



ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI CENDAWAN PENGHASIL ENZIM LAKASE DAN SELULASE DARI AREA REVEGETASI TAMBANG BATUAN KAPUR

RIEFKI CHIESA ATHELLA



**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2026**



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Cendawan Penghasil Enzim Lakase dan Selulase dari Area Revegetasi Tambang Batuan Kapur” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Riefki Chiesa Athella
P0501232036

RINGKASAN

RIEFKI CHIESA ATHELLA. Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Cendawan Penghasil Enzim Lakase dan Selulase dari Area Revegetasi Tambang Batuan Kapur. Dibimbing oleh NISA RACHMANIA MUBARIK dan IVAN PERMANA PUTRA.

Penambangan batu kapur dengan sistem terbuka menyebabkan perubahan kondisi fisikokimia tanah melalui hilangnya lapisan tanah atas, rendahnya kandungan bahan organik dan unsur hara, serta terbatasnya kelembapan tanah. Revegetasi menjadi salah satu upaya pemulihan lahan pascatambang yang meningkatkan masukan serasah dan residu akar sebagai sumber biomassa lignoselulosa. Dekomposisi biomassa tersebut memerlukan aktivitas mikroorganisme penghasil enzim ekstraseluler, terutama lakase dan selulase, yang berperan dalam penguraian lignin dan selulosa. Cendawan indigenus dari tanah area revegetasi berpotensi menghasilkan kedua enzim tersebut, tetapi informasi mengenai aktivitas enzim, karakteristik biokimia, dan identitas taksonominya pada tingkat isolat masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan menyeleksi cendawan indigenus yang memiliki aktivitas ligninolitik dan selulolitik, mengarakterisasi lakase dan selulase dari isolat terpilih, serta mengidentifikasi isolat tersebut berdasarkan karakter morfologi dan analisis molekuler daerah *internal transcribed spacer* (ITS).

Sampel tanah diambil dari area revegetasi tambang batuan kapur yang didominasi tanaman jati dan sengon. Cendawan diisolasi melalui pengenceran bertingkat dan ditapis berdasarkan aktivitas ligninolitik dan selulolitik. Aktivitas lakase dan selulase isolat positif diukur selama kultivasi. Enzim dari isolat terpilih dimurnikan secara parsial melalui fraksinasi amonium sulfat dan dialisis, kemudian dianalisis menggunakan SDS-PAGE serta dikarakterisasi berdasarkan pengaruh pH dan suhu. Identifikasi isolat dilakukan melalui pengamatan morfologi, analisis sekuen ITS, dan rekonstruksi pohon filogenetik.

Sebanyak 12 isolat cendawan berhasil diperoleh, dengan dua isolat menunjukkan aktivitas ligninolitik dan tiga isolat menunjukkan aktivitas selulolitik. Isolat FT.1.4 menghasilkan aktivitas lakase tertinggi sebesar 0,496 U/mL pada hari ke-9, sedangkan FT.1.1 menghasilkan aktivitas selulase tertinggi sebesar 0,488 U/mL pada hari ke-12. Kedua isolat menunjukkan respons γ -hemolisis. Fraksi amonium sulfat 40–60% menghasilkan aktivitas spesifik tertinggi pada kedua enzim. Analisis SDS-PAGE menunjukkan pita protein berukuran sekitar 56,2 kDa pada fraksi lakase FT.1.4 serta pita berukuran sekitar 39,0 dan 15,1 kDa pada fraksi selulase FT.1.1. Aktivitas lakase FT.1.4 tertinggi diperoleh pada pH 5 dan suhu 50 °C, sedangkan aktivitas selulase FT.1.1 tertinggi diperoleh pada pH 6 dan suhu 50 °C. Analisis morfologi dan filogenetik menempatkan FT.1.4 dalam genus *Perenniporia* dan menunjukkan kekerabatan dekat dengan *P. subtephropora*, sedangkan FT.1.1 ditempatkan dalam *Fusarium solani* species complex dan berkerabat dekat dengan *F. falciforme*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cendawan indigenus dari area revegetasi tambang batuan kapur berpotensi menjadi sumber lakase dan selulase ekstraseluler untuk kajian dekomposisi biomassa lignoselulosa.

Kata kunci: cendawan indigenus, lakase, lignoselulosa, revegetasi tambang batu kapur, selulase

SUMMARY

RIEFKI CHIESA ATHELLA. Isolation, Characterization, and Identification of Laccase- and Cellulase-Producing Fungi from a Revegetated Limestone Quarry Area. Supervised by NISA RACHMANIA MUBARIK and IVAN PERMANA PUTRA.

Opencast limestone mining alters soil physicochemical conditions through topsoil removal, low organic matter content and nutrient availability, and limited soil moisture. Revegetation is a post-mining land restoration approach that increases litter and root residue inputs as sources of lignocellulosic biomass. The decomposition of this biomass requires the activity of microorganisms that produce extracellular enzymes, particularly laccase and cellulase, which contribute to lignin and cellulose degradation. Indigenous fungi from revegetated soils have the potential to produce both enzymes; however, information on their enzyme activities, biochemical characteristics, and taxonomic identities at the isolate level remains limited. This study aimed to isolate and select indigenous fungi exhibiting ligninolytic and cellulolytic activities, characterize laccase and cellulase from the selected isolates, and identify the isolates based on morphological characteristics and molecular analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region.

Soil samples were collected from revegetated limestone quarry areas dominated by teak and sengon trees. Fungi were isolated by serial dilution and screened for ligninolytic and cellulolytic activities. Laccase and cellulase activities of the screening-positive isolates were measured during cultivation. Enzymes from the selected isolates were partially purified by ammonium sulfate fractionation and dialysis, analyzed by SDS-PAGE, and characterized for the effects of pH and temperature on enzyme activity. The isolates were identified through morphological observations, ITS sequence analysis, and phylogenetic tree reconstruction.

A total of 12 fungal isolates were obtained; two exhibited ligninolytic activity and three exhibited cellulolytic activity. Isolate FT.1.4 produced the highest laccase activity of 0.496 U/mL on day 9, whereas FT.1.1 produced the highest cellulase activity of 0.488 U/mL on day 12. Both isolates showed γ -hemolysis and were selected for further characterization. For both enzymes, the 40–60% ammonium sulfate fraction yielded the highest specific activity. SDS-PAGE revealed a protein band of approximately 56.2 kDa in the FT.1.4 laccase fraction and two protein bands of approximately 39.0 and 15.1 kDa in the FT.1.1 cellulase fraction. Laccase activity from FT.1.4 was highest at pH 5 and 50 °C, whereas cellulase activity from FT.1.1 was highest at pH 6 and 50 °C. Morphological and phylogenetic analyses placed FT.1.4 within the genus *Perenniporia* and indicated a close relationship with *P. subtephropora*, whereas FT.1.1 was placed within the *Fusarium solani* species complex and was closely related to *F. falciforme*. These findings indicate that indigenous fungi from revegetated limestone quarry soils have potential as sources of extracellular laccase and cellulase for studies on lignocellulosic biomass decomposition.

Keywords: cellulase, indigenous fungi, laccase, lignocellulose, revegetated limestone quarry



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI CENDAWAN PENGHASIL ENZIM LAKASE DAN SELULASE DARI AREA REVEGETASI TAMBANG BATUAN KAPUR

RIEFKI CHIESA ATHELLA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S.



Judul Tesis : Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Cendawan Penghasil Enzim
Lakase dan Selulase dari Area Revegetasi Tambang Batuan Kapur
Nama : Riefki Chiesa Athella
NIM : P0501232036

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si.



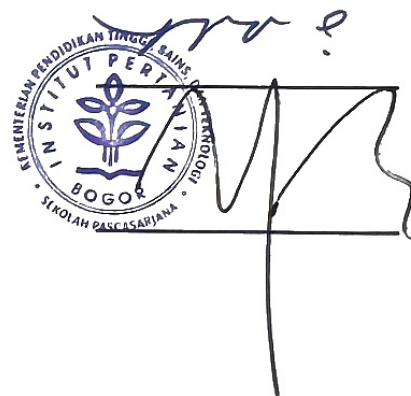
Pembimbing 2:
Dr. Ivan Permana Putra, S.Si., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.
NIP. 196204191989031001

Dekan Fakultas/Sekolah:
Prof. Dr. Ir. Yusli Wardiatno, M.Sc.
NIP. 196607281991031002



Tanggal Ujian: 07 Agustus 2026

Tanggal Lulus: 12 AUG 2026

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2025 hingga Juni 2026 ini ialah cendawan indigenus penghasil lakase dan selulase dari area revegetasi tambang batuan kapur dengan judul “Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Cendawan Penghasil Enzim Lakase dan Selulase dari Area Revegetasi Tambang Batuan Kapur”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, yaitu Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si., selaku ketua komisi pembimbing, dan Dr. Ivan Permana Putra, S.Si., M.Si., selaku anggota komisi pembimbing, yang telah memberikan bimbingan, arahan, saran, dan motivasi selama pelaksanaan penelitian serta penyusunan tesis. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S., selaku penguji tesis, atas masukan, kritik, dan saran yang konstruktif untuk penyempurnaan tesis ini. Selanjutnya, penulis menyampaikan terima kasih kepada seluruh dosen Program Studi Bioteknologi atas ilmu dan pengetahuan yang telah diberikan selama masa studi.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi dan Mikologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, atas bantuan teknis, dukungan, dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian. Ucapan terima kasih turut disampaikan kepada rekan-rekan di laboratorium atas diskusi, bantuan, dan dukungan selama proses penelitian. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada rekan-rekan Program Studi Bioteknologi atas semangat dan dukungan yang diberikan selama menempuh masa studi.

Ucapan terima kasih yang tulus penulis sampaikan kepada Papa Muhammad Rasyid dan Mama Oktafianti atas doa, kasih sayang, pengorbanan, dukungan, serta motivasi yang senantiasa diberikan selama penulis menempuh pendidikan dan menyelesaikan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Abang Fairuz Akbar Pasya serta kedua adik, Muhammad Zacky Azizan dan Muhammad Faizd Albar, atas perhatian, semangat, dan dukungan yang diberikan. Doa dan dukungan keluarga menjadi sumber kekuatan bagi penulis dalam menjalani setiap tahapan studi dan penelitian hingga tesis ini dapat diselesaikan.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Agustus 2026

Riefki Chiesa Athella

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Ruang Lingkup Penelitian	3
II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Area Revegetasi Tambang Batuan Kapur	5
2.2 Cendawan Tanah dalam Dekomposisi Lignoselulosa	6
2.3 Enzim Lakase	7
2.4 Enzim Selulase	8
2.5 Identifikasi Morfologi, Molekuler, dan Filogenetik Cendawan	9
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Diagram Alir Penelitian	12
3.4 Prosedur Penelitian	13
3.4.1 Pengambilan Sampel Tanah dan Pengukuran Kondisi Lingkungan	13
3.4.2 Isolasi dan Pemurnian Cendawan	13
3.4.3 Penapisan Aktivitas Ligninolitik dan Selulolitik	14
3.4.4 Produksi Enzim dan Pengujian Kuantitatif Aktivitas Lakase dan Selulase	14
3.4.5 Uji Aktivitas Hemolisis	16
3.4.6 Pemurnian Parsial Enzim	16
3.4.7 Analisis Profil Protein dengan SDS-PAGE	17
3.4.8 Karakterisasi Aktivitas Enzim	17
3.4.9 Identifikasi Morfologi dan Molekuler Isolat Cendawan Terpilih	18
3.4.10 Analisis Data	19
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Karakteristik Lingkungan dan Hasil Isolasi Cendawan	21
4.2 Aktivitas Kualitatif Ligninolitik dan Selulolitik Isolat Cendawan	22
4.2.1 Aktivitas Kualitatif Ligninolitik Isolat Cendawan	22
4.2.2 Aktivitas Kualitatif Selulolitik Isolat Cendawan	24
4.3 Aktivitas Lakase dan Selulase Ekstraseluler	26
4.3.1 Aktivitas Lakase Ekstraseluler	26
4.3.2 Aktivitas Selulase Ekstraseluler	27
4.4 Aktivitas Hemolisis Isolat Cendawan Terpilih	29
4.5 Pemurnian Parsial Lakase dan Selulase dari Isolat Cendawan Terpilih	30
4.6 Profil Protein Fraksi Pemurnian Parsial Lakase dan Selulase	31



4.7 Karakteristik Aktivitas Enzim	33
4.7.1 Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim	34
4.7.2 Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim	34
4.8 Identifikasi Isolat Cendawan Terpilih	35
4.8.1 Identifikasi Morfologi	35
4.8.2 Identifikasi Molekuler dan Analisis Filogenetik	36
V SIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Simpulan	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	53
RIWAYAT HIDUP	61

DAFTAR TABEL

1	Karakteristik lingkungan dan isolat cendawan pada area revegetasi jati dan sengon di tambang batuan kapur	22
2	Hasil pengujian kualitatif aktivitas ligninolitik isolat cendawan	23
3	Hasil pengujian kualitatif aktivitas selulolitik isolat cendawan	25
4	Hasil uji aktivitas hemolitik cendawan kandidat	30
5	Hasil pemurnian parsial lakase FT.1.4 dan selulase FT.1.1 menggunakan fraksinasi amonium sulfat	31
6	Hasil analisis BLASTn sekuen ITS isolat FT.1.4 dan FT.1.1	37

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme katalitik lakase melalui transfer elektron dari pusat T1 menuju kluster trinuklear T2/T3 dan reduksi oksigen menjadi air (Aza dan Camarero 2023)	7
2	Mekanisme hidrolisis daerah amorf dan kristalin selulosa melalui kerja sinergis endoglukanase (EG), selobiohidrolase I dan II (CBHI dan CBHII), serta β -glukosidase (β G) (Contreras <i>et al.</i> 2020)	9
3	Diagram alir penelitian isolasi, karakterisasi, dan identifikasi cendawan penghasil enzim lakase dan selulase dari area revegetasi tambang batuan kapur	12
4	Lokasi pengambilan sampel tanah di area revegetasi tambang batuan kapur PT Indocement Tungal Prakarsa Tbk., Site Citeureup, Bogor, Jawa Barat	13
5	Hasil pengujian kualitatif aktivitas ligninolitik isolat cendawan menggunakan uji Bavendamm pada medium PDA yang mengandung asam tanat 0,1% (b/v) (cawan Petri diameter 9 cm)	23
6	Hasil pengujian kualitatif aktivitas selulolitik isolat cendawan pada medium PDA yang mengandung CMC 1% (b/v) setelah pewarnaan merah kongo (cawan Petri diameter 9 cm)	24
7	Aktivitas enzim ekstraseluler selama 15 hari kultivasi	26
8	Respons hemolisis isolat cendawan terpilih pada medium agar-agar darah dengan kontrol hemolisis <i>Streptococcus pneumoniae</i> (α -hemolisis), <i>Staphylococcus aureus</i> (β -hemolisis), dan <i>Escherichia coli</i> (γ -hemolisis)	29
9	Profil protein fraksi pemurnian parsial lakase dan selulase berdasarkan analisis SDS-PAGE	32
10	Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas lakase FT.1.4 dan selulase FT.1.1 pada fraksi amonium sulfat 40–60%	33
11	Karakter morfologi isolat FT.1.4 dan FT.1.1. Morfologi koloni setelah diinkubasi selama 7 hari pada medium PDA (cawan Petri diameter 9 cm)	36



- 12 Pohon filogenetik dengan metode *maximum likelihood* berdasarkan sekuen ITS yang menunjukkan hubungan (a) FT.1.4 dan (b) FT.1.1 dengan takson cendawan yang berkerabat 38

DAFTAR LAMPIRAN

1	Komposisi medium produksi enzim lakase	54
2	Kurva standar glukosa dan BSA	55
3	Data pendukung pemurnian parsial lakase dan selulase	56
4	Data karakterisasi aktivitas lakase dan selulase pada berbagai pH dan suhu	57
5	Hasil analisis statistik karakterisasi aktivitas lakase dan selulase	58
6	Data pendukung identifikasi molekuler isolat terpilih	60