

Optimization of Manganese Peroxidase Enzyme Production from *Pleurotus ostreatus* Mushroom in Organik Medium

Faiza Afroza^{1*}, Dwi Hilda Putri¹, Irdawati¹, Siska Alicia Farma¹, Ade Andriani², Iwan Saskiawan²

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University, Padang, Indonesia;

²Reserach Center for Applied Microbiology, Nasional Research and Innovation Agency, Bogor, Indonesia;

Article History

Received : December 05th, 2025

Revised : December 20th, 2025

Accepted : December 30th, 2025

*Corresponding Author:

Faiza Afroza, Program studi Biologi, Fakultas Matematikan dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;

Email:

faizaafroza31@gmail.com

Abstract: The production of manganese peroxidase (MnP, a key lignolitic enzyme with broad applications in bioremediation and industrial processing, can be significantly enhanced through the optimization of medium composition and fermentation time. This study aimed to determine the optimal organic medium, concentration, and incubation period for MnP production by *Pleurotus ostreatus*. Various plant-base substrates such as brown rice, mungbean, almond, red bean soybean, and potato dextrose broth (PDB) were evaluated using a descriptive method, with the obtained data calculated and analyzed in Excel, and the results presented in the form of diagrams. The results showed that brown rice medium is the most optimal medium to support the production of MnP (981,6 U/L), attributed to its high carbohydrate and micronutrient content. Further optimization revealed that a concentration of 7,5%, while fermentation time optimization indicated that the 9th day was optimal, producing up to 3207,1 U/L of enzyme activity. These findings suggest that selecting the right substrate and fermentation conditions can substantially improve MnP synthesis by *P. ostreatus*, making it a promising strategy for sustainable enzyme production and future biotechnological application. For future studies, it is recommended to explore large scale fermentation systems and alternative agro industrial waste substrates to further enhance enzyme yield and cost efficiency

Keywords: Enzyme, manganese peroxidase, organic medium, *Pleurotus ostreatus*.

Pendahuluan

Perkembangan industri di bidang sandang, pangan, kosmetik, dan farmasi telah mendorong peningkatan penggunaan zat warna sintetis. Hal ini disebabkan oleh terbatasnya ketersediaan pewarna alami yang stabil dan efisien (Paryanto et al., 2013). Namun, penggunaan pewarna sintetis menimbulkan berbagai dampak negatif, terutama karena kandungan logam berat seperti timbal (Pb), dan kromium (Cr) yang sering menyertai. Timbal dapat terakumulasi dalam jaringan lunak dan dapat bertahan dalam tulang untuk jangka waktu yang lama. Paparan zat berbahaya ini

bisa melalui kontak langsung maupun tidak langsung, seperti melalui air limbah industri yang mencemari lingkungan (Hastuti et al., 2018).

Dampak lingkungan dari limbah pewarna juga tidak bisa diabaikan. Jika dibuang tanpa pengelolaan yang memadai, limbah ini dapat menyebabkan kekeruhan air, bau tidak sedap, serta menurunkan kadar oksigen terlarut. Kondisi tersebut mengancam ekosistem air dan kesehatan organisme akuatik hingga manusia sebagai konsumen akhir (Slama et al., 2021; Srivastava & Sofi, 2020; Tkaczyk et al., 2020). Untuk menanggulangi masalah ini secara berkelanjutan, salah satu solusi yang dapat

diterapkan adalah dengan memanfaatkan jamur pelapuk putih, seperti *Pleurotus ostreatus*. Jamur golongan *Basidiomycota* ini diketahui mampu mendegradasi berbagai senyawa xenobiotik dan pewarna sintetis karena menghasilkan enzim lignolitik ekstraseluler seperti lakase, mangan peroksidase (MnP) dan lignin peroksidase (LiP) (Rao et al., 2019). Produksi enzim lignolitik dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti komposisi medium, perbandingan karbon dan nitrogen, pH, suhu, aerasi, serta ada tidaknya agen penginduksi (Kaushik. P & Malik. A, 2009).

Sebagai negara dengan keanekaragaman hayati yang tinggi, Indonesia memiliki potensi yang besar dalam memanfaatkan enzim lignolitik yang diproduksi oleh jamur (Dewi et al., 2019), namun enzim lignolitik hanya diproduksi dalam jumlah kecil oleh jamur dengan tingkat produktivitas yang rendah. Akibatnya, panggunaan dalam berbagai industri masih sangat terbatas (Vrsanska et al., 2015). Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimal dalam produksi enzim MnP dari jamur *Pleurotus ostreatus*.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode deskriptif yang dilaksanakan dari bulan Februari hingga Agustus 2024, di Laboratorium Genomik dan *Integrated Laboratory of Bioproduct* (iLab), Kelompok Riset Enzim untuk Kesehatan dan Kosmetik, Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Jawa Barat.

Alat dan bahan

Jamur *Pleurotus ostreatus* yang digunakan didapatkan dari koleksi Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Kelompok Riset Jamur Edible, BRIN, akuades, media potato dextrose agar, media organik (bubuk kacang hijau, bubuk kacang almond, bubuk kacang merah, bubuk kacang kedelai, bubuk beras merah), potato dextrose broth (PDB), buffer malonic acid, 2,5 *dimethoxyphenol* (DMP), mangan sulfat (MnSO₄), H₂O₂. Alat yang digunakan adalah erlenmayer, timbangan analitik, petridish

disposable, magnetic stirrer, autoclave, sentrifugasi (High speed refrigerated centrifuge suprema 21), spektofotometer UV-Vis 1800.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif. Aktivitas enzim ditetapkan dalam satuan U/L. Nilai aktivitas enzim ditentukan oleh hasil konversi nilai absorban ke dalam rumus:

$$U/mL = \left(\left(\frac{abs \times \epsilon}{1} \right) \times \left(\frac{V_{larutan} (\mu L)}{10^6} \right) \times (10^6) \times \left(\frac{t}{60} \right) \right) / \left(\frac{V_{enzym} (\mu L)}{10^3} \right)$$

Keterangan:

Abs = absorbansi

ϵ = Koefisien molar extinction

Vlarutan = total volume larutan yang digunakan

1000 = nilai konversi dari mL ke μ L

Venzim = volume enzim/supernatan yang diberikan ke dalam larutan

t = waktu inkubasi (60 detik)

Kemudian data yang didapatkan dihitung dan dianalisis dengan excel, serta hasil analisis disajikan dalam bentuk diagram.

Prosedur Penelitian

Preparasi media premajaan jamur

Sebanyak 19,5 gr bubuk PDA ditimbang dan dimasukan ke dalam erlenmayer 1 L, kemudian dilarutkan dengan akuades hingga mencapai volume 500 mL. Media PDA dimodifikasi dengan menambahkan 1% agar, homogenkan dengan magnetic stirrer, kemudian disterilisasi dengan autoclave dan dituang ke dalam petridis disposable. Selanjutnya, jamur diinokulasikan dengan cara meletakan potongan kecil miselium jamur (1x1 cm) ke media PDA yang baru. Kultur kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 27°C. kultur yang sudah tumbuh dan selesai masa inkubasi akan disimpan dalam coldroom pada suhu 4°C sampai akan digunakan.

Kulturisasi pada media organik

Masing-masing media organik ditimbang sebanyak 2,5 g dan dimasukan ke dalam erlenmayer 250 mL, larutkan dengan 50 mL akuades dan dihomogenkan dengan hotplate. Selanjutnya erlenmayer ditutup dengan sumbatan dan alumunium foil. Media organik disterilisasi dengan autoclave. Untuk mengkuantifikasi enzim MnP, sebanyak empat potong miselium (1x1 cm) diinokulasikan pada media organik yang telah

disiapkan sebelumnya. Kemudian diinkubasi statik selama 14 hari pada suhu ruang, setelah masa inkubasi selesai ultur di panen dan di disentrifugasi untuk memisahkan pelet dan supernatan.

Uji aktivitas enzim MnP

Aktivitas enzim MnP diukur dengan mencampurkan 1.750 μ L malonic acid 50 mM pH 4,5; 125 μ L 2,6 DMP 20 mM; 125 μ L mangan sulfat ($MnSO_4$) 20 mM; dan 300 μ L H_2O_2 , dan 1000 μ L supernatan kultur. Kuantifikasi aktivitas enzim dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis 1800, pada panjang gelombang 470 nm untuk melihat peningkatan nilai absorbansi dari penguraian 2,5-dimethoxyphenol, berupa perubahan warna larutan menjadi jingga. Pembacaan absorbansi dilakukan setiap variasi waktu per-10 detik selama satu menit dan dilakukan secara duplo. Nilai absorbansi dihitung untuk mendapatkan media organik yang paling cocok. Aktivitas enzim yang terukur dinyatakan sebagai sebuah international unit perliter (U/L).

Optimasi konsentrasi

Setelah didapatkan media terbaik. Selanjutnya, dilakukan optimasi konsentrasi media dengan empat perlakuan yaitu konsentrasi 2,5% (1,25 g medium dalam 50 ml medium) 5% (2,5 g medium dalam 50 mL medium), 7,5% (3,75 g medium dalam 50 mL medium), dan 10% (5 g medium dalam 50 mL medium), kemudian dilakukan uji aktivitas enzim MnP hingga didapatkan konsentrasi yang optimal.

Optimasi waktu

Selanjutnya untuk mendapatkan waktu fermentasi terbaik dilakukan hal yang sama seperti sebelumnya namun dengan lima waktu fermentasi yang berbeda, yaitu dengan variasi 3, 6, 9, 12, 15, dan 18 hari.

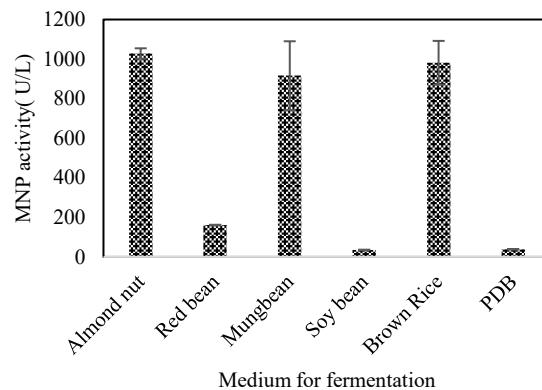
Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi terbaik dalam produksi enzim MnP dari *P. ostreatus* melalui tiga tahap optimasi, yaitu media organik, konsentrasi media dan waktu fermentasi. Optimasi dilakukan karena produksi enzim lignolitik, khususnya MnP sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi, kondisi pertumbuhan, dan lama inkubasi. Dengan

menganalisis aktivitas enzim pada setiap variasi perlakuan, dapat ditentukan kondisi yang paling mendukung produksi enzim secara maksimal dan efisien.

Optimasi media organik

Berdasarkan perhitungan diketahui bahwa aktivitas enzim MnP tiga tertinggi diperoleh pada media kacang almond (1027,9 U/L), beras merah (981,6 U/L) dan kacang hijau (916,3 U/L). Ketiga media ini menunjukkan tingkat aktivitas enzim yang signifikan dibandingkan dengan media lainnya, hal ini mengindikasikan bahwa komposisi organik dari media tersebut mendukung produksi enzim MnP secara optimal oleh jamur *Pleurotus ostreatus*. Sebaliknya, aktivitas MnP terendah teramati pada media kacang kedelai, yang memiliki nilai aktivitas lebih rendah dibanding media lainnya yaitu sebesar 35,3 U/L.



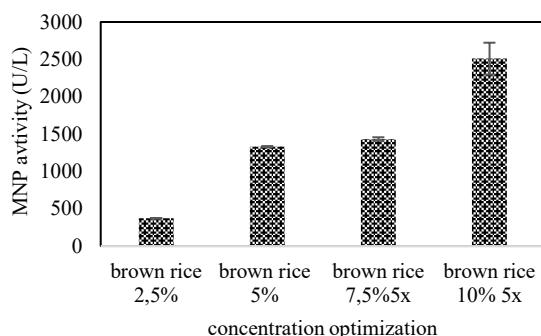
Gambar 1. Grafik aktivitas enzim MnP pada optimasi media organik

Pada Gambar 1. dapat terlihat bahwa perbedaan yang nyata antara grafik variasi media fermentasi. Grafik menunjukkan pola yang mengindikasikan adanya hubungan signifikan antara jenis media dan aktivitas enzim yang dihasilkan. Media dengan kandungan nutrisi yang sesuai cenderung meningkatkan sintesis MnP. Berdasarkan hal ini, dapat ditentukan kandidat media yang paling potensial untuk digunakan dalam tahap optimasi lebih lanjut. Optimasi media ini bertujuan untuk memaksimalkan produksi enzim dengan memanfaatkan sumber daya nutrisi yang mendukung aktivitas enzimatik secara efisien. Temuan ini sejalan dengan penelitian (Jannah et al., 2025), yang menyatakan bahwa *P. ostreatus*

yang di optimasi dengan media *coffe grounds* dan *rice bran* (50:50) menghasilkan aktivitas enzim MnP sebesar 0.141 U/mL.

Optimasi konsentrasi media

Konsentrasi media fermentasi organik yang menghasilkan aktivitas enzim MnP tertinggi adalah pada konsentrasi 10% (Gambar 2). Pada konsentrasi tersebut, enzim yang dihasilkan memiliki tingkat kepadatan yang sangat tinggi yaitu mencapai 2509.5 U/L, sehingga diperlukan pengenceran hingga 5 kali agar nilai absorbansi dapat diukur dengan spektrofotometer. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 10% merupakan kondisi optimum untuk produksi enzim MnP dalam media fermentasi organik yang diuji. Pengenceran dilakukan untuk memastikan hasil pengukuran yang akurat, karena nilai absorbansi yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi validitas data yang diperoleh.



Gambar 2. Grafik aktivitas enzim MnP pada berbagai konsentrasi beras merah

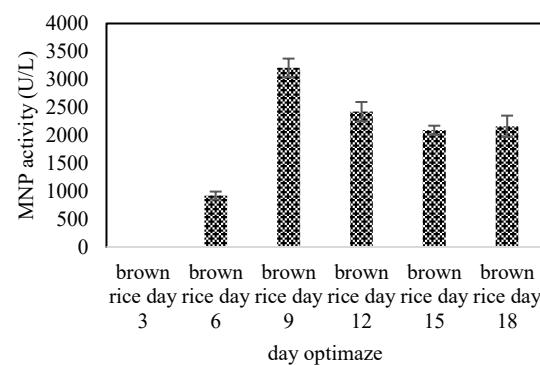
Tingginya nilai absorbansi juga mencerminkan jumlah enzim yang diproduksi jamur *Pleurotus ostreatus* pada konsentrasi media organik tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi media fermentasi 10% tidak hanya mendukung produksi MnP, tetapi juga meningkatkan produksi enzim MnP sebagai bagian dari aktivitas metabolisme jamur dalam kondisi optimal. Hal ini sejalan dengan penelitian (Perwitasari et al., 2018), yang melaporkan bahwa aktivitas enzim MnP *P. ostreatus* tertinggi pada komposisi 100% media limbah di bagian bawah baglog yaitu sebesar 23 U/mL.

Adapun alasan digunakannya beras merah dibanding kacang hijau ialah karena kandungan nutrisi pada beras merah lebih cocok untuk

pertumbuhan jamur *P. ostreatus*. jamur tiram memerlukan nutrisi yang mudah diserap serta media tumbuh yang kaya akan vitamin dan mineral untuk mendukung proses metabolisme selnya. Karbohidrat berperan krusial dalam pertumbuhan jamur karena menjadi sumber utama bagi hifa untuk menjadi senyawa sederhana, seperti glukosa. Glukosa kemudian dimanfaatkan dalam berbagai proses metabolisme jamur, termasuk produksi energi dan sinteza biomolekul essensial (Laksono. R. A et al., 2018)

Optimasi waktu fermentasi

Dari grafik dapat diamati bahwa hari ke-9 merupakan waktu yang paling optimal untuk waktu fermentasi. Pada hari ke-9 ini enzim yang diproduksi mencapai 3207,1 U/L. pada optimasi waktu fermentasi ini yang digunakan adalah konsentrasi media 7,5% hal ini dilakukan karena beberapa pertimbangan seperti media dengan konsentrasi 10% memiliki viskositas yang tinggi sehingga sulit untuk mendapatkan supernatan enzim dengan skala yang lebih banyak.



Gambar 3. Gambar grafik aktivitas enzim MnP pada berbagai hari

Penelitian ini sejalan dengan penelitian (Herliyana et al., 2011) pada *P. chrysosporium*, aktivitas MnP ditemukan pada hari ke 6 sampai hari ke 12 dengan peningkatan aktivitas enzim MnP antara hari ke 6 dan ke 12. Pada penelitian (Dimawarnita & Panji, 2019) melaporkan aktivitas tertinggi enzim MnP terdapat pada bulan ke 4 yaitu sebesar 31,818 U/L. Hal ini dikarenakan pada awal awal perumbuhan jamur *Pleurotus ostreatus* masih pada tahap miselium dan primordia.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa produksi enzim mangan perosidase (MnP) jamur *P. ostreatus* dapat dioptimalkan dengan pemilihan media, konsentrasi, dan waktu fermentasi yang tepat. Media organik terbaik untuk produksi MnP adalah beras merah, selain karena memiliki aktivitas enzim yang tinggi yaitu 981,6 U/L, beras merah juga memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi guna untuk proses metabolisme jamur. Konsentrasi optimal yang mendukung produksi MnP secara maksimal adalah 10%. Namun, dalam optimasi waktu fermentasi, konsentrasi 7,5% digunakan untuk memperoleh supernatan yang lebih baik, dan waktu fermentasi optimal ditemukan pada hari ke-9 dengan aktivitas enzim tertinggi yaitu 3207,1 U/L. optimasi ini menunjukkan bahwa kombinasi substrat dan kondisi fermentasi yang tepat dapat meningkatkan produksi enzim MnP secara signifikan, sehingga dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi bioteknologi, terutama dalam pengolahan limbah industri.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing atas bimbingan, masukan dan arahannya serta Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Kelompok Riset Jamur Edible, BRIN, yang telah membantu penelitian dan penulisan artikel ini hingga selesai.

Referensi

- Dimawarnita, F., & Panji, T. (2019). Aktivitas enzim ligninolitik *Pleurotus ostreatus* pada media yang mengandung TKKS dan aplikasinya untuk dekolorisasi zat warna. *Menara Perkebunan*, 87(1), 31–40.
- Hastuti, P., Sunarti, S., Prasetyastuti, P., Ngadikun, N., Tasmini, T., Rubi, D. S., Sutarni, S., Harahap, I. K., Dananjoyo, K., Suhartini, S., Pidada, I. B. Gd. S. P., Widagdo, H., & Suciningtyas, M. (2018). Hubungan timbal dan krom pada pemakaian pewarna batik dengan kadar hemoglobin dan packed cell volume pada pengrajin batik di Kecamatan Lendah Kulon Progo. *Journal of Community Empowerment for Health*, 1(1), 28. <https://doi.org/10.22146/jcoemph.39156>
- Herliyana, E. N., Aisah, A. R., & Isroi. (2011). Pretreatment dengan *Phanerochaete chrysosporium* dalam Hidrolisis Asam Encer Sludge Kertas. *Jurnal Silvikultura Tropika*, 2(3), 187–193.
- Jannah, M., Hermansyah, & Hariani, P. L. (2025). Study of Mangan Peroxidase (MnP) Enzymes from *Pleurotus ostreatus* Produced using Coffee Grounds and Rice Bran as Substrates through Response Surface Methodology. *Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry*, 10(1), 68–78.
- Kaushik, P., & Malik, A. (2009). Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environment International*, 35(1), 127–141. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.010>
- Laksono, R. A., Bayfurqon, F. M., & Miftakhul, B. R. K. (2018). Uji Efektivitas Berbagai Konsentrasi Jenis Nutrisi Alternatif Terhadap Produksi Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) di Kabupaten Karawang. *Jurnal Ilmiah Pertanian*, 6(1), 32–40.
- Paryanto, Hermiyanto, & Sanjaya, S. D. S. (2013). Pembuatan zat warna alami dari biji kesumba dalam bentuk konsentrasi tinggi untuk pewarna makanan. *Metana*, 9(02), 41–45.
- Perwitasari, U., Dimawarnita, F., & Ratnakanala, S. (2018). Optimasi produksi enzim ligninolitik dari medium limbah produksi *Pleurotus ostreatus* menggunakan metode respons permukaan (Optimization of ligninolytic enzyme production from *Pleurotus ostreatus* medium waste production using surface response methodology. *E-Jurnal Menara Perkebunan*, 86(1). <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v1i1.278>
- Rao, R. G., Ravichandran, A., Kandalam, G., Kumar, S. A., Swaraj, S., & Sridhar, M. (2019). Screening of wild basidiomycetes and evaluation of the biodegradation potential of dyes and lignin by manganese peroxidases. *BioResources*, 14(3), 6558–6576.

-
- <https://doi.org/10.15376/biores.14.3.6558-6576>
- Slama, H. Ben, Chenari Bouket, A., Pourhassan, Z., Alenezi, F. N., Silini, A., Cherif-Silini, H., Oszako, T., Luptakova, L., Golińska, P., & Belbahri, L. (2021). Diversity of Synthetic Dyes from Textile Industries, Discharge Impacts and Treatment Methods. *Applied Sciences*, 11(14), 6255. <https://doi.org/10.3390/app11146255>
- Srivastava, R., & Sofi, I. R. (2020). *Impact of Synthetic Dyes on Human Health and Environment* (pp. 146–161). <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-0311-9.ch007>
- Tkaczyk, A., Mitrowska, K., & Posyniak, A. (2020). Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. *Science of The Total Environment*, 717, 137222. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137222>
- Vrsanska, M., Buresova, A., Damborsky, P., & Adam, V. (2015). Influence of different inducers on ligninolytic enzyme activities. *Journal of Metallomics and Nanotechnologies*, 2(3), 64–70.