

Eksplorasi dan Skrining Mikroba Pendegradasi Selulosa dan Lignin dari Limbah Kulit Buah Kopi

Exploration and Screening of Cellulose- and Lignin-Degrading Microorganisms from Coffee Fruit Peel Waste

Rahmad D¹, Nurmiaty^{1*}, Abdul Mutalib², Andi Ridwan³, Syahrini Thamrin², Erna Halid⁴, Andi Besse Poleuleng³, Yulius Budi Prastiyo⁴

Submission: 30 Oktober 2025, Review: 12 November 2025, Accepted: 8 Agustus 2026

^{*)} Email korespondensi: nurmiatyamin1@gmail.com

¹⁾ Prodi Teknologi Produksi Tanaman Pangan, Jurusan Teknologi Produksi Pertanian, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Jalan Poros Makassar-Parepare Km. 83, Desa Mandalle, Pangkep, Sulawesi Selatan, 90761.

²⁾ Prodi Pengelolaan Perkebunan Kopi, Jurusan Teknologi Produksi Pertanian, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Jalan Poros Makassar-Parepare Km. 83, Desa Mandalle, Pangkep, Sulawesi Selatan, 90761.

³⁾ Prodi Teknologi Produksi Tanaman Perkebunan, Jurusan Teknologi Produksi Pertanian, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Jalan Poros Makassar-Parepare Km. 83, Desa Mandalle, Pangkep, Sulawesi Selatan, 90761.

⁴⁾ Prodi Teknologi Produksi Tanaman Hortikultura, Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan, Jalan Poros Makassar-Parepare Km. 83, Desa Mandalle, Pangkep, Sulawesi Selatan, 90761.

ABSTRAK

Limbah kulit buah kopi merupakan salah satu residu agroindustri yang memiliki kandungan lignoselulosa sehingga relatif sulit mengalami dekomposisi secara alami. Eksplorasi mikroorganisme pengurai lignoselulosa menjadi salah satu pendekatan potensial dalam mendukung pengelolaan limbah pertanian secara berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan melakukan skrining awal mikroorganisme dari limbah kulit buah kopi berdasarkan aktivitas selulolitik dan ligninolitik secara kualitatif. Isolasi mikroorganisme dilakukan melalui metode pengenceran bertingkat dan pemurnian koloni. Aktivitas selulolitik diamati berdasarkan pembentukan zona transparan pada media *Carboxymethylcellulose* (CMC), sedangkan aktivitas ligninolitik diamati berdasarkan perubahan warna pada media tannic acid. Hasil penelitian memperoleh 29 isolat mikroorganisme yang terdiri atas 14 isolat fungi dan 15 isolat bakteri. Berdasarkan karakteristik morfologi koloni, isolat fungi secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Trichoderma* sp., sedangkan isolat bakteri diduga termasuk genus *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Beberapa kelompok isolat menunjukkan respons positif terhadap skrining aktivitas selulolitik dan ligninolitik berdasarkan indikator visual pada media pengujian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah kulit buah kopi berpotensi menjadi sumber mikroorganisme lignoselulolitik yang dapat dikaji lebih lanjut melalui karakterisasi molekuler dan analisis aktivitas enzim secara kuantitatif.

Kata kunci: kulit kopi; lignoselulosa; selulolitik; mikroorganisme lignoselutik; biodegradasi.

ABSTRACT

*Coffee cherry waste is a type of agroindustrial residue that contains lignocellulose, making it relatively difficult to decompose naturally. The exploration of lignocellulose-degrading microorganisms is a potential approach to supporting sustainable agricultural waste management. This study aimed to isolate and conduct preliminary screening of microorganisms from coffee fruit peel waste based on qualitative cellulolytic and ligninolytic activities. Microorganism isolation was performed using the serial dilution method and colony purification. Cellulolytic activity was observed based on the formation of a transparent zone on carboxymethylcellulose (CMC) medium, while ligninolytic activity was observed based on a color change on tannic acid medium. The study yielded 29 microbial isolates, consisting of 14 fungal isolates and 15 bacterial isolates. Based on colony morphology, the fungal isolates were tentatively classified into the genera *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., and *Trichoderma* sp., while the bacterial isolates were tentatively classified into the genera *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., and *Pseudomonas* sp. Several groups of isolates showed a positive response to screening for cellulolytic and ligninolytic activity based on visual indicators in the test media. The results of the study indicate that coffee fruit peel waste has the potential to serve as a source of lignocellulolytic microorganisms that can be further investigated through molecular characterization and quantitative enzyme activity analysis.*

Keywords: coffee peel; lignocellulose; cellulolytic; ligninolytic microorganisms; biodegradation.

I. PENDAHULUAN

Perkebunan kopi skala besar memiliki kontribusi penting terhadap pengembangan agroindustri kopi di Indonesia. Namun, aktivitas produksi kopi juga menghasilkan limbah pertanian dalam jumlah besar yang berpotensi menimbulkan permasalahan lingkungan apabila tidak dikelola secara optimal. Produk samping pengolahan kopi, terutama dari proses pengeringan, menghasilkan limbah berupa sekam yang berasal dari lapisan luar buah kopi, pulp, dan material berserat. Limbah tersebut memiliki kandungan nutrisi yang cukup tinggi, seperti karbohidrat sebesar 35%, protein 5,2%, serat 30,8%, dan mineral 10,7% (Brand *et al.*, 2001). Sementara itu, proses pengolahan kopi secara basah menghasilkan pulp, lendir, serta residu berserat yang masih melekat pada biji kopi (Ulloa Rojas *et al.*, 2003). Kulit dan pulp kopi juga diketahui mengandung protein sebesar 7,5–15,0%, lemak 2,0–7,0%, dan karbohidrat 21–32% (Ulloa Rojas *et al.*, 2003). Selain kandungan nutrisi tersebut, limbah kulit kopi memiliki kandungan selulosa sekitar 63% dan lignin sekitar 17%, sehingga material tersebut relatif sulit mengalami dekomposisi secara alami (Corro *et al.*, 2014). Komponen lignoselulosa pada limbah kulit kopi, terutama selulosa dan lignin, memiliki struktur kompleks dan tingkat resistensi yang tinggi terhadap degradasi. Lignin membentuk matriks pelindung yang menghambat akses mikroorganisme terhadap serat selulosa sehingga diperlukan mikroorganisme tertentu yang mampu menghasilkan enzim hidrolitik dan oksidatif untuk membantu proses penguraian (Kumar & Sharma, 2017).

Mikroorganisme dekomposer dari kelompok fungi maupun bakteri memiliki peranan penting dalam degradasi bahan lignoselulosa melalui produksi enzim yang mampu memecah komponen organik kompleks. Mikroorganisme penghasil enzim lignoselulolitik diketahui mampu mempercepat dekomposisi limbah lignoselulosa dan menghasilkan bahan organik yang lebih sederhana (Pereira *et al.*, 2022; Erdel *et al.*, 2023), sedangkan variasi rasio karbon dan nitrogen (C/N), seperti rasio C/N 30, juga dapat memengaruhi kualitas produk kompos dari bahan lignoselulosa (Khyalia *et al.*, 2022). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa

mikroorganisme seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* memiliki kemampuan mendeградasi bahan lignoselulosa melalui aktivitas enzimatik dalam pemecahan selulosa dan lignin. Kombinasi kedua kelompok fungi tersebut dalam sistem biofertilizer dilaporkan mampu meningkatkan kualitas tanah dan mendukung pertumbuhan tanaman melalui interaksi mikroorganisme yang menguntungkan (Hang *et al.*, 2022). Mikroorganisme tertentu juga berpotensi mengurangi ketergantungan terhadap bahan kimia dalam pengelolaan bahan organik melalui pendekatan biologis yang lebih ramah lingkungan (Tayyab *et al.*, 2019), sedangkan kemampuan fungi filamen dalam berinteraksi dengan berbagai jenis limbah menunjukkan potensinya dalam pengelolaan limbah organik maupun limbah yang mengandung senyawa kompleks (Sar *et al.*, 2024).

Selain memiliki kandungan lignoselulosa, limbah kulit kopi juga mempunyai nilai tambah karena mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti antioksidan dan kafein, yang berpotensi dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Namun, tingginya kandungan lignin menjadi salah satu faktor pembatas pemanfaatannya karena dapat menghambat degradasi dan pelepasan komponen bernilai tambah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Aspergillus* sp. dan *Bacillus* sp. memiliki kemampuan menghasilkan enzim yang berperan dalam penguraian komponen lignoselulosa pada limbah kopi (Monteiro *et al.*, 2020; Bui, 2014). Penggunaan konsorsium mikroba juga dilaporkan mampu membantu mengurangi dampak negatif polutan organik melalui aktivitas biologis mikroorganisme (Aminiyan *et al.*, 2024). Salah satu pendekatan yang dapat dikembangkan dalam pengelolaan limbah kopi adalah pemanfaatan mikroorganisme *indigenous* melalui proses isolasi dan skrining aktivitas lignoselulolitik. Pendekatan bioaugmentasi menggunakan mikroorganisme tertentu berpotensi mempercepat transformasi bahan organik melalui aktivitas enzimatiknya. Selain itu, penggunaan bahan pembenah seperti biochar dapat mendukung proses pengomposan melalui peningkatan kelembapan dan stabilitas struktur bahan organik serta mendukung aktivitas mikroorganisme selama dekomposisi (Chaher *et al.*, 2020). Aplikasi bahan organik dan penambahan agen biologis juga diketahui dapat memengaruhi komunitas mikroba tanah yang berperan dalam keberlanjutan proses dekomposisi (Sivojienė & Kačergius, 2023).

Meskipun berbagai penelitian telah mengeksplorasi mikroorganisme pengurai lignoselulosa dari berbagai sumber, informasi mengenai mikroorganisme lokal yang berasal dari limbah kulit buah kopi sebagai substrat spesifik masih perlu dikembangkan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa beberapa mikroorganisme yang berasal dari tanaman kopi, seperti *Induratia* spp., memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase dan pektinase yang berperan dalam proses degradasi limbah kopi (Monteiro *et al.*, 2020). Namun, eksplorasi mikroorganisme *indigenous* dari limbah kulit buah kopi melalui pendekatan isolasi dan skrining aktivitas selulolitik serta ligninolitik masih memberikan peluang untuk memperoleh kandidat mikroorganisme yang mampu beradaptasi terhadap substrat tersebut. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan melakukan skrining awal mikroorganisme dari limbah kulit buah kopi berdasarkan aktivitas selulolitik dan ligninolitik secara kualitatif. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai keberadaan mikroorganisme potensial dari limbah kulit buah kopi yang selanjutnya dapat dikaji melalui karakterisasi molekuler dan analisis aktivitas enzim secara kuantitatif.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan melakukan skrining awal mikroorganisme dari limbah kulit buah kopi berdasarkan aktivitas selulolitik dan ligninolitik secara kualitatif. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai keberadaan mikroorganisme potensial dari limbah kulit buah kopi yang dapat dikaji lebih lanjut melalui karakterisasi molekuler dan analisis aktivitas enzim secara kuantitatif.

II. METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan April hingga Desember 2024 di Laboratorium Bioteknologi Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene dan Kepulauan

2. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit buah kopi yang berasal dari Perusahaan PT. Sulotco Jaya Abadi di Kabupaten Tara Toraja. Sebanyak 10 gram sampel kulit buah kopi yang digunakan sebagai sumber isolasi mikroorganisme. Sampel kulit buah kopi terlebih dahulu dihaluskan dengan menggunakan mortar sebelum dilakukan proses isolasi. Bahan pendukung yang digunakan meliputi alkohol sebagai bahan sterilisasi, air steril untuk proses pengenceran, media Potato Dextrose Agar (PDA) untuk pertumbuhan mikroorganisme fungi (Bui, 2014), media *Nutrient Agar* (NA). untuk pertumbuhan bakteri (Atlas, R. M, 2010), media *Carboxymethylcellulose* (CMC) untuk skrining aktivitas selulolitik (Muzakhar, 2019), serta media tannic acid (TAM) dan Malt Extract Agar (MEA) untuk skrining aktivitas ligninolitik (Thormann, *et al.*, 2002)

3. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif dengan pendekatan eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk memperoleh dan melakukan skrining awal mikroorganisme dari limbah kulit buah kopi berdasarkan aktivitas selulolitik dan ligninolitik secara kualitatif. Pendekatan isolasi dan skrining digunakan untuk memperoleh informasi awal mengenai keberadaan mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam memanfaatkan komponen lignoselulosa pada limbah kulit buah kopi.

4. Isolasi dan Pemurnian Mikroorganisme

Isolasi mikroorganisme dilakukan melalui metode pengenceran bertingkat dan pemurnian koloni. Pendekatan isolasi mikroorganisme dari bahan kopi telah digunakan sebelumnya untuk memperoleh mikroorganisme indigenous yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi komponen lignoselulosa, salah satunya melalui isolasi bakteri selulolitik dari eksokarp kopi (Bui, 2014), Sampel kulit buah kopi yang telah dihaluskan dilakukan pengenceran bertingkat hingga mencapai tingkat pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} . Suspensi hasil pengenceran diinokulasikan pada media pertumbuhan mikroorganisme menggunakan metode cawan tuang/cawan sebar. Koloni mikroorganisme yang tumbuh diamati berdasarkan perbedaan karakter morfologi seperti warna, bentuk, ukuran, dan tekstur koloni. Koloni dengan karakter berbeda kemudian dipisahkan dan dimurnikan melalui metode pemurnian bertahap hingga diperoleh isolat tunggal. Koloni yang menunjukkan

perbedaan karakteristik pertumbuhan kemudian dipisahkan dan dimurnikan untuk memperoleh isolat tunggal. Isolat murni selanjutnya digunakan untuk tahap karakterisasi awal serta pengujian aktivitas selulolitik dan ligninolitik.

5. Karakterisasi Presumtif Mikroorganisme

Karakterisasi mikroorganisme dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi koloni yang meliputi warna, bentuk, tekstur, dan pola pertumbuhan koloni. Kelompok fungi dibandingkan berdasarkan karakteristik morfologi yang sesuai dengan genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Trichoderma* sp., sedangkan kelompok bakteri dibandingkan dengan karakteristik genus *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Identifikasi pada tahap ini merupakan identifikasi awal berdasarkan morfologi sehingga tidak digunakan sebagai identifikasi definitif tingkat genus maupun spesies. Berdasarkan karakteristik tersebut, isolat fungi secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Trichoderma* sp., sedangkan isolat bakteri secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Karakterisasi yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan identifikasi awal berdasarkan karakter morfologi sehingga belum dapat dianggap sebagai identifikasi definitif. Konfirmasi lebih lanjut melalui pendekatan molekuler diperlukan untuk memastikan identitas masing-masing isolat. Isolat mikroba yang diperoleh selanjutnya dapat digunakan untuk pengujian enzimatis lebih lanjut (Hu *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2023)

6. Skrining Aktivitas Selulolitik

Aktivitas selulolitik diuji menggunakan media Carboxymethylcellulose (CMC). Isolat mikroorganisme diinokulasikan pada media CMC dan diamati berdasarkan pembentukan zona transparan setelah perlakuan pewarna Gram iodine. Zona transparan yang terbentuk di sekitar koloni digunakan sebagai indikator awal adanya aktivitas selulolitik (Premalatha *et al.*, 2015). Hasil pengujian digunakan untuk menentukan respons positif atau negatif isolat terhadap kemampuan mendegradasi substrat selulosa. Zona transparan menunjukkan adanya hidrolisis substrat CMC akibat aktivitas enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroorganisme. Metode skrining berbasis media CMC dengan indikator pembentukan zona bening merupakan metode kualitatif yang banyak digunakan untuk mendeteksi mikroorganisme selulolitik. Terbentuknya zona transparan di sekitar koloni fungi pada media CMC, yang menunjukkan bahwa selulase yang dihasilkan oleh mikroba mampu memecah selulosa di media tersebut (Muzakhar, 2019). Reaksi positif yang terjadi menunjukkan aktivitas lignin peroksidase yang diproduksi oleh isolat mikroba dalam waktu 4 hari setelah inkubasi (Rani & Appaiah, 2013).

Proses pengujian aktifitas enzim selulase dilakukan menggunakan media CMC yang telah diinokulasi dengan isolat mikroba dari kultur murni sebanyak 5 µl. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam. Setelah inkubasi, cawan petri yang mengandung fungi tersebut dituangkan larutan Gram Iodine selama 3-5 menit, kemudian larutan tersebut dibuang. Terbentuknya zona transparan di sekitar koloni menunjukkan adanya aktivitas selulase (Premalatha *et al.*, 2015). Hasil pengujian aktifitas selulolitik dikategorikan menjadi:

- (+) = menunjukkan zona transparan/aktivitas positif;

- (-) = tidak menunjukkan zona transparan.

7. Skrining Aktivitas Ligninolitik

Skrining aktivitas ligninolitik dilakukan menggunakan media padat yang mengandung tannic acid sebagai substrat indikator. Media uji disiapkan dengan menambahkan tannic acid ke dalam media agar nutrisi meliputi media asam tannic (TAM) yang digunakan terdiri dari 5 g/L asam tannic, 15 g/L Difco MEA, dan 20 g/L Difco agar. Media dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Media ini diinokulasi dengan masing-masing isolat dan diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu kamar. Pembentukan pigmen coklat di sekitar inokulum menunjukkan aktivitas enzim lignin peroksidase yang dihasilkan oleh mikroba (Tayyab *et al.*, 2019). Penggunaan tannic acid sebagai indikator didasarkan pada kemampuan beberapa mikroorganisme ligninolitik dalam menghasilkan senyawa ekstraseluler yang mampu mengoksidasi atau mentransformasi senyawa fenolik yang memiliki karakteristik serupa dengan struktur penyusun lignin.

Isolat diinokulasikan secara aseptik pada permukaan media tannic acid agar secara titik pada bagian tengah media untuk memungkinkan pengamatan perubahan karakteristik media di sekitar pertumbuhan koloni. Cawan petri diinkubasi pada kondisi sesuai dengan pertumbuhan masing-masing mikroorganisme hingga terjadi pertumbuhan koloni dan perubahan karakteristik media. Aktivitas ligninolitik diamati berdasarkan terbentuknya zona perubahan warna atau zona bening di sekitar koloni mikroorganisme pada media tannic acid. Perubahan warna menunjukkan adanya interaksi antara metabolit atau enzim ekstraseluler yang dihasilkan mikroorganisme dengan senyawa tannic acid pada media. Hasil pengamatan digunakan sebagai indikator awal kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi atau mentransformasi senyawa fenolik yang berkaitan dengan komponen lignin.

Pada penelitian ini, aktivitas ligninolitik ditentukan secara kualitatif berdasarkan keberadaan atau tidak adanya perubahan warna pada media. Oleh karena itu, hasil pengujian digunakan sebagai indikator skrining awal aktivitas ligninolitik dan tidak digunakan untuk menentukan tingkat aktivitas enzim ligninase tertentu maupun membandingkan kemampuan antar isolat secara kuantitatif.

8. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif berdasarkan karakteristik isolat dan hasil pengamatan aktivitas selulolitik serta ligninolitik. Aktivitas selulolitik ditentukan berdasarkan keberadaan zona transparan pada media CMC, sedangkan aktivitas ligninolitik ditentukan berdasarkan perubahan warna pada media tannic acid. Pendekatan analisis ini telah terbukti efektif dalam penelitian sejenis yang mengevaluasi aktivitas enzimatik mikroba dalam menguraikan senyawa lignoselulosa (Pereira *et al.*, 2022; Erdel *et al.*, 2023). Tidak dilakukan analisis statistik maupun perhitungan aktivitas enzim secara kuantitatif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi dan Karakterisasi Presumptif Mikroorganisme dari Limbah Kulit Buah Kopi

Hasil penelitian menunjukkan dari limbah kulit buah kopi menghasilkan sebanyak 16 isolat yang terdiri atas 9 isolat fungi dan 7 isolat bakteri. Berdasarkan karakteristik morfologi

koloni, isolat fungi secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Trichoderma* sp., sedangkan isolat bakteri dikelompokkan secara presumtif ke dalam genus *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp (Tabel 1). Penemuan isolat ini mendukung penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kulit kopi merupakan substrat yang kaya akan senyawa organik yang dapat menunjang pertumbuhan berbagai mikroorganisme (Pereira *et al.*, 2022; (Lee *et al.*, 2023).

Tabel 1. Karaterisasi Isolat Presumptif mikroorganisme dari imbah kulit buah kopi

Kelompok	Genus Presumtif	Aktivitas Enzim		Karakterisasi Morofilogi
		Selulolitik	Ligninolitik	
Fungi	<i>Aspergillus</i> sp.1	+	+	Koloni hitam pekat, Tekstur koloni menyerupai beludru
	<i>Aspergillus</i> sp.2	+	+	Koloni, hijau kecokelatan, Tekstur koloni beludru
	<i>Aspergillus</i> sp.3	-	-	Koloni warna hijau. Tekstur koloni berbutir-butir
	<i>Aspergillus</i> sp.4	-	-	Koloni warna coklat tua. Tekstur koloni berbutir-butir
	<i>Penicillium</i> sp.1	-	-	Koloni berwarna abu-abu dengan tepi putih, Tekstur koloni beludru.
	<i>Penicillium</i> sp.2	+	-	Koloni berwarna hijau zaitun, tepi putih. Tekstur koloni terlipat secara radial.
	<i>Penicillium</i> sp.3	-	-	Koloni berwarna hijau kebiruan dengan tepi putih. Tekstur koloni beludru
	<i>Trichoderma</i> sp.1	+	+	Koloni berwarna hijau terang (seperti lumut), tekstur seperti kapas tipis.
	<i>Trichoderma</i> sp.2	+	+	Koloni awal berwarna hijau tua atau hijau terang, Tekstur seperti kapas tipis.
Bakteri	<i>Bacillus</i> sp.1	+	+	Koloni berwarna putih susu, bentuk koloni tidak teratur, tepi bergelombang berserat.
	<i>Bacillus</i> sp.2	-	-	Koloni berwarna krem. Bentuk koloni bulat , tepi bergelombang dan permukaan tampak kering .
	<i>Bacillus</i> sp.3	-	-	Koloni berwarna putih susu. Bentuk koloni bulat, tepi bergelombang permukaan tampak kering
	<i>Azotobacter</i> sp.1	+	-	Koloni berbentuk bulat. Warna koloni jernih
	<i>Azotobacter</i> sp.2	-	-	Koloni berbentuk cembung, berselaput lendir. Warna koloni putih krem.
	<i>Pseudomonas</i> sp.1	-	-	Koloni berbentuk cembung, licin, berlendir, dan berwarna krem hingga kekuningan.
	<i>Pseudomonas</i> sp.2	+	-	Koloni berbentuk bulat, licin, berlendir, dan berwarna putih-krem

Keberadaan berbagai kelompok mikroorganisme tersebut menunjukkan limbah kulit buah kopi dapat menjadi sumber mikroorganisme indigenous yang mampu beradaptasi pada substrat dengan kandungan bahan organik kompleks. Limbah kulit kopi diketahui mengandung komponen lignoselulosa berupa selulosa dan lignin yang dapat menjadi sumber karbon bagi mikroorganisme tertentu. Namun, keberadaan lignin menyebabkan struktur tersebut lebih sulit mengalami degradasi karena lignin membentuk matriks kompleks yang melindungi komponen selulosa dari proses hidrolisis alami (Corro *et al.*, 2014; Kumar & Sharma, 2017). Kontribusi lignin ini sangat penting dalam menjadikan kulit kopi sebagai bahan yang tahan lama, baik untuk aplikasi konstruksi berkelanjutan maupun untuk produk lain yang memanfaatkan limbah kulit kopi sebagai bahan baku (Cruz *et al.*, 2018; Jaramillo *et al.*, 2023; Yiga *et al.*, 2019).

Kelompok fungi seperti *Aspergillus* sp. dan *Trichoderma* sp. merupakan mikroorganisme yang sering ditemukan pada bahan organik kaya lignoselulosa karena memiliki kemampuan adaptasi terhadap substrat kompleks. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fungi filamen memiliki peranan penting dalam degradasi bahan tanaman melalui produksi berbagai enzim ekstraseluler yang membantu pemecahan komponen lignoselulosa (Pereira *et al.*, 2022). Selain fungi, kelompok bakteri seperti yang mendukung proses penguraian bahan organik (Bui, 2014).

Secara ekologis, genus *Aspergillus* dan *Trichoderma* merupakan agen pengurai yang efektif, mampu mendegradasi bahan organik kompleks seperti limbah pertanian dan biomassa lignoselulosa. *Trichoderma* sp. khususnya dikenal sebagai fungi fungsional yang sangat efektif dalam proses dekomposisi residu kelapa sawit, dengan aktivitas lignoselulolitik yang tinggi sehingga membantu mempercepat penguraian bahan organik dan memperbaiki kualitas tanah dalam proses remediasi lahan (Rasyid *et al.*, 2020). Selain itu, *Aspergillus* sp. juga berperan dalam degradasi berbagai substrat dan produksi enzim penting seperti amilase, pektinase, dan selulase, yang dimanfaatkan dalam fermentasi dan berbagai proses bioteknologi (Gusmão *et al.*, 2018).

Trichoderma sp. sangat terkenal sebagai agen biologis pengendalian hayati (biocontrol) terhadap patogen tanaman, mampu menghambat pertumbuhan berbagai jamur patogen seperti *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., dan *Aspergillus* sp. melalui mekanisme antagonisme yang meliputi kompetisi nutrisi, produksi metabolit antifungal, penguraian dinding sel patogen dengan enzim-enzim lisis, serta stimulasi sistem pertahanan tanaman. Isolat *Trichoderma viride* dan *Trichoderma citrinoviride* misalnya, telah terbukti menghambat pertumbuhan jamur patogen secara signifikan serta mendorong pertumbuhan tanaman, sehingga menjadi alternatif pengganti pestisida kimia yang ramah lingkungan (Al-Mekhlafi *et al.*, 2025; Kubiak *et al.*, 2023; Marchetti *et al.*, 2026; Singh & Jadon, 2019). Sementara itu, *Aspergillus* sp. juga bisa berperan dalam biokontrol, khususnya terhadap fungi penghasil mikotoksin seperti *Aspergillus flavus* yang menghasilkan aflatoksin berbahaya pada tanaman pangan. Isolat *Aspergillus niger* dan *Aspergillus aculeatus* menunjukkan kemampuan antagonistik kuat terhadap pertumbuhan dan produksi aflatoksin oleh *A. flavus*, yang membuka peluang penggunaan fungi ini dalam menjaga keamanan pangan (Oduro-Mensah *et al.*, 2023). Di luar biokontrol, kedua fungi tersebut memiliki potensi industri yang luas karena produksi enzim-enzim penting (selulase, pektinase,

amilase, xilanase, dll.) yang dimanfaatkan dalam industri makanan, tekstil, kertas, dan bioremediasi (Gusmão *et al.*, 2018; Montoya-Castrillón *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian mengemukakan bahwa berbagai strain *Bacillus* mampu memproduksi enzim seperti amilase, protease, pektinase, lipase, dan selulase dengan aktivitas yang signifikan. Misalnya, strain *Bacillus licheniformis* yang diisolasi dari sumber panas terisolasi menunjukkan kemampuan menghasilkan beberapa enzim ekstraseluler sekaligus seperti amilase, mannanase, pektinase, lipase, dan selulase yang aktif pada suhu tinggi (sekitar 50-52°C). Selain itu, *Bacillus firmus* juga dilaporkan menghasilkan berbagai enzim seperti amilase, protease, lipase, dan selulase dengan zona pembersihan substrat yang optimal pada kondisi tertentu (salinitas 1%, pH 9, sumber karbon laktosa 1%) (Vasanthapriya *et al.*, 2025). Selain itu, Isolat *Bacillus* tertentu menunjukkan indeks aktivitas enzimatik (enzymatic activity index, EAI) tinggi, misalnya *Bacillus* Pap 3 untuk pektinase dengan nilai 4.00, dan isolat lain untuk produksi selulase dan xilase dengan zona aktivitas paling besar (Dujkovic *et al.*, 2023). Keanekaragaman enzim ini mendukung kemampuan *Bacillus* untuk memecah berbagai substrat kompleks biomassa, dan menjadi kandidat unggul dalam produksi enzim industri.

Selain itu, potensi enzimatik *Bacillus* juga diamati dalam contoh kasus strain *Bacillus paranthracis* yang diisolasi dari lingkungan laut dalam, di mana strain ini memproduksi enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, dan DNase yang cocok untuk aplikasi industri, meskipun tidak memproduksi enzim seperti amilase dan selulase pada isolat tersebut (Fulke *et al.*, 2026). Lebih lanjut, dalam konteks biofloc pada budidaya udang, beberapa isolat *Bacillus* menunjukkan produksi enzim ekstraseluler yang beragam seperti amilase, protease, lipase, selulase, xilase, dan pektinase, yang tidak hanya mendukung proses pencernaan dan kesehatan organisme budidaya, tapi juga memiliki potensi aplikasi bioteknologi serta antibiofilm terhadap patogen (Panigrahi *et al.*, 2019). Keseluruhan bukti dari berbagai studi tersebut menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. memiliki kapasitas luas dalam menghasilkan enzim ekstraseluler yang beragam dan aktif dalam berbagai kondisi lingkungan, menjadikannya sumber enzim penting untuk aplikasi industri seperti biohidrolisis, pengolahan limbah biomassa, dan produksi produk berbasis biokonversi (Dujkovic *et al.*, 2023; Fulke *et al.*, 2026; Panigrahi *et al.*, 2019; Vasanthapriya *et al.*, 2025).

Identifikasi mikroorganisme pada penelitian ini masih bersifat presumtif berdasarkan karakter morfologi koloni. Oleh karena itu, hasil pengelompokan genus belum dapat dianggap sebagai identifikasi definitif. Karakterisasi lanjutan menggunakan metode molekuler dengan mengandalkan amplifikasi dan sekuensing 16S rRNA untuk mengkonfirmasi genus dan spesiesnya (Biswas & Paul, 2022; Dar *et al.*, 2021; Zamani *et al.*, 2018), dan memahami evolusi kelompok mikroba pengurai lignoselulosa (Dar *et al.*, 2021; Tahir *et al.*, 2019). Metode ini memungkinkan identifikasi isolat yang secara morfologi dan fisiologi mungkin mirip, namun secara genetik berbeda, sehingga menghindari kesalahan klasifikasi.

2. Skrining Aktivitas Selulolitik Mikroorganisme

Aktivitas selulolitik pada penelitian ini diamati berdasarkan pembentukan zona transparan pada media CMC yang didasarkan pada kemampuan mikroorganisme menghasilkan enzim selulase yang dapat menghidrolisis substrat CMC. Prosedur ini umum

digunakan untuk mendeteksi dan menilai potensi degradasi selulosa oleh bakteri atau jamur. Zona bening secara langsung menunjukkan degradasi karboksimetil selulosa oleh enzim yang diproduksi mikroorganisme, sehingga menjadi indikator sederhana, cepat, dan efektif untuk screening aktivitas selulolitik Guder & Krishna, 2019; Roy *et al.*, 2024).

Berdasarkan hasil pengamatan, beberapa isolat dari kelompok *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Bacillus* sp., dan *Pseudomonas* sp. menunjukkan respons positif terhadap pengujian selulolitik (Tabel 2 dan Gambar 1). Respons tersebut menunjukkan bahwa mikroorganisme yang berasal dari limbah kulit buah kopi memiliki kemampuan awal dalam memanfaatkan substrat berbasis selulosa. Kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi selulosa berkaitan dengan produksi kompleks enzim selulolitik yang bekerja secara sinergis dalam memecah struktur polisakarida menjadi senyawa yang lebih sederhana. Kelompok fungi seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* telah banyak dilaporkan memiliki kemampuan menghasilkan enzim yang berperan dalam degradasi selulosa pada berbagai substrat lignoselulosa (Monteiro *et al.*, 2020; Pereira *et al.*, 2022). Selain fungi, keberadaan bakteri selulolitik seperti *Bacillus* sp. juga telah dilaporkan pada berbagai lingkungan yang kaya bahan organik. Bui (2014) menunjukkan bahwa limbah eksokarp kopi dapat menjadi sumber bakteri selulolitik indigenous yang memiliki potensi dalam proses degradasi komponen selulosa.

Tabel 2. Skrining Kualitatif Aktivitas Selulolitik dan Ligninolitik Mikroorganisme dari Limbah Kulit Buah Kopi

Kelompok	Genus Presumtif	Aktivitas Selulolitik	Aktivitas Ligninolitik
Fungi	<i>Aspergillus</i> sp.	+	+
	<i>Penicillium</i> sp.	-	+
	<i>Trichoderma</i> sp.	+	-
Bakteri	<i>Bacillus</i> sp.	+	+
	<i>Azotobacter</i> sp.	-	-
	<i>Pseudomonas</i> sp.	+	-

Keterangan: (+) menunjukkan respons positif berdasarkan indikator visual pengujian;
(-) menunjukkan tidak terdapat respons positif.

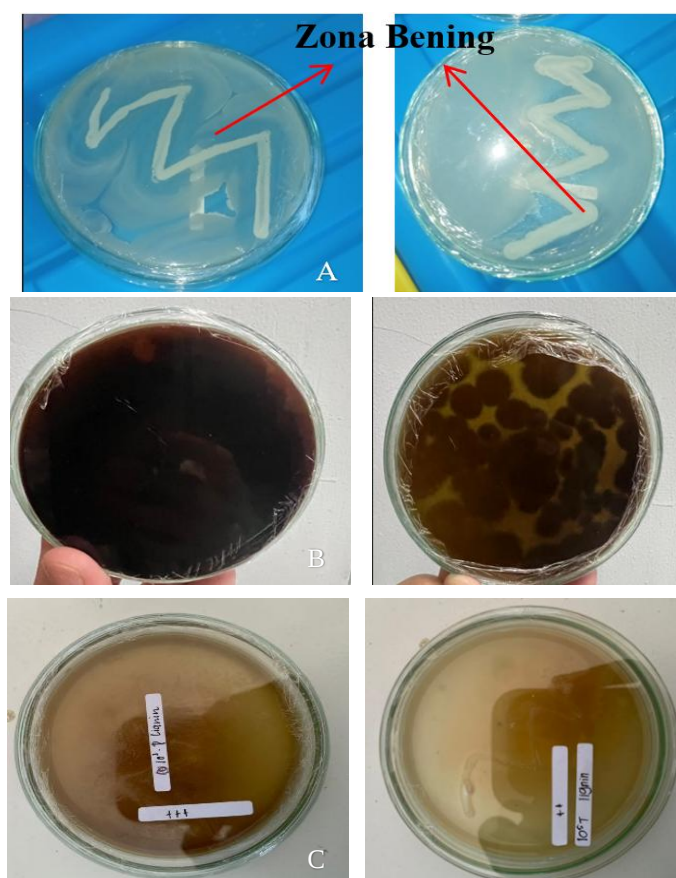
Mikroorganisme yang menunjukkan zona bening terbesar dalam suatu penelitian merupakan kandidat pilihan untuk studi lanjut, seperti uji aktivitas enzim kuantitatif menggunakan metode reduksi gula pereduksi (DNS), karakterisasi molekuler, dan aplikasinya dalam proses biokonversi biomassa (Ben Ghalib *et al.*, 2024; Selia *et al.*, 2024). Zona bening memberi gambaran visual mengenai kemampuan degradasi selulosa pada substrat CMC, yang bisa diaplikasikan untuk screening awal isolat dari berbagai sumber lingkungan seperti tanah, limbah pertanian, rumen, ataupun sampel fermentasi (Roy *et al.*, 2024; Suryadi *et al.*, 2019).

Hasil penelitian ini memperkuat bahwa limbah kulit buah kopi dapat menjadi sumber eksplorasi mikroorganisme selulolitik. Namun, karena pengujian yang dilakukan masih bersifat kualitatif, penelitian ini belum dapat menentukan tingkat aktivitas selulase maupun membandingkan kemampuan antar isolat. Isolat dengan aktivitas tinggi berdasarkan zona bening kemudian dapat dikembangkan untuk produksi enzim selulase dalam jumlah besar yang bermanfaat dalam berbagai industri seperti biofuel, pengolahan limbah, dan fermentasi.

pakan (Guder & Krishna, 2019; Roy *et al.*, 2024). Metode skrining menggunakan media CMC dengan pengamatan zona bening merupakan pendekatan yang sederhana, cepat, dan efektif untuk mengidentifikasi dan menilai aktivitas selulolitik mikroorganisme. Zona bening berfungsi sebagai indikator visual degradasi CMC oleh enzim selulase yang diproduksi, sehingga memudahkan seleksi strain dengan potensi tinggi untuk aplikasi bioteknologi lebih lanjut (Ben Ghalib *et al.*, 2024; Guder & Krishna, 2019; Roy *et al.*, 2024).

3. Skrining Aktivitas Ligninolitik Mikroorganisme

Skrining aktivitas ligninolitik dilakukan menggunakan media tannic acid menunjukkan beberapa isolat mengalami perubahan warna pada media di sekitar koloni. Ini menjadi indikator awal adanya aktivitas mikroorganisme terhadap senyawa fenolik yang berkaitan dengan struktur lignin. Penggunaan *tannic acid assay* sebagai metode skrining ligninolitik berperan penting dalam mendeteksi aktivitas enzim lignin-degradasi, khususnya pada isolat fungi atau mikroorganisme ligninolitik. Tannic acid, yang merupakan turunan fenolik yang menyerupai struktur lignin, digunakan sebagai indikator dalam media agar (seperti potato dextrose agar) yang ditambahkan tannic acid 0,1%. Mikroorganisme yang memiliki aktivitas ligninolitik akan menguraikan tannic acid dan menyebabkan perubahan warna atau pembentukan zona transparan.



Gambar 1. Pembentukan Zona Bening dan Pigmen Coklat pada Media CMC. Zona bening indikator aktivitas selulase pada bakteri (a), Pigmen Coklat sebagai indikator aktifitas Ligninase Jamur (b), dan Pigmen Coklat bakteri (c) pada media Asam Tannic

Metode ini telah banyak digunakan untuk screening awal dalam studi ligninolitik, misalnya dalam isolasi fungi dari limbah tandan kelapa sawit dimana isolat dengan aktivitas ligninolitik dapat dikenali melalui zona bening di media yang mengandung tannic acid (Sepwin *et al.*, 2019). Selain itu, dalam perbandingan ligninolytic potential fungi seperti *Pleurotus ostreatus* dan *Fusarium sp.*, tannic acid digunakan sebagai substrat pengujian di media padat untuk menilai produksinya enzim versatile peroxidase, yang merupakan salah satu enzim penting dalam proses degradasi lignin (Parmar *et al.*, 2024), selain itu, digunakan sebagai substrat pengujian di media padat untuk menilai produksinya enzim versatile peroxidase, yang merupakan salah satu enzim penting dalam proses degradasi lignin (Parmar *et al.*, 2024).

Berdasarkan hasil pengujian, kelompok *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, dan *Bacillus sp.* menunjukkan respons positif terhadap skrining aktivitas ligninolitik (Tabel 1 dan Gambar 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa beberapa mikroorganisme yang diperoleh dari limbah kulit buah kopi memiliki kemampuan awal dalam mentransformasi senyawa yang berkaitan dengan komponen lignin yang memiliki struktur aromatik kompleks dan sulit didegradasi. Degradasi lignin umumnya melibatkan aktivitas berbagai enzim oksidatif yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu, terutama fungi pelapuk putih (white rot fungi) dan beberapa kelompok bakteri (Kumar & Sharma, 2017).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fungi dari kelompok *Aspergillus* dan mikroorganisme lain yang berasal dari lingkungan kopi memiliki potensi dalam menghasilkan enzim yang berperan dalam degradasi komponen lignoselulosa (Monteiro *et al.*, 2020). Selain itu, eksplorasi fungi filamen pada limbah kopi juga menunjukkan potensi penggunaannya dalam proses biologis untuk meningkatkan pemanfaatan limbah lignoselulosa (Pereira *et al.*, 2022). Meskipun demikian, perubahan warna pada media tannic acid dalam penelitian ini hanya digunakan sebagai indikator awal aktivitas ligninolitik.

4. Potensi Mikroorganisme dari Limbah Kulit Buah Kopi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah kulit buah kopi memiliki potensi sebagai sumber mikroorganisme yang berperan dalam proses transformasi bahan organik lignoselulosa. Keberadaan mikroorganisme dengan respons positif terhadap aktivitas selulolitik dan ligninolitik menunjukkan adanya komunitas mikroba yang mampu beradaptasi pada lingkungan dengan kandungan karbon kompleks. Kulit kopi, sebagai limbah agroindustri, mengandung senyawa seperti lignin, selulosa, dan hemiselulosa yang merupakan substrat potensial bagi mikroorganisme pengurai lignoselulosa untuk berkembang dan beraktivitas.

Mikroorganisme lignoselulolitik yang diisolasi dari berbagai limbah pertanian dan agroindustri, termasuk residu tanaman dan serbuk organik seperti kulit kopi, menunjukkan kemampuan menghasilkan enzim-enzim penting seperti selulase, hemiselulase, dan ligninase (misalnya laccase, lignin peroksidase, dan mangan peroksidase). Enzim-enzim ini secara sinergis memecah struktur kompleks lignoselulosa menjadi komponen lebih sederhana yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi bioteknologi, seperti produksi biofuel, biokonversi limbah menjadi bahan bernilai tambah, dan pengolahan limbah organik (Sharapova, 2023; Thapa *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Dalam penelitian yang mengkarakterisasi kulit kopi, ditemukan bahwa kandungan lignin dan struktur seratnya

memberikan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme lignoselulolitik untuk menghasilkan enzim pengurai (Jaramillo *et al.*, 2023; Yiga *et al.*, 2019).

Berbagai jenis mikroorganisme potensial yang ditemukan dalam limbah lignoselulosa, termasuk kulit kopi, meliputi jamur basidiomycetes seperti *Pleurotus*, *Trichoderma*, dan berbagai fungi filamentosa, serta bakteri seperti *Bacillus*, *Streptomyces*, dan *Chryseobacterium*. Mikroorganisme ini tidak hanya mampu menghasilkan enzim selulase dan hemiselulase, tetapi juga ligninase yang esensial dalam proses delignifikasi, sehingga meningkatkan aksesibilitas substrat selulosa untuk degradasi lebih lanjut (Ahmed *et al.*, 2018; Suwannaphan *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2021). Penggunaan limbah kulit kopi sebagai sumber mikroorganisme lignoselulolitik menawarkan nilai tambah yang berkelanjutan dengan mengintegrasikan daur ulang limbah agroindustri ke dalam proses biokonversi dan menciptakan peluang untuk produksi bioenergi, bioplastik, dan bahan kimia hijau (De Oliveira Júnior *et al.*, 2022; Kaur *et al.*, 2023).

Limbah kopi tidak hanya menjadi residu pertanian, tetapi juga memiliki potensi sebagai sumber bahan bernilai tambah melalui pendekatan bioteknologi (Lee *et al.*, 2023). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan mikroorganisme seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* dapat mendukung proses dekomposisi bahan organik serta meningkatkan kualitas bahan hasil pengolahan biologis (Hang *et al.*, 2022). Namun, penerapan langsung isolat hasil penelitian ini masih memerlukan validasi lebih lanjut melalui pengujian efektivitas degradasi, keamanan mikroorganisme, dan karakteristik produk akhir.

IV. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil memperoleh 16 isolat mikroorganisme dari limbah kulit buah kopi yang terdiri atas 9 isolat fungi dan 6 isolat bakteri. Berdasarkan karakteristik morfologi koloni, isolat fungi secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Trichoderma* sp., sedangkan isolat bakteri secara presumtif dikelompokkan ke dalam genus *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp. Hasil skrining menunjukkan beberapa kelompok mikroorganisme memberikan respons positif terhadap aktivitas selulolitik berdasarkan pembentukan zona transparan pada media CMC dan aktivitas ligninolitik berdasarkan perubahan warna pada media tannic acid. Namun, penelitian ini masih berada pada tahap skrining awal sehingga diperlukan penelitian lanjutan berupa karakterisasi molekuler, analisis aktivitas enzim secara kuantitatif, dan pengujian kemampuan degradasi limbah secara langsung untuk menentukan potensi aplikasi isolat yang diperoleh.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia serta PT. Sulotco Jaya Abadi yang telah mendukung pelaksanaan penelitian melalui Program Dana Padanan Tahun 2024 dengan tema Kemitraan Hilirisasi Kepakaran untuk Menjawab Kebutuhan Dunia Usaha dan Dunia Industri (DUDI).

VI. REFERENSI

- Ahmed, S., Rahman, M. S., Hasan, M. M., Paul, N., & Sajib, A. A. (2018). Microbial degradation of lignocellulosic biomass: discovery of novel natural lignocellulolytic bacteria. *BioTechnologia*, 99(2), 137–146. <https://doi.org/10.5114/bta.2018.75657>
- Al-Mekhlafi, N. A., Al-Harethi, A. A., & Alzanam, N. Y. (2025). Bioefficacy of *Trichoderma citrinoviride* against some plant pathogenic fungi. *Scientific Reports*, 15(1), 45346. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-29663-2>
- Aminiyan, M. M., Shorafa, M., & Pourbabaee, A. A. (2024). Mitigating the detrimental impacts of low- and high-density polyethylene microplastics using a novel microbial consortium on a soil-plant system: Insights and interactions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 283, 116805.
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media* (4th ed.). CRC Press.
- Ben Ghalib, K., Chadli, M., Daştan, S. D., & Elmtili, N. (2024). Isolation and molecular identification of cellulose-degrading bacteria from rumen sheep “*Ovis aries*” and evaluation of their cellulase production. *Scientific African*, 26, e02439. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02439>
- Biswas, S., & Paul, D. (2022). Isolation and characterization of *Rhodococcus qingshengii*, a cellulolytic bacteria from *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Crambidae) gut. *Environmental and Experimental Biology*, 19(4), 203–208. <https://doi.org/10.22364/eeb.19.19>
- Brand, D., Pandey, A., Rodriguez-Leon, J. A., Roussos, S., Brand, I., & Soccol, C. R. (2001). Packed bed column fermenter and kinetic modeling for upgrading the nutritional quality of coffee husk in solid-state fermentation. *Biotechnology Progress*, 17(6), 1065–1070.
- Bui, H. B. (2014). Isolation of cellulolytic bacteria, including actinomycetes, from coffee exocarps in coffee-producing areas in Vietnam. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 3, 2–8.
- Corro, G., Pal, U., & Cebada, S. (2014). Enhanced biogas production from coffee pulp through deligninocellulosic photocatalytic pretreatment. *Energy Science and Engineering*, 2(4), 177–187.
- Cruz, N., Bustos, C. A., Aguayo, M. G., Cloutier, A., & Castillo, R. (2018). Impact of the Chemical Composition of *Pinus radiata* Wood on its Physical and Mechanical Properties Following Thermo-Hygromechnical Densification. *BioResources*, 13(2). <https://doi.org/10.15376/biores.13.2.2268-2282>
- Dar, M. A., Shaikh, A. F., Pawar, K. D., Xie, R., Sun, J., Kandasamy, S., & Pandit, R. S. (2021). Evaluation of cellulose degrading bacteria isolated from the gut-system of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* and their potential values in biomass conversion. *PeerJ*, 9, e11254. <https://doi.org/10.7717/peerj.11254>
- De Oliveira Júnior, S. D., Dos Santos Gouvêa, P. R., De Aguiar, L. V. B., Pessoa, V. A., Dos Santos Cruz Costa, C. L., Chevreuil, L. R., Dedo Britonascimento, L. B., Dos Santos, E. S., & Sales-Campos, C. (2022). Production of Lignocellulolytic Enzymes and Phenolic Compounds by *Lentinus strigosus* from the Amazon Using Solid-State Fermentation (SSF) of Guarana (*Paullinia cupana*) Residue. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 194(7), 2882–2900. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03851-6>

- Dujkovic, T., Pajcin, I., Vlajkov, V., & Grahovac, J. (2023). *Bacillus* spp. enzymatic activity to support circular economy. *Acta Periodica Technologica*, 54, 325–335. <https://doi.org/10.2298/apt2354325d>
- Erdel, E., Şimşek, U., & Kesimci, T. G. (2023). Effects of fungi on soil organic carbon and soil enzyme activity under agricultural and pasture land. *Sustainability*, 15(3), 1–12.
- Fulke, A. B., Bhanushali, S., Patrikar, E., & Sharma, N. (2026). Functional Genes Encoding for Enzyme-associated Function in *Bacillus paranthracis* B1-S Strain Isolated from the Deep-sea environment of Andaman Sea. *Marine Biotechnology* 28(3). <https://doi.org/10.1007/s10126-026-10611-8>
- Guder, D. G., & Krishna, M. S. R. (2019). Isolation and Characterization of Potential Cellulose Degrading Bacteria from Sheep Rumen. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(3), 1831–1839. <https://doi.org/10.22207/jpam.13.3.60>
- Gusmão, R. D. O., Assis, F. G. D. V. D., Cruz, A. R. D., Solidade, L. S., Ferreira, L. F. A. A., & Leal, P. L. (2018). Filamentous fungi producing enzymes under fermentation in cassava liquid waste. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 40(1), 41512. <https://doi.org/10.4025/actascibiols.v40i1.41512>
- Hang, X., Meng, L., Ou, Y., *et al.* (2022). Trichoderma-amended biofertilizer stimulates soil resident *Aspergillus* population for joint plant growth promotion. *Biofilms and Microbiomes*, 8, 1–7.
- Isolation and identification of thermo stable multi catalytic *Bacillus licheniformis* strain V7 from Ganeshpuri hot spring. (2022). *Indian Journal of Natural Products and Resources*. <https://doi.org/10.56042/ijnpr.v13i3.38114>
- Iswanto, T., Shovitri, M., Altway, A., Widjaja, T., Kusumawati, D. I., & Lisdiyanti, P. (2019). Isolation and identification of caffeine-degrading bacteria from soil, coffee pulp waste and excreted coffee bean in Luwak feces. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(6). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200614>
- Jaramillo, H. Y., Vasco-Echeverri, O., & Camperos, J. A. G. (2023). Characterization of the Coffee Husk: A Potential Alternative for Sustainable Construction. *Civil Engineering and Architecture*, 11(4), 1902–1908. <https://doi.org/10.13189/cea.2023.110418>
- Kaur, N., Kaur, A., & Gupta Phutela, U. (2023). Enhanced production of lignocellulolytic enzymes by bacterial culture of *delftia* sp. Through submerged state fermentation of biodigested slurry and utilization for biogas augmentation using paddy straw. *Cellulose Chemistry and Technology*, 57(3–4), 305–323. <https://doi.org/10.35812/cellulosechemtechnol.2023.57.28>
- Kubiak, A., Wolna-Maruwka, A., Pilarska, A. A., Niewiadomska, A., & Piotrowska-Cyplik, A. (2023). Fungi of the Trichoderma Genus: Future Perspectives of Benefits in Sustainable Agriculture. *Applied Sciences*, 13(11), 6434. <https://doi.org/10.3390/app13116434>
- Kumar, A. K., & Sharma, S. (2017). Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: A review. *Bioresources and Bioprocessing*, 4, 1–19.
- Leadbeater, D. R., Oates, N. C., Bennett, J. P., Li, Y., Dowle, A. A., Taylor, J. D., Alponi, J. S., Setchfield, A. T., Alessi, A. M., Helgason, T., Mcqueen-Mason, S. J., & Bruce, N. C. (2021). Mechanistic strategies of microbial communities regulating

- lignocellulose deconstruction in a UK salt marsh. *Microbiome*, 9(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00964-0>
- Lee, Y. G., Cho, E. J., Maskey, S., Nguyen, D. T., & Bae, H. J. (2023). Value-added products from coffee waste: A review. *Molecules*, 28(8).
- Marchetti, C. R., Weirich, C. E., Macedo, A. L., Do Nascimento, L. F., Silva, P. V. R., Ulhoa, J. C., Lopes, F. Á. C., Da Silva, D. B., Marques, M. R., & Dos Santos, E. D. A. (2026). Native *Trichoderma* strains from Brazilian biomes exhibit dual activity: biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* and growth promotion in common bean. *Fungal Biology*, 130(2), 101733. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2026.101733>
- Monteiro, M. C. P., Tavares, D. G., Nery, E. M., *et al.* (2020). Enzyme production by *Induratia* spp. isolated from coffee plants in Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63, e20180673.
- Montoya-Castrillón, M., Serna-Vasco, K. J., Pinilla, L., Quiceno-Rico, J. M., Cardona-Bermúdez, L. M., & Osorio Echavarría, J. (2021). Isolation and characterization of filamentous fungi from wood and soil samples of “La Lorena”, Sonsón, Antioquia (Colombia), natural reserve. *DYNA*, 88(219), 171–180. <https://doi.org/10.15446/dyna.v88n219.96144>
- Muzakhar, K. (2019). A consortium of three enzymes: Xylanase, arabinofuranosidase, and cellulase from *Aspergillus* sp. which liquefied coffee pulp wastes. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 546(2).
- Oduro-Mensah, D., Lowor, S. T., Bukari, Y., Donkor, J. K., Minnah, B., Nuhu, A. H., Dontoh, D., Amadu, A. A., & Ocloo, A. (2023). Cocoa-associated filamentous fungi for the biocontrol of aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Journal of Basic Microbiology*, 63(11), 1279–1292. <https://doi.org/10.1002/jobm.202300163>
- Panigrahi, A., Esakkiraj, P., Jayashree, S., Saranya, C., Das, R. R., & Sundaram, M. (2019). Colonization of enzymatic bacterial flora in biofloc grown shrimp *Penaeus vannamei* and evaluation of their beneficial effect. *Aquaculture International*, 27(6), 1835–1846. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00434-x>
- Parmar, M., Patel, S. A. H., Phutela, U. G., & Dhawan, M. (2024). Comparative Analysis of Ligninolytic Potential among *Pleurotus ostreatus* and *Fusarium* sp. with a Special Focus on Versatile Peroxidase. *Applied Microbiology*, 4(3), 1348–1361. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol4030093>
- Pereira, J., Cachinho, A., de Melo, M. M. R., *et al.* (2022). Enzymatic potential of filamentous fungi as a biological pretreatment for acidogenic fermentation of coffee waste. *Biomolecules*, 12(9).
- Rasyid, B., Ala, A., Kuswinanti, T., & Sapareng, S. (2020). Exploring functional fungi on organic matter decomposition of oil palm empty bunches as bio-resource in land remediation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(9). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210941>
- Roy, D., Gunri, S. K., & Pal, K. K. (2024). Isolation, screening and characterization of efficient cellulose-degrading fungal and bacterial strains and preparation of their consortium under in vitro studies. *3 Biotech*, 14(5), 131. <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03974-z>

- Šaraba, V., Milovanovic, J., Nikodinovic-Runic, J., Budin, C., De Boer, T., & Ciric, M. (2023). Brackish Groundwaters Contain Plastic- and Cellulose-Degrading Bacteria. *Microbial Ecology*, 86(4), 2747–2755. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02278-8>
- Selia, M., Mustafa, I., & Rahayu, F. (2024). Isolation, Screening, and Molecular Identification of Cellulolytic Bacteria From Supit Urang Municipal Landfill, Malang City. *Journal of Tropical Life Science*, 14(3). <https://doi.org/10.11594/jtls.14.03.14>
- Sepwin, N., Munir, E., & Jamilah, I. (2019). Ligninolytic Activity of Fungi Isolated from Empty Fruit Bunch of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Inflammatory Bowel Diseases*, 36(2). <https://doi.org/10.20884/1.mib.2019.36.2.967>
- Sharapova, I. (2023). The Study of Potentially Lignocellulolytic Actinobacteria *Pseudonocardia* sp. AI2. *Indian Journal of Microbiology*, 63(2), 190–196. <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01069-6>
- Singh, S. K., & Jadon, K. S. (2019). Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* against fungal pathogens of cumin, groundnut and castor. *Indian Phytopathology*, 72(3), 537–543. <https://doi.org/10.1007/s42360-019-00156-3>
- Suwannaphan, S., Suksaard, P., Lueangjaroenki, P., Aroonluk, S., & Thongrak, P. (2024). Isolation and screening of potential lignocellulolytic microbes from Phra Nakhon Si Ayutthaya Province. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*. <https://doi.org/10.7324/jabb.2024.187833>
- Tahir, A. A., Mohd Barnoh, N. F., Yusof, N., Mohd Said, N. N., Utsumi, M., Yen, A. M., Hashim, H., Mohd Noor, M. J. M., Akhir, F. N. M., Mohamad, S. E., Sugiura, N., Othman, N., Zakaria, Z., & Hara, H. (2019). Microbial Diversity in Decaying Oil Palm Empty Fruit Bunches (OPEFB) and Isolation of Lignin-degrading Bacteria from a Tropical Environment. *Microbes and Environments*, 34(2), 161–168. <https://doi.org/10.1264/jsme2.me18117>
- Thapa, S., Mishra, J., Arora, N., Mishra, P., Li, H., O'Hair, J., Bhatti, S., & Zhou, S. (2020). Microbial cellulolytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(3), 621–648. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09536-y>
- Thormann, M. N., Currah, R. S., & Bayley, S. E. (2002). The relative ability of fungi from *Sphagnum fuscum* to decompose selected carbon substrates. *Canadian journal of microbiology*, 48(3), 204–211. <https://doi.org/10.1139/w02-010>
- Vasanthapriya, P., Ajith, N., Thangavelu, R., & Thangaraj, M. (2025). Optimization of Extracellular Alkaline Protease Production by *Bacillus firmus* LE02, Isolated from a Ponyfish, *Leiognathus equula*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 2032–2036. <https://doi.org/10.52711/0974-360x.2025.00290>
- Yiga, V. A., Lubwama, M., & Olupot, P. W. (2019). Effect of Alkaline Surface Modification and Carbonization on Biochemical Properties of Rice and Coffee Husks for Use in Briquettes and Fiber-Reinforced Plastics. *Journal of Natural Fibers*, 18(4), 620–629. <https://doi.org/10.1080/15440478.2019.1642824>
- Zamani, H., Salehzadeh, A., & Abdolhosseini, M. (2018). Isolation and molecular identification of a cellulolytic bacterium from municipal waste and investigation of its cellulase production. *Bioscience Journal*, 34(3), 761–768. <https://doi.org/10.14393/bj-v34n3a2018-40007>

-
- Zhang, Z., Shah, A. M., Mohamed, H., Tsiklauri, N., & Song, Y. (2021). Isolation and Screening of Microorganisms for the Effective Pretreatment of Lignocellulosic Agricultural Wastes. *BioMed Research International*, 2021(5760), 1–16. <https://doi.org/10.1155/2021/5514745>