

## **Perlakuan Sinar Gamma pada Substrat Jerami Padidan Kapang *Phanerochaete Chrysosporium* untuk Meningkatkan Delignifikasi Melalui Fermentasi Padat**

### ***Gamma Rays Treatment on Substrate of Rice Straw and Phanerochaete Chrysosporium Fungus to Improve Delignification Through Solid Fermentation***

**Dadang Sudrajat<sup>1\*</sup>, Nana Mulyana<sup>1</sup>, Tri Retno, D.L.<sup>1</sup>, Anna Muawanah<sup>2</sup>, dan  
Anisa Ulfatu Aeni<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN

Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta 12440, Indonesia

<sup>2</sup> UIN Syarif Hidayatullah, Fakultas Sains dan Teknologi

Jl. Ir. H. Djuanda No. 95, Banten 15412, Indonesia

\* Email : dadangs61@batan.go.id

#### **ABSTRAK**

**Perlakuan Sinar Gamma pada Substrat Jerami Padidan Kapang *Phanerochaete Chrysosporium* untuk Meningkatkan Delignifikasi Melalui Fermentasi Padat.** Delignifikasi pada biomasa lignoselulosa perlu dilakukan untuk mempermudah hidrolisis selulosa. Tujuan dari penelitian ini untuk meningkatkan efisiensi delignifikasi substrat jerami padi oleh kapang *Phanerochaete chrysosporium* dengan perlakuan sinar gamma. Metode delignifikasi yang digunakan yaitu metode *solid state fermentation*. Perlakuan pada penelitian ini adalah iradiasi dosis rendah pada kapang *P. chrysosporium* 0, 500, 1000, 1500, 2000 Gy, iradiasi dosis tinggi pada jerami padi 0, 50, 100 kGy dan *pretreatment* NaOH (0%, 1%, 2%, 3%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa delignifikasi dengan fermentasi padat oleh kapang *P. chrysosporium* yang dipapari sinar gamma 1000 Gy dan substrat jerami padi yang di *pretreatment* NaOH 2% dan diiradiasi 100 kGy dapat meningkatkan efisiensi delignifikasi 85,95% lebih tinggi dibandingkan tanpa iradiasi. Hasil delignifikasi maksimum pada hari ke-12 dengan kadar lignin sebesar 1,634%.

**Kata kunci :** Delignifikasi, fermentasi, jerami padi, *Phanerochaete chrysosporium*, sinar gamma

#### **ABSTRACT**

**Gamma Rays Treatment on Substrate of Rice Straw and *Phanerochaete Chrysosporium* Fungus to Improve Delignification Through Solid Fermentation.** Delignification of lignocellulosic biomass necessary to facilitate cellulose hydrolysis. The purpose of this study was to improve the delignification efficiency of rice straw substrate by *Phanerochaete chrysosporium* fungus with gamma ray treatment. The method of delignification used is solid state fermentation. The treatment in this study was low-dose irradiation of the *P. chrysosporium* fungus at 0, 500, 1000, 1500, 2000 Gy, high dose irradiation on rice straw 0, 50, 100 kGy and *pretreatment* NaOH (0%, 1%, 2%, 3%). The results showed that delignification with solid fermentation by *P. chrysosporium* irradiated by gamma rays 1000 Gy and rice straw substrate *pretreatment* of NaOH 2% and irradiated by gamma rays 100 Gy able to increase delignification efficiency of 85,95% higher than without irradiation. Maximum delignification result was occurred on day 12 with lignin level of 1,634%.

**Keywords :** Delignification, fermentation, gamma rays, *Phanerochaete chrysosporium*, rice straw.

## PENDAHULUAN

Jerami padi merupakan limbah pertanian yang melimpah keberadaannya di Indonesia. Jerami padi memiliki selulosa yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan bioetanol [1]. Bahan lignoselulosa ini memiliki komponen utama lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Bahan Jerami padi merupakan limbah pertanian yang melimpah keberadaannya di Indonesia. Jerami padi memiliki selulosa yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan bioetanol [1]. Bahan lignoselulosa ini memiliki komponen utama lignin, selulosa, dan hemiselulosa. Bahan tersebut cukup melimpah dan tidak digunakan sebagai bahan pangan, sehingga penggunaannya sebagai sumber energi tidak mengganggu pasokan bahan pangan. Sebagai limbah pertanian bahan lignoselulosa ini berpotensi sebagai salah satu sumber energi melalui proses konversi [2]. Proses konversi seringkali terhambat karena kandungan lignin yang tinggi pada bahan lignoselulosa.

Dalam hal ini dibutuhkan proses delignifikasi dalam peningkatan aksesibilitas enzim selulase dan hemiselulase dalam menghidrolisis komponen selulosa dan hemiselulosa [3].

*Pretreatment* dalam proses delignifikasi telah banyak dilakukan diantaranya dengan penggunaan NaOH. Larutan NaOH dapat menyerang dan merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa [4].

Penelitian sebelumnya telah dilakukan Kumar *et al.*, *pretreatment* NaOH pada kayu keras dapat meningkatkan tingkat degradasi lignin dari 14% menjadi 55% [5].

Kapang merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu mendegradasi lignin terutama kelompok *white root fungi* (WRF). *Phanerochaete chrysosporium* merupakan salah satu kapang kelompok WRF yang banyak diteliti karena memiliki kemampuan tinggi dalam mendegradasi lignin. Penelitian yang telah dilakukan Fadilah *et al.* (2009) kapang pelapuk putih *P. chrysosporium* mampu mendegradasi lignin mencapai 81,4% pada inkubasi selama 30 hari dengan substrat batang jagung.

Penggunaan kapang yang diiradiasi dapat meningkatkan aktivitas LiP yang dihasilkan kapang *P. chrysosporium* dengan perlakuan iradiasi gamma dosis rendah [5]. *Phanerochaete chrysosporium* yang terkena radiasi akan

mengalami mutasi sehingga enzim yang dihasilkan akan lebih banyak. Iradiasi gamma dosis tinggi yang dilakukan pada substrat untuk memicu terjadinya proses depolimerisasi lignin. *Pretreatment* bahan lignoselulosa oleh iradiasi gamma dapat menyebabkan kerusakan struktur lignoselulosa dan meningkatkan tingkat hidrolisis enzimatis [6].

Yin dan Wan (2012), meneliti tentang peningkatan hidrolisis enzimatis oleh iradiasi gamma pada jerami gandum dengan *pretreatment* basa. Dosis iradiasi 100 kGy dan *pretreatment* NaOH 2% dapat menurunkan kadar lignin sebesar 10,64%. Efek sinergis iradiasi gamma dan *pretreatment* NaOH tidak signifikan mengubah komponen, sifat permukaan dan kristalinitas jerami gandum [7].

Delignifikasi dilakukan dengan metode *Solid State Fermentation* (SSF). Delignifikasi dengan metode SSF telah banyak digunakan dalam proses delignifikasi dibanding metode lainnya seperti *Submerged Fermentation* (SmF), karena SSF lebih efektif mendegradasi lignin sehingga selulosa terekspos lebih banyak. Kelebihan SSF lainnya adalah teknik yang sederhana, biaya investasi murah dan air yang dibuang sedikit. Namun demikian proses delignifikasi SSF memiliki kekurangan diantaranya pengaturan optimasi media tumbuh mikroba dan waktu inkubasi yang relatif lama [8].

Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan efisiensi delignifikasi dengan perlakuan iradiasi gamma pada kapang *P. chrysosporium* dan substrat jerami padi melalui fermentasi padat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan antara lain kapang *P. chrysosporium* dan jerami padi varietas Sidenuk. *Potato Dextrose Broth/ PDB* (Merck); *Potato Dextrose Agar/PDA* (Merck); lignin alkali; NaCl; asam asetat glasial; natriumasetat; *yeast extract*; pepton (Bacto); sukrosa; buffer asetat pH 3; NaOH; *Verathyl Alcohol* 8 mM; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mM; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; HCl p.a; K.Na. Tartrat; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O; dan akuades.

Alat yang digunakan untuk penelitian ini antara lain autoklaf (Wisd), *chopper*, *cutting mill*,

oven (Memmert), *laminar air flow* (Panasonic), spektrofotometer UV-Vis tipe 20D (Hitachi), incubator (Heraeus), *furnace*, neraca analitik (Acculab), desikator, mikropipet, *microtube*, *rotary shaker* mekanis, *vortex* (Bohemia), *magnetic stirrer*, ose, gunting, spatula, *handsprayer*, bunsen, cawan petri dan peralatan gelas lainnya.

### Rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan desain percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial terdiri dari 2 faktor dan 2 ulangan. Faktor pertama yaitu iradiasi gamma pada kapang *P. chrysosporium* dengan dosis 0 Gy, 500 Gy, 1000 Gy, 1500 Gy dan 2000 Gy dengan tujuan menentukan dosis iradiasi optimum untuk meningkatkan aktivitas enzim LiP. Faktor kedua yaitu iradiasi gamma dosis tinggi pada substrat jerami padi dengan dosis 0 kGy, 50 kGy dan 100 kGy dengan tujuan menentukan dosis iradiasi optimum dalam memecah struktur lignoselulosa.

### Iradiasi kapang

Strain kapang *P. chrysosporium* dikultivasi dalam media *Potatoes Dextrose Broth* (PDB) dengan shaker mekanis pada 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 4 hari, kemudian disebarkan pada permukaan media *Potatoes Dextrose Agar* (PDA) di dalam cawan petri dan diinkubasi pada 32°C selama 4 hari. Setelah kultur fungi tumbuh secara merata pada permukaan PDA dalam cawan petri, kemudian dipapari sinar gamma pada dosis 0, 500, 1000, 1500, dan 2000 Gy. Perlakuan iradiasi gamma dengan sumber Co-60 dilakukan difasilitas irradiator Gamma Chamber 4000A dengan laju dosis 2,1 kGy/jam di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional.

### Penentuan dosis optimum iradiasi kapang *P. chrysosporium*

Kultur kapang *P. chrysosporium* yang telah dipapari sinar gamma pada dosis 0 (kontrol), 500, 1000, 1500 dan 2000 Gy dipindah tanam ke permukaan PDA dalam cawan petri yang berdiameter 12 cm dan diinkubasi selama 4 hari. Kultur kapang dalam luasan sekitar 0,5 x 0,5 cm

tersebut dipindahkan kedalam 30 ml medium PDB (*potatoes dextrose broth*) dan diinkubasi dalam shaker gyang dengan kecepatan 100 rpm dan suhu ruang sekitar 28-32°C selama 4 hari sehingga diperoleh kultur cair (starter) dengan kerapatan sekitar  $10^7$  propagul/ml. Hasil inkubasi disentrifuge dan filtratnya dilakukan uji aktivitas enzim LiP spesifik.

### Pre-treatment jerami dengan NaOH

Jerami padi dipotong-potong dengan mesin pencacah (*choper*) dan dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan dalam oven pada 60-70°C selama 48 jam. Substrat jerami padi kering dihaluskan dengan mesin penepung (*cutting mill*) dan diayak. Kemudian disiapkan larutan NaOH dengan berbagai konsentrasi 0, 1%, 2%, 3% untuk *pretreatment* substrat jerami padi. Jerami padi hasil *pretreatment* kemudian diinokulasi dengan kapang *P. chrysosporium* hasil iradiasi optimum sebanyak 100 µl/g. Hasil inkubasi disentrifugasi dan filtratnya dilakukan uji aktivitas enzim LiP.

### Perlakuan iradiasi pada substrat jerami padi

Substrat jerami padi dan larutan NaOH 2% (optimum) dicampur secara merata dengan perbandingan 1:2 (b/v) kemudian dimasukan kedalam kantong plastik (*polyethylene*) dan ditutup rapat dengan menggunakan alat *sealer*. Substrat yang telah selesai menjalani proses *retreatment* kemudian dipapari sinar gamma pada dosis 0 (kontrol), 50 dan 100 kGy. Setelah proses iradiasi kemudian dilakukan karakterisasi substrat jerami padi dengan parameter uji pH, kadar air, kadar bahan organik, kadar ekstraktif, kadar hemiselulosa, kadar lignin, kadar glukosa dan kadar abu [9].

### Delignifikasi melalui fermentasi padat

Fermentasi substrat jerami padi menggunakan metode Kheiralla *et.al* [10], dilakukan terhadap jerami padi yang berbeda dosis iradiasinya (0,50,100 kGy) dan menggunakan 2 jenis kapang yaitu kapang *P. chrysosporium* hasil iradiasi optimum dan kontrol. Perlakuan pada saat proses delignifikasi secara keseluruhan sebagai berikut:

**Tabel 1.** Perlakuan pada proses delignifikasi

Kode Sampel	Dosis iradiasi <i>P.chrysosporium</i> (Gy)	Dosis iradiasi jerami padi (kGy)
POJ0	0	0
POJ50	0	50
POJ100	0	100
P1J0	1000	0
P1J50	1000	50
P1J100	1000	100

Delignifikasi diawali dengan sterilisasi masing-masing jerami padimenggunakan alat *autoclave* pada suhu 121°C selama 2x15menit. Kemudian ditambahkan larutan nutrisi garam mineral steril sebanyak 2 ml/g berat kering substrat. Setiap liter larutan nutrisi garam mineral mengandung 5 g *yeast extract*, 5 g pepton (Bacto); 1 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; dan 0,1 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O. Medium ini lalu diinokulasikan starter masing-masing kapang *P. chrysosporium* sebanyak 100 µl/g berat kering substrat. Fermentasi dilakukan dalam plastik (*polyethylene*) kemudian diinkubasi pada suhu ruang sekitar 28-32°C selama 12 hari. Parameter fermentasi dilakukan pada 0; 4; 8; dan 12 hari meliputi pH, air, bahan organik, aktivitas LiP, kadar ekstraktif, kadar lignin, kadar selulosa, kadar glukosa dan kadar hemiselulosa.

### Pengukuran aktivitas (LiP)

Pengukuran aktivitas enzim LiP dilakukan menggunakan metode Praveen *et.al.* [11]. Ke dalam tabung reaksi 20 ml, dimasukan : 0,4 ml *verathyl alcohol* 8 mM; 0,8 ml buffer asetat 50 mM pH 3; 1,8 ml aquades; 0,2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mM; 0,8 ml enzim hasil fermentasi (volume 4 ml). Kuvet dikocok perlahan agar semua bahan tercampur. Reaksi aktivitas enzim dilakukan pada suhu 30 °C. Kemudian absorbansi diukur pada waktu 0 dan 10 menit pada panjang gelombang (λ) 310 nm. Rumus yang digunakan untuk menghitung:

$$\text{Aktivitas Enzim} \left( \frac{U}{ml} \right) = \frac{\Delta OD_{310} \times V_{total} \times 10^9}{\epsilon_{maks} \times d \times V_{enzim} \times t}$$

Keterangan: ΔOD = selisih absorbansi pada 10 dan 0 menit V<sub>total</sub> = ml V<sub>enzim</sub> = 0,2 ml. ε<sub>maks</sub> = absorpsivitas molar veratryl-alkohol 9300/d= tebal bagian dalam kuvet (cm). t = waktu reaksi aktivitas enzim (menit).

### Pengukuran protein terlarut

Analisis protein terlarut dilakukan dengan metode Lowry *et al* [12]. Dicampurkan ke dalam gelas beaker 100 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 1 ml CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; dan 1 ml kalium natrium tartarat 40%. Sample sebanyak 500 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 4 ml larutan campuran dan ditunggu 5 menit. Setelah 5 menit ditambahkan folin 500 µl ke dalam tabung reaksi dan diinkubasi selama 30 menit. Kemudian dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 600 nm. Aktivitas spesifik didefinisikan sebagai unit aktivitas permiligram protein. Perhitungan aktivitas spesifik menurut Tien *et al.*, [13], adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Spesifik (U/mg)} &= \frac{\text{unit aktivitas} \left( \frac{U}{ml} \text{ filtrat} \right)}{\text{kadar protein} \left( \frac{mg}{ml} \right)} \end{aligned}$$

### Pengukuran kadar air

Pengukuran kadar air menggunakan metode AOAC [14]. Cawan porselen dicuci menggunakan akuades lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 hari. Cawan tersebut kemudian diletakkan di dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Sampel jerami padi setelah fermentasi seberat 1gram ditimbang ke dalam cawan. Cawan yang berisi sampel dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 1 hari. Cawan kemudian dimasukkan kembali kedalam desikator dan dibiarkan selama 30 menit kemudian ditimbang hingga memperoleh bobot yang tetap. Perhitungan kadar air dapat dilakukan menggunakan rumus:

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Spesifik (U/mg)} &= \frac{\text{unit aktivitas} \left( \frac{U}{ml} \text{ filtrat} \right)}{\text{kadar protein} \left( \frac{mg}{ml} \right)} \end{aligned}$$

### Pengukuran kadar air

Pengukuran kadar air menggunakan metode AOAC [14]. Cawan porselen dicuci menggunakan akuades lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 hari. Cawan tersebut kemudian diletakkan di dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Sampel jerami padi setelah fermentasi seberat 1 gram ditimbang ke dalam cawan. Cawan yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 hari. Cawan kemudian dimasukkan kembali ke dalam desikator dan dibiarkan selama 30 menit kemudian ditimbang hingga memperoleh bobot yang tetap. Perhitungan kadar air dapat dilakukan menggunakan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = berat cawan kosong (gram)

W1 = berat cawan yang diisi dengan sampel (gram)

W2 = berat cawan yang sudah dikeringkan (gram)

### Pengukuran bahan organik dan abu

Pengukuran bahan organik dan kadar abu menggunakan metode SNI [15]. Cawan porselen dibersihkan dan dikeringkan di dalam oven bersuhu sekitar 105°C selama 30 menit. Cawan porselen kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Cawan yang berisi sampel jerami padi setelah fermentasi dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 102-105°C selama 5-6 jam lalu dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 550°C hingga mencapai pengabuan sempurna. Cawan dimasukkan ke dalam desikator dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang. Perhitungan kandungan abu dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{w_2 - w_0}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = berat cawan kosong (gram)

W1 = berat cawan dengan sampel (gram)

W2 = berat cawan dengan sampel yang sudah diabukan (gram)

### Kadar ekstraktif

Pengukuran kadar zat ekstraktif menggunakan metode Ayeni *et al* [16].

Dimasukkan 2,5 g sampel kering oven ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml. Kemudian ditambahkan 150 ml aseton atau alkohol-benzen 1:2 atau akuades, kemudian dididihkan pada dalam water bath pada suhu 100°C selama 1 jam dan didinginkan. Pemisahan ekstraktif dilakukan dalam cawan masir dan divakum sehingga diperoleh endapan bebas ekstraktif kemudian dikeringkan dalam oven pada 105°C selama 24 jam. Kadar ekstraktif adalah selisih bobot sampel awal dan sampel bebas ekstraktif.

### Kadar hemiselulosa

Penetapan kadar hemiselulosa menggunakan metode Ayeni [16]. Dimasukkan 0,5 g sampel kering bebas ekstraktif ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml. Lalu ditambahkan 75 ml larutan 2% NaOH kemudian dididihkan pada 100°C selama 3,5 jam dan didinginkan. Dilakukan filtrasi vakum dalam cawan masir dan dicuci menggunakan akuades sehingga diperoleh pH endapan yang netral. Endapan kemudian dikeringkan dalam oven pada 105°C selama 24 jam. Kadar hemiselulosa adalah selisih bobot sampel bebas ekstraktif sebelum dan sesudah perlakuan ini dibandingkan dengan bobot sampel awal (berat kering sampel).

### Kadar lignin

Pengukuran kadar zat ekstraktif menggunakan metode Ayeni *et al* [16]. Dimasukkan 0,4 g sampel kering bebas ekstraktif ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml, lalu tambahkan 5 ml larutan 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dikocok secara hati-hati dengan interval waktu 30 menit selama 2 jam, encerkan dengan 40 ml akuades dan dipanaskan dalam *autoclave* pada 121°C selama 3 x 15 menit dan didinginkan. Hidrolisat lalu dipisahkan dengan filter vakum dalam cawan masir kemudian endapan dikeringkan dalam oven pada 105°C selama 24 jam (endapan kering ini mengandung lignin dan abu).

Endapan dipanaskan dalam tanur pada 575-650°C selama 5 jam.

$$\text{kadar lignin} = \frac{\text{endapan} - \text{abu}}{\text{sampel awal}} \times 100\%$$

### Kadar selulosa

Pengukuran kadar selulosa menggunakan metode Ayeni *et al*. [16]. Selulosa (konten %

w/w) dihitung dengan perbedaan, asumsi bahwa ekstraktif, hemiselulosa, lignin, abu, dan selulosa adalah komponen keseluruhan biomassa.

*Kadar selulosa = Berat kering - ekstraktif - hemiselulosa - abu - lignin*

### Kadar glukosa

Pengukuran kadar glukosa menggunakan metode Miller [17]. Dimasukan 5 g sampel ke dalam erlenmeyer 50 ml, tambahkan 10 ml akuades dan dikocok dalam shaker pada 100 rpm selama 1-2 jam. Kemudian dimasukan 1 ml supernatan sampel ke dalam mikrotube dan disentrifuge pada 8000-12000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 500  $\mu$ l supernatan jernih lalu dimasukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 500  $\mu$ l DNS kemudian tabung ditutup dengan aluminium foil dan dipanaskan pada 100°C selama 5 menit sampai terbentuk warna coklat kemerahan. Setelah itu ditambahkan 2 ml akuades. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 540$  nm.

### Viabilitas kapang

Viabilitas kapang ditentukan dengan metode *Total Plate Count* [18]. Ke dalam 1 mL kultur kapang ditambahkan 9 mL air fisiologis (0,85% NaCl) yang steril untuk memperoleh suspensi sampel. Suspensi tersebut diencerkan sampai  $10^7$  menggunakan air fisiologis steril dan dituangkan ke atas lempeng *Potatoes Dextrose Agar* (PDA), kemudian diinkubasi pada suhu 30°C. Penghitungan total kapang pada 5-7 hari setelah inkubasi di dalam media PDA.

### Analisa data

Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) pada SPSS versi 20.0 dengan batas kepercayaan sebesar 95% ( $\alpha=0,05$ ) dan uji lanjut Duncan. Pengujian hipotesis didasarkan pada ketetapan H0 dan H1. H0: Substrat jerami padi dan kapang *P.chrysosporium* yang diiradiasi gamma (perlakuan) tidak berpengaruh nyata terhadap kadar lignin) H1 : Substrat jerami padi dan kapang *P.chrysosporium* yang diiradiasi gamma (perlakuan) berpengaruh nyata terhadap kadar lignin).

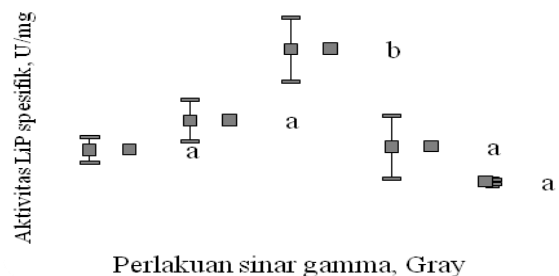
Keterangan:

Jika  $p < 0,05$  maka H0 ditolak dan H1 diterima  
Jika  $p > 0,05$  maka H0 diterima dan H1 ditolak.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Optimasi dosis iradiasi kapang *P. chrysosporium*

Dosis optimum ditentukan berdasarkan pengukuran aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) spesifik pada kultur kapang *P. chrysosporium* dengan dosis iradiasi 0, 500, 1000, 1500, dan 2000 Gray dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Grafik Perlakuan Sinar Gamma terhadap Aktivitas Lignin Peroksidase (LiP) spesifik kapang *P. chrysosporium*

Peningkatan aktivitas LiP spesifik terjadi pada 1000 Gy. Adanya peningkatan aktivitas enzim akibat iradiasi menurut T. Ifthikar [19], disebabkan iradiasi telah merusak struktur sel, sehingga enzim yang terdapat pada struktur internal yang bersinggungan langsung dengan substrat dan menyebabkan perubahan fisiologis sel seperti peningkatan aktivitas enzim yang lebih besar. Penggunaan iradiasi gamma pada dosis 0-2000 Gy karena pada dosis ini merupakan dosis cukup yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur dalam rantai DNA akibat putusnya rantai tunggal/ganda yang dapat bergabung kembali pada proses replikasi atau terjadi mutasi [20].

Ketahanan kapang terhadap iradiasi tergantung pada faktor genetik masing-masing kapang. Menurut Ottenheim *et al.*, *Aspergillus niger* yang diberi perlakuan iradiasi gamma dosis 1400 Gy dapat meningkatkan aktivitas enzim *1,4-endoxylanase* 85% dengan variasi dosis 50-2000 Gy. Perlakuan iradiasi pada dosis tinggi dapat menyebabkan tidak sempurnanya pemisahan kromosom pada pembelahan sel, sehingga mengakibatkan sel kehilangan kemampuan untuk memperbanyak diri sehingga sel akan mati [21].

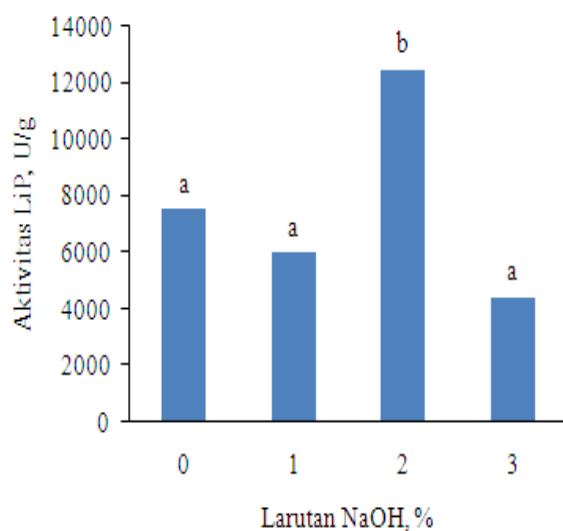
Menurut Lydia *et al.* mutasi DNA yang disebabkan oleh dosis iradiasi gamma



mengakibatkan kapang menghasilkan enzim yang lebih banyak daripada sebelum diiradiasi [22].

### **Pretreatment NaOH pada substrat jerami padi**

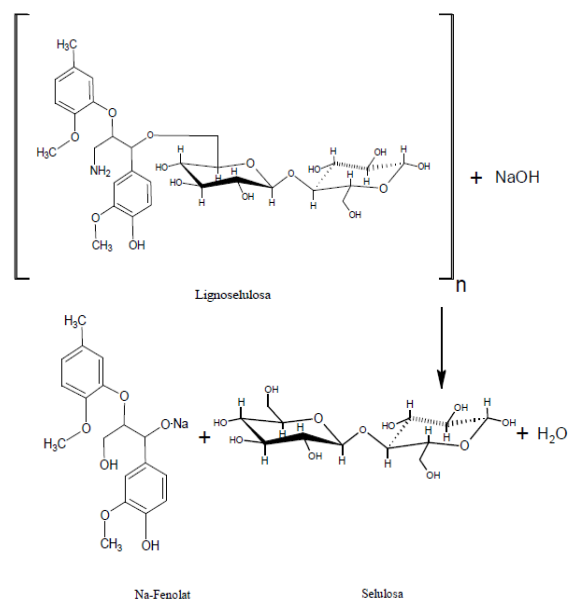
Sebelum proses fermentasi dilakukan, substrat jerami padi dipreparasi terlebih dahulu dengan perlakuan mekanik, kimia dan fisika. Perlakuan mekanik dengan mengeringkan dan mencacah substrat, selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan *cutting mill* dan diayak. Perlakuan selanjutnya *pretreatment* kimia dengan menggunakan NaOH dan kemudian *pretreatment* fisika dengan perlakuan iradiasi gamma.



**Gambar 2.** Grafik Aktivitas enzim LiP kapang *P. chrysosporium* dengan konsentrasi NaOH

*Pretreatment* kimia yang digunakan pada substrat menggunakan NaOH 0%, 1%, 2% dan 3% perbandingan 1:2 dengan substrat. Proses *pretreatment* dengan NaOH dapat menghilangkan kandungan lignin yang mengikat selulosa pada serat jerami. Tujuan dari proses *pretreatment* untuk memecah struktur lignin, memecah kristal selulosa, meningkatkan porositas bahan, memecah hemiselulosa dan depolimerisasi hemiselulosa [23]. Hal ini dilakukan untuk mengkondisikan bahan lignoselulosa baik dari segi ukuran maupun struktur bahan baku, sehingga memudahkan akses enzim untuk mengkonversi karbohidrat menjadi gula. *Pretreatment* juga efektif untuk meningkatkan kinerja dari enzim saat hidrolisis. Hasil proses *pretreatment* jerami padi dengan NaOH terbaik pada konsentrasi 2%. Dibandingkan

dengan jerami padi yang tidak *dipretreatment* NaOH menghasilkan aktivitas LiP sebesar 12464 U/ml. Penambahan NaOH akan mempermudah pemutusan ikatan senyawa lignin. Ion OH<sup>-</sup> dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na<sup>+</sup> akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam fenolat ini bersifat mudah larut. Lignin yang terlarut ditandai dengan warna hitam pada larutan yang disebut lindi hitam (*black liquor*) [24]. Reaksi antara lignin dan selulosa dengan NaOH dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Pemutusan ikatan lignoselulosa oleh NaOH

### **Karakteristik substrat jerami padi**

Iradiasi dilakukan pada substrat jerami padi yang *dipretreatment* NaOH 2% dengan variasi dosis 0, 50, 100 kGy. Karakteristik substrat jerami padi setelah iradiasi sebagai berikut :

**Tabel 2.** Karakteristik substrat jerami padi

Parameter	J0	J50	J100
pH	7,40 <sup>b</sup>	7,53 <sup>b</sup>	6,28 <sup>a</sup>
Kadar air, %	8,62 <sup>b</sup>	5,83 <sup>a</sup>	5,58 <sup>a</sup>
Kadar bahan organik, %	72,66 <sup>a</sup>	75,84 <sup>b</sup>	75,48 <sup>b</sup>
Kadar ekstraktif, %	8,47 <sup>b</sup>	7,98 <sup>ab</sup>	7,28 <sup>a</sup>
Kadar hemiselulosa, %	31,64 <sup>a</sup>	34,35 <sup>b</sup>	35,55 <sup>c</sup>
Kadar selulosa, %	21,36 <sup>a</sup>	21,95 <sup>a</sup>	21,29 <sup>a</sup>
Kadar lignin, %	11,19 <sup>a</sup>	11,25 <sup>a</sup>	11,36 <sup>a</sup>
Kadar glukosa, mg/g	2,23 <sup>a</sup>	2,91 <sup>a</sup>	2,23 <sup>a</sup>
Kadar abu, %	27,34 <sup>b</sup>	24,16 <sup>a</sup>	24,52 <sup>a</sup>

Keterangan : Tanda pangkat pangkat huruf abjad yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan

Tidak terjadi perubahan kadar lignin yang signifikan pasca iradiasi substrat jerami padi. Hal ini menunjukkan tidak terjadi depolimerisasi struktur lignin pada perlakuan iradiasi substrat. Iradiasi pada substrat tidak bekerja langsung untuk mendegradasi lignin, namun iradiasi gamma pada substrat menyebabkan hidrolisis enzimatis. Hasil penelitian Khan *et al.*, [24], menunjukkan bahwa bila dosis iradiasi mencapai 600 kGy atau lebih tinggi, hemiselulosa dan selulosa mengalami pembelahan rantai tetapi lignin kurang dipengaruhi oleh iradiasi gamma. Lignin lebih tahan iradiasi dan melindungi struktur biomassa dari iradiasi. Berbagai teknologi telah diterapkan dalam *pretreatment* bahan lignoselulosa termasuk radiasi [25]. Menurut Yin dan Wang [7], jerami gandum dengan iradiasi gamma dan perendaman NaOH dapat meningkatkan pelarutan hemiselulosa dan lignin serta area permukaan yang mudah dijangkau untuk molekul enzim. Prinsip utama *pretreatment* jerami gandum dengan teknologi iradiasi bahwa dalam makromolekul komponen selulosa, radikal bebas dihasilkan melalui lokalisasi yang cepat dari energi yang diserap dalam molekul dan menghasilkan degradasi sekunder melalui reaksi kimia [26].

#### **Delignifikasi melalui fermentasi padat dengan kapang *P. chrysosporium***

Fermentasi jerami padi dilakukan selama 12 hari dengan perbandingan substrat dan liquid sesuai WHC (*Water Holding Capacity*) 1:2. Liquid dalam proses fermentasi meliputi penambahan larutan nutrisi, inokulum *P.chrysosporium* 0 Gy (kontrol) dan 1000 Gy (optimum) serta aquadest. Pada proses fermentasi, kultur *P.chrysosporium* dibuat dalam

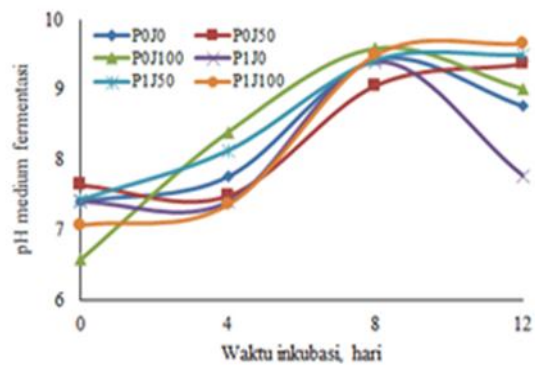
media cair PDB. Tujuannya adalah mengadaptasikan sel terhadap medium fermentasi, sehingga mempersingkat *lag phase* (fase adaptasi) dan pertumbuhan kapang akan maksimum dalam waktu yang relatif singkat [26]. Larutan nutrisi atau *Mineral Salts Medium* (MSM) memiliki peran penting pada proses fermentasi karena mempengaruhi kestabilan mikroorganisme [27]. Mineral-mineral tersebut digunakan untuk pertumbuhan sel kapang termasuk pembelahan sel dan proses metabolismenya. Penambahan *yeas textract* berfungsi sebagai penyedia asam-asam amino tunggal, factor pertumbuhan dan berbagai vitamin yang dibutuhkan sel [28]. *Yeast extract* berisi asam glutamat yang merupakan sumber nitrogen.

Nitrogen berperan dalam pengaturan degradasi lignin sebagai bagian dari metabolisme sekunder dalam kapang. Konsentrasi nitrogen dalam media mempengaruhi enzim pendegradasi lignin yang dihasilkan kapang. Konsentrasi nitrogen yang rendah akan menstimulasi produksi enzim, sebaliknya konsentrasi nitrogen yang tinggi akan menekan produksi enzim [29]. *Bacto Pepton* digunakan sebagai sumber nitrogen organik dalam media kultur mikrobiologi berbagai bakteri dan kapang.

#### **Nilai pH medium fermentasi**

Hasil perubahan pH jerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.





**Gambar 6.** Grafik perubahan kadar lignin substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

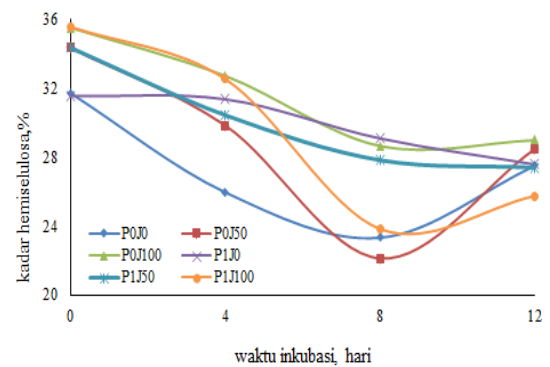
Keterangan :

POJ0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 POJ50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 POJ100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy  
 P1J0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 P1J50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 P1J100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 1000kGy

Berdasarkan Gambar 6, perlakuan P1J100 dengan waktu inkubasi 12 hari mempunyai kadar lignin terendah yaitu sebesar 1,634% dan meningkatkan efisiensi delignifikasi sebesar 85,79%. Perlakuan iradiasi gamma dan NaOH 2% pada substrat menyebabkan depolimerisasi dan degradasi lebih lanjut serta peningkatan luas permukaan lignoselulosa yang kemudian menghasilkan hidrolisis enzimatis. Adanya penambahan NaOH pada proses *pretreatment* dapat menurunkan kandungan lignin yang cukup besar, karena reaksi pemutusan ikatan lignin menjadi lebih cepat [8]. Hal ini disebabkan efek spesies oksigen reaktif terbentuk setelah iradiasi gamma dan sinergisnya efek pada hidrolisis enzimatis. Penurunan kadar lignin adalah salah satu dari langkah paling penting dalam proses konversi bahan baku bioetanol dan juga untuk tujuan lain. Penurunan lignin berkisar antara 2,4-18,4% terjadi pada konten di dinding sel yang diiradiasi [33].

#### Kadar hemiselulosa

Hasil perubahan kadar hemiselulosa jerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Grafik perubahan kadar hemiselulosa substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

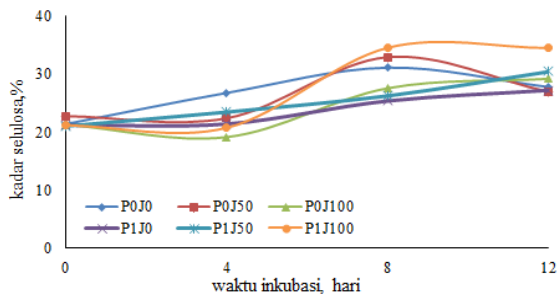
Keterangan :

POJ0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 POJ50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 POJ100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy  
 P1J0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 P1J50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 P1J100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 1000 kGy

Hemisulphate merupakan polimer amorf yang berasosiasi dengan selulosa dan lignin. Sifatnya mudah mengalami depolimerisasi, hidrolisis oleh asam, basa, mudah larut air. Kenaikan kadar hemiselulosa disebabkan kemampuan jamur mendegradasi lignin sehingga hemiselulosa tidak terdegradasi. Pada hari ke-8 dan ke-12 terjadi penurunan kadar hemiselulosa karena kadar lignin pada substrat menurun, maka kapang akan mendegradasi selulosa sehingga hemiselulosa ikut terdegradasi. Rantai hemiselulosa lebih mudah dipecah menjadi komponen gula penyusunnya dibandingkan dengan selulosa. Menurut Nelson dan Suparjo [34], bahwa degradasi lignin akan membuka akses untuk perombakan selulosa dan hemiselulosa. Hasil perombakan selulosa menghasilkan enzim selulase merombak gula-gula dan membatasi produksi sebagian enzim-enzim pendegradasi hemiselulosa oleh jamur pelapuk putih.

#### Kadar selulosa

Hasil perubahan kadar selulosajerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 8.

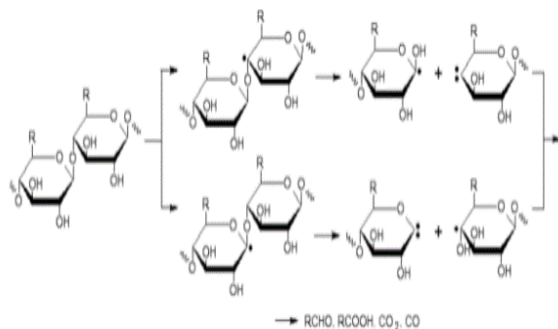


**Gambar 8.** Grafik perubahan kadar selulosa substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

Keterangan :

- POJ0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy
- POJ50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy
- POJ100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy
- P1J0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy
- P1J50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy
- P1J100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 1000 kGy

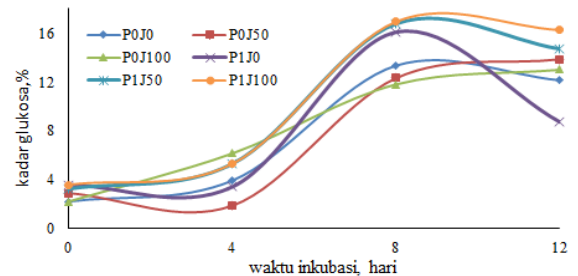
Peningkatan kadar selulosa diikuti dengan peningkatan kadar glukosa. Kadar selulosa tertinggi pada perlakuan P1J100 selama 8 hari sebesar 34,591%. Hal ini menjadi indikasi bahwa perlakuan delignifikasi pada dasarnya menyebabkan selulosa menjadi lebih mudah diakses [35]. Ketika molekul selulosa terpapar sinar gamma, radikal diproduksi secara rantai acak, dan setelah penghentian iradiasi terjadi degradasi lebih lanjut. Setiap residu glukosa, selulosa memiliki dua ikatan hidrogen inter dan intramolekuler. Ikatan ini menstabilkan rantai selulosa panjang dan paralel. Iradiasi gamma mempengaruhi ikatan tersebut dan menyebabkan kekuatan Van Der Waals melemah yang berakibat pada degradasi selulosa dan meningkatnya degradabilitas komponen dinding sel [36]. Mekanisme reaksi selulosa dengan iradiasi gamma dapat dilihat pada Gambar . 9.



**Gambar 9.** Mekanisme reaksi selulosa dengan iradiasi gamma [37].

### Kadar Glukosa

Kadar glukosa tertinggi didapatkan pada perlakuan iradiasi kapang *P. chrysosporium* 1000 Gy dan substrat jerami padi 100 kGy (sampel P1J100) dengan kadar glukosa sebesar 16,945% dan 16,260% dicapai pada waktu fermentasi 8 hari dan 12 hari. Grafik perubahan kadar glukosa selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar.10.

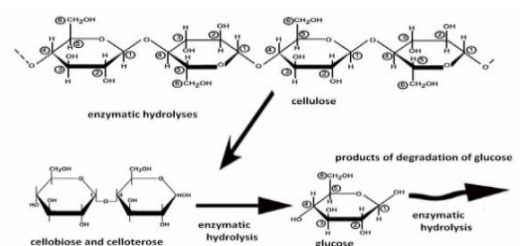


**Gambar 10.** Grafik perubahan kadar glukosa substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

Keterangan :

- POJ0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy
- POJ50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy
- POJ100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy
- P1J0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy
- P1J50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy
- P1J100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 1000 kGy.

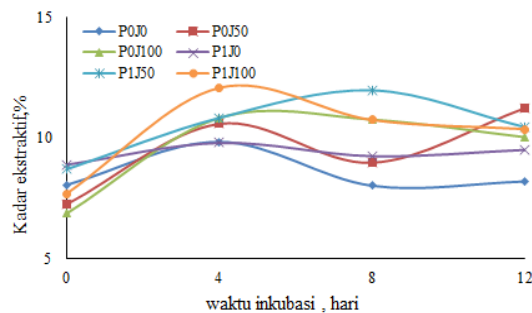
Peningkatan total gula yang terjadi dalam bahan membuktikan bahwa kapang memiliki kemampuan yang lebih baik untuk mendegradasi selulosa sehingga terjadi pemecahan selulosa menjadi gula-gula sederhana. Glukosa yang terbentuk ini kemudian digunakan kembali oleh kapang sehingga kadarnya menjadi turun. Hal ini disebabkan karena pada proses fermentasi, kapang menggunakan glukosa sebagai sumber energi dan metabolisme sel [37]. Reaksi pembentukan gula pereduksi dari hidrolisis selulosa dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Mekanisme reaksi hidrolisis selulosa

## Kadar ekstraktif

Hasil perubahan kadar ekstraktifjerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 12.

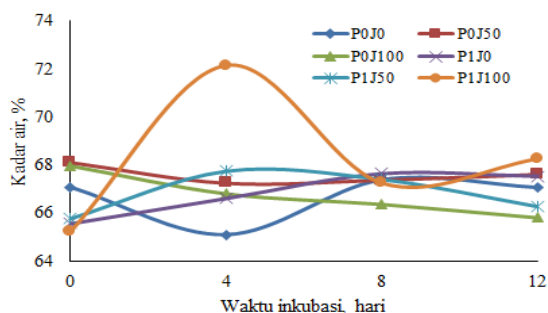


**Gambar 12.** Grafik perubahan kadar ekstraktif substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

Dalam pembuatan bioetanol dari lignoselulosa, zat ekstraktif merupakan inhibitor bekerjanya enzim dalam proses hidrolisis dan menurunkan kerja mikroorganisme dalam proses fermentasi sehingga kecepatan reaksi fermentasi menjadi turun. Zat ekstraktif yang larut dalam air adalah gula, zat warna, tannin, gum, dan pati. Sedangkan yang larut dalam pelarut organik adalah resin, lemak, asam lemak, lilin, minyak dan tannin [38]. Zat ekstraktif mengisi rongga-rongga sel dan rongga-rongga mikro dinding sel sehingga aksesibilitas agen hidrolisis menjadi terhambat. Dengan demikian, kadar ekstraktif yang tinggi tidak diharapkan dalam pembuatan bioetanol [39].

## Kadar air

Hasil perubahan kadar air jerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 13.

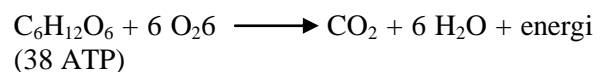


**Gambar 13.** Grafik perubahan kadar air substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

Keterangan :

P0J0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 P0J50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 P0J100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy  
 P1J0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy  
 P1J50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy  
 P1J100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 1000 kGy

Kadar air substrat jerami padi selama fermentasi mengalami fluktuatif. Kenaikan kadar air selama fermentasi disebabkan oleh hasil metabolisme kapang *P. chrysosporium* pada substrat jerami padi. Selain itu jumlah penambahan kapang *P. chrysosporium* pada substrat juga mempengaruhi kadar air. Semakin banyak jumlah kapang yang di masukkan, maka semakin tinggi kadar air yang akan dihasilkan karena proses fermentasinya akan semakin cepat dan hasil fermentasi dari kapang semakin banyak [40]. Reaksi dari hasil metabolisme kapang *P. chrysosporium* sebagai berikut :

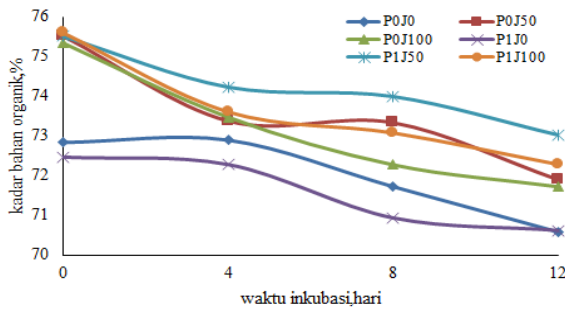


**Gambar 14.** Hasil metabolisme kapang *P.chrysosporium*

Menurut Waluyo [41] selama fermentasi berlangsung, mikroorganisme menggunakan karbohidrat sebagai sumber energi yang dapat menghasilkan molekul air dan karbondioksida (Gambar 14). Sebagian besar air akan tertinggal dalam produk dan sebagian lagi akan keluar dari produk. Air yang tertinggal dalam produk inilah yang akan menyebabkan kadar air menjadi tinggi dan bahan kering menjadi rendah. Pengurangan kadar air yang terjadi juga dapat disebabkan oleh pemanfaatan air tersebut oleh kapang untuk proses metabolisme dalam tubuhnya. Kapang dapat tumbuh dengan baik pada kelembaban kurang lebih 80%, dan pada kondisi lingkungan yang hipotonik maka cairan dari lingkungan akan masuk kedalam sel kapang. Keadaan yang kering dapat menyebabkan proses pengeringan protoplasma yang berakibat berhentinya metabolisme.

## Kadar bahan organik

Hasil perubahan kadar bahan organik jerami padi pada proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 15.



**Gambar 15.** Grafik perubahan kadar bahan organik substrat jerami padi terhadap waktu inkubasi pada berbagai perlakuan

Keterangan :

POJ0 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 0 kGy  
POJ50 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 50 kGy  
POJ100 = *P. chrysosporium* 0 Gy + Jerami padi 100 kGy  
PIJ0 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 0 kGy  
PIJ50 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 50 kGy  
PIJ100 = *P. chrysosporium* 1000 Gy + Jerami padi 100 kGy

Kadar bahan organik substrat jerami padi selama fermentasi mengalami penurunan. Penurunan kadar bahan organik ini disebabkan oleh nutrient yang tersedia pada bahan yang telah dirombak dan dimanfaatkan oleh kapang. Kehilangan bahan organik yang rendah dapat disebabkan oleh 3 kemungkinan yaitu :

- 1) Pertumbuhan kapang yang relatif besar;
- 2) Tingkat biodegradasi yang berjalan lambat ;
- 3) Tingkat pertumbuhan kapang dalam biomassa lebih besar dibanding tingkat pemanfaatan produk fermentasi oleh kapang [34].
- 4) Penurunan kadar bahan organik juga dapat disebabkan oleh lama waktu fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, pertumbuhan kapang akan semakin baik, merata dan kompak sesuai dengan ketersediaan nutrien pada bahan. Kapang yang tumbuh semakin aktif melakukan perombakan karbohidrat dan protein yang merupakan bagian dari bahan organik [42].

## KESIMPULAN

Dosis optimum iradiasi gamma pada kapang *Phanerochaete chrysosporium* adalah 1000 Gy yang menghasilkan aktivitas enzim Lignin Peroksidase (LiP) spesifik tertinggi sebesar 1209,11U/mg. Pada substrat jerami padi

dengan pretreatment NaOH 2% mampu meningkatkan efisiensi delignifikasi sebesar 85,95%. Hasil delignifikasi maksimum pada hari ke-12 dengan kadar lignin sebesar 1,634%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Bpk. Marwadi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rahmawati, F., Bambang, D. A., Rina, Y. Pemanfaatan Iradiasi Gelombang Mikro untuk Memaksimalkan untuk Proses Pretreatment Degradasi Lignin Jerami Padi pada Produksi Bioetanol. Universitas Brawijaya, Jurnal Bioproses Komoditas Tropis, pp. 1, 2013.
- [2] Osvaldo, Z. S., Panca P. S., Faizal, M. Pengaruh Konsentrasi Asam dan Waktu pada Hidrolisis dan Fermentasi Pembuatan Bioetanol dari Alang-Alang., Universitas Sriwijaya. *Jurnal Teknik Kimia*, pp. 18, 2012.
- [3] Wan, C., dan Li, Y. *Fungal Pretreatment Of Lignocellulosic Biomass.*, Biotechnol Ad., pp. 30, 1447-1457, 2012.
- [4] Kumar, P., Barret, D.M., Delwiche, M.J., Stroeve, P. *Methods For Pretreatment Lignoellulosi Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production*, Ind. Eng. Chem. Res, pp. 48, 3713 - 3729, 2009.
- [5] Fadhillah, S., Distantina, E. K., Artati, A., Jumari, Biodelignifikasi Batang Jagung dengan Jamur Pelapuk Putih *P. chrysospor*, Journal Ekuilibrium, pp. 7-11, 2009.
- [6] Tissot, C., Grdanovska, S., Barkatt, A., J., Al-Sheikhly, M., *On the Mechanisms Of The Radiation-Induced Degradation Of Cellulosic Substances*, Radiat Phys., Chem, pp. 84, 185-190, 2013.

- [7] Hasyemi. M dan Shojaosadati S.A., *Comparison of Submerged and Solid State Fermentation on the Catalytic Activity of Bacillus sp KR-8104 a Amylase at Different pH and Temperatures*, Industrial Crops and Products, Vol.43, pp. 661 - 667, 2013.
- [8] Mulyana, N., Larasati, T.R.D., Nurhasni., Ningrum, M. Produksi Enzim Selulase dengan Fermentasi Fase Padat Menggunakan *Aspergillus Niger* yang Diiradiasi Gamma Pada Limbah Jerami Padi, Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi, pp. 11, 2015.
- [9] Kheiralla, H.Z., Said, M.B.E., Saad, M.A.M., Douaa., H.A.A., *Optimization of Cultural Conditions for Lignin Peroxidase Production Phanerochaete chrysosporium and Pleurotus Ostreatus*, Academia Journal of Biotechnology, pp. 2315–7747, 2013.
- [10] Praveen, K., Usha, K.Y, Reddy, B.R., *Enhanced Production of Lignolytic Enzymes by a Mushroom Stereum ostra*. *Biotechnol Res int*, pp. 81-95, 2014.
- [11] Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. dan Randall, R.J., *Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent.*, J. Biol. Chem, pp. 193 265-275, 1951.
- [12] Tien M, and Kirk TK., *Lignin Peroxidase of Phanerochaete Chrysosporium in Methods in Enzymology*, pp. 161, 238-249, 1988.
- [13] *Association of Official Analytical Chemist (AOAC), Official Methods of Analysis.*, AOAC, pp. 20, 2016.
- [14] Badan Standarisasi Nasional (BSN), Pulp dan Kayu- Cara Uji Kadar Lignin Metode Clason. SNI0492. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta, 2008.
- [15] Ayeni, A.O., Adeeyo, O.A., Oresgun, O.M dan Oladimeji, T.E., *Compositional Analysis of Lignocellulosic Materials Evaluation of an Economicaly Viable Method Suitable for Woody and Non Woody Biomass*, American Journal of Engineering and Research, pp. 4, 14-19, 2015.
- [16] Miller, G. L., *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagen for Determination of Reducing Sugar*, Anal. Chem, pp. 31, 426-428, 1959.
- [17] Saraswati, Edi Husen, dan R. Simanungkalit., *Metode Analisis Biologi Tanah*, Balitbang Pertanian, pp. 85-97, 2007.
- [18] T. Ifthikar, M. Niaz, Y., Hussain, S.Q. Abbas, I. Ashraf, dan M.A. Zia., *Improvement and Selected Strain Through Gamma Irradiation for Enhanced Lypolytic Potential.*, Pak. J. Bot, pp. 42, 2257-2267, 2010.
- [19] Awan, M.S. and Tabassam.N., *Gamma Radiation Induced Mutagenesis in Aspergillus Niger to Enhanced its Microbial Fermentation Activity For Industrial Enzyme Production*. *Molecular Biology Reports*, pp. 38, 1367-1374, 2011.
- [20] Ottenheim, C., Werner, K.A., Zimmermann, W., Wu., J.C., *Improved Endoxylanase Production and Colony Morphology of Aspergillus niger DSM 26641 by  $\gamma$ -ray Induced Mutagenesis*, *Biochemical Engineering Journal*, pp. 94, 9-14, 2015.
- [21] Lydia,A., Sjarief, S.H.,Sutarmi, A., dan Sudrajad, Pengaruh Kapang Iradiasi untuk Produksi Glukosa dari Tepung Sagu, *Majalah BATAN*, pp. 27, 25–34, 1994.
- [22] Sun, Y. dan Cheng. J., *Hydrolysis of Lignocellulosic Materials for Ethanol Production a Review*, *Bioresource Technol*, pp. 83, 1-11, 2002.
- [23] Khan, F., Ahmad, S.R., Kronfli, E.y - Radiasi Menginduksi Perubahan Fisik



- dan Sifat Kimia Lignoselulosa, Biomakromoleku, pp. 7, 2303-2309, 2006.
- [24] Chosdu, R., Hilmy, N., Erizal, ETB, Abbas, B. Radiasi dan Bahan Kimia Pra-Pengolahan Limbah Selulosa Radiat. Phys. Chem. pp. 42, 695-698, 1993.
- [25] Karthika, K., Arun, A.B, Rekha, P.D. *Enzymatic hydrolysis and characterization of lignocellulosic biomass exposed to electron beam irradiation. Carbohydrate Polymers.* Vol.90. Issue2. Elsevier, pp. 1038-1045, 2012.
- [26] Pangesti, N.W.I., Arini,P., dan Estu R.N., Pengaruh Penambahan Molase pada Produksi Enzim Xilanase oleh Kapang *Aspergillus Niger* dengan Substrat Jerami Padi, Bioteknologi, pp. 9, 41-48.
- [27] Birch,R.M., dan Walker, G.M. , *Influence of Magnesium Ions on Heat Shock and Ethanol Stress Responses of Saccharomyces cerevisiae* Enzymol, Microbiol. Tech, pp. 26, 678-687, 2000.
- [28] Haltrich,D.,Nidetzky, B.,Kulbe , K.D., W., dan Zupancic S., *Production of Fungal Xy Lanases*, Biores. Technol, pp. 58, 137-161, 1996.
- [29] Fadhillah, S., Distantina E.K., Artati, A., Jumari, Biodelignifikasi Batang Jagung dengan Jamur Pelapuk Putih *P. chrysosporium*, Journal Ekuilibrium, pp. 7, 7–11. 2008.
- [30] Judoamidjojo, M., Abdul, A.D Endang, Teknologi Fermentasi, Rajawali Press. Jakarta, 1992.
- [31] Rahayuningsih. M., Toksisitas dan Aktivitas Dipteroidal Bioinsektisida *Bacillus thuringiensis israelensis* Tipe Liar dan Mutanpada Berbagai Formulasi Media dan Kondisi Kultivasi. Disertasi, Bogor, Institut Pertanian Bogor, 2003.
- [32] Kim, J.Y., Na, C.S., Kim, D.S., Kim, J.B., dan Seo Y.W., Efek dari Iradiasi Sinar Gamma Kronis pada Lignoselulosa dari *Branchypodium distachyon*. *Selulosa*, pp. 22, 2419-2430, 2015.
- [33] Nelson dan Suparjo. Penentuan Lama Fermentasi Kulit Buah Kakao dengan *Phanerochaete chrysosporium* Evaluasi Kualitas Nutrisi Secara Kimiawi ARGINAK., pp. 1, 1-10, 2011.
- [34] Harmsen, P.F.H., Huijgen, W.J.J., Lopez L.M.B., dan Bakker R.R.C., *Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass.*, Energy Research Centre of the Netherlands, pp. 1-49, 2010.
- [35] Choi, J., Kim, J.K., Srinivasan, P., Kim, J.H, Park, J.H, Byun, M.W., Lee J.W., *Comparison of Gamma Ray and Electron Beam Irradiation on Extraction Yield, Morphological and Antioxidant Properties of Polisaccharides from Tamarind Seed.*, Radiat. Phys.Chem, pp. 78, 605 – 609, 2009.
- [36] Orozco, R.S., Hernandez, P.B., Ramirez, N.F., Morales, G.R., Luna, J.S., dan Senin Toya A.J.C., *Gamma Irradiation Induced Degradation of Orange Peels*, Energies, pp. 5, 3051-306, 2012.
- [37] Sjostrom, E., Alen, R., *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping and Papermaking*, New York Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999.
- [38] Arya Sokanandi, Gustan Pari, Dadang Setiawan dan Saepuloh, Komponen Kimia Sepuluh Jenis Kayu Kurang Dikenal Kemungkinan Penggunaan Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol, Jurnal Penelitian Hasil Hutan, Vol. 32, pp. 209-220, 2014.

- 
- [39] Ardiansyah, Mulyani, S., Fridarti, Perubahan Kandungan Komponen Serat Pelepah dan Daun Sawit Melalui Fermentasi dengan Kapang *Phanerochaete chrysosporium*., Jurnal Universitas Taman Siswa Padang, pp. 2-13, 2014.
- [40] Waluyo, L. Mikrobiologi. Bogor CV Rajawali, 2004.
- [41] Kasmiran, A., Pengaruh Lama Fermentasi Jerami Padi dengan Mikroorganisme Lokal Terhadap Kandungan Bahan Kering, Bahan Organik dan Abu, Lentera, pp. 11, 2011.



