POTENSI SELULASE DALAM MENDEGRADASI LIGNOSELULOSA LIMBAH PERTANIAN UNTUK PUPUK ORGANIK

Trisanti Anindyawati
Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI
Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911

Diterima : 22 September 2010, Revisi akhir : 01 Desember 2010

CELLULASE POTENCY IN DEGRADATION OF AGRICULTURAL WASTE FOR ORGANIC FERTILIZER

ABSTRACT

It is quite evident that agriculture product waste is abundant. Further process of it will produce a value-added product such as organic fertilizer. Lignocellulose waste contain important compounds, i.e cellulose, hemicellulose and lignin (include rice straw, wood, bagasse). In the degradation process maximum results will be attained through a necessary pretreatment - mechanical, physico-chemical, chemical and biological. Lignocellulolitic microbes consisting of molds, bacteria and actinomycetes were able to degrade lignocellulosic materials to produce organic fertilizers, whereas anaerobic bacteria can produce multi-enzyme complex / cellulosome.

Key words : cellulase, agricultural wastes, lignocellulose, organic fertilizer

INTISARI

Limbah pertanian yang berlimpah merupakan suatu bahan yang mempunyai nilai tambah bila diproses lebih lanjut, salah satunya adalah untuk pupuk organik. Limbah lignoselulosa seperti jerami padi, kayu, bagas terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin. Untuk memperoleh hasil yang maksimal pada proses degradasi, diperlukan perlakuan awal yang bisa dilakukan secara mekanik, fisika-kimia, kimia dan biologi. Mikroba lignoselulolitik yang terdiri dari kapang, bakteri dan aktinomisetes dapat mendegradasi bahan lignoselulosa untuk menghasilkan pupuk organik, termasuk bakteri anaerob yang dapat menghasilkan multi enzim kompleks/selulosom.

Kata kunci : selulase, limbah pertanian, lignoselulosa, pupuk organik

PENDAHULUAN

Limbah pertanian mengandung banyak bahan lignoselulosa yang bisa didegradasi oleh selulase. Bahan lignoselulosa merupakan komponen organik berlimpah di alam, yang terdiri dari tiga polimer yaitu selulosa, hemiselulosa dan lignin. Komponen terbesar adalah selulosa (35-50%), hemiselulosa (20-35%) dan lignin (10-25%) (Saha, 2004). Komponen ini merupakan sumber utama untuk menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, bahan kimia, bahan bakar cair, sumber karbon dan energi. Konversi bahan lignoselulosa banyak dipelajari dari mikroba selulolitik maupun xilanolitik (Pason dkk, 2003). Kesulitan yang dihadapi dalam proses degradasi lignoselulosa adalah susunan yang heterogen dari polisakarida yang terdapat pada dinding sel.

Selulosa merupakan polimer linier dari D-glukosa yang terikat pada ikatan 1,4 glikosidik dan sangat erat berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin. Hemiselulosa merupakan salah satu penyusun dinding sel tumbuhan yang terdiri dari kumpulan beberapa unit gula/ heteropolisakarida dan dikelompokkan berdasarkan residu gula utama sebagai penyusunnya seperti xilan, mannan, galactan dan glucan (Fengel dan Wegener, 1995). Menurut Perez dkk, 2002, hemiselulosa mempunyai berat molekul rendah dibandingkan dengan selulosa dan terdiri dari D-xilosa, D-mannosa, D-galaktosa, D-glukosa, L-arabinosa, 4-0-metil glukoronat, D-galakturonat dan asam D-glukoronat. Lignin

merupakan polimer aromatik yang berasosiasi dengan polisakarida pada dinding sel sekunder tanaman. Pada umumnya, lignin mengandung tiga jenis alkohol aromatik yaitu coniferyl, sinapyl dan p-coumaryl (Howard dkk, 2003).

Pada tanaman, selulosa dilapisi oleh polimer yang sebagian besar terdiri dari xilan dan lignin. Xilan dapat didegradasi oleh xilanase, akan tetapi lignin sangat sulit terdegradasi. Jika xilan dan lignin dihilangkan, maka selulosa dapat didegradasi oleh selulase dari bakteri atau kapang selulolitik untuk menghasilkan selobiosa dan glukosa. Selobiosa sering berfungsi menghambat sistem kerja dari selulase dan proses selulolitik akan cepat berhenti bila tidak ada mikroba sakarolitik lainnya dalam ekosistim tersebut. Kelebihan selobiose yang dihasilkan akan dimanfaatkan oleh mikroba sakarolitik tersebut sehingga mikroba selulolitik dapat melanjutkan degradasi selulosa (Bayer dkk,1994).

Proses *pretreatment* pada bahan lignoselulosa perlu dilakukan untuk mempermudah proses hidrolisis yaitu untuk membuka struktur lignoselulosa agar selulosa menjadi lebih mudah diakses oleh enzim yang memecah polimer polisakarida menjadi bentuk monomer, sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim dan dapat menekan biaya (Dashtban dkk, 2009). Pengelolaan limbah pertanian yang banyak mengandung lignoselulosa untuk dijadikan pupuk organik dengan bantuan mikroorganisma pengurai dapat dilakukan untuk menggantikan penggunaan pupuk anorganik yang masih banyak digunakan dan bersifat tidak ramah lingkungan.

Di dalam tulisan ini akan dibahas limbah pertanian yang banyak mengandung lignoselulosa, proses *pretreatment* sebelum dihidrolisis oleh selulase dan potensi selulase dalam mendegradasi limbah selulosa untuk pupuk organik.

LIMBAH PERTANIAN DAN LIGNOSELULOSA

Limbah pertanian seperti jerami, bonggol jagung, kulit kacang kacangan merupakan limbah lignoselulosa yang masih mempunyai nilai ekonomis bila dilakukan pengolahan lebih lanjut. Sejalan dengan perkembangan bioteknologi, pemanfaatan mikroba dalam proses biokonversi limbah dapat dilakukan guna mendapatkan nilai tambah dari bahan limbah tersebut menjadi produk lain seperti pupuk, bioetanol, pakan ternak dan sebagainya. Pada umumnya, limbah pertanian mengandung bahan lignoselulosa yang merupakan komponen utama dari tanaman. Penggunaan bahan lignoselulosa lebih menarik dibandingkan dengan bahan berpati karena tidak bersaing dalam penggunaan untuk kepentingan pangan (Singhania, 2009).

Bahan lignoselulosa bisa diperoleh dari berbagai sumber, misalnya tangkai kayu, jerami padi, daun, rumput dan sebagainya. Komponen bahan lignoselulosa yang terdiri dari polimer selulosa, hemiselulosa dan lignin ini sangat kompleks. Dalam proses degradasi, penggunaannya sebagai substrat harus melalui beberapa tahapan antara lain delignifikasi untuk melepas selulosa dan hemiselulosa dari ikatan kompleks lignin dan depolimerisasi untuk mendapatkan gula bebas.

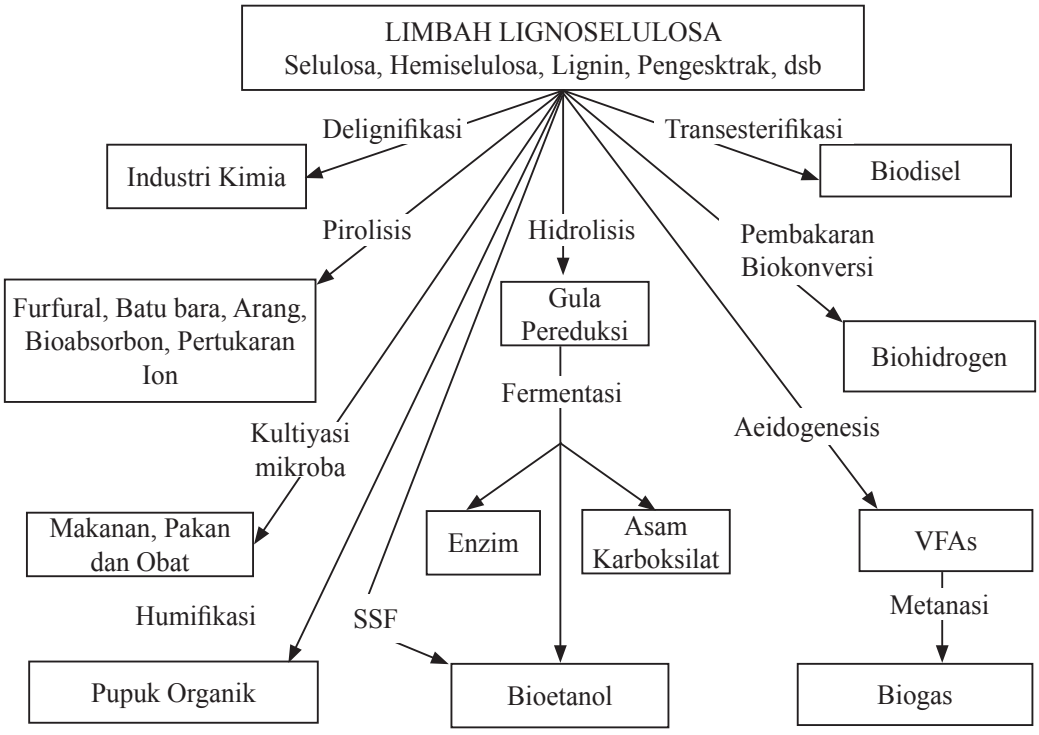
Selulosa adalah unsur pokok pada tanaman dan merupakan biopolimer linier dari molekul anhidroglukopiranosa pada ikatan β-1,4 glukosidik yang berlimpah di alam (Dashtban et.al., 2009). Hemiselulosa yang merupakan komponen kedua terbanyak adalah polimer heterogen dari pentosa (xilosa, arabinosa), heksosa (mannosa, glukosa, galaktosa) dan *sugar acid* (Saha, 2003). Residu gula utama yang menyusun yaitu xilan, mannan, galaktan dan glukan (Fengel dan Wegener, 1995). Pada kayu keras kebanyakan hemiselulosa mengandung xilan, sedangkan pada kayu lunak mengandung glukomannan.

Lignin adalah heteropolimer amorf yang terdiri dari tiga unit fenilpropan (p-coumaryl, coniferil dan sinapyl alkohol) yang terikat dengan ikatan yang berbeda. Fungsi utama lignin adalah memperkuat struktur tanaman dalam menahan terhadap serangan mikroba dan tekanan oksidasi (Hendriks dan Zeeman, 2009). Di dalam jaringan tanaman, lignin sulit didegradasi karena mempunyai struktur yang kompleks dan heterogen yang berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa. Kandungan lignoselulosa pada berbagai limbah pertanian dapat dilihat pada Tabel 1. Berbagai produk nilai tambah dari limbah lignoselulosa diantaranya adalah untuk pupuk organik, bioetanol, biogas, biodiesel, biohidrogen, industri kimia (Gambar 1). Produk produk tersebut diperoleh melalui proses yang berbeda. Bioetanol misalnya dihasilkan melalui proses SSF yang merupakan proses sakarifikasi dan fermentasi secara simultan. Pupuk organik dan penggembur tanah merupakan salah satu produk humifikasi bahan organik disamping kompos yang kaya akan nutrien.

Tabel 1. Kandungan Lignoselulosa pada Limbah Pertanian

Bahan lignoselulosa	Selulosa (%)	Hemiselulosa (%)	Lignin (%)
Tangkai kayu keras	40-55	24-40	18-25
Tangkai kayu lunak	45-50	25-35	25-35
Kulit kacang-kanagan	25-30	25-30	30-40
Bonggol jagung	45	35	15
Kertas	85-99	0	0-15
Jerami gandum	30	50	15
Jerami padi	32.1	24	18
Buangan sampah	60	20	20
Daun	15-20	80-85	0
Cotton seed hairs	80-95	5-20	0
Kertas Koran	40-55	25-40	18-30
Waste paper from chemical pulps	60-70	10-20	5-10
Primary wastewater solid	8-15	-	24-29
Bagas segar	33.4	30	18.9
Swine waste	6	28	-
Pupuk ternak padat	1.6-4.7	1.4-3.3	2.7-5.7
Coastal Bermuda grass	25	35.7	6.4
Switch grass	45	31.4	12.0
Rumput gandum	21.3	15.8	2.7
Bibit rumput gandum	26.7	25.7	7.3
Rumput kebun buah-buahan	32	40	4.7
Rumput	25-40	25-50	10-30

Sumber : Howard et.al., 2003



Gambar 1. Produk Nilai Tambah dari Bahan Limbah Lignoselulosa (Mtui, 2009)
Keterangan : SSF = Fermentasi dan Sakarifikasi secara Simultan; VFAs = Asam Lemak Volatil.

PROSES *PRETREATMENT* UNTUK BAHAN LIGNOSELULOSA

Berbagai sumber bahan lignoselulosa perlu dilakukan proses perlakuan awal lebih dahulu untuk mempermudah proses hidrolisis. Proses perlakuan awal akan membuat selulosa mudah ditembus oleh enzim selulolitik sehingga dapat mengurangi penggunaan enzim serta menekan biaya. Proses perlakuan awal dilakukan karena beberapa faktor seperti kandungan lignin, ukuran partikel serta kemampuan hidrolisis dari selulosa dan hemiselulosa (Hendriks dan Zeeman, 2009). Proses ini merupakan cara penting untuk proses konversi selulosa yang dapat dilakukan dengan berbagai metoda yaitu secara kimia, fisika maupun biologi. Selain itu juga untuk memisahkan selulosa dari ikatan lignin-hemiselulosa dan mengurangi kristal selulosa (Balan dkk, 2009). Menurut Saha 2003, metoda perlakuan awal dibedakan berdasarkan proses dengan mekanik panas, perlakuan asam, perlakuan alkali dan perlakuan dengan menggunakan larutan organik (Tabel 2).

Menurut Mtui 2009, perlakuan awal terhadap limbah lignoselulosa dibedakan secara mekanik (dipotong, digerus, digiling), secara fisik (iradiasi dengan *microwave*, pirolisis, iradiasi gama), secara fisiko kimia (letupan uap, *ammonia fiber explotion* (AFEX), cairan air panas), secara kimia (agen oksidasi (O_3, H_2O_2), alkali (NaOH, $Ca(OH)_2$), penambahan asam (HCl, H_2SO_4, H_3NO_3), asam organik (asam malat, asam glutarat, dan sebagainya) serta proses organosolv. Proses perlakuan awal secara biologi meliputi penggunaan mikroorganisma atau enzim yang dapat memecah selulosa dan lignin seperti kapang, bakteri aerob dan anerob serta enzim hidrolitik dan oksidatif.

Telah banyak metoda dilaporkan seperti *steam explotion pretreatment* terhadap komponen kayu yang keras (Shimizu dkk, 1998) serta metoda *autohydrolysis* dan perkolasi dengan amonia untuk menghilangkan lignin dan mendapatkan hemiselulosa (Yoon, 1998). Selain itu, metoda dengan menggunakan *supercritical* CO_2 dapat membantu proses hidrolisis dari selulosa sehingga dapat meningkatkan gula pereduksi dari 14,5 menjadi 84,7% terhadap kayu keras dan 12,8 menjadi 27,3% terhadap kayu lunak (Kim dan Hong, 2001). Metoda *ammonia fiber expansion* (AFEX) merupakan gabungan antara proses fisika (temperatur tinggi dan tekanan) serta proses kimia (amonia) untuk mendapatkan hasil yang efektif dan dari perlakuan ini dapat diperoleh kurang lebih 98% glukosa (Balan et.al., 2009).

Tabel 2. Metoda *Pretreatment* untuk Bahan Lignoselulosa

Metoda	Contoh
Mekanik panas	digerus, digiling, digunting, *extruder*
Autohydrolysis	tekanan uap, letusan uap, *super critical* , *carbon dioxide explotion*
Perlakuan asam	asam sulfat dan asam khlorida encer, asam sulfat dan asam khlorida pekat
Perlakuan alkali	sodium hidroksida, amonia, alkali hidrogen peroksida
Perlakuan larutan organik	metanol, etanol, butanol, phenol

Sumber : Saha, 2003

Lignoselulosa yang merupakan komponen kompleks dari bermacam limbah bahan industri, kehutanan, pertanian dan sampah kota tidak akan efektif jika tanpa perlakuan sebelum proses hidrolisis untuk produksi etanol maupun biogas. Hal ini disebabkan karena kestabilan material sulit dipecah/ dirombak oleh proses enzimatik. Bahan lignoselulosa sangat potensial untuk digunakan sebagai pupuk organik/ kompos disamping untuk penggunaan lain seperti bahan bakar, makanan ternak dan bahan dasar kertas.

MIKROBA PENGHASIL SELULASE DAN KEMAMPUANNYA DALAM PROSES DEGRADASI LIGNOSELULOSA

Berbagai jenis mikroorganisma seperti bakteri, kapang dan aktinomisetes diketahui dapat menghasilkan selulase. Selulase adalah enzim kompleks yang memotong secara bertahap rantai selulosa menjadi glukosa. Enzim ini terdiri dari eksoselulase atau eksobiohidrolase, endoselulase atau endo β-1,4-glukanase dan β-1,4-glukosidase atau selobiase (Gerhartz, 1990). Menurut Gilbert dan Hazlewood, 1993 dan Sukumaran dkk, 2005, selulase terdiri dari selobiohidrolase (CBH atau 1,4, β-D-glukan selobiohidrolase, E.C 3.2.1.91), endo-β-1,4-glukanase (EG atau endo-2,4-β-D-glukan 4 glukanohidrolase, EC 3.2.1.4) dan β-glukosidase (BG, EC 3.2.1.21). Selulase menghidrolisis selulosa dengan produk utama glukosa, selobiosa

dan selooligosakarida. Seperti terlihat pada Tabel 3, berbagai kelompok mikroorganisma dari kapang, bakteri dan aktinomisetes dapat menghasilkan selulase. Kapang dari jenis *Trichoderma* dan *Aspergillus* sangat banyak ditemui sebagai penghasil hemiselulase (Gerhatz, 1990). Selain itu, menurut Chandel dkk, 2007, beberapa kelompok mikroorganisma seperti *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Neurospora*, *Fusarium*, *Aspergillus* dan sebagainya mempunyai aktivitas selulolitik dan hemiselulolitik yang tinggi.

Tabel 3. Berbagai Mikroorganisma Penghasil Selulase

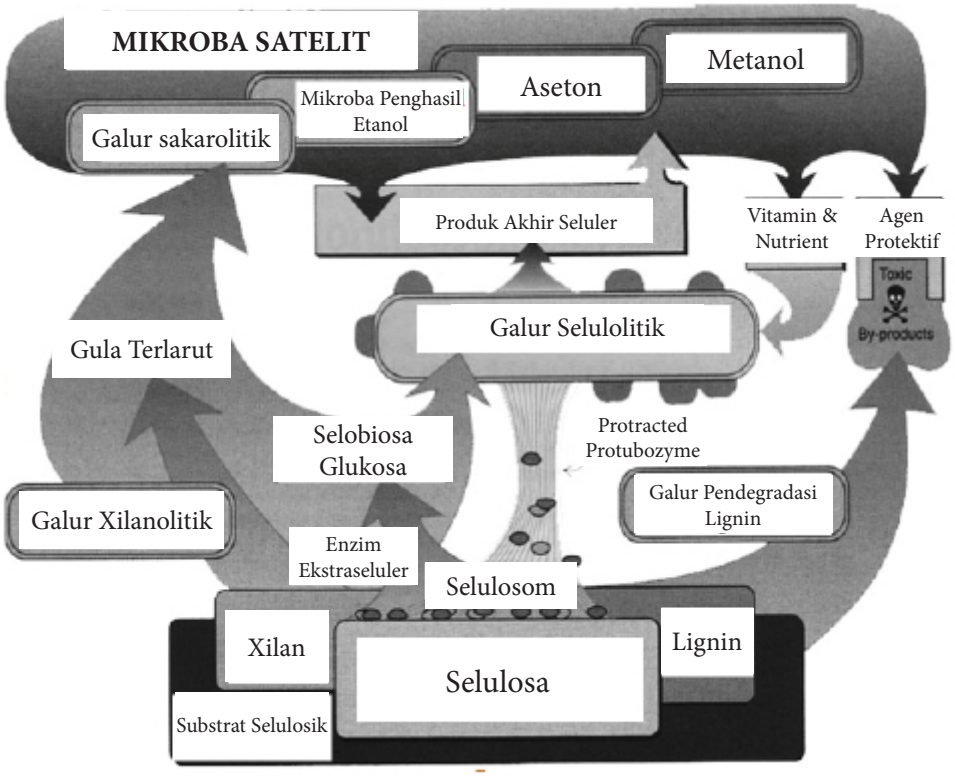
Mikroorganisma		
Kelompok	Genus	Spesies
Fungi/ Jamur	*Aspergillus*	*A. niger*
		A. nidulands
		A. oryzae (rekombinan)
	Fusarium	*F. solani*
		F. oxysporum
	Humicola	*H. insolens*
		H. grisea
	Melanocarpus	*M. albomyces*
	Penicillium	*P. brasilianum*
		P. occitanis
		P. decumbans
	Trichoderma	*T. reesei*
		T. longibrachiatum
		T. harzianum
Bakteri	*Acidothermus*	*A. cellulolyticus*
	Bacillus	*Bacillus sp.*
	Clostridium	*C. acetobutylicum*
		C. thermocellum
	Pseudomonas	*P. cellulosa*
	Rhodothermus	*R. marinus*
Aktinomisetes	*Cellulomonas*	*C. fimi*
		C. bioazotea
		C. uda
	Streptomyces	*S. drozdowiczii*
		S. sp.
		S. lividans
	Thermononospora	*T. fusca*
		T. curvata

Sumber: R.K Sukumaran et.al., 2005

Bahan berkayu kebanyakan dapat didegradasi oleh kapang. Sedangkan beberapa jenis bakteri aerob dan anaerob khususnya bakteri tanah sering dapat mendegradasi selulosa dan hemiselulosa, akan tetapi bakteri anaerob seperti *Clostridium sp.* dan *Ruminococcus sp.* pada dasarnya berbeda dalam cara degradasinya. Bakteri anaerob menghasilkan multi enzim selulase kompleks yang stabil dan sering disebut dengan selulosom. Jenis bakteri ini dapat bekerja secara sinergi. Multi enzim ini mempunyai aktivitas yang tinggi terhadap selulosa kristal, seperti *Clostridium cellulyticum, C. cellulovorans, C. josui, C. papyrosolvens* dan *C. thermocellum* (Ohara dkk., 1998).

SELULOSOM (MULTI ENZIM KOMPLEKS)

Selulosom adalah penggabungan *cellulose-binding domain* (CBD) dan *xilan-binding domain* (XBD) menjadi multienzim kompleks dengan berat molekul tinggi yang banyak ditemukan pada beberapa mikroorganisma selulolitik an aerob. Selulosom merupakan selulase kompleks dari beberapa bakteri atau kapang selulolitik yang bekerja secara sinergi dengan ciri berlainan (Bayer dkk, 1994; Dashtban dkk, 2009). Kompleks enzim ini sangat efisien dalam proses degradasi selulosa dan hemiselulosa. Produk utama degradasi selulosa dari kapang selulosom adalah glukosa, sedangkan dari bakteri selulosom adalah selobiosa. Kapang selulosom lebih banyak kekurangannya dibandingkan dengan bakteri selulosom seperti aktivitas sinergi antara komponen dan aktivitas hidrolisis pada selulosa dan hemiselulosa (Dashtban dkk, 2009). Seperti terlihat pada gambar 2, ekosistim selulosa tidak ditempati oleh mikroba selulolitik itu sendiri, tetapi ditempati bersama-sama dengan mikroba lainnya, baik selulolitik maupun non selulolitik. Selulosa oleh selulosom dan mikroba selulolitik lainnya akan didegradasi menjadi selobiosa dan glukosa. Oleh mikroba xilanolitik, xilan akan didegradasi menjadi senyawa gula terlarut dan oleh mikroba sakarolitik dirombak lagi menjadi gula yang lebih sederhana. Selanjutnya, gula sederhana tersebut akan dimanfaatkan oleh mikroba lainnya untuk menghasilkan produk-produk lain seperti etanol, aseton, metan dan sebagainya. Disamping itu akan dihasilkan pula vitamin, nutrien serta *protective agents* (Bayer dkk, 1994).



Gambar 2. Skema Karakteristik dari Ekosistim Selulosa (Bayer *et.al*., 1994)

PROSES PEMBUATAN PUPUK ORGANIK/ KOMPOS

Pupuk adalah zat atau unsur yang ditambahkan kedalam tanah dengan maksud untuk menyuburkan tanah. Secara umum pupuk terbagi atas pupuk organik (pupuk kandang, pupuk kompos, pupuk hayati) dan pupuk an organik (pupuk kimia, bahan sintetis). Pupuk organik menjadi salah satu alternatif untuk mengurangi penggunaan pupuk an organik yang saat ini banyak digunakan petani. Pupuk organik dapat menyediakan semua unsur hara yang dibutuhkan oleh tanaman oleh karena itu bersifat multiguna. Pupuk yang bersifat ramah lingkungan ini dapat memperbaiki sifat fisika, biologi dan kimia tanah serta dapat meningkatkan kehidupan mikroba tanah yang merupakan sumber hara bagi tanaman.

Beberapa jenis mikroba yang berperan dalam proses penyuburan tanah antara lain mikroba pendegradasi selulosa, *Azospirilum*, *Lactobacillus*, *Acetobacter*, mikroba pelarut fosfat, mikroba penambat nitrogen, mikroba penghasil hormon pertumbuhan, mikroba penghasil metabolit sekunder dan mikroba yang mampu melakukan biotransformasi logam berat sehingga dapat menurunkan toksisitas pada lahan. Selain itu, jenis mikroba lain dari golongan aktinomisetes juga berperan dalam proses pembuatan pupuk organik (Abdulla, 2007).

Bahan lignoselulosa sangat potensial untuk bahan dasar pembuatan pupuk organik, disamping untuk bahan bakar, makanan ternak dan bahan pembuatan kertas (Singhania, 2009). Penggunaan limbah selulosa untuk produksi pupuk organik bertujuan untuk memberikan nitrogen dan berperan sebagai penggembur tanah (Malik dkk., 2001).

Kompos, adalah pupuk organik yang kaya nutrien dan bermanfaat sebagai penyubur tanah. Prosesnya merupakan hasil perombakan senyawa komplek menjadi senyawa sederhana dengan bantuan kombinasi mikroba yang terdiri dari bakteri, kapang, aktinomisetes dan cacing yang dapat meningkatkan nilai limbah lignoselulosa (Mtui, 2009; Abdulla, 2007). Pada proses pembuatannya, pH, suhu, struktur bahan yang digunakan akan menentukan populasi mikroba. Kompos yang banyak digunakan adalah kompos jerami padi.

Bahan lignoselulosa dapat digunakan sebagai sumber C bagi organisma lignoselulolitik.

Disamping unsur hara yang tersedia, organisma dapat menghasilkan C sederhana dalam proses metabolisma yang dapat digunakan sebagai bahan baku pupuk organik (Widiastuti dkk, 2009). Kandungan hara kompos jerami padi terdiri dari ratio C/N 18,88; C organik (%) 35,11; N (%) 1,86; P_2O_5 (%) 0,21; K_2O (%) 5,35; kadar air (%) 55. (Isroi, 2010). Pemanfaatan jerami padi sebagai pupuk organik diantaranya memiliki kandungan C organik yang tinggi, kandungan bahan organik tanah dapat dinaikkan dan kesuburan tanah dapat dikembalikan dengan pemakaian kompos jerami padi secara konsisten. Parameter standar mutu pupuk organik menurut Menteri Pertanian No. 28/ Permentan/OT.140/2/2009 terdiri dari C organik, C/N ratio, bahan ikutan (plastik, kaca, kerikil), kadar air, kadar logam berat (As, Hg, Pb, Cd), pH, kadar total (N, P_2O_5, K_2O), mikroba patogen (E. coli, Salmonella), mikroba fungsional, ukuran butiran dan unsur mikro (Fe, Mn, Cu, Zn, B, Co, Mo). Persyaratan teknis mutu pupuk organik meliputi granula/pelet, cair/pasta dan remah/ curah. C organik dan C/N *ratio* merupakan parameter utama pupuk organik. C organik terdiri atas granula/ pelet baik yang murni maupun yang diperkaya mikroba sebesar > 12%, cair/ pasta sebesar ≥ 4% dan remah/ curah baik yang murni maupun yang diperkaya mikroba sebesar ≥ 12%. C/N *ratio* murni dan yang diperkaya mikroba baik granula/pelet maupun remah/curah masing masing sebesar 15-25%.

PENUTUP

Limbah pertanian yang merupakan bahan lignoselulosa dapat digunakan sebagai bahan pupuk organik. Dalam proses pembuatan pupuk organik, limbah pertanian tersebut perlu proses perlakuan awal terlebih dahulu untuk mempermudah proses degradasi oleh mikroba. Proses degradasi dilakukan oleh mikroba selulolitik antara lain oleh kapang atau bakteri an aerob yang mengandung multi enzim kompleks (selulosom). Pupuk organik yang bersifat ramah lingkungan dapat meningkatkan produksi pertanian.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Tatik Khusniati dan Dr. rer.nat. Wien Kusharyoto (LIPI) atas diskusi, saran dan masukan selama penyusunan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdulla, H.M. 2007. *Enhancement of Rice Straw Composting by Lignocellulolytic Actinomycete Strains*. Int. J. of Agriculture & Biology. Vol. 9(1), 106-109.

Bayer, E.A., E. Morag, R. Lamed. 1994. *The Cellulosome- A Treasure-Trove for Biotechnology*. TIBTECH 12, 379-386.

Balan, V., B. Bals, S.P.S. Chundawat, D. Marshall, B.E. Dale. 2009. *Lignocellulose Biomass treatment Using AFEX*. Method in Molecular Biology Vol. 581, 61-77.

Chandel, A.K., E.S. Chan., R. Rudravaram, M.L. Narasu, L.V. Rao, and P. Ravindra. 2007. *Economics and Environmental impact of Bioetanol Production Technologies : An Appraisal*. Biotechnology and Molecular Biology Review Vol 2(1), 14-32.

Dashtban, M., Schraft, H., Qin, W. 2009. *Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residue: Opportunities & Perspectives*. Int. J. Biol. Sci. 578-595.

Fengel, D., G. Wegener. 1995. *Kayu : Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Diterjemahkan oleh Hardjono Sastrohamidjoyo. Cetakan I, Gajah Mada University Press, Yogyakarta. Hal. 124-154.

Gerhartz, W. 1990. *Enzymes in Industry : Production and Applications*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, D. 6940 Weinheim p. 81-82.

Gilbert, H.J. G.F. Hazlewood. 1993. *Bacterial Cellullases and Xylanases*. J. of General Microb. 139, 187-194.

Hendriks, A.T.W.M., G. Zeeman. 2009. *Pretreatments to Enhance the Digestibility of Lignocellulose Biomass*. Biores. Technol. 100, 10-18.

Howard, R.L., Abotsi, E., J. van Rensburg E.L., and Howard, S. 2003. *Lignocellulose Biotechnology: Issue of Bioconversion and Enzyme Production*. African J. of Biotech. Vol 2(12), 602-619.

Isroi. 2010. *Pemanfaatan Jerami Padi Sebagai Pupuk Organik In Situ Untuk Mengurangi Penggunaan Pupuk Kimia dan Subsidi Pupuk*. http://isroi.wordpress.com/2010/02/12/4905/

Kim, K.H. and J. Hong. 2001. *Supercritical CO_2 Pretreatment of Lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis*. Bioresource Technol. Vol 77(2), 139-144.

Malik, F.R., S. Ahmed, and Y.M. Rizki. 2001. *Utilization of Lignocellulosic Waste for the Preparation of Nitrogenous Biofertilizer*. Pakistan J. of Biological Sciences 4(10), 1217-1220.

Mosier, N., C. Wayman, B. Dale, R. Elander, Y.Y. Lee, M. Holtzapple, M. Ladisch. 2005. *Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulose*. Biores. Technol. 96, 673-686.

Mtui, Y.S. 2009. *Recent Advances in Pretreatment of Lignocellulosic Wastes and Production of Value Added Products*. African J. of Biotechnology Vol. 8(8), 1398-1415.

Ohara, H., S. Karita, T. Kimura, K.Sakka and K. Ohmiya. 1998. *Cellulase Complex from Ruminococcus albus*. Annual Report IC Biotech Vol. 21. 358-370.

Pason, P., K. Ratanakhanokchai and K.L. Kyu. 2003. *Multiple Cellulases and Xylanases of Bacillus circulans B-6. Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics Vol. 16. Proceedings of Project Seminars in 2000-2003 for JSPS-NCRT/DOST/LIPI/VCC*. IC Biotech, Japan p. 305-310.

Peraturan Menteri Pertanian No. 28/ Permentan/ OT.140/2/2009. Standar Mutu Pupuk Organik.

Perez, J., J.M. Dorado, T. Rubia, J. Martinez. 2002. *Biodegradation and Biological treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: An Overview*. Int. Microbiol. 5, 53-63.

Saha, B.C. 2003. *Hemicellulose Bioconversion. J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. 30: 279-291.

Saha, B.C. 2004. *Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology*. US Government Work. American Chemical Society. 2-14.

Shimizu, K., K. Sudo, H. Ono, M. Ishihara, T. Fujii and S. Hishiyama. 1998. *Integrated Process for Total Utilization of Wood Componen by Steam Explosion Pretreatment*. Biomass and Bioenergy, Vol 14(3), 195-203.

Singhania, 2009. *Cellulolytic Enzymes. Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization*. Chapter 20, 371-381.

Sukumaran, R.K, R.R Singhania and A. Pandey. 2005. *Microbial Cellulases: Production, Applications and Challenges*. J. of Scientific & Industrial Res. Vol 64, 832-844.

Widiastuti, H., Isroi, Siswanto. 2009. *Keefektifan Beberapa Dekomposer Untuk Pengomposan Limbah Sludge Pabrik Kertas Sebagai Bahan Baku Pupuk Organik*. Berita Selulosa Vol 44(2), 99-110.

Yoon, H.H. 1998. *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass by Autohydrolysis and Aqueous Ammonia Percolation*. Korean J. of Chemical Eng., Vol 15(6), 631-636.