

PEMANFAATAN LIGNIN HASIL ISOLASI DARI LINDI HITAM PROSES BIOPULPING BAMBU BETUNG (*Dendrocalamus asper*) SEBAGAI MEDIA SELEKTIF JAMUR PELAPUK PUTIH

*(Lignin Use of Isolation Process from Black Liquor on The Biopulping of Betung Bamboo (*Dendrocalamus asper*) as Selective Media for White-rot Fungi)*

Oleh/By :

Sita Heris Anita¹, Dede Heri Yuli Yanto¹ & Widya Fatriasari¹

e-mail: sita.heris@biomaterial.lipi.go.id; steris_lalune@yahoo.co.id

UPT Balai Penelitian dan Pengembangan Biomaterial, LIPI, Cibinong -Bogor,
Telp. 021-87914511, Fax: 021-87914510

Diterima 18 Agustus 2011, disetujui 20 November 2011

ABSTRACT

*The utilization of black liquor produced in pulp and paper production has been limited for adhesive. In microbiology, black liquor can be used as a selective medium. The purpose of this study was to evaluate the performance of lignin isolated from black liquor of biopulping process as a selective medium for white-rot fungi. Lignin, from black liquor of soda and kraft pulping of bamboo betung was isolated by acid addition. Lignin solid was then purified using dioxan solution, weighed and qualitatively analyzed using a spectrophotometer. The isolated lignin was added to agar media to test the white-rot fungi selectivity (*Phanerochaete chrysosporium* and *Trametes versicolor*). The results showed that pretreatment of bamboo for 30 days give more lignin than the 45-days treated bamboo. Lignin solid from kraft process was also higher than lignin from soda process. Enzyme secretion from fungi *T. versicolor* occurs more rapidly than *P. chrysosporium* on selective media alkali-lignin.*

Keyword : Lignin, black liquor, biopulping, white-rot fungi, selective media

ABSTRAK

Lindi hitam merupakan limbah industri pulp yang belum termanfaatkan dengan baik. Pemanfaatan lignin dari lindi hitam selama ini biasanya hanya digunakan sebagai perekat. Dalam bidang mikrobiologi lignin dari lindi hitam dapat dimanfaatkan sebagai media selektif untuk isolasi jamur pelapuk putih. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui manfaat lignin hasil isolasi proses biopulping sebagai media selektif untuk jamur pelapuk putih. Lignin dari lindi hitam hasil biopulping bambu, dengan proses pemasakan soda dan kraft, diisolasi dengan penambahan asam. Padatan lignin kemudian dimurnikan menggunakan larutan dioksan dan ditimbang berat serta dianalisa secara kualitatif menggunakan spektrofotometer. Lignin hasil isolasi ditambahkan pada media agar untuk uji selektifitas jamur pelapuk putih *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trametes versicolor*. Pretreatment bambu pada 30 hari inkubasi menghasilkan lignin yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan inkubasi selama 45 hari. Padatan lignin yang diperoleh dari hasil biopulping proses kraft juga lebih tinggi jika dibandingkan pada proses soda. Pengujian selektifitas jamur pada media alkali lignin menunjukkan bahwa fungi *T. versicolor* mensekresi enzim lebih cepat daripada *P. chrysosporium*.

Kata kunci : Lignin, lindi hitam, biopulping, jamur pelapuk putih, media selektif

I. PENDAHULUAN

Perkembangan industri pulp di Indonesia meningkat pesat selama dua puluh tahun terakhir, dari 0,5 juta ton pada tahun 1987 menjadi 6,5 juta ton pada tahun 2010 (IWGFF 2010). Perkembangan tersebut tidak diimbangi dengan penanganan limbah yang dihasilkan. Limbah tersebut pada dasarnya masih memiliki daya guna lebih apabila ditangani secara serius. Limbah cair hasil samping pabrik pulp biasa disebut lindi hitam. Lindi hitam merupakan salah satu hasil sampingan yang belum termanfaatkan dengan baik. Lindi hitam mengandung bahan-bahan sisa proses pemasakan pulp. Lignin dan bahan organik lain keluar dari digester sebagai lindi hitam. Kandungan lignin pada lindi hitam sisa pemasakan pulp proses soda yaitu sekitar 7,4 g/L (Syamsudin *et al.* 2007).

Lignin dari lindi hitam dapat dimanfaatkan sebagai perekat karena adanya kecenderungan penurunan sumber perekat sintetik dari minyak bumi yang merupakan sumber daya tidak terbarukan. Selain sebagai perekat lignin juga dapat dimanfaatkan secara komersial sebagai bahan pengikat, pengisi, surfaktan, produk polimer, *dispersan* dan sumber bahan kimia lainnya terutama turunan benzena (Santoso *et al.* 2004). Dalam bidang mikrobiologi, lignin juga dapat digunakan sebagai media selektif untuk isolasi jamur pelapuk putih kelas Basidiomycetes (Thorn *et al.* 1996).

Kadar lignin pada lindi hitam dari proses biopulping diduga masih tinggi dan masih dapat dimanfaatkan. Bilangan kappa pulp dari proses biopulping bambu dengan jamur pelapuk putih *Trametes versicolor* dan *Pleurotus ostreatus* lebih rendah jika dibandingkan dengan tanpa perlakuan jamur pelapuk putih (Fatriasari *et al.* 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan lignin dalam lindi hitam dari pemasakan pulp dengan pretreatment jamur pelapuk putih lebih tinggi daripada tanpa pretreatment jamur.

Untuk mengetahui hal tersebut maka diperlukan proses isolasi untuk menguji besarnya kandungan lignin pada lindi hitam setelah proses biopulping. Proses isolasi lignin dari lindi hitam pada umumnya dengan cara pengendapan asam menggunakan asam sulfat, asam klorida, asam fosfat atau asam nitrat. Jenis asam yang digunakan berpengaruh terhadap rendemen lignin yang dihasilkan (Ibrahim *et al.* 2004). Pada penelitian ini isolasi dilakukan menggunakan metode konvensional yaitu dengan pemisahan zat-zat lain selain lignin, seperti selulosa.

Lignin hasil isolasi kemudian digunakan sebagai media selektif untuk pengujian jamur pelapuk putih *Trametes versicolor* dan *Phanerochaete chrysosporium*. Jamur pelapuk putih kelas Basidiomycetes merupakan jamur yang efektif mendegradasi lignin. Hal tersebut karena jamur pelapuk putih mampu menghasilkan enzim lakase (Lac), lignin peroksidase (Li-P) serta Mn-peroksidase (Mn-P) dengan aktivitas yang bervariasi. Jamur yang termasuk dalam jenis Basidiomycetes yang umum digunakan untuk mendegradasi lignin antara lain *Omphalina sp.*, *Marasmius sp.*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, dan lain-lain (Lobos *et al.* 2001; Sun dan Cheng 2002; Siswanto *et al.* 2007). Penelitian Siagian *et al.* 2003 menunjukkan bahwa jamur pelapuk putih salah satunya yaitu *Schizophyllum commune* dapat digunakan untuk biodelignifikasi kayu sengon, ditinjau dari terjadinya penurunan kadar lignin dan juga zat ekstraktif kayu.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kinerja lignin hasil isolasi dari proses biopulping sebagai media selektif untuk jamur pelapuk putih. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memanfaatkan lignin hasil isolasi dari proses biopulping untuk digunakan sebagai media isolasi jamur pendegradasi lignin.

II. METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di UPT Balai Penelitian dan Pengembangan Biomaterial, LIPI pada bulan Juli- Oktober 2009.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, lindi bitam, EDTA-2Na⁺, H₂SO₄ pekat, akuades, 1,4-dioksan, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O, KCl, NaNO₃, *Yeast Extract*, *Malt Extract*, KOH, agar-agar, aseton, etanol, *chloramphenicol*, *guaicol*, *benomyl*, penyaring kaca masir IG1; IG3, corong *Buchner*, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet tetes, pengaduk magnet, kertas pH universal, oven, spektrofotometer u-2001 Hitachi, sentrifus Centricone 1550 rpm, pengaduk kaca, cawan petri, *Laminar Air Flow*, *microsyringe*, pompa vakum, dan inkubator.

C. Prosedur Penelitian

1. Isolasi lignin

Lignin yang diperoleh dari proses biopulping bambu yang sudah diberi perlakuan jamur *Trametes versicolor* selama 30 dan 45 hari dengan proses pemasakan soda dan kraft disaring dengan penyaring kaca masir IG3 hingga volume filtrat mencapai 100 ml, kemudian ditambahkan 0,5 g EDTA-2Na⁺ lalu dihomogenkan. Larutan sampel dinetralkan dengan H₂SO₄ pekat kemudian diaduk teratur selama 1 jam. Selanjutnya larutan diasamkan hingga ± pH 3, kemudian didinginkan hingga suhu -20 °C. Setelah larutan menjadi beku, larutan di *thawing* dan endapan dicuci dengan air dingin kemudian endapan disaring dengan kaca masir IG1. Endapan yang telah bersih di keringkan dalam oven 60 °C hingga menjadi padatan yang kering.

2. Purifikasi lignin

Padatan lignin yang belum murni direndam dalam larutan dioksan-air 9:1 selama 1 jam. Larutan lignin disentrifugasi dengan kecepatan 1550 rpm selama 10 menit. Supernatan dipisahkan, sedangkan endapan dilarutkan kembali menggunakan larutan dioksana-air dengan nisbah 9:1 dan disentrifugasi kembali. Supernatan yang diperoleh merupakan lignin murni yang masih telarut dalam dioksan.

3. Analisis kualitatif dengan spektrofotometer

Lignin yang terlarut dalam dioksan yang telah dimurnikan dipipet sebanyak 0,3 ml dan ditambahkan 10 ml dioksan. Kemudian di masukkan ke dalam kuvet yang terbuat dari kwarsa kemudian di *scanning*.

4. Penggunaan lignin sebagai media selektif

a. Persiapan inokulum.

Biakan jamur *T. versicolor* yang didapatkan dari Puslit Kimia, LIPI, Serpong dikultur pada media MEA *slant* (dalam 250 ml aquades ditambahkan 8,875 g MEA dan 0,125 g *chloramphenicol*) selama 7 hari. Sebanyak 5 ml aquades steril dimasukkan ke dalam setiap *slant*,

jamur kemudian dirontokkan dengan ose. Sebanyak 1 ml suspensi tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri. Kemudian ke dalam cawan petri yang mengandung 1 ml inokulum jamur dimasukkan media JIS agar sebanyak 25 ml (dalam 1 L aquades ditambahkan 3 g KH_2PO_4 , 2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 25 g glukosa, 5 g pepton, dan 10 g *malt extract*, 20 g agar) dan diratakan kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 27 °C.

b. Persiapan media alkali lignin.

Dalam 1 liter aquades (sambil dipanaskan di atas *hotplate-stirrer*) ditambahkan bahan-bahan berikut: 1,5 g KH_2PO_4 ; 0,3 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,3 g KCl, 3 g NaNO_3 ; 0,3 g *Yeast Extract*; 1,5 g *Malt Extract*; 3 butir KOH, dan 30 g agar-agar. Kemudian media di sterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit. Media dibiarkan dingin hingga temperatur $\pm 50^\circ\text{C}$, kemudian secara aseptik ditambahkan 60 μL *guaicok*; 300 μL lignin; 0,75 g klorampenikol, dan 300 μL *benomyl*. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri 10-12 ml, dibiarkan hingga padat.

c. Uji media selektif alkali lignin.

Kultur jamur *T.versicolor* yang telah ditumbuhkan di media JIS agar diuji dengan media alkali lignin dengan metode inokulasi langsung (*direct plating method*). Pada media JIS agar yang mengandung jamur dilubangi dengan menggunakan *cork borer* dengan diameter 0,6 cm, kemudian inokulum tersebut diinokulasikan ke dalam media alkali lignin dan diinkubasi pada suhu 27 °C. Pengamatan pertumbuhan jamur dilakukan setiap hari selama 1 minggu dengan melihat pertumbuhan miselium dan perubahan warna merah pada media.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Lindi hitam, yang diperoleh dari proses *biopulping* bambu betung dengan pra-perlakuan jamur *T. versicolor* dengan proses pemasakan soda dan kraft, dikumpulkan dan dilakukan proses isolasi. Pengolahan pulp secara biologi merupakan proses pemanfaatan mikroba untuk melemahkan struktur dinding sel bahan berlignoselulosa dengan mendegradasi lignin. Penurunan kandungan lignin dalam bahan berlignoselulosa karena degradasi jamur akan mengurangi pemakaian bahan kimia. Keuntungan *biopulping* lainnya yaitu menurunkan kebutuhan energi pada proses *refining*, kekuatan fisik dari pulp juga meningkat, dan juga ramah lingkungan (Siagian *et al.* 2003; Yang *et al.* 2007).

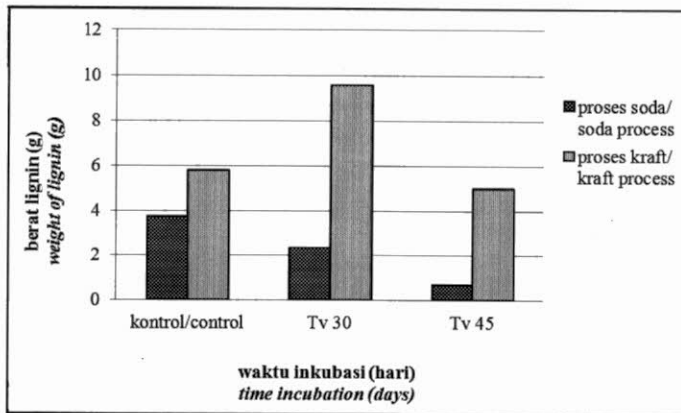
Hasil samping proses *pulping* adalah lindi hitam (*black liquor*). Lindi hitam dari masing-masing perlakuan diisolasi ligninnya dengan proses pengendapan. Perlakuan jamur selama 45 hari akan mendegradasi lignin pada bambu lebih banyak daripada perlakuan selama 30 hari, sedangkan kontrol tidak diberi perlakuan apapun. Penelitian Fatriasi *et al.* (2010) menunjukkan bahwa semakin lama waktu inkubasi *T. versicolor* pada bambu dengan proses pemasak soda dan kraft menghasilkan bilangan kappa yang lebih rendah dibanding kontrol. Bilangan kappa berhubungan dengan derajat keputihan atau delignifikasi pulp. Semakin rendah bilangan kappa maka semakin tinggi tingkat delignifikasi pulp yang artinya tingkat degradasi lignin pada bambu lebih intensif. Penelitian Wijaya *et al.* (2006) menunjukkan hal yang sama yaitu terjadi penurunan bilangan kappa sebesar 4,16% pada pulp tandan kosong kelapa sawit (TKKS) yang telah diberi perlakuan jamur *Phanerochaete cryso sporium*. Penurunan bilangan kappa tersebut menunjukkan bahwa aktivitas metabolisme *P. cryso sporium* dapat mengurangi kadar lignin pada pulp TKKS.

Proses isolasi lignin dari lindi hitam dilakukan dengan penambahan $2\text{Na}^+\text{-EDTA}$. Penambahan tersebut berguna untuk mengkelat ion Na^+ yang terdapat dalam lindi hitam yang berasal dari penggunaan NaOH pada proses soda dan penggunaan NaOH serta Na_2S pada proses kraft. Larutan lindi hitam kemudian dinetralkan hingga mencapai pH 6-7, sehingga terbentuk endapan dan larutan yang berwarna coklat. Proses penetralan bertujuan untuk melarutkan komponen -selulosa. Menurut Fengel dan Wegener (1995), -selulosa larut dalam suasana netral, sedangkan endapan yang tidak larut merupakan -selulosa.

Kandungan lignin dari proses soda dan kraft dengan perlakuan jamur *T. versicolor* selama 30 dan 45 hari tertera pada Gambar 1. Gambar tersebut menunjukkan bahwa lignin yang diperoleh dari proses kraft lebih banyak daripada lignin yang diperoleh dari proses soda.

Bobot lignin proses soda dengan pra-perlakuan jamur *T. versicolor* selama 30 hari (Tv 30) diperoleh hasil yang lebih besar dibandingkan dengan *T. versicolor* selama 45 hari (Tv 45). Hal tersebut karena jumlah lignin yang didegradasi oleh jamur Tv 30 lebih sedikit dibandingkan dengan Tv 45, sehingga pada saat proses isolasi, sisa lignin Tv 30 yang diperoleh menjadi lebih banyak yaitu sebesar 2,3123 g, sedangkan bobot lignin Tv 45 diperoleh sebesar 0,6651 g (Gambar 1).

Respon perolehan lignin dari proses kraft cenderung sama dengan proses soda dimana perlakuan pendahuluan dengan jamur Tv 45 menghasilkan lignin isolasi yang lebih sedikit yaitu sebesar 4,9944 g, sedangkan Tv 30 diperoleh lignin isolasi sebesar 9,5840 g, hal ini dikarenakan perlakuan pendahuluan Tv 45 lebih banyak mendegradasi lignin daripada Tv 30. Proses kraft menghasilkan perolehan lignin yang lebih banyak daripada proses soda, karena dalam proses kraft ditambahkan bahan kimia pemasak lain (Na_2S) selain NaOH Na_2S berfungsi sebagai akselerator proses pendegradasi lignin dari dinding sel lignoselulosa.



Gambar 1. Perolehan lignin pada proses soda dan kraft dengan pra-perlakuan *Trametes versicolor*

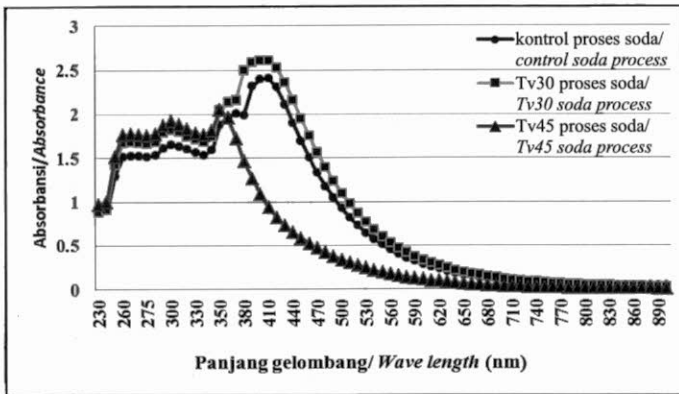
Figure 1. Lignin content on soda and kraft pulping after pretreatment using *Trametes versicolor*

Lignin hasil isolasi diuji dengan spektrofotometer UV-VIS untuk mengetahui pergeseran panjang gelombangnya akibat proses isolasi serta proses perlakuan pendahuluan dengan jamur. Spektrum UV-VIS lignin proses soda dan kraft tertera pada Gambar 2 dan 3.

Spektrum UV dari lignin proses soda terlihat empat puncak yaitu dari panjang gelombang 260-410 nm, dengan intensitas absorbansi dari yang tertinggi berturut-turut yaitu Tv 30, kontrol, Tv 45. Nilai kontrol yang lebih kecil diakibatkan oleh galat yang ditimbulkan saat proses isolasi lignin pada tahap pengendapan ada sejumlah kecil lignin yang belum terendapkan.

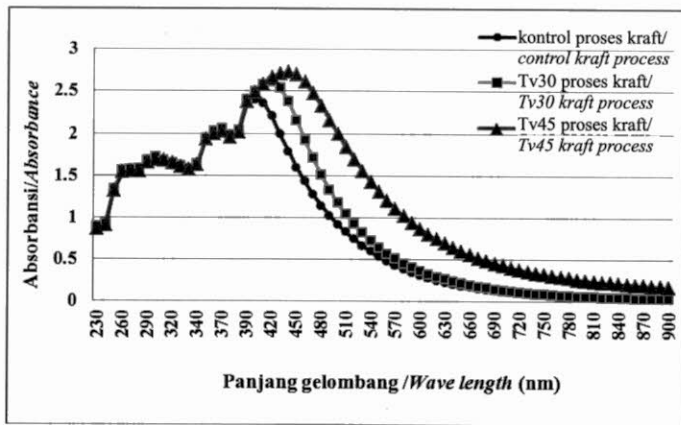
Spektrum UV-VIS dari lignin proses kraft menunjukkan nilai absorbansi yang tertinggi pada Tv 45 kemudian dilanjutkan dengan Tv 30 dan kontrol. Berbeda dengan lignin proses soda, puncak lignin kraft terlihat di panjang gelombang 230-430 nm dengan empat puncak terlihat jelas.

Lignin murni mempunyai puncak penyerapan pada panjang gelombang 280 nm (Feist dan Hon 2011). Pergeseran panjang gelombang lignin hasil isolasi terjadi karena lignin diperoleh dari lindi hitam sisa pembutan pulp yang sudah mengalami perubahan fisik dan kimia. Struktur lignin mengalami perubahan setelah proses pemasakan dan isolasi. Proses delignifikasi mengakibatkan perubahan dan hilangnya gugus fungsional struktur lignin asal karena lignin mengalami degradasi (Salminah 2001). Perubahan gugus fungsional lignin inilah yang dapat menyebabkan pergeseran panjang gelombang lignin hasil isolasi. Hal tersebut juga terlihat pada penelitian ini, lignin hasil isolasi dari proses biopulping baik dengan pemasakan soda maupun kraft menunjukkan pergeseran panjang gelombang ke arah kanan dari kontrol. Pada proses biopulping terjadi delignifikasi dalam bahan berlignoselulosa karena degradasi jamur (Siagian *et al.* 2003; Yang *et al.* 2007).



Gambar 2. Spektrum UV-VIS lignin proses soda
Figure 2. UV-VIS Spectrum of lignin on soda pulping

Lignin yang telah diisolasi kemudian digunakan sebagai media selektif untuk jamur pendegradasi lignin. Jamur yang dapat mendegradasi lignin akan tumbuh pada media selektif dengan ditandai terbentuknya lapisan warna merah disekitar tumbuhnya jamur. Lapisan merah yang terbentuk menandakan bahwa jamur menghasilkan enzim lignolitik yang dapat mendegradasi lignin pada media selektif (Thorn *et al.* 1996).



Gambar 3. Spektrum UV-VIS lignin proses kraft
 Figure 3. UV-VIS Spectrum of lignin on kraft process

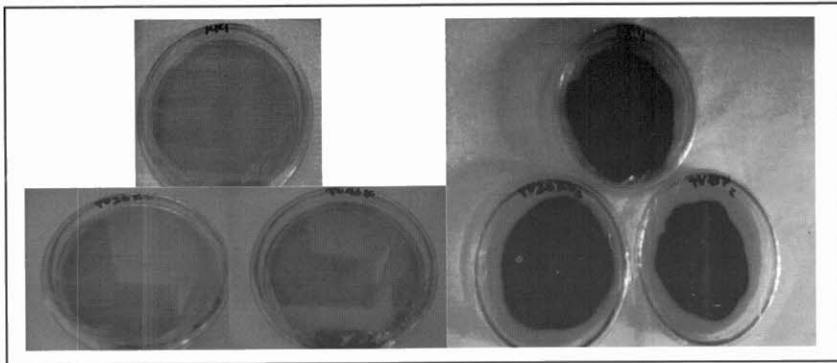
Tabel 1. Viabilitas dan aktivitas enzim *P. chrysosporium* dan *T. versicolor* pada media alkali-lignin

Table 1. Viability and enzyme activity of *P. chrysosporium* and *T. versicolor* on alkali-lignin media

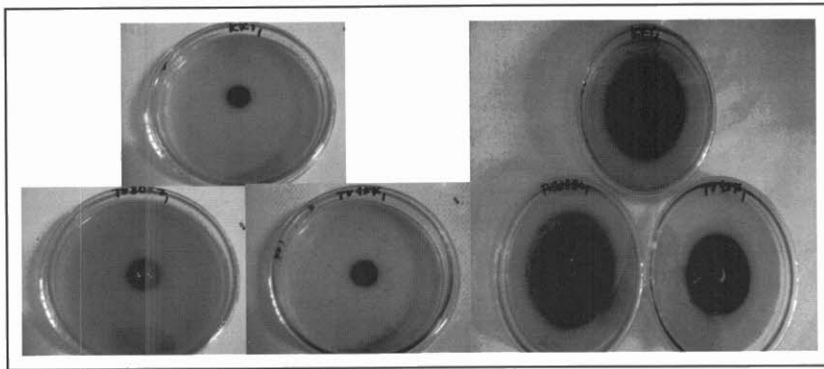
Jamur (<i>Fungi</i>)	Proses (<i>Process</i>)	Perlakuan (<i>Treatment</i>)	Hari ke- (<i>Days</i>)						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>P. chrysosporium</i>	Soda	Kontrol	■	■	■	■	■	■	■
		Tv30	■	■	■	■	■	■	■
		Tv45	■	■	■	■	■	■	■
	Kraft	Kontrol	■	■	■	■	■	■	■
		Tv30	■	■	■	■	■	■	■
		Tv45	■	■	■	■	■	■	■
<i>T. versicolor</i>	Soda	Kontrol	■	■	■	■	■	■	■
		Tv30	■	■	■	■	■	■	■
		Tv45	■	■	■	■	■	■	■
	Kraft	Kontrol	■	■	■	■	■	■	■
		Tv30	■	■	■	■	■	■	■
		Tv45	■	■	■	■	■	■	■

Keterangan (*Remarks*):

- Pertumbuhan miselium (*Growth of mycelium fungi*)
- Aktivitas enzim kuat (*Strong enzyme activity*)
- Aktivitas enzim lemah (*Weak enzyme activity*)



Gambar 4. Pertumbuhan dan aktivitas enzim *P. chrysosporium* pada media selektif alkali-lignin;kiri: awal inkubasi; kanan: akhir masa inkubasi
Figure 4. The growth and enzyme activity of *P. chrysosporium* on selective media alkali-lignin; left:early incubation; right: the end of incubation.



Gambar 5. Pertumbuhan dan aktivitas enzim *T. versicolor* pada media selektif alkali-lignin;kiri: awal inkubasi; kanan: akhir masa inkubasi
Figure 5. The growth and enzyme activity of *T.versicolor* on selective media alkali-lignin; left:early incubation; right: the end of incubation.

Berdasarkan data yang diperoleh pada Tabel 1. menunjukkan bahwa lignin hasil isolasi dari proses biopulping masih dapat digunakan sebagai media isolasi jamur pelapuk putih. Lignin yang terdapat pada media masih dapat digunakan sebagai indikator bahwa jamur pelapuk putih yang diujikan menghasilkan enzim lignolitik sehingga mampu mendegradasi lignin tersebut. Aktivitas enzim lignolitik, berdasarkan Gambar 4 dan 5, menunjukkan bahwa jamur *T.versicolor* lebih cepat mensekresi enzim dibandingkan dengan jamur *P. chrysosporium*. Hal tersebut dilihat dari warna merah yang terbentuk pada media di hari pertama inkubasi. Warna merah tersebut merupakan indikator mulai dihasilkannya enzim lakase dan peroksidase oleh jamur pelapuk putih (Thorn *et al.* 1996; Akhtar *et al.* 1997).

KESIMPULAN

Lignin hasil isolasi masih dapat digunakan sebagai indikator bahwa jamur pelapuk putih menghasilkan enzim lignolitik. Lignin hasil isolasi dari proses biopulping secara umum dapat dimanfaatkan sebagai media isolasi jamur pendegradasi lignin.

DAFTAR ACUAN

- Akhtar, M., M.J. Lentz, R.A. Blanchette, & T.K. Kirk. 1997. Corn Steep Liquor Lowers the Amount of Inoculum for Biopulping. *TAPPI Journal Online* 80 (6):161-164.
- Fatriasari, W., R. A. Ermawar, F. Falah, D. H. Y. Yanto, D. T. N. Adi, S. H. Anita, & E. Hermiati. 2010. Biopulping of betung bamboo using white rot fungi (*Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor*) with kraft and soda processes. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis (Accepted)*.
- Feist, W.C. & D.N.S. Hon. 2011. Kimia Pelapukan dan Perlindungan. <http://www.scribd.com/doc/26807362/Kimia-Pelapukan-Dan-an>. 29 hlm
- Fengel D, Wegener G. 1995. Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi. Edisi 2, Sastrohamidjojo, penerjemah; Prawirohatmodjo, penyunting. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Terjemahan dari: *Wood; Chemistry, Ultra Structure, Reaction*
- Ibrahim, M.N.M., S.B. Chuah, & W.D. Wan Rosli. 2004. Characterization of lignin precipitated from the soda black liquor of oil palm empty fruit bunch fibers by various mineral acids. *AJSTD*, 21 (1): 57-67.
- Ismiyati. 2009. Perancangan Proses Sulfonasi Lignin Isolat Tandan Kosong Kelapa Sawit menjadi Surfaktan Natrium Lignosulfonat (NLS). [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- IWGFF (Indonesian Working Group on Forest Finance). 2010. Perkiraan penggunaan sumber bahan baku industri pulp & paper, Studi advokasi PT RAPP & PT IKPP di propinsi Riau. http://www.savesumatra.org/app/webroot/upload/report/IWGFF_Studi_Riau.pdf. 38 hlm.
- Jusuf E, Muliani A, Halim G.A. 1994. Pemanfaatan Isolat Bakteri Aerob dari Lumpur Aktif Pabrik Kertas untuk Penurunan Warna Lindi Hitam. *Hayati* 1(2): 42-46.
- Lobos, S., M. Tello, R. Polanco, L.F. Larrondo, A. Manubens, L. Salas, dan R. Vicuna. 2001. Enzymology and molecular genetics of the ligninolytic system of the basidiomycete *Ceriporiopsis subvermisporea*. *Current Science* 81 (8): 992-997.
- Salminah, M. 2001. Karakteristik lignin hasil isolasi larutan sisa pemasak pulp proses semi kimia pada berbagai tingkat PH. Skripsi Fakultas Kehutanan, IPB, Bogor. 50 hlm.
- Santoso, A., S. Ruhendi, Y. S. Hadi, & S. S. Achmadi. 2004. Sintesis dan karakterisasi resin lignin resorsinol formaldehida sebagai perekat kayu lamina. *Majalah IPTEK-ITS*, 15 (3):89-98.

- Siagian, R.M., H. Roliadi, S. Suprapti, & S. Komarayati. 2003. Studi peranan fungi pelapuk putih dalam proses biodelignifikasi kayu sengon *Paraseriantbes falcataria* (L.) Nielsen. *Jurnal Ilmu & Teknologi Kayu Tropis*, 1(1): 47-56.
- Siswanto, Suharyanto, Fitria R. 2007. Produksi dan karakterisasi lakase *Omphalina* sp. *Menara Perkebunan*, 75(2):106-115.
- Sjostrom E. 1995. *Kimia Kayu, Dasar-dasar Penggunaan*. Edisi 2, Sastrohamidjojo, penerjemah; Prawirohatmodjo, penyunting. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Terjemahan dari: *Wood; Chemistry*
- Sun, Y. dan J. Cheng. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology* 83: 1-11.
- Syamsudin, S. Purwati, & I. Rostika. 2007. Pemanfaatan campuran limbah padat dengan lindi hitam dari industri pulp dan kertas sebagai bahan biobriket. *Berita Selulosa*, 42 (2): 67-74.
- Taherzadeh, M.J. dan K. Karimi. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 9:1621-1651.
- Thorn, R.G., C. A. Reddy, D. Harris, & E.A. Paul. 1996. Isolation of saprophytic Basidiomycetes from soil. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (11): 4288-4292.
- Wijaya, R., P. D. Islamy, & D. A. Iryani. 2006. Delignifikasi tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dengan *Phanerochaete chrysosporium*. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat, Lembaga Penelitian Universitas Lampung*, 213-217.
- Yang, Q., H. Zhan, S. Wang, S. Fu, & K.Li. 2007. Bio-modification of Eucaliptus chemithermo-mechanical pulp with different white-rot fungi: peer-reviewed. *BioResources* 2 (4): 682-692.