

BIOPULPING BAMBUN BETUNGG
MENGGUNAKAN KULTUR CAMPUR JAMUR PELAPUK PUTIH
(*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* dan *Phanerochaete crysosporium*)

Widya Fatriasari^{a*}, Sita Heris Anita^a, Faizatul Falah^a, Triyono Nugroho Adi^a dan Euis Hermiati^a

^a UPT BPP Biomaterial LIPI, Jl. Raya Bogor KM 46 Cibinong Bogor 16911

* Telp : 021 87914511, Fax : 021 87914510, e-mail : fatriasari@gmail.com

Diterima : 01 September 2010, Revisi akhir : 08 Desember 2010

BIOPULPING OF BETUNGG BAMBOO (*Dendrocalamus asper*)
USING MIXED CULTURE OF WHITE ROT FUNGI
(*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete crysosporium*)

ABSTRACT

*This research was to study the pretreatment effect of mixed culture fungi (*T.versicolor*, *P.ostreatus* and *P.crysosporium*) of betung bamboo on quality of pulp kraft and to determine the effect of pretreatment compared to monoculture. Bamboo chips were inoculated at room temperature and analysed by SEM. Bamboo chips was cooked by kraft process and analysed its properties i.e yield, kappa number, delignification selectivity, freeness and pulp brightness. Results showed that mixed culture pretreatment of *T.versicolor*, *P.ostreatus*, dan *P.crysosporium* gave better pulp quality compared to monoculture. Each fungi treatment gives different effect on pulp properties. Pulp yield was increased which compare to without fungi treatment. If three fungi species were mixed, it showed little positive effect on pulp properties. Mixed culture pretreatment can increased freeness. Meanwhile, pulp yield and delignification selectivity were increased, and kappa number was decreased. Fungi pretreatment can increase pulp brightness level compare to control. SEM image indicated a degradation of bamboo cell wall caused by fungi activity. The longer incubation time reduced kappa number and improved pulp yield and delignification selectivity. The highest pulp quality is by a co-culturing *T.versicolor* and *P.crysosporium* on 30 days incubation.*

Key words : white rot fungi, mixed culture, kraft pulping, betung bamboo, pulp quality

INTISARI

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh perlakuan kultur campur jamur *T. versicolor*, *P.ostreatus* dan *P. crysosporium* pada bambu betung dengan proses pemasakan kraft terhadap kualitas pulp. Selain itu, untuk mengetahui perbedaan pengaruhnya terhadap kualitas pulp yang dihasilkan dari perlakuan kultur tunggal. Bambu diinokulasi pada suhu ruang dan dianalisa dengan SEM. Bambu dimasak dengan proses kraft dan dianalisa kualitas pulp berupa rendemen pulp, bilangan kappa, selektifitas delignifikasi, derajat giling, dan derajat putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan awal kultur campur *T.versicolor*, *P.ostreatus*, dan *P.crysosporium* memberikan kualitas pulp yang lebih baik dibandingkan kultur tunggal ditinjau dari bilangan kappa, selektifitas delignifikasi dan rendemen. Masing-masing kombinasi perlakuan jamur memberikan respon yang berbeda. Terjadi peningkatan rendemen dibandingkan dengan kontrol. Jika ketiga spesies jamur dicampur maka kurang berpengaruh positif terhadap kualitas pulp. Perlakuan kultur campur menyebabkan pulp lebih kasar yaitu terjadi peningkatan derajat giling. Sedangkan rendemen dan selektifitas delignifikasi meningkat, serta bilangan kappa menurun. Perlakuan jamur meningkatkan derajat giling pulp dibandingkan kontrol. Pencitraan SEM menunjukkan perlakuan kultur campur menyebabkan degradasi dinding sel bambu. Bertambahnya lama inkubasi menyebabkan penurunan bilangan kappa, peningkatan selektifitas delignifikasi dan rendemen. Perlakuan terbaik adalah inokulasi secara bersamaan *T.versicolor* and *P.crysosporium* dengan lama inkubasi 30 hari.

Kata kunci : jamur pelapuk putih, kultur campur, kraft pulping, bambu betung, kualitas pulp

PENDAHULUAN

Bambu merupakan salah satu bahan baku non kayu yang digunakan secara luas untuk produksi pulp dan kertas di Asia (Vu dkk., 2004). Lebih lanjut berdasarkan Fatriasari dan Hermiati (2008), bambu betung dan bambu kuning memiliki tingkat kesesuaian yang relatif baik sebagai bahan baku pulp berdasarkan analisis morfologi serat dan sifat fisis-kimia dibandingkan dengan bambu tali, bambu andong, bambu ampel dan bambu hitam. Ketika pembuatan pulp bambu secara kimia, proses kraft umumnya lebih disukai daripada pulp proses soda (Vu dkk., 2004). Delignifikasi proses kraft memberikan hasil yang memuaskan serta menghasilkan rendemen dan viskositas tinggi (Vu dkk., 2004). Pendegradasian secara biologis bahan berlignoselulosa yang ramah lingkungan makin ditekankan akhir-akhir ini (Akhtar dkk., 1998; Yaghoubi dkk., 2008).

Jamur pelapuk putih mendapat perhatian penting digunakan dalam proses industri yang memanfaatkan bahan berlignoselulosa karena kemampuannya efektif dalam mendegradasi lignin (Akhtar dkk., 1998; Perez dkk., 2002; Kirk dkk., 1980; Leatham dkk., 1990; Scott dan Swaney, 1998; Scott dkk. 1998; Copur dan Tozluoglu, 2007). Selain itu jamur ini merupakan kelompok *basidiomycetes* yang paling efektif dalam perlakuan biologis pada bahan berlignoselulosa (Sun dan Cheng 2002; Zhang dkk. 2007; Fujita dkk. 1993; Islam dkk. 2008; Kondo dkk. 1994; Garzillo dkk. 1998; Lim dkk. 2003). Akan tetapi banyak dari jamur ini selain mendegradasi lignin juga mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Blanchete 1999; Daniel 1994; Akhtar, dkk., 1998). Jamur ini tidak hanya mampu memproduksi enzim pendegradasi lignin, tapi juga mampu berpenetrasi pada substrat untuk menyalurkan enzim ini dalam bahan seperti serpih kayu (Wolfaardt dkk., 2004).

Penelitian pemanfaatan jamur pelapuk putih dalam proses pembuatan pulp sebagian besar dilakukan pada bahan kayu (Scott dkk., 1995; Akhtar 1998; Mosai dkk., 1999; Behrendt dkk. 2000; Hunt dkk., 2004, Shukla dkk., 2004). Proses *biopulping* pada bahan lain, misalnya bagas dilaporkan oleh Ramos dkk., 2001; Akhtar, dkk., 1998 dan pada kenaf, jerami padi, batang jagung, dan gandum dilaporkan oleh Akhtar dkk., 1999 serta bambu (Fitria dkk. 2006,

Fatriasari dkk. 2007, 2009, 2010). Keuntungan *biopulping* antara lain penghematan energi, peningkatan kekuatan lembaran, grup asam pada kayu, mengurangi polusi lingkungan, penurunan bilangan kappa dan peningkatan derajat putih untuk *sulphite* dan pulping Kraft (Nishida dkk. 1988; Akhtar dkk. 1992, 1993; Fujita dkk. 1993; Messner dan Srebotnik 1994; Islam dkk. 2008; Hunt dkk. 2004; Yang dkk. 2007; Zhang dkk. 2007; Sun dan Cheng 2002; Behrendt dkk. 2000; Islam dkk. 2008). Selain itu, menurut Perez, dkk., 2002, perlakuan biologis dapat menghilangkan ekstraktif pada kayu dan mengurangi *pitch* dan efek toksik. Tetapi, studi Akhtar dkk., 1992 dan Leatham dkk., 1990 (Yang dkk., 2007) menunjukkan bahwa perlakuan jamur menyebabkan kekuatan pulp menurun. Kontradiksi ini oleh Setlife dkk., 1990 (Yang, dkk., 2007) diduga karena perbedaan tipe jamur dan perbedaan kondisi perlakuan yang digunakan pada beberapa studi tersebut. Perlakuan biologis pada kayu sebelum pembuatan pulp kimia, tidak memiliki pengaruh yang sama dengan pembuatan pulp biomekanis (Wolfaardt dkk., 2004) dan pulp biokraft yang diinvestigasi hanya untuk kayu daun lebar (Wolfaardt et. al., 2004)

Banyak variabel yang mempengaruhi *biopulping*. Lebih dari 30 variabel yang berhubungan dengan *biopulping* termasuk spesies dan strain jamur, bentuk inokulum dan jumlahnya, jenis kayu, ukuran serpih kayu, faktor lingkungan, pengaruh penambahan nutrisi, perlunya sterilisasi serpih kayu (Akhtar, 2000).

Penggunaan jamur pelapuk putih secara bersamaan dalam suatu campuran inokulum pada proses *biopulping* belum banyak diteliti karena umumnya menggunakan kultur tunggal. Sedangkan penggunaan kultur campur pada proses *biopulping* bahan non kayu khususnya pada bambu sejauh yang peneliti ketahui ini belum dipublikasikan, sedangkan perlakuan awal kultur campur kayu aspen telah dilakukan oleh Chi, dkk., 2007. Pada kultur campur diharapkan jamur pelapuk putih yang berbeda jenis mampu bersimbiosis secara sinergis dalam mendegradasi lignin pada bahan berlignoselulosa khususnya bambu betung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan kultur campur jamur pelapuk putih *T. versicolor*, *P. ostreatus* dan *P. cryosporium* terhadap sifat-sifat pulp kraft yang dihasilkan dan membandingkan dengan hasil perlakuan kultur tunggal.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Bahan Baku

Bambu segar tanpa kulit yang digunakan adalah bambu betung (*Dendrocalamus asper* (Schult.f.), berumur kurang lebih 2 tahun dari Nanggawer, Cibinong. Bambu tersebut dibuat serpih berukuran $\pm 1,6$ cm dengan *hammermill*. Untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme kontaminan, selanjutnya serpih bambu disimpan dalam lemari pendingin sampai siap digunakan. Sehari sebelum digunakan potongan bambu tersebut dikeluarkan dari lemari pendingin dan dibiarkan sampai mencapai suhu ruang. Bambu yang akan diberi perlakuan jamur disterilkan dari kontaminan dengan uap panas terbuka dalam *autoclave* selama 45 menit pada suhu 121°C.

Persiapan Inokulum

Biakan jamur *T. versicolor*, *P. ostreatus* dan *P. cryosporium* dikultur pada medium *Slant Malt Extract Agar* (MEA) (10.65 g MEA dalam 300 ml aquades) selama 7-14 hari. Sebanyak 5 ml medium JIS Broth dimasukkan ke dalam masing-masing agar miring, jamur kemudian dirontokkan dengan ose. Suspensi tersebut kemudian dituang ke dalam 95 ml medium JIS Broth (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) dan diinkubasi selama 7-8 hari dalam kondisi stasioner. Sebanyak 10 gram *corn steep liquor* dituangkan ke dalam 100 ml inokulum (10% inokulum stock). Inokulum dihomogenkan dengan *waring blender* dengan kecepatan tinggi selama dua kali 20 detik. Campuran ini dinamakan inokulum stok.

Metode Inokulasi

Serpih bambu (250 berat kering oven/BKO) dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas. Ada 4 kelompok perlakuan yaitu pertama : pencampuran inokulum PC (*P. cryosporium*) dan TV (*T. versicolor*), kedua : inokulum PC (*P. cryosporium*) dan PO (*P. ostreatus*), ketiga : inokulum PO (*P. ostreatus*) dan TV (*T. versicolor*), keempat : pencampuran inokulum PC (*P. cryosporium*), TV (*T. versicolor*) dan PO (*P. ostreatus*). Total inokulum cair yang diinjeksikan secara merata dalam serpih bambu

adalah 25 ml. Serpih bambu dalam kantong plastik kemudian diinkubasi dalam suhu ruang (29-30°C) selama 30 dan 45 hari.

Pembuatan dan Pengujian Pulp

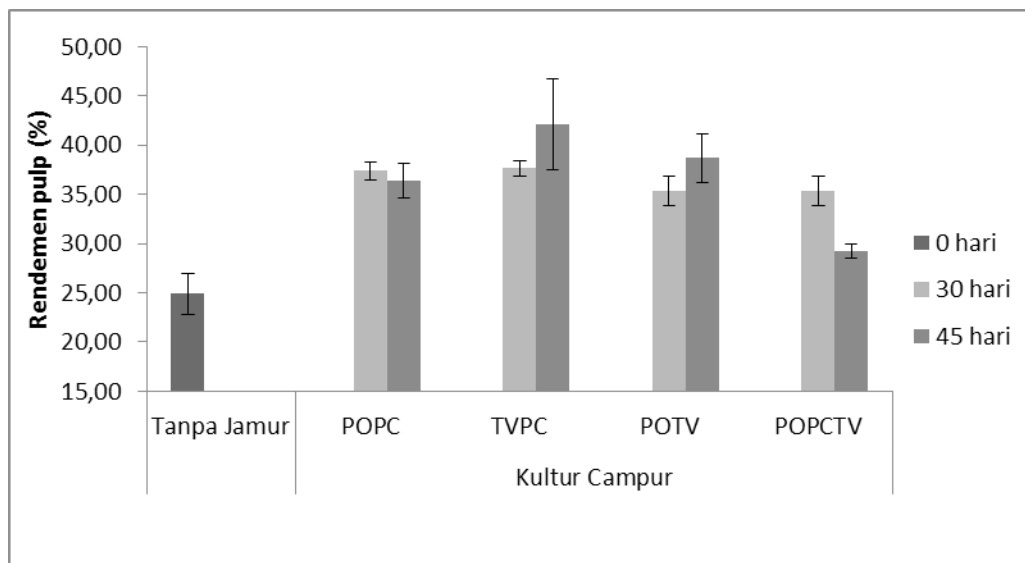
Serpih bambu yang telah diinkubasi dengan kedua jenis jamur sampai masa inkubasi berakhir dianalisa dengan SEM dan dimasak dengan proses Kraft dengan kondisi sebagai berikut: alkali aktif 20% terhadap BKO dan sulfiditas 15% terhadap BKO (berat kering oven), L: W = 1:5 (L=berat serpih, W=larutan pemasak), lama pemasakan 3 jam, pada suhu 170°C. Setelah dimasak, serpih direndam dalam air dingin 1 L selama 24 jam untuk mengoptimalkan sisa-sisa bahan pemasak dalam melunakkan serpih. Selanjutnya serpih dicuci sampai bebas alkali dan di-*mixer* untuk menguraikan serat.

Pada pulp hasil pemasakan proses kraft dengan kultur campur dalam 2 waktu inkubasi ini dilakukan pengujian terhadap pulp yaitu rendemen dengan metode gravimetri (TAPPI T210 cm-93), dianalisa bilangan Kappa (TAPPI 236 cm-85), kemampuan drainase dengan *freeness tester* (TAPPI T227 cm-85), selektifitas delignifikasi (rasio karbohidrat tertinggal/lignin sisa dalam pulp) dan derajat putih (SNI 14-4733-1998; SNI 14-0696-1998). Analisa terhadap kualitas pulp ini dapat menunjukkan perlakuan yang memberikan kualitas pulp terbaik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Pulp

Keefektifan proses pulping diindikasikan dengan perolehan rendemen pemasakan yang tinggi. Parameter ini sangat penting karena biaya bahan baku memegang peranan penting dalam biaya produksi pulp. Pemberian perlakuan jamur pelapuk putih yang selektif diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap rendemen pulp. Pada studi sebelumnya (Fatriasari dkk., 2009) pada proses *biopulping* bambu betung menggunakan kultur tunggal *T. versicolor* dan *P. ostreatus* dengan proses Kraft dan soda telah diketahui bahwa proses pemasakan sangat mempengaruhi besarnya nilai rendemen untuk perlakuan *T. versicolor* 45 hari, yang mana rendemen tertinggi dan terendah terjadi pada kondisi ini dan semakin lamanya masa inkubasi cenderung berpengaruh positif terhadap rendemen.



Gambar 1. Pengaruh Perlakuan Awal Kultur Campur Jamur Pelapuk Putih (PC, PO dan TV) terhadap Rendemen Pulp Bambu Betung

Gambar 1 menyajikan pengaruh perlakuan kultur campur jamur pelapuk putih (TV, PC dan PO) terhadap bambu betung pada kedua waktu inkubasi terhadap rendemen pulp. Gambar 1 memperlihatkan bahwa jika dibandingkan dengan bambu tanpa perlakuan jamur (kontrol), tampak bahwa perlakuan kultur campur mampu meningkatkan rendemen yang dihasilkan. Perlakuan jamur ini cukup selektif yang mana tidak banyak karbohidrat yang hilang. Peningkatan rendemen berkisar antara 15-41%, tertinggi pada PCTV dengan inkubasi 45 hari dan yang terendah pada PCPOTV dengan inkubasi 45 hari. Secara parsial degradasi atau lignin termodifikasi lebih mudah dioksidasi, sehingga mengurangi kesempatan penyerangan karbohidrat (Islam dkk., 2007). Akan tetapi rendemen pulp kultur campur rata-rata lebih rendah dari pulp kimia dari kayu skala komersial (40-55%) (Karlsson dkk., 2001). Hal ini kemungkinan karena proporsi sel parenkim yang cukup tinggi pada bambu. Seperti diketahui sel ini sangat mudah hancur pada proses pemasakan sehingga berkontribusi menurunkan rendemen total pulp.

Pengaruh waktu inkubasi dikelompokkan menjadi dua yaitu pertama yang memberikan efek peningkatan rendemen dengan semakin lamanya inkubasi yaitu TVPC (11.95%), POTV (9.45%) dan yang kedua yang memberikan efek penurunan yaitu POPC (2.56%) dan POPCTV (17.28%). Efek peningkatan rendemen ini tampaknya juga

terjadi pada kultur tunggal PO (16.82%) dan TV (23.60%), sedangkan penurunan rendemen terjadi pada perlakuan awal dengan PC (8.28%) (Fatriasari dkk., 2009). Jika dilihat lebih jauh, ketika inokulum PO dan TV dicampur akan memberikan peningkatan rendemen yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan peningkatan rendemen kultur tunggal. Meskipun kultur tunggal PC sendiri memiliki efek penurunan terhadap rendemen tapi jika dicampur dengan inokulum jamur lain bisa memiliki efek yang berbeda.

Menurut Boddy (2000), ada tiga kemungkinan interaksi antar jamur yaitu interaksi antagonistik yang menghasilkan eksploitasi nutrisi yang lebih cepat, parasitisme, atau bentuk interaksi *deadlock* yang mana tidak ada hifa jamur yang masuk ke substrat/saling menempati dan interaksi sinergis yaitu jamur dapat berperan dalam interaksi untuk mendegradasi substrat yang sama. Oleh karena itu fenomena peningkatan rendemen ini mungkin terjadi yang mana spesies jamur TVPC dan POTV berperan sinergis/mutualisme. Selain itu Perez dkk., 2002 mengungkapkan bahwa perlakuan jamur pada proses *biopulping* mampu memperbaiki penetrasi kimia bahan pemasak. Mekanisme ini diduga melalui efek penghilangan ekstraktif, delignifikasi lignin secara selektif sebelum proses pulping sehingga lebih banyak bagian lignin yang reaktif yang memungkinkan berikatan dan bereaksi dengan bahan kimia

pemasak. Selain itu sedang dilakukan studi sejauh mana kinerja enzim pada jamur tersebut terhadap morfologi serat dan perubahan sifat kimianya sebelum bambu dimasak. Kemungkinan terjadi penurunan reaksi pengelupasan *end group* aldehyd pada rantai selulosa, sehingga lebih banyak karbohidrat yang tersimpan.

Hasil interaksi jamur bervariasi tergantung ukuran dan kualitas sumber nutrisi dan iklim mikro (Boddy, 2000). Sehingga mungkin saja terjadi interaksi negatif/antagonistik. Penurunan rendemen pada perlakuan PCPO dan PCTVPO karena tampaknya pencampuran interaksi PCPO ataupun ketiga jenis jamur ini secara bersamaan justru menyebabkan berkompetisi tempat dan konsumsi nutrisi yang terbatas sehingga terjadi penurunan rendemen yang cukup besar dibandingkan dengan kombinasi perlakuan lain. Hal ini berarti kinerja enzim yang diproduksi oleh ketiga jenis jamur tersebut tidak saling mendukung pertumbuhannya dalam substrat. Kemungkinan lain adalah kombinasi perlakuan ini tidak cukup selektif mendegradasi lignin, sehingga banyak holoselulosa yang ikut terdegradasi terutama pada *end group* aldehyd, yang pada akhirnya menyebabkan penurunan rendemen pulp. Kemungkinan hemiselulosa yang memiliki rantai bercabang dengan derajat polimerisasi rendah yang banyak terdegradasi dibandingkan selulosa dengan rantai lurus yang lebih stabil. Hanya saja perlu dilihat sejauh mana penurunan bagian holoselulosa (hemiselulosa dan selulosa) akibat perlakuan kombinasi kultur campur ini dibandingkan dengan pengaruh kinerja bahan pemasak terhadap penurunan rendemen. Karena pada proses pulping sendiri kemungkinan juga terjadi degradasi karbohidrat pada *end group* (aldehyd) yang tidak stabil (mudah tereduksi).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ermawar, dkk., 2006 pada jerami padi dan Fitria dkk., 2007 pada bagas melaporkan bahwa bersamaan dengan hilangnya lignin terjadi kehilangan holoselulosa (alfaselulosa dan hemiselulosa), yang mana dengan makin lamanya inkubasi jamur makin besar pula kehilangan holoselulosanya. Selain itu Anita dkk., 2009 mengungkapkan bahwa pada perlakuan menggunakan *T. versicolor* komponen holoselulosa yang hilang pada umumnya adalah hemiselulosa sedangkan pada perlakuan menggunakan *P. ostreatus*, komponen terbesar holoselulosa yang hilang adalah alfa selulosa.

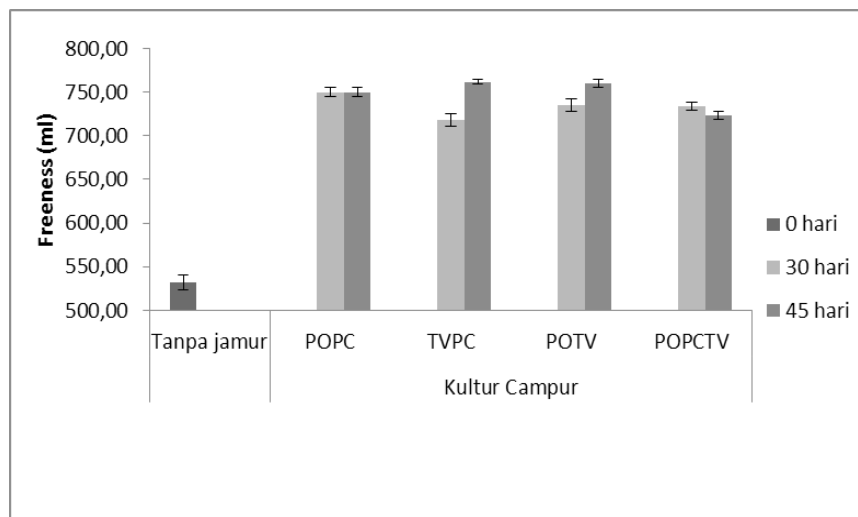
Freeness

Freeness menunjukkan laju suspensi larutan pulp melepaskan air yang dibawanya, atau kemampuan pulp mengikat air. Cara penentuan yang umum dengan *Canadian Standard Freeness* (CSF) (Tappi T 227 om-92, 1992 dalam Wistara, 2000). Derajat *freeness* pulp adalah jumlah (ml) air yang ditampung melalui saluran samping pada alat *freeness tester*. Jika air melewati pulp dengan cepat maka sebagian besar air akan melewati saluran samping, sehingga akan memberikan nilai *freeness* yang tinggi, tetapi jika lembaran pulp menahan air (laju keluarnya air lambat) maka sebagian kecil air akan melewati saluran samping, sehingga nilai *freeness* pulp yang diperoleh rendah (Wistara, 2000).

Gambar 2 menunjukkan pengaruh perlakuan kultur campur jamur pelapuk putih terhadap *freeness* pulp bambu. Berdasarkan gambar tersebut tampak hal yang menarik yaitu *freeness* pulp kraft lebih tinggi dari bambu yang tidak diberi perlakuan jamur (kontrol). Meskipun demikian penulis menduga bahwa respon yang diberikan pulp dengan perlakuan kultur campur ini terhadap proses fibrilasi akan lebih baik. Jika demikian maka akan terjadi penghematan energi untuk mencapai *freeness* yang sama. Beragamnya jenis serat yang menyusun suatu lembaran dapat menyebabkan perbedaan nilai *freeness*, dimana jika kandungan *finer* pulp cukup tinggi, maka lembaran di dalam *freeness tester* akan menahan air lebih lama karena *finer* menutup semua rongga lembaran atau *finer* menyebabkan lembaran menjadi rapat (Wistara, 2000). Oleh karena itu perlu dilihat lebih jauh jenis penyusun serat pada pulp dengan perlakuan awal jamur dibandingkan dengan pulp kontrol.

Gambar 2 juga menunjukkan bahwa respon *freeness* akibat perlakuan jamur dengan bertambahnya waktu inkubasi ada tiga pengelompokan yaitu tidak terjadi perubahan (POPC), terjadi peningkatan (TVPC (6%) dan POTV (3.4%) serta terjadi penurunan (POPCTV). sebesar 1.4%. Jika dibandingkan dengan *freeness* kultur tunggal studi sebelumnya (Fatriasari dkk., 2009) menunjukkan umumnya serat pulp lebih kasar kecuali TVPC dengan lama inkubasi 30 hari dan POPCTV dengan inkubasi 45 hari.

Meskipun serat yang diperoleh oleh perlakuan jamur ini lebih kasar, tetapi perlakuan ini cukup menjanjikan dilihat dari kualitas pulp yang lain.



Gambar 2. Pengaruh Perlakuan Awal Kultur Campur Jamur Pelapuk Putih (PC, PO dan TV) terhadap *Freeness* Pulp Bambu Betung

Karena kehalusan serat ini dapat ditingkatkan melalui proses fibrilasi misalnya dengan disk *refiner*, hanya saja perlu diantisipasi lama / frekuensi penggilingan guna meminimalisasi serat yang terpotong. Secara fisik setelah perlakuan kultur campur pada serpih bambu menjadi relatif lebih lunak, namun ternyata tidak berpengaruh positif terhadap derajat *freeness* pulp. *Freeness* pulp yang diperoleh dari berbagai kombinasi perlakuan ini masih relatif tinggi sehingga belum memenuhi persyaratan pembuatan kertas yang baik jika tanpa perlakuan tambahan yaitu penggilingan.

Bilangan Kappa

Bilangan kappa menunjukkan tingkat kematangan dan daya terputihkan atau derajat delignifikasi pulp. Bilangan ini dapat dijadikan sebagai alat untuk membandingkan kadar lignin sisa dalam pulp antar perlakuan. Pulp dengan derajat kematangan yang baik akan memberikan nilai bilangan kappa yang rendah dalam pengujiannya. Gambar 3 menyajikan pengaruh perlakuan awal kultur campur jamur pelapuk putih (PC, PO dan TV) terhadap bilangan kappa pulp bambu betung. Gambar 3 menunjukkan perlakuan perlakuan awal kultur campur memberikan efek seperti yang telah diduga sebelumnya yaitu penurunan bilangan kappa bila dibandingkan dengan bambu kontrol. Penurunan bilangan kappa ini berkisar antara 77-91%. Penurunan bilangan kappa terbesar terjadi pada perlakuan awal

dengan TVPC dengan lama inkubasi 30 hari dan penurunan yang terendah terjadi pada perlakuan awal TVPCPO dengan inkubasi 30 hari. Selain itu kecuali perlakuan TVPC, kombinasi kultur campur ini memberikan efek penurunan bilangan kappa seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Penurunan terendah pada POTV yaitu 5% dan yang tertinggi pada POTVPC yaitu 42%. Informasi ini berimplikasi terhadap penggunaan kombinasi kultur jamur tersebut, yaitu jika POTV dan TVPC yang digunakan maka inkubasi cukup selama 30 hari sedangkan perlakuan TVPC karena penambahan waktu inkubasi selama 45 hari justru meningkatkan bilangan kappanya (18%). Hal ini kemungkinan karena bertambahnya waktu inkubasi menyebabkan sistem kinerja enzim tidak sinergis. Jika kultur campur POTVPC dan POPC yang digunakan maka diperlukan waktu inkubasi 45 hari.

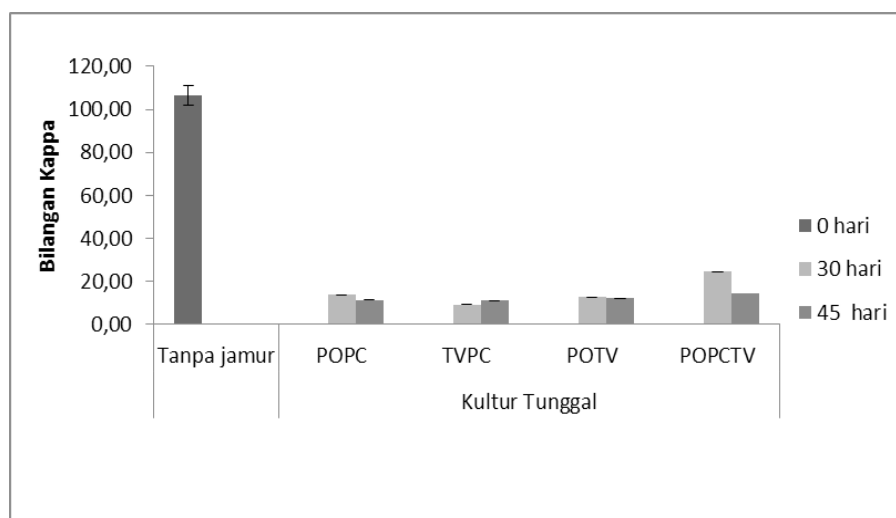
Penurunan bilangan bilangan kappa ini merupakan akibat langsung dari sekresi enzim lignolitik yang diproduksi oleh jamur pelapuk putih. Seperti diketahui bahwa jamur pelapuk putih merupakan agen yang paling atraktif untuk mengubah lignin sisa dari proses kraft (Islam dkk., 2007), dan unik di antara mikroorganisme lain dalam kapasitas mendepolimerisasi dan metabolisme lignin. Jamur pelapuk ini tidak hanya memproduksi seluruh rangkaian enzim untuk degradasi lignin tapi juga dapat berperan sebagai *transporter* untuk enzim ini dengan membawanya ke dalam serpih kayu dan mengubah kondisi psikologis yang dibutuhkan untuk reaksi

enzimatik (Islam dkk., 2007). Jamur *T.versicolor* menghasilkan enzim mangan peroksidase (MnP), lakase, hemiselulase, dan selulase (Yang et. al., 2007). Perez dkk. (2002) menambahkan enzim ini menggunakan mediator yang berberat molekul rendah untuk menyerang lignin. Sedangkan menurut Kofujita, 1991; Rutiman, dkk., 1992; dalam Lobos dkk., 2001, dan Hossain dan Anantharaman, 2006 mengatakan bahwa *Postreatus* dan *T.versicolor* memproduksi 3 jenis enzim ligninolitik yaitu *laccase*, *lignin peroxidase* (LiP) dan *mangan peroksidase* (MnP). *Lignin peroksidase* (LiP), yang secara imunologis dan struktural berbeda dari mangan, menunjukkan kemampuan mengoksidasi bagian ikatan lignin. Kebalikannya, peran yang dilakukan oleh MnP dalam mendegradasi lignin secara tidak langsung dengan menyediakan H₂O₂ untuk reaksi lignin peroksidase (Kirk dan Chang, 1980; Tien dan Kirk, 1984; Kirk dan Eriksson, 1981; Hossain dan Anantharaman, 2006).

Perlakuan awal jamur menyebabkan pengembangan dan hilangnya struktur dinding sel, yang meningkatkan porositas serpih substrat. Porositas sel terjadi awalnya dalam proses kolonisasi oleh jamur pendegradasi lignin (Nishida dkk., 1988; Akhtar dkk., 1992; Islam dkk., 2007). Selain itu jamur ini menghilangkan dan atau memodifikasi lignin dalam dinding sel yang mungkin dihilangkan dengan mudah selama proses pemasakan kraft. Porositas yang lebih tinggi mendorong jumlah produksi sisa pemasakan yang lebih sedikit. Perlakuan jamur mendorong perubahan fisika kimia dalam dinding

sel sehingga memperbaiki penetrasi bahan kimia dan selanjutnya membantu proses pulping kraft (Islam dkk., 2007). Target delignifikasi dengan proses kraft adalah tidak terkondensasinya ikatan lignin β -O-4, yang mana ikatan karbon dengan karbon (β - β , β -1, β -5, dan 5-5) lebih tahan terhadap degradasi kimia (Baucher, dkk., 2003). Ikatan β aryl ether dalam struktur lignin merupakan ikatan yang paling dominan (Baucher, dkk., 2003; Hon 1996) sehingga pemutusan ikatan ini akan mendorong terjadinya fragmentasi lignin yang lebih efektif (Fengel dan Wegener, 1989; Sjostrom,1995).

Aktivitas interaksi kultur campur yang bersifat sinergis tampaknya terjadi pada hampir semua perlakuan yang mana spesies jamur berkoordinasi untuk mendegradasi substrat bambu yang sama. Hanya saja bertambahnya waktu inkubasi tidak selalu berkorelasi positif dengan penurunan bilangan kappa (perlakuan TVPC dengan lama inkubasi 45 hari). Kemungkinan setelah melewati inkubasi 30 hari, interaksi kedua jamur ini lebih bersifat antagonistik. Akan tetapi dugaan ini perlu dibuktikan lebih lanjut. Penambahan waktu inkubasi yang menyebabkan penurunan bilangan kappa dapat dijelaskan sebagai akibat aktivitas yang lebih intensif pada proses pendegradasian lignin dengan semakin lamanya waktu inkubasi. Studi sebelumnya dengan SEM (*Scanning Electron Microscopy*) menunjukkan bahwa *Postreatus* dengan inkubasi 8 minggu mendegradasi dinding sel dan lamela tengah pada kayu *beech* (Ermawar dkk., 2006), sedangkan untuk studi tentang kemampuan *T.versicolor*



Gambar 3. Pengaruh Perlakuan Awal Kultur Campur Jamur Pelapuk Putih (PC, PO dan TV) terhadap Bilangan Kappa Pulp Bambu Betung

SEM pada pulping *eucalyptus* dengan proses CTMP tampak kurang terjadi perubahan antara kontrol dengan pulp yang diberi perlakuan jamur (Yang dkk., 2007). Sejauh ini peneliti belum menemukan informasi tentang perubahan ultrasruktur kultur campur pada bambu betung sebagai penguat atas penjelasan tersebut.

Jika dibandingkan studi sebelumnya pada bambu betung menggunakan kultur tunggal PO dan TV oleh Fatriasari dkk., 2007 menunjukkan bahwa aktivitas pendegradasian lignin ataupun perubahan struktur lignin tampaknya lebih efektif menggunakan kultur campur. Hal ini ditinjau dari kualitas pulp yang dihasilkan terutama bilangan kappa dan rendemen, dimana penurunan bilangan kappanya jauh lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang terbaik pada kultur tunggal yaitu dengan TV selama 45 hari. Hal ini berimplikasi pemilihan perlakuan yang terbaik pada aplikasi proses *biopulping* adalah dengan kultur campur.

Selektifitas Delignifikasi

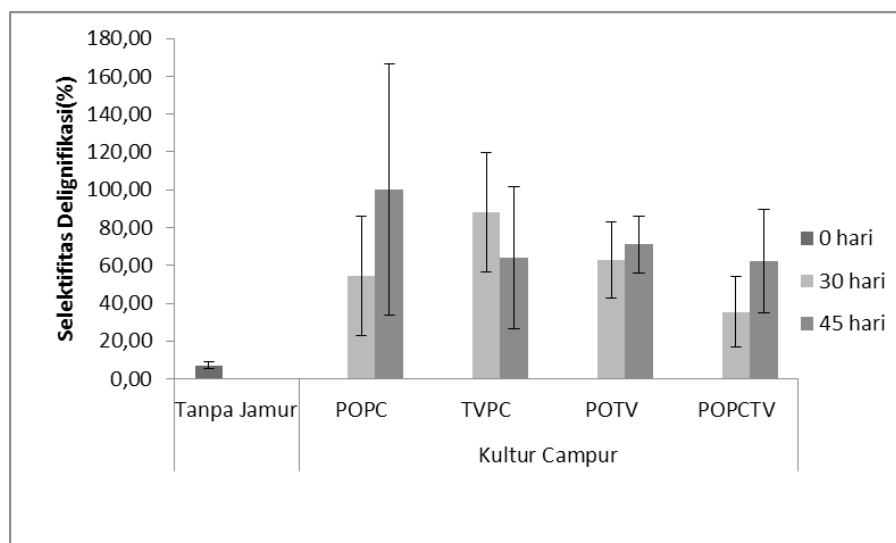
Selektifitas delignifikasi merupakan pengukuran keefektifan proses pulping yang melibatkan perlakuan dengan kultur campur. Nilai selektifitas yang lebih tinggi mengindikasikan aktivitas pendegradasian lignin lebih intensif dibandingkan dengan laju pendegradasian karbohidrat dalam proses pulping. Umumnya selektifitas delignifikasi bambu yang diberi perlakuan kultur campur lebih tinggi daripada

kontrol (Gambar 4). Hal ini sebagai implikasi dari lebih intensifnya aktivitas pendegradasian lignin dibandingkan dengan degradasi holoselulosa. Perlakuan kultur campur ini berarti cukup efektif untuk meningkatkan selektifitas delignifikasi dimana yang tertinggi adalah pada POPC 45 hari dan yang terendah pada TVPC 30 hari. Peningkatan waktu inkubasi untuk semua perlakuan terbukti berpengaruh positif terhadap peningkatan nilai selektifitas delignifikasi ini meskipun masing-masing perlakuan memiliki sensitifitas yang berbeda. Jamur memfasilitasi penghilangan lignin pada dinding sel sehingga proses pulping kraft lebih efektif.

Jika dibandingkan dengan kultur tunggal penelitian sebelumnya oleh Fatriasari dkk., 2007 menunjukkan peningkatan selektifitas yang cukup signifikan. Hal ini berarti perlakuan kultur campur pada bambu betung memiliki respon yang lebih baik, dalam hal ini interaksi yang terjadi antar jamur aktivitas yang sinergis dalam substrat yang sama.

Brightness

Derajat putih dari pulp atau kertas dinyatakan dalam skala 0% (hitam mutlak) sampai 100% (relatif terhadap standar MgO, yang mempunyai kecerahan mutlak 96%) oleh pantulan cahaya biru (457 nm) dari kertas. Pulp kraft yang tidak diputih rata-rata memiliki derajat putih pulp 20%. (Bierman, 1996; Smook, 1994).



Gambar 4. Pengaruh Perlakuan Awal Kultur Campur Jamur Pelapuk Putih (PC, PO dan TV) terhadap Selektivitas Delignifikasi Pulp Bambu Betung

Gambar 5 menunjukkan derajat putih pulp kraft bambu betung setelah mendapatkan perlakuan awal kultur campur jamur pelapuk putih *T.versicolor*, *P.cryosporium* dan *P.ostreatus* pada lama inkubasi 30 dan 45 hari. Berdasarkan gambar tersebut tampak bahwa perlakuan awal kultur campur TVPC dan POTV menunjukkan derajat putih yang relatif lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan pencampuran ketiga inokulum jamur tersebut (PC, TV dan PO) justru memberikan derajat putih yang paling rendah. Hal ini berarti pada variasi pencampuran dengan dua inokulum lebih bersifat sinergis mendegradasi lignin pada substrat.

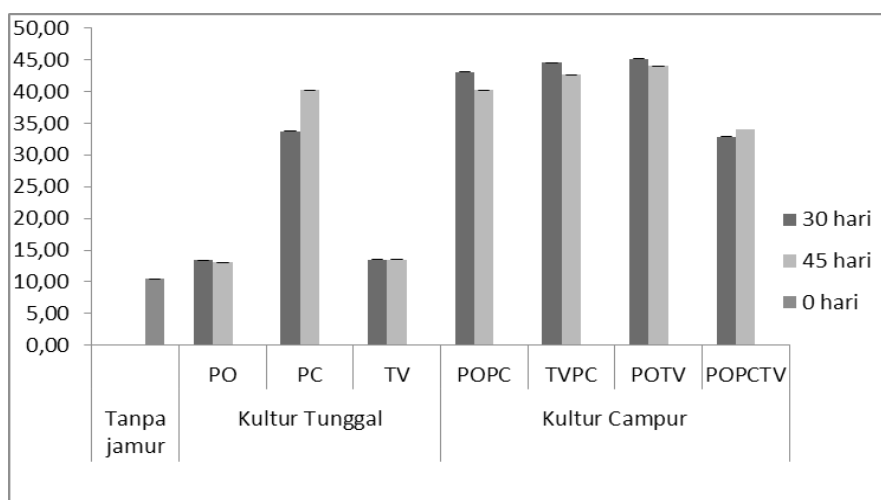
Perlakuan awal kultur campur menyebabkan peningkatan derajat putih yang tinggi (3-4.5 kali) dibandingkan dengan bambu betung tanpa perlakuan. Sedangkan perlakuan kultur tunggal hanya memberikan sedikit peningkatan derajat putih (PO dan TV). Hal ini mengindikasikan bahwa perlakuan kultur campur dan kultur tunggal PC yang diberikan mampu meningkatkan kecerahan pulp karena penurunan lignin yang terkandung dalam pulp akibat aktivitas enzim yang dikeluarkan oleh jamur. Hal ini didukung oleh penurunan bilangan kappa pada pulp akibat perlakuan yang diberikan. Secara umum penggunaan inokulum secara bersamaan (*co-culture*) jamur akan memberikan efek yang lebih sinergis dibandingkan perlakuan kultur campur ketiga jenis jamur tersebut. Selain itu dari gambar tersebut tampak bahwa secara umum lama inkubasi tidak memiliki kecenderungan yang sama terhadap penurunan/kenaikan derajat putih. Bertambahnya

lama inkubasi cenderung berpengaruh positif terhadap derajat putih pulp perlakuan POPC, POPCTV, TV dan PC, sedangkan pada perlakuan POTV, TVPC dan PO justru terjadi hal sebaliknya. Hal ini berarti bahwa lama inkubasi memiliki pengaruh yang spesifik terhadap derajat putih pulp untuk masing-masing perlakuan. Hal ini terkait dengan mekanisme kesinergian masing-masing kombinasi perlakuan dalam mendegradasi lignin dalam substrat secara spesifik.

SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Gambar 6A-H menunjukkan hasil pencitraan SEM pada bambu betung setelah perlakuan awal kultur campur TV, PC dan PO pada lama inkubasi 30 dan 45 hari. Berdasarkan gambar tersebut tampak bahwa pemberian perlakuan jamur pada substrat menyebabkan terjadinya aktivitas pendegradasian pada dinding sel bambu. Meskipun demikian hampir semua kombinasi perlakuan masing-masing jamur tampaknya memiliki derajat pendegradasian yang tidak signifikan perbedaannya.

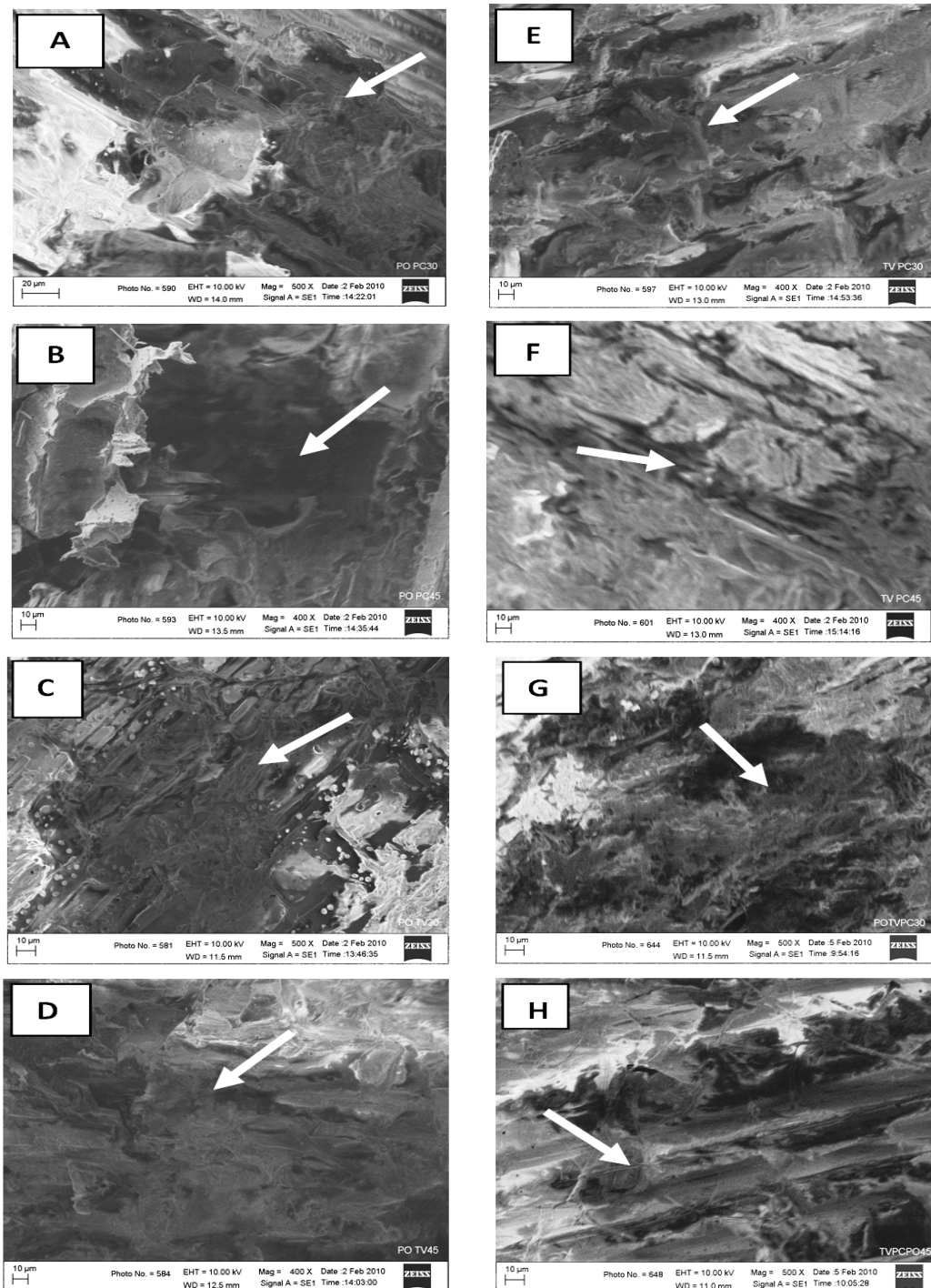
Aktivitas pendegradasian dinding sel bambu juga terjadi pada bambu betung dengan perlakuan awal kultur tunggal yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Fatriasari dkk. (2010). Untuk lebih melihat tingkat kedalaman penetrasi akibat aktivitas jamur dengan baik dengan kultur tunggal maupun campur akan dilihat perubahan ultrastruktur pada tingkat serat pada penelitian selanjutnya. Secara umum, tampaknya lama inkubasi juga semakin



Gambar 5. Pengaruh Perlakuan Awal Kultur Campur dan Tunggal Jamur Pelapuk Putih (PC, PO dan TV) terhadap Derajat Putih Pulp Bambu Betung

menambah tingkat kerusakan yang terjadi pada dinding sel bambu. Meskipun demikian hal ini perlu dibuktikan lebih lanjut sehingga dapat dibandingkan perlakuan yang memberikan efek paling signifikan terhadap perlakuan baik kultur tunggal maupun campur. Mekanisme yang mungkin dari degradasi dinding sel dijelaskan

oleh Akhar dkk. (1998). Jamur mungkin berkolonisasi pada semua bagian *xylem*, pertama melalui *vessel* dan parenkim. Jamur menangkap nutrient yang disimpan di sel parenkim jari-jari dan kemudian berkolonisasi dalam parenkim untuk mendistribusikan meselium jamur melalui kayu gubal.



Gambar 6. Pencitraan SEM pada Perlakuan Awal Bambu dengan Kultur Campur Jamur Pelapuk Putih (POPC 30 hari (A), POPC 45 hari (B), POTV 30 hari(C), POTV 45 hari (D), TVPC 30 hari (E), TVPC 45 hari (F),TVPCPO 30 hari (G),and TVPCPO 45 hari)

KESIMPULAN

1. Perlakuan awal bambu dengan kultur campur *T.versicolor*, *P.ostreatus*, dan *P.crysosporium* memberikan kualitas pulp yang lebih baik dibandingkan dengan kultur tunggal.
2. Pencampuran ketiga spesies jamur dalam satu sistem *substrat* kurang memberikan pengaruh positif terhadap kualitas pulp.
3. Perlakuan kultur campur umumnya menyebabkan pulp lebih kasar, sedangkan sifat pulp yang lain seperti yang diharapkan
4. Derajat putih pulp kultur campur umumnya lebih baik dibandingkan dengan kultur tunggal dan lebih tinggi dibandingkan kontrol.
5. Bertambahnya lama inkubasi cenderung menyebabkan penurunan bilangan kappa dan peningkatan selektifitas delignifikasi dan rendemen.
6. Hasil SEM menunjukkan perlakuan kultur campur menyebabkan degradasi dinding sel meskipun perbedaan antar perlakuan tidak tampak nyata.
7. Perlakuan yang memberikan sifat pulp terbaik adalah TVPC dengan inkubasi 30 hari dengan rendemen 37.63%, bilangan kappa 9.32, selektifitas delignifikasi 88.03%, *brightness* 44.56 % ISO

DAFTAR PUSTAKA

- Anita, S. H., T.Fajriutami, Fitria, R. A. Ermawar, D. H. Y. Yanto, E.Hermiati.2009. *Perlakuan awal bagasse menggunakan kultur tunggal dan kultur campuran jamur pelapuk putih Trametes versicolor dan Pleurotus ostreatus*. Dipresentasikan di Seminar Nasional "Biomass Utilization for Alternative Energy and Chemicals". Universitas Parahyangan Bandung.23-24 April 2009
- Akhtar, M., E.G.Horn, M.J.Lentz, G.M.Scott, M.S. Sykes, G.C.Myers, T.K.Kirk, R.E.Swaney. 1999.*Toward commercialization of biopulping*. Paper Age. February 1999
- Akhtar, M., G. M.Scott, R.E.Swaney, T.K.Kirk. 1998. *Overview of biomechanical and biochemichal pulping research in : Eriks-son,K-El,Cavaco-Paulo, A (eds), Enzyme Applications in Fiber Processing*. American Chemical Society. Washington,DC
- Akhtar,M.,G.M.Scot,R.E.Swaney,D.F.Shipley. 2000. *Biomechanichal pulping: a mill-scale evaluation*. Resource, Conservation and Recycling 28: 241-252
- Baucher, M., C. Halpin, M.Petit-Conil,and W. Boerjan.2003. *Lignin: Genetic Engineering and Impact on Pulping*. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 38:305–350
- Behrendt, C.J., R. A. Blanchette, M, Akhtar, S.A. Enebak, S.Iverson and D.P.Williams. 2000. *Biomechenichal pulping with Phlebiopsis gigantea reduced energy consumption and increased paper strength*. Tappi Journal Peer Reviewed Paper 83 (9): 1-8. September 2000
- Bierman, J. C. 1996. *Handbook of Pulping and Papermaking*. Elsevier Science & Technology Book. ISBN : 0120973626. Pp 123-136
- Boddy,L. 2000. *Interspesific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes*. FEMS Microbiology Ecology 31:185-194
- Chi,Y,A.Hatakka,P.Maijala.2007. *Can co-culturing of two white rot fungi increase lignin degradation and the production of lignin-degrading enzymes?.* www.sciencedirect.com
- Copur, Y and A.Tozluoglu.2007.*The effect of AQ and NaBH4 on bio-kraft delignification (Ceriporiopsis subvermispora) of brutia pine chips*. International Biodeterioration & Biodegradation 60:126–131
- Ermawar, R.A., D.H.Y.Yanto, Fitria, and E.Hermiati. 2006. *Lignin degradation content in rice straw pre-treated by white-rot fungi*. Jurnal Widya Riset 9 (3): 197-202
- Fatriasari, W, E. Hermiati. 2008. *Analisis morfologi serat dan sifat fisis-kimia pada enam jenis bambu sebagai bahan baku pulp dan kertas*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Hutan 1 (2): 67-72
- Fatriasari W., R. Annisa Ermawar, F. Falah, D. H. Y. Yanto, E. Hermiati. 2009. *Pulping soda panas terbuka bambu betung dengan praperlakuan fungi pelapuk putih (Pleurotus ostreatus dan Trametes versicolor)*. Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Hutan 2 (2): 45-50

- Fatriasari, W, R. A. Ermawar, F.Falah, D. H.Y.Yanto, dan E. Hermiati. 2007. *Biopulping bambu betung menggunakan fungi pelapuk Putih (Pleurotus ostreatus dan Trametes versicolor)*. Laporan Teknik Akhir Tahun 2007. UPT BPP Biomaterial LIPI
- 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 (P.ostreatus and T.versicolor) with kraft and soda processes*. Jurnal Ilmu Kayu tropis (dalam proses)
- Fengel, D and G. Wegener. 1989. *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reaction*.Walter de Gruyter, Berlin
- Fitria, R. A. Ermawar, W.Fatriasari,T. Fajriutami,D. H. Y. Yanto, F. Falah, E. Hermiati.2006. *Biopulping bambu menggunakan jamur pelapuk putih Schizophyllum commune*. Laporan teknik akhir tahun 2006. Penelitian dan penguasaan teknologi, UPT BPP Biomaterial
- Fitria, D.H.Y.Yanto, R.A.Ermawar, dan E.Hermiati. 2007. *Pengaruh perlakuan pendahuluan dengan jamur pelapuk putih (Trametes versicolor dan Pleurotus ostreatus) terhadap kadar lignin dan selulosa bagasse*. Laporan Teknik Akhir Tahun 2007. UPT BPP Biomaterial LIPI
- Hon, D .N.-S.1996. *Chemical modification of lignocellulosic materials*. Marchel Dekker,Inc. Madison Avenue, New York, Basel, Hongkong
- Hossain, Sk. M. and N. Anantharaman. 2006. *Activity enhancement of ligninolytic enzymes of Trametes versicolor with bagasse powder*. African Journal of Biotechnology 5 (1): 189-194. <http://www.academicjournals.org/AJB>. [16 January 2006]
- Hunt, C., W. Kenealy, E. Horn and C. Houtman. 2004. *A Biopulping mechanism: creation of acid groups on fiber*. Holzforschung 58: 434 – 439
- Islam, M. N., M. R. Karim. R. O. Malinen. 2008. *Beneficial effects of fungal treatment before pulping and bleaching of Acacia mangium and Eucalyptus camaldulensis*. Turk J.Agric For 32: 331-338
- Karlsson, H, AB Lorentzen & Wettre. 2006. *Fibre Guide : Fibre Analysis and Process Applications in The Pulp and Paper Industry*. AB Lorentzen & Wettre, Box 4, SE-164 93, Kista, Sweden
- Lobos,S.,M.Tello,R.Polanco,L.F.Larrondo, A.Manubens, L.Salas and R.Vicuna.2001. *Enzymology and molecular genetics of the ligninolytic system of the basidiomycete Cereperiopsis subvermispora*. Current Science 81 (8): 992-997
- Lim, Y. W., K. S. Baik, S. K. Han, S. B. Kim and K. S. Bae. 2008. *Burkholderia sordidicola sp. nov., isolated from the white-rot fungus Phanerochaete sordida*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiolog 53:1631–1636
- Mosai, S., J.F. Wolfaardt, B.A. Prior and L.P. Christov. 1999. *Evaluation of selected white-rot fungi for biosulfite pulping*. Bioresource Technology 68: 89 – 93
- Perez, J., J.Munoz-Dorado, T. De la Rubia and J. Martinez. 2002. *Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and lignin: an overview*. Int. Microbiol 5: 53-63
- Ramos, J., M. Gonzalez, F. Ramirez, R. Young and V. Zuniga. 2001. *Biomechanical and biochemical pulping of sugarcane bagasse with Ceriporiopsis subvermispora fungal and xylanase pretreatments*. J. Agric Food Chem 49: 1180 – 1186
- Scott, G.M., M. Akhtar, M. Lentz. 1995. *Fungal pre-treatment of wood chips for sulfite pulping*. Proceedings of the 1995 TAPPI Pulping Conference, Book I: 355 – 361
- Shukla, O.P. 2004. *Biopulping and biobleaching: an energy and environment saving technology for indian pulp and paper Industry*. Enviro News Newsletter of ISEB India 10 (2)
- Sjostrom, E. 1995. *Kimia kayu “Dasar-dasar dan Penggunaan”*.Edisi 2. Penerjemah Hardjono Sastrohamidjojo dan Soenardi Prawirohadmodjo Gajah Mada University Press
- Smook, A.G. 1994. *Handbook for Pulp & Paper Technologists*. Second Edition. Angus Wilde Publications Inc.Vancouver. pp 163-185
- Sun, Y. and Cheng, J. 2002. *Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review*. 2002. Bio resource Technology 83: 1 – 11
- TAPPI. 1993. *Kappa Number of Pulp: The Pulp Properties Committe of The Process and Product Quality Division*.Technical Association of Pulp and Paper Industry. Atlanta

- Vu, T.H.M., H. Pakkanen, R. Alen. 2004. *Delignification of bamboo (Bambusa procera acher) Part I. Kraft pulping and the subsequent oxygen delignification to pulp with a low kappa number. Industrial Crops and Products. An International Jurnal* 19: 49-50
- Wistara, N.. 2000. *Sifat Penyerapan air oleh pulp akibat perbedaan konsistensi penggilingan dan pendauran. Jurnal Teknologi Hasil Hutan* 12 (1): 36-43
- Wolfaardt, F., J.L. Taljaard, A. Jacobs, J.R. Male, C.J. Rabie. 2004. *Assessment of wood-inhabiting basidiomycetes for biokraft pulping of softwood chips. Bioresource Technology* 95: 25-30
- Yaghoubi, K., M. Pazouki, S.A. Shojaosadati. 2008. *Variable Optimization for Biopulping of Agricultural Residues by Ceriporiopsis subvermispora. Bioresource Technology* 99:4321-4328
- Yang, Q., H. Zhan, S. Wang, S. Fu, and K. Li. 2007. *Bio-modification of eucalyptus chemithermo-mechanical pulp with different white-rot fungi. Bioresource* 2 (4):682-692
- Zhang, X., H. Yu, H. Huang, Y. Liu. 2007. *Evaluation of biological pretreatment with white rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms. International Biodeterioration & Biodegradation* 60:159-164
-