tabel 3, dapat dilihat nilai ideal pada respon TGR, TSP, dan susut berat dipilih target maksimal dikarenakan semakin tinggi nilai ketiga faktor tersebut, mengindikasikan degradasi lignoselulosa TKKS yang semakin baik. Sedangkan pada respon pH dipilih dengan target minimal dikarenakan semakin rendah nilai pH mengindikasikan semakin banyak pertumbuhan jamur. Pada masing-masing faktor, terdapat batas bawah dan batas atas. Berdasarkan rancangan percobaan, pada

konsentrasi glukosa, batas bawah yang digunakan sebesar 10 g/L dan batas atas sebesar 30 g/L. Sedangkan pada konsentrasi *yeast extract*, batas bawah yang digunakan sebesar 0,5 g/L dan batas atas sebesar 1 g/L. Sementara pada faktor ketiga yakni waktu ekstraksi, batas bawah yang digunakan sebesar 7 hari dan batas atas 21 hari.

Tingkat kepentingan TSP dipilih poin 4 karena berdasarkan hasil analisis ragam ANOVA, respon TSP memiliki nilai R^2 tertinggi, yang menunjukkan semakin baik

model dalam menjelaskan variabilitas data dan model memiliki prediksi yang sangat baik. Sedangkan ketiga respon lainnya (TGR, pH, dan susut berat) cenderung linear dan memiliki nilai R² yang kecil. Rancangan percobaan menghasilkan solusi optimal dengan batas-batas yang ditentukan melalui analisis komputasi menggunakan *Design-Expert* 13.0, sebagaimana disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil solusi optimal dari software *design expert* 13.0

Parameter	Standar Prediksi
Konsentrasi glukosa (g/L)	30
Konsentrasi <i>yeast extract</i> (g/L)	0,5
Waktu inkubasi (hari)	21
Total gula reduksi (mg/g)	7,244
<i>Total soluble phenol</i> (mg/g)	0,036
pH	5,72
Susut berat (%)	17,085
<i>Desirability</i>	0,844

Hasil optimal diperoleh pada perlakuan konsentrasi glukosa 30 g/L, konsentrasi *yeast extract* 0,5 g/L dan waktu inkubasi selama 21 hari menghasilkan prediksi nilai TGR sebesar 7,244 mg/g, nilai TSP sebesar 0,036 mg/g, pH sebesar 5,71, dan susut berat sebesar 17,085%, dengan nilai *desirability* sebesar 0,844. Nilai *desirability* menunjukkan kemampuan program dalam memenuhi keinginan pencapaian terbaik berdasarkan kriteria yang telah ditentukan. Setiap nilai dari respon dikonversi dengan skala antara 0 hingga 1 (Yusuf *et al.*, 2020). Rahmawati

(2023) menyebutkan jika nilai *desirability* mendekati 1 menunjukkan bahwa semua variabel telah mencapai kondisi terbaik dan dapat mencapai tujuan optimasi yang diinginkan.

Validasi Solusi Optimal

Tahap validasi bertujuan untuk membuktikan nilai prediksi pada hasil solusi kondisi optimal yang dihasilkan oleh program *Design Expert* 13.0. Verifikasi dilakukan dengan melaksanakan penelitian laboratorium menggunakan faktor yang telah dihasilkan pada solusi optimal, yakni menggunakan konsentrasi glukosa 30 g/L, konsentrasi *yeast extract* 0,5 g/L dan waktu inkubasi selama 21 hari. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap masing-masing respon yang diuji. Hasil dari verifikasi selanjutnya dibandingkan dengan nilai prediksi oleh program.

Pada Tabel 5 menunjukkan nilai verifikasi aktual pada respon TGR sebesar 7,874 mg/g, respon TSP sebesar 0,031 mg/g, respon pH sebesar 5,69, dan respon susut berat sebesar 16,702%. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa pada semua respon berada dalam 95% interval prediksi (PI) rendah dan 95% PI tinggi. Menurut Wahyu *et al.* (2020), nilai perbandingan nilai prediksi dan aktual dapat dilakukan dengan melakukan verifikasi hasil optimasi. Persamaan model dapat diterima bahwa hasil verifikasi aktual memiliki memiliki kesesuaian untuk menentukan proses optimum jika berada dalam rentang antara PI *low* dan PI *high*.

Tabel 5. Perbandingan hasil verifikasi aktual dengan prediksi program

Parameter	Data Prediksi (*)	95% PI low	Verifikasi Data Aktual (**)	95% PI high
Total gula reduksi (mg/g)	7,244	6,208	7,874	8,279
<i>Total soluble phenol</i> (mg/g)	0,036	0,031	0,031	0,040
pH	5,72	5,39	5,69	6,04
Susut berat (%)	17,085	13,322	16,702	18,849

Ket.: *Hasil dari program *esign Expert* 13.0

**Data hasil validasi

PI low = *Prediction Interval low* (terendah)

PI High = *Prediction Interval high* (tertinggi)

Perubahan Komponen Lignoselulosa Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)

Perubahan komponen TKKS diketahui berdasarkan analisis lignoselulosa yakni hemiselulosa, selulosa dan lignin. Pengujian kadar lignoselulosa dilakukan

dengan menggunakan acuan oleh metode Chesson-Data. Faktor konsentrasi glukosa (X₁), konsentrasi *yeast extract* (X₂), dan waktu inkubasi (X₃) digunakan pada penelitian ini. Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi proses degradasi

lignoselulosa, dimana glukosa dapat memacu aktivitas mikroba atau enzim dalam proses biokonversi, *yeast extract* memberikan nutrisi yang mendukung aktivitas mikroorganisme, dan waktu inkubasi yang lebih lama memungkinkan waktu yang cukup untuk terjadinya degradasi. Tiga kondisi perlakuan yang dibandingkan terhadap komponen lignoselulosa, yaitu kontrol (tanpa

perlakuan), TKKS+PC (TKKS yang diinokulasi dengan *P. chrysosporium*), dan optimasi (TKKS yang diinokulasi dengan *P. chrysosporium* dengan optimasi nutrisi berupa konsentrasi glukosa dan konsentrasi *yeast extract*). Perbandingan komponen lignoselulosa pada sampel kontrol, TKKS+PC, dan optimasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Perbandingan komponen lignoselulosa pada sampel kontrol, TKKS+PC dan optimasi

Parameter	Kontrol (<i>untreated</i>)		TKKS+PC		Optimasi	
	0 hari	7 hari	21 hari	7 hari	21 hari	
Hemiselulosa (%)	12,388	7,269	2,978	6.187	6.319	
Selulosa (%)	54,245	61,009	67,707	64.718	65.932	
Lignin (%)	22,439	19,795	12,864	16.652	10.586	

Kandungan lignoselulosa pada sampel TKKS kontrol (*untreated*) seperti yang dapat dilihat pada Tabel 6 terdiri dari hemiselulosa sebesar 12,388%, selulosa sebesar 54,245% dan lignin sebesar 22,439%. Sampel kontrol mewakili TKKS tanpa perlakuan, sehingga tidak terjadi degradasi komponen lignoselulosa. Kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin tinggi karena tidak ada aktivitas enzimatik atau biologis yang memecah komponen tersebut. Nilai-nilai ini secara umum sebanding dengan kisaran yang dilaporkan oleh Akhlisah *et al.* (2021), yakni TKKS terdiri dari hemiselulosa sebesar 14,62–24,12%, selulosa sebesar 28–59,70%, dan lignin sebesar 17,84–31,68% (Ishola *et al.*, 2014).

Berdasarkan Tabel 6, terlihat bahwa kandungan hemiselulosa pada TKKS+PC menurun dari 12,388% (kontrol) menjadi 7,269% (hari ke-7) dan 2,978% (hari ke-21). Sementara itu, kandungan selulosa meningkat dari 54,245% menjadi 61,009% (hari ke-7) dan 67,707% (hari ke-21). Kandungan lignin juga menurun dari 22,439% menjadi 19,795% (hari ke-7) dan 12,864% (hari ke-21). Hal ini menunjukkan bahwa *P. chrysosporium* memiliki peran dalam mendegradasi TKKS melalui aktivitas enzim lignolitik ekstraseluler dan intraseluler yang memecah lignin menjadi selulosa dan hemiselulosa sehingga jumlahnya meningkat. Produk degradasi tersebut kemudian dimanfaatkan oleh jamur sebagai sumber nutrisi untuk

aktivitas enzimatik dalam menguraikan komponen lignoselulosa (Sari *et al.*, 2014; Wu *et al.*, 2022). Namun, hanya hemiselulosa yang dimanfaatkan oleh *P. chrysosporium*, terlihat dari penurunannya selama masa inkubasi. Hal ini terjadi karena hemiselulosa lebih mudah dihidrolisis dibandingkan selulosa akibat strukturnya yang lebih sederhana (Thanapimmetha *et al.*, 2012).

Penurunan kadar hemiselulosa pada TKKS+PC disebabkan oleh meningkatnya aksesibilitas hemiselulosa sebagai sumber energi bagi *P. chrysosporium* selama masa inkubasi (Azhari *et al.*, 2014; Kucharska *et al.*, 2018). Hal ini terlihat dari penurunan hemiselulosa dari 7,269% (hari ke-7) menjadi 2,978% (hari ke-21). Enzim hemiselulase yang dihasilkan jamur mampu memecah hemiselulosa menjadi gula sederhana untuk memenuhi kebutuhan nutrisi selama inkubasi (Alexandropoulou *et al.*, 2017). Penurunan hemiselulosa yang lebih cepat pada TKKS+PC dibandingkan optimasi menunjukkan terbatasnya nutrisi tambahan selama masa inkubasi, sehingga jamur lebih cepat memanfaatkan karbohidrat sederhana hasil delignifikasi.

Perubahan pada sampel optimasi juga terlihat jika dibandingkan dengan sampel kontrol dan sampel TKKS+PC. Kandungan hemiselulosa menurun dari 12,388% menjadi 6,187% pada hari ke-7 dan stabil di 6,319% pada hari ke-21. Kandungan selulosa meningkat dari 54,245% menjadi 64,718% pada hari ke-7 dan 65,932% pada

hari ke-21. Lignin mengalami penurunan tajam dari 22,439% menjadi 16,652% pada hari ke-7 dan 10,586% pada hari ke-21. Dalam hal ini, berarti dengan adanya penambahan glukosa dan *yeast extract* sebagai nutrisi mengoptimalkan degradasi lignoselulosa oleh *P. chrysosporium*. Nutrisi ini meningkatkan aktivitas enzim lignolitik, mempercepat degradasi lignin, terlihat dari penurunan lignin yang lebih besar pada sampel optimasi (10,586%) dibandingkan TKKS+PC (12,864%).

Penelitian Li *et al.* (2020) memperlihatkan bahwa penambahan glukosa meningkatkan efisiensi pemecahan lignin, karena glukosa mendukung pertumbuhan cepat jamur sebagai sumber karbon yang mudah dicerna dan energi utama dalam proses degradasi lignin. Selain itu, tingginya kandungan selulosa dan rendahnya lignin berhubungan positif dengan pelepasan glukosa selama hidrolisis (Parveen *et al.*, 2021). Menurut Whiteford *et al.* (2021), penambahan nitrogen dapat meningkatkan laju pertumbuhan. Hasil penelitian Nicolas *et al.* (2017) menunjukkan bahwa pertumbuhan *Candida utilis*, meningkat seiring dengan penambahan 0,5% *yeast extract* dengan konsentrasi biomassa maksimum.

Struktur TKKS yang dikelilingi lignin menyebabkan jamur mendegradasi lignin terlebih dahulu (Salvachúa *et al.*, 2013). Seiring bertambahnya waktu inkubasi, semakin banyak lignin yang terdegradasi, sehingga kadar selulosa dan hemiselulosa meningkat. Namun, nilai kandungan hemiselulosa dan selulosa tidak menurun seiring waktu inkubasi terjadi karena *P. chrysosporium* lebih memanfaatkan glukosa dan *yeast extract* sebagai sumber karbon utama untuk pertumbuhan dan metabolisme (Zhao *et al.*, 2020). Hal ini dikarenakan jamur cenderung menggunakan rantai karbon sederhana dari glukosa dan *yeast extract* dibandingkan rantai karbon kompleks pada selulosa (Rouches *et al.*, 2016).

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa, konsentrasi *yeast*

extract dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap respon TGR dan susut berat dengan model linear, sedangkan pada respon TSP dan pH dengan model kuadratik. Solusi optimal diperoleh pada kombinasi konsentrasi glukosa 30 g/L, konsentrasi *yeast extract* 0,5 g/L dan waktu inkubasi selama 21 hari dengan nilai *desirability* 0,844. Nilai verifikasi aktual pada respon TGR sebesar 7,874 mg/g, respon TSP sebesar 0,031 mg/g, respon pH sebesar 5,69, dan respon susut berat sebesar 16,702%. Dari hasil perbandingan antara nilai verifikasi aktual dan nilai prediksi, model yang digunakan sudah sesuai. Berdasarkan pengujian lignoselulosa, diketahui bahwa proses degradasi lignoselulosa pada TKKS dipengaruhi oleh jamur *P. chrysosporium*, penambahan nutrisi berupa glukosa dan *yeast extract*, serta waktu inkubasi yang optimal. Kombinasi nutrisi dan waktu inkubasi yang optimal mampu meningkatkan efisiensi delignifikasi dan aksesibilitas lignoselulosa.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi, serta Universitas Brawijaya atas dana penelitian yang diberikan berdasarkan skema Hibah Penelitian Tesis Magister dengan Surat Keputusan Nomor 119/E5/PG.020.00.PL/2023 dan Surat Perjanjian Kontrak Nomor 1121.2/UN10.C10/TU/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhamid, S, -A., Hussein, A, -A., Asker, M, -S., El Sayed, -O., Mohamed, S, -S., 2019. Optimization of culture conditions for biodiesel production from Egyptian isolate *Penicillium commune* NRC2016. *Bulletin of the National Research Centre*. 43(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0045-6>
- Abraham, -A., Mathew, A, -K., Park, -H., Choi, -O., Sindhu, -R., Parameswaran, -B.,

- Pandey, -A., Park, J, -H., Sang, B, -I., 2020. Pretreatment strategies for enhanced biogas production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 301, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122725>
- Akhlishah, Z, -N., Yunus, -R., Abidin, Z, -Z., Lim, B, -Y., Kania, -D., 2021. Pretreatment methods for an effective conversion of oil palm biomass into sugars and high-value chemicals. *Biomass and Bioenergy*. 144, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105901>
- Alexandropoulou, -M., Antonopoulou, -G., Ntaikou, -I., Lyberatos, -G., 2017. Fungal pretreatment of willow sawdust with *Abortiporus biennis* for anaerobic digestion: Impact of an external nitrogen source. *Sustainability*. 9(1), 1-14. <https://doi.org/10.3390/su9010130>
- Arora, D, -S., Sharma, R, -K., 2010. Ligninolytic fungal laccases and their biotechnological applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 160(6), 1760-1788. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8676-y>
- Azhari, -A., Falah, -S., Nurjannah, -L., Suryani, -S., Bintang, -M., 2014. delignifikasi batang kayu sengon oleh *Trametes versicolor*. *Current Biochemistry*. 1(1), 1-10. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.1-10>
- Azizah, -N., Suhartini, -S., Nurika, -I., 2021. Optimization of vanillin extraction from biodegradation of oil palm empty fruit bunches by *Serpula lacrymans*. *Industria: Jurnal Teknologi Dan Manajemen Agroindustri*. 10(1), 33-40. <https://doi.org/10.21776/ub.industria.2021.010.01.4>
- Barborakova, -Z., Labuda, -R., Haubl, -G., Tancinova, -D., 2012. Effect of glucose concentration and growth conditions on the fungal biomass, pH of media and production of fumagillin by a non-pathogenic strain *Penicillium Scabrosum*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*. 1(4), 466-476. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20123237824>
- Belletini, M, -B., Fiorda, F, -A., Maieves, H, -A., Teixeira, G, -L., Ávila, -S., Hornung, P, -S., Júnior, A, -M., Ribani, R, -H., 2019. Factors affecting mushroom *Pleurotus spp.* *Saudi Journal of Biological Sciences*. 26(4), 633-646. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.005>
- Carvalho, A, K, -F., Bento, H, B, -S., Rivaldi, J, -D., de Castro, H, -F., 2018. Direct transesterification of *Mucor circinelloides* biomass for biodiesel production: Effect of carbon sources on the accumulation of fungal lipids and biofuel properties. *Fuel*. 234, 789-796. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.07.029>
- Chen, -C., Jin, -D., Ouyang, -X., Zhao, -L., Qiu, -X., Wang, -F., 2018. Effect of structural characteristics on the depolymerization of lignin into phenolic monomers. *Fuel*, 223, 366-372. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.03.041>
- Civzele, A., Jekimova, A, A, -S., Mezule, -L., 2023. Fungal ligninolytic enzymes and their application in biomass lignin pretreatment. 9(7), 1-13. <https://doi.org/10.3390/jof9070780>
- da Silva Ferreira, -V., Sant'Anna, -C., 2017. The effect of physicochemical conditions and nutrient sources on maximizing the growth and lipid productivity of green microalgae. *Phycological Research*. 65(1), 3-13. <https://doi.org/10.1111/pre.12160>
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2021. *Statistik Perkebunan Non Unggulan Nasional 2020-2022*. Sekretariat Direktorat Jendral Perkebunan
- Gajendiran, -A., Krishnamoorthy, -S., Abraham, -J., 2016. Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) by *Aspergillus clavatus* strain JASK1 isolated from landfill soil. 3 *Biotech*. 6, 1-6. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0394-x>
- Galkin -S., Vares, -T., Kalsi, -M., Hatakka, -A., 1998. Production of organic acids by different white-rot fungi as detected using capillary zone electrophoresis. *Biotechnology Techniques*. 12, 267-271. <https://doi.org/10.1023/A:1008842012539>
- Hastuti, P, -B., Rohmiyati, S, -M., 2020. Application of empty fruit bunches compost and types of p fertilizer on the growth and phosphorus uptake in oil

- palm seedlings. *Agrotechnology Research Journal*. 4(2), 59-64.
<https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i2.40784>
- Hidayatullah, I, -M., Al Husna, M, -D., Radiyan, -H., Kresnowati, M, T, A, -P., Suhardi, S, -H., Setiadi, -T., Boopathy, -R., 2021. Combining biodelignification and hydrothermal pretreatment of oil palm empty fruit bunches (OPEFB) for monomeric sugar production. *Bioresource Technology Reports*. 15, 1-6.
<https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100808>
- Ho, P, -Y., Namasivayam, -P., Sundram, -S., Ho, C, -L., 2020. Expression of genes encoding manganese peroxidase and laccase of *Ganoderma boninense* in response to nitrogen sources, hydrogen peroxide and phytohormones. *Genes*. 11(11), 1-15.
<https://doi.org/10.3390/genes11111263>
- Hong, -Y., Dashtban, -M., Chen, -S., Song, -R., Qin, -W., 2012. Enzyme Production and lignin degradation by four basidiomycetous fungi in submerged fermentation of peat containing medium. *International Journal of Biology*. 4(1), 172-180.
<https://doi.org/10.5539/ijb.v4n1p172>
- Ishola, M, -M., Isroi., Taherzadeh, M, -J., 2014. Effect of fungal and phosphoric acid pretreatment on ethanol production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). *Bioresource Technology*. 165, 9-12.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.02.053>
- Kim, D, -Y., Cho, E, -J., Kim, J, -W., Lee, Y, -W., Chung, H, -J., 2014. Production of cellulases by *Penicillium* sp. in a solid-state fermentation of oil palm empty fruit bunch. *African Journal of Biotechnology*. 13(1), 145-155.
<https://doi.org/10.5897/ajb12.2970>
- Kirk, T, -K., Farrell, R, -L., 1987. Enzymatic "Combustion": The microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*. 41, 465-505.
<https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002341>
- Kucharska, -K., Hołowacz, -I., Konopacka-Lyskawa, -D., Rybarczyk, -P., Kamiński, -M., 2018. Key issues in modeling and optimization of lignocellulosic biomass fermentative conversion to gaseous biofuels. *Renewable Energy*. 129, 384-408.
<https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.06.018>
- Kulasekaran, -A., Gopal, -A., Lakshimipathy, -R., Alexander, J, -J., 2015. Modification in pH measurements for getting accurate pH values with different pH meters irrespective of aging and drifts in the meters. *International Journal of ChemTech Research*. 8(5), 16-24.
[https://sphinxsai.com/2015/ch_vol8_no5/1/\(16-24\)V8N5.pdf](https://sphinxsai.com/2015/ch_vol8_no5/1/(16-24)V8N5.pdf)
- Lee, H, -V., Hamid, S, B, -A., Zain, S, -K., 2014. Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: Structure and chemical process. *Scientific World Journal*. 2014, 1-20.
<https://doi.org/10.1155/2014/631013>
- Li, -X., Li, -M., Pu, -Y., Ragauskas, A, -J., Zheng, -Y., 2020. Simultaneous depolymerization and fermentation of lignin into value-added products by the marine protist, *Thraustochytrium striatum*. *Algal Research*. 46(12),1-9.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101773>
- Li, -X., Shi, -J., Das, -L., Tharayil, -N., Zheng, -Y., 2018. A novel platform for bioupgrading of lignin to valuable nutraceuticals and pharmaceuticals. *2018 ASABE Annual International Meeting*. 2018, 1-12.
<https://elibrary.asabe.org/abstract.asp?a id=49183>
- Ma, -L., Wang, -X., Zhou, -J., Lü, -X., 2022. Degradation of switchgrass by *Bacillus subtilis* 1AJ3 and expression of a beta-glycoside hydrolase. *Frontiers in Microbiology*. 13, 1-16.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.922371>
- Majesty, K, -I., Herdiansyah, -H., 2019. The empty palm oil fruit bunch as the potential source of biomass in furfural production in Indonesia: Preliminary process design and environmental perspective. *Journal of Physics: Conference Series*. 1363, 1-6.
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1363/1/012096>
- Makela, -M., Galkin, -S., Hatakka, -A., Lundell, -T., 2002. Production of organic acids and oxalate decarboxylase in lignin-degrading white rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*. 30(4), 542-549.
[https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00012-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00012-1)

- Mao, -L., Sonnenberg, A, S, -M., Hendriks, W, -H., Cone, J, -W., 2018. Preservation of *Ceriporiopsis subvermisporea* and *Lentinula edodes* treated wheat straw under anaerobic conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98(3), 1232-1239. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8745>
- Mardawati, -E., Febrianti, E, -A., Fitriana, H, -N., Yuliana, -T., Putriana, N, -A., Suhartini, -S., Kasbawati., 2022. An integrated process for the xylitol and ethanol production from oil palm empty fruit bunch (OPEFB) using *Debaryomyces hansenii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Microorganisms*. 10(10), 1-11. <https://doi.org/10.3390/microorganism10102036>
- Miller, G, -L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Minhas, A, -K., Hodgson, -P., Barrow, C, -J., Adholeya, -A., 2016. A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. *Frontiers in Microbiology*. 7, 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00546>
- Mustabi, -J., Wedawati., Armayanti, A, -K., 2018. Improving quality and digestibility of cocoa pod with white rot fungi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 157, 1-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/157/1/012002>
- Mutsengerere, -S., Chihobo, C, -H., Musademba, -D., Nhapi, -I., 2019. A review of operating parameters affecting bio-oil yield in microwave pyrolysis of lignocellulosic biomass. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 104. 328-336. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.01.030>
- Nanayakkara, -S., Patti, A, -F., Saito, -K., 2014. Chemical depolymerization of lignin involving the redistribution mechanism with phenols and repolymerization of depolymerized products. *Green Chemistry*. 16(4), 1897-1903. <https://doi.org/10.1039/c3gc41708e>
- Nicolas, -O., Aly, -S., Marius, K, -S., François, -T., Cheikna, -Z., Alfred, S, -T., 2017. Effect of mineral salts and nitrogen source on yeast (*Candida utilis* NOY1) biomass production using tubers wastes. *African Journal of Biotechnology*. 16(8), 359-365. <https://doi.org/10.5897/ajb2016.15801>
- Nnaemeka, -O., Pius, -O., Ndubuisi, -O., 2018. Palm oil biomass waste a renewable energy resource for power generation. *Saudi Journal of Engineering and Technology*. 3(12), 680-691. <https://doi.org/10.21276/sjeat.2018.3.12.2>
- Nurika, -I., 2019. The pattern of lignocellulose degradation from Cacao pod using the brown rot (*Serpula lacrymans*) and white rot (*Schizophyllum commune*) fungi. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 230, 1-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012080>
- Nurika, -I., Azizah, -N., Suhartini, -S., Jung, Y, -H., Barker, G, -C., 2023. Integrated biorefinery approach: The generation of bioproducts vanillin and biomethane through a sequential bioconversion of lignocellulose from oil palm empty fruit bunch (OPEFB). *Waste and Biomass Valorization*. 15, 903-915. <https://doi.org/10.1007/s12649-023-02205-5>
- Nurika, -I., Hidayat, -N., Rahma, N, -L., Anggarini, -S., 2017. The Effect of FeCl₃ and Length of Incubation on the degradation of lignocellulose from sengon and pine woods using *Serpula lacrymans*. *Journal of Environmental Engineering and Sustainable Technology*. 4(2), 111-120. <https://doi.org/10.21776/ub.jeest.2017.04.02.7>
- Nurika, -I., Indirahayu, -T., Suhartini, -S., 2020. The effect of malt extract and incubation time on ethanol production from lignocellulose degradation of oil palm empty fruit bunches (OPEFB) using *Phlebia* sp. MG-60. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 475, 1-8. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/475/1/012066>
- Nurika, -I., Majid, Z, A, N, -M., Suprayogi., 2021. The identification of ethanol and aromatic compounds from delignification of cacao pod husk using *Phlebia* sp. MG-60. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 733, 1-8.

- <https://doi.org/10.1088/1755-1315/733/1/012143>
- Nurika, -I., Shabrina, E, -N., Azizah, -N., Suhartini, -S., Bugg, T, D, -H., Barker, G, -C., 2022. Application of ligninolytic bacteria to the enhancement of lignocellulose breakdown and methane production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). *Bioresource Technology Reports*. 17, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.100951>
- Nurika, -I., Suhartini, -S., Barker, G, -C., 2020. Biotransformation of tropical lignocellulosic feedstock using the brown rot fungus *Serpula lacrymans*. *Waste and Biomass Valorization*. 11(6), 2689–2700. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00581-5>
- Ohimain, E, -I., Izah, S, -C., 2017. A review of biogas production from palm oil mill effluents using different configurations of bioreactors. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 70, 242–253. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.221>
- Patil, P, -D., Yadav, G, -D., 2018. Comparative studies of white-rot fungal strains (*Trametes hirsuta* MTCC-1171 and *Phanerochaete chrysosporium* NCIM-1106) for effective degradation and bioconversion of ferulic acid. *ACS Omega*. 3(11), 14858–14868. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01614>
- Parveen, -H., Tewari, -L., Pradhan, -D., Chaudhry, -P., 2021. Combined pretreatment as an effective technology in breaking of phenolic polymer lignin from sustainable biomass: *Bambusa balcooa*. *Biochemistry and Molecular Biology*. 1, 1-31. <https://www.preprints.org/manuscript/202105.0656/v1>
- Pitt, -J., Hocking, -A., 2009. *Fungi and Food Spoilage*. New York: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Rahmawati, -C., 2023. Optimization of geopolymer compressive strength using response surface methodology. *Jurnal Inovasi Teknologi dan Rekayasa*. 8(2), 203–212. <https://doi.org/10.31572/inotera.Vol8.Is2.2023.ID242>
- Rasid, N, S, -A., Shamjuddin, -A., Rahman, A, Z, -A., Amin, N, A, -S., 2021. Recent advances in green pre-treatment methods of lignocellulosic biomass for enhanced biofuel production. *Journal of Cleaner Production*. 321, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129038>
- Reddy, M, -S., Kanwal, H, -K., 2022. Influence of carbon, nitrogen sources, inducers, and substrates on lignocellulolytic enzyme activities of *Morchella spongiosa*. *Journal of Agriculture and Food Research*. 7, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100271>
- Rouches, -E., Zhou, -S., Steyer, J, -P., Carrere, -H., 2016. White-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion: Impact of glucose supplementation. *Process Biochemistry*. 51(11), 1784–1792. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.02.003>
- Saldarriaga-Hernández, -S., Velasco-Ayala, -C., Leal-Isla Flores, -P., de Jesús Rostro-Alanis, -M., Parra-Saldivar, -R., Iqbal, H, M, -N., Carrillo-Nieves, -D., 2020. Biotransformation of lignocellulosic biomass into industrially relevant products with the aid of fungi-derived lignocellulolytic enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 161, 1099–1116. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.047>
- Salvachúa, -D., Prieto, -A., Vaquero, M, -E., Martínez, Á, -T., Martínez, M, -J., 2013. Sugar recoveries from wheat straw following treatments with the fungus *Irpex lacteus*. *Bioresource Technology*. 131, 218–225. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.089>
- Saratale, R, -G., Cho, S, -K., Bharagava, R, -N., Patel, A, -K., Varjani, -S., Mulla, S, -I., Kim, D, -S., Bhatia, S, -K., Ferreira, L, F, -R., Shin, H, -S., Saratale, G, -D., 2022. A critical review on biomass-based sustainable biorefineries using nanobiocatalysts: Opportunities, challenges, and future perspectives. *Bioresource Technology*. 363, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.>
- Sargeant, LA., Jenkins, RW., Chuck, CJ. 2017.

- 'Lipid - based Biofuels from Oleaginous Microbes' Dalam Love, J., Bryant, JA., (eds.) *Biofuels and Bioenergy, First Edition*. John Wiley & Sons Ltd, pp. 227-240.
- Sari, A., -A., Kristiani, -A., Tachibana, -S., Sudiyani, -Y., Abimanyu, -H., 2014. Mechanisms and optimization of oil palm empty fruit bunch as a pre-grown source for white-rot fungus to degrade DDT. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2(3), 1410-1415. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.07.018>
- Sari, L, -N., Madusari, -S., Sari, V, -I., 2022. Application of oil palm empty bunches as organic mulch in oil palm plantation (*Elaeis guineensis Jacq.*): An evaluation and SWOT analysis. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 1041, 1-6. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1041/1/012053>
- Sarria-Alfonso, -V., Sánchez-Sierra, -J., Aguirre-Morales, -M., Gutiérrez-Rojas, -I., Moreno-Sarmiento, -N., Poutou-Piñales, R, -A., 2013. Culture media statistical optimization for biomass production of a ligninolytic fungus for future rice straw degradation. *Indian Journal of Microbiology*. 53(2), 199-207. <https://doi.org/10.1007/s12088-013-0358-3>
- Shahidul, M, -I., Malcolm, M, -L., Begum, -S., Hashmi, M, S, -J., Islam, M, -S., Eugene, J, -J., 2020. Renewable energy production from environmental hazardous palm oil mill waste materials: A review. *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*. 2, 902-214. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.11564-4>
- Shoab, -A., Bhran, -A., Rasmey, A, -H., Mikky, -Y., 2018. Optimization of cultural conditions for lipid accumulation by *Aspergillus wentii* Ras101 and its transesterification to biodiesel: Application of response surface methodology. 3 *Biotech*. 8(10), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1434-5>
- Singleton, V, -L., Rossi, J, -A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Suhartini, -S., Hidayat, -N., Rohma, N, -A., Paul, -R., Pangestuti, M, -B., Utami, R, -N., Nurika, -I., Melville, -L., 2022. Sustainable strategies for anaerobic digestion of oil palm empty fruit bunches in Indonesia: a review. *International Journal of Sustainable Energy*. 41(11), 2044-2096. <https://doi.org/10.1080/14786451.2022.2130923>
- Tao, -Z., Yuan, -H., Liu, -M., Liu, -Q., Zhang, -S., Liu, -H., Jiang, -Y., Huang, -D., Wang, -T., 2023. Yeast extract: characteristics, production, applications and future perspectives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 33(1), 151-166. <https://doi.org/10.4014/jmb.2207.07057>
- Thanapimmetha, -A., Vuttibunchon, -K., Titapiwatanakun, -B., Srinophakun, -P., 2012. Optimization of solid state fermentation for reducing sugar production from agricultural residues of sweet sorghum by *trichoderma harzianum*. *Chiang Mai Journal of Science*. 39(2), 270-280. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/CMJS/10905284.pdf>
- Ungureanu, C, -V., Favier, -L., Bahrim, G, -E., 2020. Improving biodegradation of clofibric acid by trametes pubescens through the design of experimental tools. *Microorganisms*. 8(8), 1-16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081243>
- Wahyu, A., Indah, N, U, -R., Rahayu, W, -P., 2020. Optimum growth conditions of *Lactobacillus brevis* LIPI13-2-LAB131 in β -galactosidase enzyme production. *Journal of Biological Diversity*. 21(11), 5403-5407. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211147>
- Whiteford, -R., Nurika, -I., Schiller, -T., Barker, -G., 2021. The white-rot fungus, *Phanerochaete chrysosporium*, under combinatorial stress produces variable oil profiles following analysis of secondary metabolites. *Journal of Applied Microbiology*. 131(3), 1305-1317. <https://doi.org/10.1111/jam.15013>
- Wu, -Z., Peng, -K., Zhang, -Y., Wang, -M., Yong, -C., Chen, -L., Qu, -P., Huang, -H., Sun, -

- E., Pan, -M., 2022. Lignocellulose dissociation with biological pretreatment towards the biochemical platform: A review. *Materials Today Bio.* 16, 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2022.100445>
- Xu, -R., Zhang, -K., Liu, -P., Khan, -A., Xiong, -J., Tian, -F., Li, -X., 2018. A critical review on the interaction of substrate nutrient balance and microbial community structure and function in anaerobic co-digestion. *Bioresource Technology.* 247, 1119-1127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.095>
- Yin, -C., Ying, -Y., Chiang, -A., Mun, -K., Yong, -L., 2020. Comparison study of adsorbent produced from renewable resources: Oil palm empty fruit bunch and rice husk. *Materials Today: Proceedings.* 29, 149-155. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.05.642>
- Yusuf, H, -A., Hossain, S, M, -Z., Khamis, A, -A., Radhi, H, -T., Jaafar, A, -S., 2020. Optimization of CO₂ biofixation rate by microalgae in a hybrid microfluidic differential carbonator using response surface methodology and desirability function. *Journal of CO₂ Utilization.* 42, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101291>
- Zhang, -S., Jiang, -M., Zhou, -Z., Zhao, -M., and Li, -Y., 2012. Selective removal of lignin in steam-exploded rice straw by *Phanerochaete chrysosporium*. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 75, 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.09.003>