

TESIS

**PENGARUH PERLAKUAN JAMUR PELAPUK PUTIH
DAN *STEAMING* PADA PRODUKSI ETANOL DARI
BAGAS MELALUI PROSES SAKARIFIKASI DAN
FERMENTASI SERENTAK (SSF)**

OLEH

**M. SAMSURI
6404060077**



**TESIS INI DIAJUKAN UNTUK MELENGKAPI SEBAGIAN PERSYARATAN
MENJADI MAGISTEK TEKNIK**

**JURUSAN TEKNIK KIMIA
PROGRAM PASCA SARJANA BIDANG ILMU TEKNIK
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS INDONESIA**

Januari 2006

TESIS

**EFFECTS OF WHITE ROT FUNGI TREATMENT AND
STEAMING ON ETHANOL PRODUCTION FROM
BAGASSE BY SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION
AND FERMENTATION (SSF)**

Prepared by

**M. SAMSURI
6404060077**



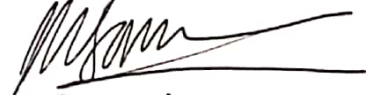
**CHEMICAL ENGINEERING PROGRAM
ENGINEERING POST GRADUATED PROGRAM
FACULTY OF ENGINEERING
INDONESIA UNIVERSITY**

Januari 2006

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Tesis dengan judul ” **PENGARUH PERLAKUAN JAMUR PELAPUK PUTIH DAN *STEAMING* PADA PRODUKSI ETANOL DARI BAGAS MELALUI PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK (SSF)**” merupakan asli karya penulis dengan bantuan para pembimbing dan sejauh pengetahuan penulis belum ada yang mempublikasikan karya ini selain penulis.

Penulis



M. Samsuri

PERSETUJUAN

Tesis dengan judul:

PENGARUH PERLAKUAN JAMUR PELAPUK PUTIH DAN STEAMING PADA PRODUKSI ETHANOL DARI BAGAS MELALUI PROSES SAKARIFIKASI DAN FERMENTASI SERENTAK (SSF)

Dibuat untuk melengkapi sebagian persyaratan menjadi Magister Teknik
Program Pasca Sarjana Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas
Indonesia dan disetujui untuk diajukan pada sidang ujian tesis pada periode
2005/2006

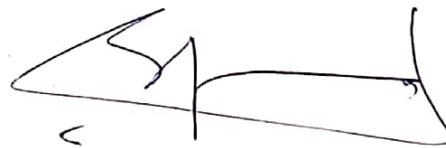
Depok, 4 Januari 2006
Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. Ing.Ir. Misri Gozan, M.Tech
NIP 132 091 210

Pembimbing II



Prof. riset. Dr. Ir. Bambang Prasetya
NIP 320 004 911

Pengaruh Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan *Steaming* pada Produksi Etanol dari Bagas melalui proses Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF)

Abstrak

Bagas merupakan residu padat pada proses pengolahan tebu menjadi gula, yang sejauh ini masih belum banyak dimanfaatkan menjadi produk yang mempunyai nilai tambah (*added value*). Bagas yang termasuk biomassa mengandung lignocellulose sangat dimungkinkan untuk dimanfaatkan menjadi sumber energi alternatif seperti bioetanol atau biogas. Dalam kaitan pemanfaatan bagas menjadi bioetanol secara konvensional dapat dilakukan dengan proses kimiawi yaitu dengan menggunakan asam kuat pada proses hidrolisisnya. Selain itu dapat pula konversi bagas menjadi bioetanol dapat dilakukan dengan bioproses dengan menggunakan enzim.

Pada penelitian ini telah dilakukan konversi bagas menjadi etanol dengan menggunakan bioproses, yaitu dengan menggunakan sistem Sacharifikasi dan Fermentasi secara serentak atau SSF (*Simultaneous Sacharificatioan and Fermentation*). Untuk lebih memaksimalkan konversi bioetanol sebelum proses SSF dilakukan perlakuan dengan menggunakan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) dan *steaming*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa etanol dapat diproduksi dari bagas dengan proses SSF menggunakan yeast *S. cerevisiae* dan enzim *cellulase*. Perlakuan dengan menggunakan jamur pelapuk putih: *P. erynggi*, *P. ostreatus*, *C. subvermispora*, *L. edodes* dan PSM01 mampu meningkatkan produksi etanol dari bagas dengan proses SSF. Produksi etanol dari bagas murni maksimum 1,55 g/L dari 50 g/L substrat yang digunakan, setelah diperlakukan dengan *P. erynggi*, *P. ostreatus*, *C. subvermispora*, *L. edodes* dan PSM01 etanol tertinggi yang dihasilkan berturut-turut 5,55 g/L, 4,73 g/L, 4,96 g/L, 3,96 g/L, 4,75 g/L dari 50 g/L substrat yang digunakan.

Kombinasi perlakuan menggunakan jamur pelapuk putih dan *steaming* pada suhu 180°C selama 1 jam mampu meningkatkan produksi etanol dari bagas dengan proses SSF secara signifikan. Produksi etanol dari bagas murni maksimum 1,55 g/L dari 50 g/L substrat yang digunakan, setelah diperlakukan dengan kombinasi *steaming* dan perlakuan dengan *P. erynggi*, *P. ostreatus*, *C. subvermispora*, *L. edodes* dan PSM01 etanol tertinggi yang dihasilkan berturut-turut 19,99 g/L, 18,47 g/L, 18,00 g/L, 18,28 g/L, 17,55 g/L dari 50 g/L substrat digunakan. Produksi etanol dari bagas yang tertinggi adalah bagas yang telah diperlakukan dengan jamur pelapuk putih *P. erynggi* dan dikombinasikan dengan *steaming* yaitu 19,99 g/L dari 50 g/l substrat yang digunakan atau sekitar 40% dari total bagas yang digunakan.

DAFTAR ISI

JUDUL

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

PERSETUJUAN

UCAPAN TERIMA KASIH

KATA MUTIARA

ABSTRAK

DAFTAR ISI

DAFTAR GRAFIK

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR TABEL

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Ruang Lingkup Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bagas	6
2.1.1 Selulosa	6
2.1.2 Hemicelulosa	7
2.1.3 Lignin	7
2.1.4 Potensi dan Pemanfaatan Bagas	9
2.2 Etanol	9
2.3 Sakarifikasi dan Fermentasi Serentak (SSF)	11
2.4 Pre-Treatment sebelum SSF	12
2.1.1 Perlakuan Secara Fisik (<i>Physical treatment</i>)	13
2.1.2 Perlakuan Secara Biologis (<i>biological treatment</i>)	13

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Skema Penelitian	16
3.2 Bahan dan Alat	17
3.3 Prosedur Penelitian dan Analisis	19

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Produksi Etanol dengan SSF dengan Perlakuan Jamur Pelapuk Putih	22
4.1.1 Pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih terhadap jumlah berat bagas	22
4.1.2 Pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih terhadap komposisi lignin, holocellulosa, α -cellulosa	23
4.1.3 Pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih terhadap kuantitas etanol yang dihasilkan dengan proses SSF	30
4.2 Produksi Etanol dengan SSF dengan Perlakuan Jamur Pelapuk Putih dan Dikombinasikan dengan Steaming	38
4.2.1 Pengaruh kombinasi perlakuan jamur pelapuk putih dan steaming terhadap komposisi lignin, holocellulosa, α -cellulosa	39
4.2.2 Pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih yang dikombinasikan dengan steaming terhadap kuantitas etanol yang dihasilkan dengan proses SSF	46

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	58

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1.	Trend jumlah produksi, konsumsi, impor dan ekspor energi dari migas terhadap pertambahan tahun (<i>sumber energi projection and analysis, 2004</i>)	1
Grafik 2.	Kehilangan berat pada bagas selama perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih	23
Grafik 3.	Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2 minggu	25
Grafik 4.	Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 4 minggu	26
Grafik 5.	Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 6 minggu	27
Grafik 6.	Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 8 minggu	28
Grafik 7.	Kehilangan berat lignin setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu	28
Grafik 8.	Kehilangan berat holocellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu	29
Grafik 9.	Kehilangan berat holocellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu	30
Grafik 10.	Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2 minggu	31
Grafik 11.	Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 4 minggu	33
Grafik 12.	Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 6 minggu	34
Grafik 13.	Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 8 minggu	35
Grafik 14.	Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2,4,6 dan 8 minggu dengan waktu inkubasi selama 48 jam.....	36

Grafik 15. Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	40
Grafik 16. Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 4 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	41
Grafik 17. Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 6 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	42
Grafik 18. Kehilangan berat lignin, holocellulosa dan α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 8 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	43
Grafik 19. Kehilangan berat lignin setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu yang dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	44
Grafik 20. Kehilangan berat holocellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu yang dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	45
Grafik 21. Kehilangan berat α -cellulosa setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2, 4, 6 dan 8 minggu yang dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	45
Grafik 22. Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2 minggu dan kombinasi dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	47
Grafik 23. Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 4 minggu yang dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	49
Grafik 24. Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 6 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	50
Grafik 25. Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 8 minggu dan dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180 ^o C selama 1 jam	52
Grafik 26. Produksi etanol melalui proses SSF setelah diperlakukan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2,4,6 dan 8 minggu dengan waktu inkubasi selama 48 jam.....	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur selulosa	6
Gambar 2. Struktur hemicelulosa	7
Gambar 3. Struktur lignin.....	8
Gambar 4. Skema reaksi dalam proses <i>Simultaneous Sacharification and Fermentation</i> (SSF)	12
Gambar 5. Skema penelitian	16

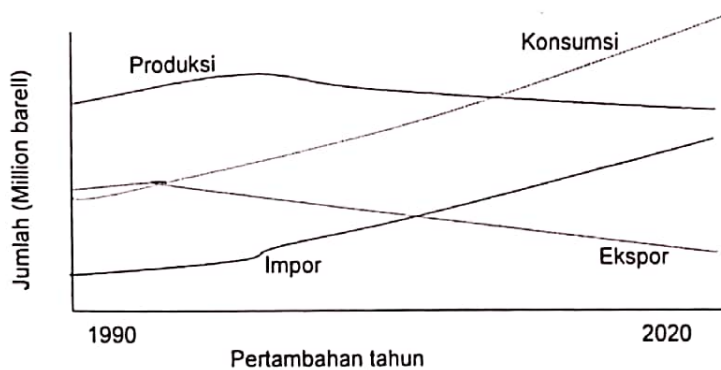
DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan bilangan oktan antara bioetanol dan gasoline	10
Tabel 2. Komposisi karbohidrat pada bagas sebelum dan setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih	38
Tabel 3. Komposisi karbohidrat pada bagase sebelum dan setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih dengan kombinasi steaming pada suhu 180°C selama 1 jam	55
Tabel 4. Produksi etanol tertinggi dari bagas setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2-8 minggu (konsentrasi substrat yang digunakan 50 g/L).....	57
Tabel 5. Produksi etanol tertinggi dari bagas setelah perlakuan dengan beberapa jamur pelapuk putih selama 2-8 minggu yang dikombinasikan dengan steaming pada suhu 180°C selama 1 jam (konsentrasi substrat yang digunakan 50 g/L).....	58

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Salah satu pesan penting dalam *The World Summit on Sustainable Development* (IWSS) tahun 2002 adalah pemenuhan kebutuhan energi di masa mendatang merupakan tantangan berat dalam jangka waktu 50 tahun mendatang. Kebutuhan energi pada saat itu diperkirakan dua kali lipat dari kebutuhan sekarang. Demikian pula Indonesia pada saat mendatang dihadapkan pada kebutuhan energi yang terus meningkat dan disisi lain produksi energi terutama di sektor migas terus mengalami penurunan. Hal ini akan berdampak pada penurunan jumlah ekspor energi dan meningkatnya impor energi (grafik 1).



Grafik1. Trend jumlah produksi, konsumsi, impor dan ekspor energi dari migas terhadap pertambahan tahun (sumber *energi projection dan analysis*, 2004)

Kasus yang terjadi di Indonesia pada kurun waktu tahun 1985 – 1995 laju peningkatan konsumsi energi sangat tinggi yaitu 8% per tahun. Sedangkan laju konsumsi energi dunia rata-rata 2% per tahun. Konsumsi BBM tahun 1990 untuk sektor transportasi, industri, rumah tangga listrik dll mencapai 33,3 milyar liter dan tahun 2000 sudah mencapai 55,9 milyar liter (BP *statistical energi review*, 2004). Pada tahun 2001 konsumsi tetap meningkat walaupun pemerintah telah menaikkan harga BBM . Terakhir karena meningkatnya BBM maka di beberapa daerah diseluruh Indonesia mengalami krisis BBM yang memaksa pemerintah harus mengeluarkan regulasi penghematan BBM

dan mengalihkan sebagian pada energi alternatif yang lain seperti biodisel dan bioetanol.

Selain itu Indonesia saat ini merupakan satu dari negara anggota OPEC yang saat ini telah bergeser dari net-eksportir menjadi net-importir minyak bumi. Pada November 2004 jumlah minyak mentah yang diproduksi hanya 1 juta barel per-hari setara dengan 159 juta L per-hari, sementara kebutuhan minyak mentah dalam negeri sebesar 1,350 juta barel per-hari setara dengan 215 juta L per-hari. Minyak mentah ini diproses di dalam negeri untuk memenuhi total kebutuhan BBM dalam negeri sebesar 178 juta L per hari. Sedangkan kekurangannya sekitar 39,98 juta L per-hari masih harus diimpor (BP *statistical energi review*, 2004).

Oleh karena sangat dibutuhkan langkah yang dapat memberikan solusi dalam mengatasi masalah BBM nasional baik dari segi kebijakan oleh pemerintah ataupun langkah-langkah konkrit dari masyarakat industri dan masyarakat peneliti. Secara kebijakan pemerintah melalui Kementerian Negara Riset dan Teknologi bersama seluruh LPND Ristek, Perguruan Tinggi dan lembaga penelitian lainnya telah menetapkan salah satu prioritas Penelitian, Pengembangan dan Penerapan IPTEK sampai tahun 2025 adalah penciptaan dan pemanfaatan energi baru dan terbarukan yang dicanangkan pada rakornas 2005.

Selain itu banyak langkah telah diupayakan untuk pemenuhan kebutuhan energi tersebut dengan mencari energi alternatif seperti pengembangan batu bara cair, pengembangan biodisel dari produk turunan kelapa sawit, jarak pagar atau pengembangan bioetanol. Pengembangan bioenergi seperti bioetanol dari biomassa sebagai sumber bahan baku yang dapat diperbarui merupakan satu alternatif yang memiliki nilai positif dari aspek sosial dan lingkungan (Lynd *et al.*, 1991; Wyman, 1995).

Etanol yang mempunyai rumus kimia C_2H_5OH adalah zat organik dalam kelompok alkohol dan banyak digunakan untuk berbagai keperluan. Pada umumnya etanol diproduksi dengan cara fermentasi dengan bantuan mikroorganisme oleh karenanya sering disebut sebagai bioetanol. Produk etanol selama ini sebagian besar untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri antara lain dipergunakan sebagai bahan baku atau bahan pembantu berbagai industri, seperti pengolahan rumput laut, industri minuman

beralkohol, industri cat, industri farmasi, industri kosmetika dan lain-lain. Namun ada juga produk etanol yang dihasilkan oleh industri dalam negeri yang diekspor ke negara lain seperti ke Jepang dan Filipina. Prospek pemanfaatan etanol ke depan diperkirakan akan lebih banyak diarahkan pada bahan bakar alternatif pengganti BBM hal ini terkait dengan semakin menipisnya cadangan bahan bakar minyak dunia termasuk Indonesia dan meningkatnya konsumsi bahan bakar.

Salah satu energi alternatif yang relatif murah ditinjau aspek produksinya dan relatif ramah lingkungan adalah pengembangan bioetanol dari limbah-limbah pertanian (biomassa) yang mengandung banyak lignocellulose seperti bagas (limbah padat industri gula) atau tandan kosong kelapa sawit. Indonesia memiliki potensi limbah biomassa yang sangat melimpah seperti bagas. Industri gula khususnya di luar Jawa maupun diluar Jawa menghasilkan bagas yang cukup melimpah, seperti di PT. Gunung Madu Plantations, PT. Gula putih Mataran dan PT. Indo Lampung di Propinsi Lampung.

Selain itu keuntungan lain dari pemanfaatan bioetanol adalah dapat digunakan mensubstitusi langsung atau bahan campuran premium. Substitusi premium dengan etanol sebagai bahan bakar transportasi secara tidak langsung akan mengurangi emisi karbon dioksida. Hal ini dimungkinkan karena dengan meningkatnya produksi bioetanol akan mendorong penanaman tanaman sehingga emisi karbon dioksida yang dihasilkan akan terfiksasi melalui proses fotosintesis dari tanaman penghasil biomas (Millan, 1997).

Teknologi proses produksi etanol dalam proses hidrolisisnya biasanya dilakukan dengan metode konvensional yaitu dengan menggunakan asam sulfat (H_2SO_4) atau asam klorida (HCl) pada proses hidrolisisnya. Namun metode ini kurang ramah lingkungan karena penggunaan asam dalam prosesnya tersebut disamping juga biaya bahan kimia tersebut yang relatif mahal dan menimbulkan korosif.

Pengembangan teknologi bioproses dengan menggunakan enzim pada proses hidrolisisnya diyakini sebagai suatu proses yang lebih ramah lingkungan (Pan *et al.*, 2004). Namun sejak diketahui keberadaan lignin dalam biomassa dapat menghambat akses enzim dalam memecah polisakarida menjadi monosakarida pada proses hidrolisis

yang berdampak pada penurunan jumlah konversi etanol yang dihasilkan, sehingga sangat diperlukan suatu perlakuan (*treatment*) itu untuk mengoptimalkan konversi biomassa menjadi etanol (Sun dan Cheng, 2002).

Salah satu perlakuan yang dapat menghancurkan lignin dengan minimum kehilangan polisakaridanya adalah dengan menggunakan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) seperti *Ceriporiopsis subvermispora* (Itoh *et al* , 2003). Selain itu jamur ini termasuk jenis *edible mushroom*, sehingga dapat dimanfaatkan untuk industri makanan. Sehingga perlakuan dengan jamur dan penggunaan enzim dalam proses hidrolisisnya akan lebih memberikan nilai ekonomis disamping prosesnya yang lebih ramah lingkungan.

Beberapa perlakuan secara fisik juga dapat dilakukan untuk melunakan ikatan mikrofil pada bagas yaitu dengan pemanasan pada suhu tinggi (*steaming*). Disamping itu, perlakuan dengan *steaming* dapat menimbulkan depolimerisasi dari komponen selulosa dan hemicelulosa atau sebagai prahidrolisis polisakarida. Kombinasi antara perlakuan dengan jamur pelapuk putih dan pemanasan pada suhu tinggi juga merupakan suatu alternatif untuk meningkatkan efisiensi konversi polisakarida menjadi glukosa yang sehingga konversi glukosa menjadi etanol juga optimal.

Oleh karena itu sangat penting untuk melakukan penelitian yang memanfaatkan bagas untuk konversi menjadi etanol dengan menggunakan perlakuan jamur pelapuk putih dan pemanasan pada suhu tinggi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah untuk dilakukan penelitian adalah:

- Bagaimana pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) terhadap etanol yang dihasilkan?
- Bagaimana pengaruh perlakuan (*treatment*) dengan *steaming* terhadap etanol yang dihasilkan?
- Bagaimana pengaruh kombinasi perlakuan dengan pelapuk putih dan *steaming* terhadap etanol yang dihasilkan?
- Bagaimana pengaruh lamanya perlakuan tersebut, terhadap etanol yang dihasilkan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- Mengetahui kuantitas etanol yang dihasilkan dari bagas dengan proses SSF.
- Mengetahui pengaruh perlakuan dengan jamur pelapuk putih dan *steaming* terhadap kuantitas etanol yang dihasilkan
- Mengetahui pengaruh parameter-parameter yang mempengaruhi kuantitas etanol

1.4 Ruang Lingkup Penelitian

- Melakukan analisa pengaruh perlakuan jamur pelapuk putih (*white rot fungi*) terhadap etanol yang dihasilkan;
- Melakukan analisa pengaruh perlakuan (*treatment*) dengan *steaming* terhadap etanol yang dihasilkan;
- Melakukan analisis kombinasi perlakuan dengan pelapuk putih dan *steaming* terhadap etanol yang dihasilkan;
- Melakukan analisis pengaruh lamanya perlakuan tersebut, terhadap etanol yang dihasilkan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- Bagas yang dimaksud adalah ampas tebu dari industri yang terletak di luar Jawa;
- Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah enzim meicelase (selulase) dan yeast yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sacharomyces cerevisiae* AM12 (*S. cerevisiae*);
- Jamur yang digunakan adalah *Pleurotus ostreatus* ATCC 66376, *Lentinus edodes* IFO6654, *Ceriperiopsis subvermispora* ATCC90467, *Pleurotus eryngii* USP 489 dan PSM01;
- *Steaming* menggunakan suhu 180°C selama 1 jam.