

PENENTUAN LAMA FERMENTASI KULIT BUAH KAKAO DENGAN *Phanerochaete chrysosporium*: EVALUASI KUALITAS NUTRISI SECARA KIMIAWI

(Determination Length of Fermentation of Cocoa Pod Husk with Phanerochaete chrysosporium: Chemically Evaluation of Nutrition quality)

Nelson dan Suparjo*

Laboratorium Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Jambi

*Alamat Kontak: Jl. Jambi-Ma. Bulian KM 15 Mendalo Darat Jambi 36361 email: suparjo.fptunja@yahoo.co.id
(Diterima: 20-01-2011, disetujui: 05-06-2011)

ABSTRACT

Bioconversion of cocoa pod husk (CPH) is a way to increase lignocellulosic substance quality. Fermentation process in bioconversion is affected by some factors as length of fermentation. This research was aimed to determine the optimum length of fermentation with *Phanerochaete chrysosporium* and evaluate CPH composition response. The length of fermentation periods were 0; 5; 10; 15; 20 and 25 days. Measured parameters were soluble substance, pH of substrate, chemical composition, loss of dry matter, organic matter, and lignin and ratio cellulose to lignin. The results showed that crude protein content of fermented CPH was increased ($P < 0.05$) compared to unfermented CPH. The highest lignin degradation (38.61%), the ratio of cellulose to lignin (1.25) and efficiency of biodegradation process (5.65) recorded at day 10 fermentation. It could be concluded that the optimum length of CPH fermentation was 10 days.

Keyword: *Fermentation, cocoa pod husk, ratio cellulose to lignin, lignin degradation*

PENDAHULUAN

Kulit buah kakao (KBK) merupakan salah satu limbah hasil perkebunan yang dapat dijadikan bahan pakan alternatif untuk ternak ruminansia. Kandungan lignin yang tinggi dan protein yang rendah merupakan kendala utama pemanfaatan bahan ini sebagai pakan. Pemanfaatan KBK sebagai bahan pakan memerlukan suatu sentuhan teknologi biokonversi yang mampu mengubah komponen bahan dengan bantuan mikroba. Sasaran utama biokonversi adalah meningkatkan ketersediaan selulosa sebagai sumber energi bagi ternak. Biokonversi hasil ikutan lignoselulosa sebagai pakan membutuhkan kondisi yang mendukung agar tercapai tingkat degradasi lignin optimum dengan pemanfaatan selulosa minimum.

Phanerochaete chrysosporium merupakan salah satu mikroorganisme yang mempunyai kemampuan mendegradasi lignoselulosa secara selektif (Hattaka 1994; Tuomela *et al.* 2002) yaitu mendegradasi komponen lignin terlebih dahulu diikuti dengan komponen selulosa. Selulosa dan hemiselulosa dimanfaatkan oleh kapang sebagai sumber karbon. Kapang ini juga mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada suhu yang relatif tinggi yaitu 36-40°C sehingga cocok digunakan dalam proses fermentasi yang banyak menghasilkan panas (Tuomela *et al.* 2002). Efisiensi degradasi lignin yang tinggi dan minimal dalam

memanfaatkan polimer selulosa dibanding fungi pelapuk putih lain menjadikan *P. chrysosporium* sebagai pilihan terbaik dalam perlakuan degradasi lignin.

Degradasi lignin oleh *P. chrysosporium* merupakan reaksi spontan akibat defisiensi nutrisi dalam media. Keterbatasan nutrisi memicu percepatan aktivitas enzim pendegradasi lignin untuk merombak lignin menjadi air dan karbondioksida (Kaal *et al.* 1995). Jumlah enzim yang disekresikan tergantung pada kemampuan kapang melakukan penetrasi ke dalam substrat yang dipengaruhi peningkatan jumlah miselia. Peningkatan pertumbuhan kapang dan produksi enzim ligninolitik dapat distimulasi dengan penambahan mineral. Penelitian Suparjo *et al.* (2010) menunjukkan bahwa penambahan kombinasi 100 ppm Mn dan 1.190 ppm Ca mampu menghasilkan pertumbuhan miselia dan produksi enzim ligninolitik yang lebih baik

Komponen lignoselulosa yang dapat dimanfaatkan oleh ternak adalah selulosa dan hemiselulosa. Sebagian kapang ligninolitik tidak mempunyai kemampuan menggunakan lignin sebagai sumber tunggal untuk energi dan karbon dan banyak tergantung pada polisakarida yang mudah tercerna di dalam substrat (Maheshwari, 2005). Masalah yang sering timbul dalam proses pengolahan bahan lignoselulosa dengan mikroorganisme adalah kehilangan bahan organik

substrat yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber nutrisi dalam proses biokonversi. Mikroorganisme yang ideal dalam biokonversi lignoselulosa menjadi pakan adalah jenis mikroorganisme yang mempunyai kemampuan besar dalam mendekomposisi lignin tetapi rendah daya degradasi terhadap selulosa dan hemiselulosa.

Untuk menghasilkan produk bioproses yang ideal perlu diketahui lama waktu fermentasi. Produk fermentasi yang diharapkan mempunyai kandungan lignin yang lebih rendah tetapi kandungan selulosa yang tetap tinggi. Kehilangan nutrisi dan rasio selulosa lignin merupakan indikator utama keberhasilan proses fermentasi.

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum dalam bioproses KBK dengan *P. chrysosporium* dalam merombak kandungan nutrisi dan fraksi serat biomassa KBK.

MATERI DAN METODE

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah KBK. KBK dikeringkan di bawah sinar matahari dan digiling menjadi tepung. Kalsium klorida (CaCl_2) dan mangan sulfat ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) sebagai sumber Ca dan Mn. Inokulan yang digunakan adalah *P. chrysosporium* IFO 31249 yang diperoleh dari Puslitbang Bioteknologi LIPI Cibinong. Biakan *P. chrysosporium* ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada suhu 30°C selama 4-6 hari sebelum digunakan.

Fermentasi substrat

Fermentasi dilakukan pada media padat dengan substrat KBK. Masing-masing sebanyak 10g KBK kering ditambahkan air yang diperhitungkan mencapai kadar air sekitar 65% (Kerem *et al.* 1992) dan ditambahkan mineral dengan konsentrasi 1.190 ppm Ca (3.300 ppm CaCl_2) dan 100 ppm Mn (320 ppm $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Substrat diinokulasi dengan 2 cuplikan (\varnothing 8 mm) *P. chrysosporium* dan diinkubasi pada suhu 37°C . Penentuan waktu fermentasi dilakukan setiap 5 hari selama 25 hari (0, 5, 10, 15, 20, 25 hari)

Metode Analisis

Penentuan Bahan Terlarut dan pH. Analisis bahan terlarut (*water soluble substances*) sesuai dengan metode yang dilakukan Zadrazil (1977). Satu gram sampel dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml dan ditambah dengan 80 ml air destilasi. Erlenmeyer ditutup dengan *aluminum foil* dan diinkubasi pada suhu 80°C . Setelah 3 jam inkubasi, ditambah air hingga 100 mL dan disaring dengan kertas saring. Residu dikeringkan,

ditimbang dan ditentukan sebagai bahan tak larut. pH suspensi diukur dengan pH meter.

$$\text{Bahan terlarut (\%)} = \frac{(A \times \text{BK}_0) - (B \times \text{BK}_t)}{(A \times \text{BK}_0)} \times 100\%$$

A = berat sampel sebelum inkubasi (g)

B = berat sampel setelah inkubasi (g)

BK_0 = bahan kering sebelum inkubasi (%)

BK_t = bahan kering setelah inkubasi (%)

Kandungan Nutrien. Penentuan kandungan nutrisi substrat sebelum dan setelah fermentasi dilakukan dengan analisis proksimat (AOAC, 1998).

Kandungan Fraksi Serat. Kandungan fraksi serat yang meliputi kandungan *neutral detergent fiber* (NDF), *acid detergent fiber* (ADF) dan lignin ditentukan dengan analisis Van Soest (Van Soest dan Goering 1970). Kandungan hemiselulosa dan selulosa ditentukan melalui penghitungan:

$$\text{Hemiselulosa} = \text{NDF} - \text{ADF}$$

$$\text{Selulosa} = \text{ADF} - \text{lignin}$$

Rasio Selulosa Lignin. Rasio selulosa lignin (RSL) merupakan perbandingan kandungan selulosa substrat terhadap lignin pada perlakuan yang sama. Besaran angka RSL ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Rasio Selulosa Lignin} = \frac{\text{Selulosa}}{\text{lignin}}$$

Rasio Karbon dan Nitrogen. Rasio karbon nitrogen (CN ratio) merupakan perbandingan kandungan karbon dengan nitrogen substrat pada setiap tahapan waktu fermentasi. Konsentrasi karbon (%) dihitung dengan formulasi (Jimenez dan Garcia 1992):

$$\%C = (100 - \% \text{abu}) / 1.8$$

Kehilangan Bahan Kering. Kehilangan bahan kering merupakan jumlah bahan kering yang hilang setelah bahan difermentasi dalam waktu tertentu. Besaran bahan kering ditentukan dengan pengurangan berat bahan sebelum fermentasi dengan berat bahan setelah fermentasi.

$$\text{Kehilangan BK (g)} = (A \times \text{BK}_0) - (B \times \text{BK}_t)$$

$$\text{Kehilangan BK (\%)} = \frac{(A \times \text{BK}_0) - (B \times \text{BK}_t)}{(A \times \text{BK}_0)} \times 100\%$$

A = berat sampel sebelum fermentasi (g)

B = berat sampel setelah fermentasi (g)

BK_0 = bahan kering sebelum fermentasi (%)

BK_t = bahan kering setelah fermentasi (%)

Kehilangan Bahan Organik. Kehilangan bahan organik ditentukan dengan menimbang substrat sebelum fermentasi dan setelah fermentasi. Besaran kehilangan bahan organik dihitung dengan rumus:

$$\text{Kehilangan BO (g)} = (A \times BK_0 \times BO_0) - (B \times BK_t \times BO_t)$$

$$\text{Kehilangan BO (\%)} = \frac{(A \times BK_0 \times BO_0) - (B \times BK_t \times BO_t)}{(A \times BK_0 \times BO_0)} \times 100\%$$

- A = berat sampel sebelum fermentasi (g)
- B = berat sampel setelah fermentasi (g)
- BK₀ = bahan kering sebelum fermentasi (%)
- BO₀ = bahan organik sebelum fermentasi (%)
- BK_t = bahan kering setelah fermentasi (%)
- BO_t = bahan organik setelah fermentasi (%)

Degradasi Lignin. Degradasi kandungan lignin dalam substrat sebelum dan setelah fermentasi dihitung dengan persamaan:

$$\text{Degradasi Lignin (\%)} = \frac{(BK_0 \times L_0) - (BK_t \times L_t)}{(BK_0 \times L_0)} \times 100\%$$

- L₀ = kandungan lignin sebelum fermentasi (%)
- L_t = kandungan lignin setelah fermentasi (%)
- BK₀ = bahan kering sebelum fermentasi (g)
- BK_t = bahan kering setelah fermentasi (g)

Efisiensi Proses Biodegradasi Lignin (EPDL). EPBL menggambarkan proporsi jumlah lignin yang hilang dibandingkan bahan organik yang ditentukan dengan persamaan (Zadrazil dan Puniya 1993) berikut:

$$\text{EPBL} = \frac{\text{Kehilangan lignin}}{\text{Kehilangan bahan organik}}$$

Analisis Statistik

Percobaan ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yang diulang masing-masing sebanyak 3 kali. Perlakuan merupakan lama waktu fermentasi yaitu 0, 5, 10, 15, 20 dan 25 hari. Data dianalisis menggunakan

program SAS 9.12 untuk analisis ragam (ANOVA). Uji Jarak Berganda Duncan digunakan untuk mengetahui perbedaan nilai tengah perlakuan pada selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Nutrien Biomasa Kulit Buah Kakao

Respon lama fermentasi KBK oleh *P. chrysosporium* dievaluasi dengan mengamati perubahan kandungan nutrien KBK selama proses fermentasi. Kandungan nutrien KBK mengalami perubahan yang fluktuatif selama proses fermentasi (Tabel 1). Rataan kandungan bahan kering substrat sebelum fermentasi adalah 49,25% dan hanya mengalami sedikit perubahan setelah proses fermentasi. Perubahan bahan kering dapat terjadi karena pertumbuhan kapang, proses dekomposisi substrat dan perubahan kadar air. Perubahan kadar air terjadi akibat evaporasi, hidrolisis substrat atau produksi air metabolik (Gervais 2008; Ramachandran *et al.* 2008). Perombakan komponen lignoselulosa KBK akan meningkatkan ketersediaan nutrien yang mendorong perkembangan miselia kapang. Penurunan kandungan bahan kering terjadi akibat perombakan komponen KBK oleh kapang yang menghasilkan komponen air. Rodriguez-Vazquez *et al.* (1999) melaporkan bahwa terjadi peningkatan kadar air media akibat metabolisme oleh *P. chrysosporium*. Siklus ketersediaan nutrien akan terus berlangsung selama proses, sehingga kandungan bahan kering juga mengalami fluktuasi seiring dengan proses perombakan dan pemanfaatan nutrien oleh kapang.

Tabel 1. Kandungan nutrien, bahan terlarut (%) dan pH substrat sebelum dan setelah fermentasi

Peubah	Lama Fermentasi (hari)					
	0	5	10	15	20	25
Bahan Kering	49,25 ^a ±1,29	49,13 ^a ±4,19	49,70 ^a ±3,44	48,35 ^a ±3,40	50,67 ^a ±1,06	50,07 ^a ±6,01
Abu	6,79 ^b ±0,22	7,83 ^{ab} ±0,13	7,33 ^{ab} ±1,03	7,12 ^{ab} ±0,09	8,13 ^{ab} ±1,56	8,46 ^a ±0,14
Protein Kasar	8,57 ^b ±0,19	11,48 ^a ±0,67	10,17 ^a ±1,51	11,52 ^a ±0,95	11,01 ^a ±0,67	10,35 ^a ±0,60
Serat Kasar	44,21 ^a ±0,97	37,23 ^b ±1,16	27,47 ^{de} ±1,89	29,94 ^c ±0,77	29,41 ^{cd} ±1,01	25,46 ^e ±1,85
Lemak Kasar	3,43 ^a ±0,08	2,77 ^b ±0,34	3,18 ^{ab} ±0,12	3,05 ^{abc} ±0,20	2,88 ^{bc} ±0,11	2,83 ^{bc} ±0,27
BETN	37,01 ^d ±1,45	40,70 ^c ±1,45	51,85 ^a ±1,61	48,37 ^b ±0,60	48,56 ^b ±2,73	52,91 ^a ±0,90
Rasio CN	37,76 ^a ±0,91	27,94 ^b ±1,60	32,18 ^b ±5,40	28,01 ^b ±0,09	29,04 ^b ±2,02	30,79 ^b ±1,80
Bahan Terlarut	12,48 ^d ±0,00	18,96 ^b ±0,62	20,51 ^a ±0,83	17,11 ^c ±0,52	12,64 ^d ±0,41	11,50 ^d ±0,95
pH	4,49 ^a ±0,00	4,48 ^a ±0,07	4,37 ^b ±0,03	4,43 ^{ab} ±0,02	4,51 ^a ±0,06	4,51 ^a ±0,05

Ket: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05); BETN: bahan ekstrak tanpa nitrogen; Rasio CN: rasio Karbon dan Nitrogen.

Jumlah air yang terkandung dalam substrat merupakan faktor krusial dalam fermentasi media padat. Rataan kadar air awal KBK yang digunakan

dalam percobaan ini yaitu 50,47% masih dalam kisaran normal proses fermentasi substrat padat. Rasio substrat dan air yang kecil lebih

menguntungkan dalam produksi enzim karena akan terjadi kontak yang lebih baik antara substrat dengan mikroba. Shi *et al.* (2008) melaporkan terdapat interaksi antara kadar air awal dengan lama fermentasi terhadap degradasi lignin oleh *P. chrysosporium*. Rasio substrat dan air optimum pada fermentasi media padat tergantung pada daya ikat air (*water holding capacity*), kualitas dan ukuran partikel substrat (Villas-Boas *et al.* 2002). Kadar air yang berada di bawah level kritis, aktivitas mikroba akan turun dan mikroba menjadi dorman, sementara kadar air yang terlalu tinggi akan menghambat pergerakan udara dalam substrat. Haddadin *et al.* (2009) menjelaskan bahwa kadar air substrat yang terlalu tinggi pada fermentasi media padat menyebabkan udara yang terdapat pada pori-pori substrat digantikan oleh air, tercipta kondisi anaerob, mengurangi difusi oksigen dan penurunan dekomposisi substrat.

Rataan kandungan abu sebelum fermentasi adalah 6,79% dan mengalami perubahan selama proses fermentasi. Lama fermentasi 25 hari memiliki kandungan abu paling besar (8,46%). Perubahan kandungan abu substrat selama proses fermentasi disebabkan oleh perubahan bahan organik yang terjadi selama proses biokonversi (Haddadin *et al.* 2009).

Rataan kandungan protein kasar KBK (8,57 vs 8,35%) setara dengan yang dilaporkan oleh Laconi (1998), lebih besar (8,57 vs 6,20 vs 7,84%) dibandingkan dengan yang dilaporkan oleh Aregheore (2006) dan Adamafio *et al.* (2004), tetapi lebih kecil (8,57 vs 9,71%) dibandingkan hasil penelitian Amirroenas (1990). Kandungan protein kasar KBK tanpa fermentasi lebih rendah dibandingkan perlakuan lain. Peningkatan kandungan protein berkisar antara 8,52-28,02% (Tabel 2). Fermentasi KBK dengan *P. chrysosporium* yang dilakukan oleh Laconi (1998) berhasil meningkatkan kandungan protein kasar dari 8,35% menjadi 9,96% atau meningkat sebesar 19,28%. Penambahan mineral Ca dan Mn secara tidak langsung berperan dalam peningkatan kandungan protein kasar. Ca dan Mn berperan dalam memacu pertumbuhan kapang dan menstimulasi degradasi komponen lignoselulosa. Perubahan kandungan protein kasar ini lebih kecil dari yang dilaporkan oleh Alemawor *et al.* (2009) yaitu sebesar 39,93%. Peneliti lain menyebutkan perubahan kandungan protein limbah agroindustri yang difermentasi dengan *Trichoderma viride* sebesar 33,2% (Iyayi dan Aderolu 2004). Peningkatan kandungan protein terjadi karena biokonversi gula menjadi protein miselium atau protein sel tunggal. Sekresi enzim ekstraseluler

oleh *P. chrysosporium* turut berperan dalam meningkatkan kandungan protein biomasa KBK.

Kandungan serat kasar KBK lebih kecil (44,21 vs 45,9 vs 55,67%) dibandingkan kandungan serat kasar yang dilaporkan oleh Aregheore (2002) dan Laconi (1998) tetapi lebih besar (44,21 vs 35,0 vs 40,33%) dari yang dilaporkan Alemawor *et al.* (2009) dan Amirroenas (1990). Kandungan serat kasar KBK mengalami penurunan selama proses fermentasi. Penurunan kandungan serat kasar berkisar antara 19,42-48,19%. Penurunan kandungan serat kasar dapat terjadi karena proses dekomposisi komponen serat oleh kapang. Serat kasar sebagian besar berasal dari sel dinding tanaman dan mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin. *P. chrysosporium* mempunyai kemampuan dalam mendegradasi komponen serat karena disamping menghasilkan enzim pendegradasi lignin, kapang ini juga mampu menghasilkan enzim pendegradasi selulosa (Howard *et al.* 2003)

Kandungan lemak kasar KBK sebelum fermentasi 3,43%. Secara umum kandungan lemak kasar biomasa KBK mengalami penurunan, namun perubahan ini belum signifikan. Gutierrez *et al.* (2005) melaporkan bahwa selama proses dekomposisi, komponen lemak mengalami degradasi tetapi ditemukan kembali senyawa lemak baru.

Bahan ekstrak tanpa nitrogen ditentukan melalui pengurangan bahan kering dengan seluruh komponen nutrisi substrat. Nilai BETN sangat bergantung pada kandungan nutrisi lain. Kandungan BETN KBK sebesar 37,01% dan mengalami peningkatan selama proses fermentasi. Peningkatan kandungan BETN dapat terjadi karena perombakan karbohidrat struktural, terutama hemiselulosa menjadi bahan mudah larut. Hemiselulosa dirombak menjadi monomer gula dan asam asetat (Sanchez 2009). *P. chrysosporium* selain mensekresikan ligninase dan selulase (Howard *et al.* 2003) juga menghasilkan hemiselulase (Dasthban *et al.* 2009; Zeng *et al.* 2010).

Komponen bahan terlarut dapat ditentukan dengan pelarutan dalam air. Kandungan bahan terlarut selama proses fermentasi mengalami perubahan yang fluktuatif. Aktivitas kapang dalam mendegradasi lignoselulosa menghasilkan senyawa yang lebih mudah larut dan sejumlah asam organik. Asam organik yang dihasilkan mempengaruhi keasaman substrat. Peningkatan produk fermentasi dapat menurunkan pH substrat.

Fermentasi 10 hari menghasilkan bahan terlarut paling besar (20,51%) dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan 0 hari (12,48%), 5 hari (18,96%), 15 hari (17,11%), 20 hari (12,64%) dan 25 hari (11,50%). Bahan terlarut dalam air merupakan komponen yang siap digunakan oleh ternak dan pada gilirannya akan mempengaruhi pencernaan pakan.

Nilai pH dan kandungan bahan terlarut dalam air mempunyai hubungan negatif. Peningkatan kandungan bahan terlarut diikuti dengan penurunan nilai pH substrat. Bahan terlarut merupakan produk yang dihasilkan selama proses fermentasi yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba atau ternak. Produk fermentasi dapat berupa asam-asam organik yang dapat meningkatkan keasaman lingkungan substrat (Rodriguez-Vazques *et al.* 1999).

Aktivitas mikroba selama proses fermentasi menyebabkan perubahan komponen biomasa KBK. Perubahan yang paling sering terjadi adalah kehilangan bahan kering dan bahan organik. Perbedaan kandungan bahan kering dapat terjadi karena dua faktor yaitu faktor fisik dan faktor kimia. Perubahan jumlah biomasa kapang dalam substrat merupakan faktor fisik yang menyebabkan perubahan bahan kering. Perbanyakannya jumlah miselia kapang sebagai indikator pertumbuhan selama proses dapat meningkatkan kandungan bahan kering dan sebaliknya dekomposisi komponen tumbuh kapang menyebabkan penurunan kandungan bahan kering. Perombakan dan dekomposisi substrat oleh kapang melibatkan sejumlah reaksi kimia. Reaksi kimia ini umumnya akan melibatkan sejumlah air.

Tabel 2 Perubahan kandungan nutrisi substrat setelah fermentasi

Peubah	Lama Fermentasi (hari)				
	5	10	15	20	25
Bahan Kering (g)	-0,63 ^a ±0,03	-0,80 ^b ±0,05	-0,95 ^c ±0,08	-1,09 ^d ±0,03	-1,40 ^e ±0,04
Bahan Organik (g)	-0,61 ^a ±0,08	-0,78 ^{ab} ±0,11	-0,92 ^{ab} ±0,06	-1,08 ^{bc} ±0,32	-1,39 ^c ±0,28
Protein Kasar (g)	0,27 ^a ±0,06	0,07 ^b ±0,12	0,25 ^a ±0,02	0,20 ^{ab} ±0,08	0,09 ^b ±0,04
Serat Kasar (g)	-0,96 ^a ±0,12	-1,67 ^b ±0,29	-2,00 ^{bc} ±0,16	-2,14 ^c ±0,03	-2,69 ^d ±0,28
Lemak Kasar (g)	-0,09 ^b ±0,04	-0,04 ^a ±0,02	-0,07 ^{ab} ±0,02	-0,10 ^b ±0,02	-0,11 ^b ±0,02
BETN (g)	0,21 ^b ±0,17	1,07 ^a ±0,36	0,91 ^a ±0,26	0,97 ^a ±0,41	1,32 ^a ±0,10
Bahan Kering (%)	-5,24 ^d ±0,42	-6,49 ^c ±0,32	-7,88 ^b ±0,54	-8,68 ^b ±0,51	-10,96 ^a ±1,03
Bahan Organik (%)	-5,40 ^d ±0,72	-6,80 ^{cd} ±0,99	-8,59 ^{bc} ±0,99	-9,18 ^b ±1,87	-11,79 ^a ±0,86
Protein Kasar (%)	27,96 ^a ±6,91	11,09 ^b ±15,47	23,75 ^{ab} ±2,45	18,69 ^{ab} ±6,88	8,52 ^b ±4,77
Serat Kasar (%)	-19,50 ^a ±2,36	-41,66 ^b ±5,00	-37,55 ^b ±2,58	-38,49 ^b ±2,79	-48,19 ^c ±1,60
Lemak Kasar (%)	-22,82 ^a ±9,71	-13,09 ^a ±5,20	-18,09 ^a ±4,66	-22,40 ^a ±2,39	-25,74 ^a ±8,19
BETN (%)	5,15 ^b ±4,40	31,54 ^a ±8,39	20,59 ^a ±7,04	21,50 ^a ±10,88	28,71 ^a ±5,67

Ket: Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Pola kehilangan bahan kering (x) dan bahan organik (y) menunjukkan hubungan yang positif dengan persamaan $y = 1,072x - 0,685$ ($R^2 = 0,904$; $P < 0,05$). Komponen yang hilang berupa protein, serat kasar, lemak kasar, fraksi serat dan bahan terlarut lain. Kehilangan bahan kering berkisar antara 5,24-10,96%, sementara kehilangan bahan organik berkisar antara 5,40-11,79% (Tabel 2). Penelitian yang dilakukan Arora dan Sharma (2009) menunjukkan bahwa kehilangan total bahan organik dipengaruhi oleh jenis kapang, asal bahan baku dan lama fermentasi. Kehilangan bahan organik substrat yang difermentasi dengan *P. chrysosporium* pada jerami gandum sebesar 10,7% (Arora *et al.* 2002) dan pada jerami padi mencapai 25% (Karunandaa *et al.* 1995). Kehilangan bahan kering fermentasi jerami dengan *Pleurotus tuber-region* berkisar antara 5-

31% setelah 30 hari fermentasi (Jalc *et al.* 1999). Peneliti lain (Xu *et al.* 2009) melaporkan kehilangan bahan kering tongkol jagung yang difermentasi dengan *Irpex lacteus* CD2 bervariasi dari 1,7% pada fermentasi 5 hari sampai 60,5% pada fermentasi 120 hari. Kehilangan bahan kering dan bahan organik yang rendah dapat disebabkan oleh 3 kemungkinan yaitu pertumbuhan kapang yang relatif besar, tingkat biodegradasi yang berjalan lambat atau tingkat pertumbuhan kapang dalam biomassa lebih besar dibanding tingkat pemanfaatan produk fermentasi oleh kapang. Tabel 2, 3 dan 4 memperlihatkan bahwa selama proses fermentasi selain terjadi kehilangan nutrisi seperti lemak kasar, serat kasar dan lignin, juga terjadi konversi beberapa nutrisi yang mempengaruhi jumlah bahan kering dan bahan organik yang hilang.

Kandungan Fraksi Serat Biomasa KBK

Biodegradasi lignin dapat menyebabkan perubahan komponen fraksi serat dalam substrat. Kandungan fraksi serat dan rasio selulosa lignin biomassa KBK disajikan pada Tabel 3. Rataan kandungan NDF dan ADF substrat KBK sebelum fermentasi masing-masing sebesar 75,36 % dan 68,70%. Kandungan NDF dan ADF selama fermentasi mengalami perubahan yang fluktuatif yang dipengaruhi oleh lama fermentasi. Kondisi ini dapat disebabkan oleh pemanfaatan komponen isi sel atau perombakan komponen dinding sel. *P. chrysosprium* memanfaatkan komponen isi sel

sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan. Pemanfaatan bahan mudah larut terjadi pada fase awal fermentasi (Tuomela *et al.* 2000). Penurunan jumlah satuan komponen isi sel mengakibatkan peningkatan persentase komponen dinding sel. Hal ini dapat dilihat dari selisih rata-rata kandungan NDF dan ADF, dimana semakin lama fermentasi kandungan hemiselulosa semakin kecil. Perombakan komponen dinding sel terjadi selama dibutuhkan oleh kapang. Zeng *et al.* (2010) menyebutkan bahwa beberapa spesies kapang pelapuk putih *Basidiomycetes* mampu memecah semua komponen lignoselulosa.

Tabel 3. Kandungan *neutral detergent fiber* (NDF), *acid detergent fiber* (ADF), hemiselulosa, selulosa, lignin (%) dan rasio selulosa lignin (RSL) substrat sebelum dan setelah fermentasi

Peubah	Lama Fermentasi (hari)					
	0	5	10	15	20	25
NDF	75,36 ^a	65,12 ^b ±2,14	61,34 ^b ±2,34	59,53 ^d ±1,94	58,52 ^d ±0,72	55,38 ^e ±0,49
ADF	68,70 ^a	61,41 ^b ±0,93	56,56 ^c ±0,87	55,08 ^{cd} ±0,24	53,96 ^{de} ±1,66	53,14 ^e ±1,06
Hemiselulosa	6,66 ^a	3,72 ^{bc} ±0,79	4,78 ^{ab} ±1,21	4,46 ^{ab} ±2,15	4,55 ^{ab} ±1,17	2,25 ^c ±0,61
Lignin	38,45 ^a	28,25 ^{bc} ±2,44	25,25 ^c ±2,49	29,59 ^b ±1,88	29,11 ^b ±1,99	29,02 ^b ±0,53
Selulosa	30,25 ^a	33,16 ^a ±2,51	31,31 ^a ±2,66	25,48 ^b ±1,69	24,86 ^b ±2,92	24,12 ^b ±1,38
RSL	0,79 ^b	1,18 ^a ±0,19	1,25 ^a ±0,23	0,87 ^b ±0,11	0,86 ^b ±0,15	0,83 ^b ±0,06

Ket: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Kandungan fraksi serat cenderung mengalami penurunan setelah dilakukan fermentasi. Kandungan NDF fermentasi menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada semua perlakuan. Penurunan NDF berkisar antara 17,34-33,90%. Rataan penurunan lignin memberikan kontribusi sekitar 66,15% terhadap penurunan kandungan NDF, diikuti penurunan selulosa (18,17%) dan hemiselulosa (15,68%). Lama fermentasi 25 hari memiliki kandungan NDF

terkecil (55,38%) yang secara parsial dapat dihubungkan dengan tingkat kehilangan bahan kering dan bahan organik (Tabel 2). Kehilangan bahan organik yang besar pada lama fermentasi 25 diantaranya dapat disebabkan oleh penurunan kandungan NDF substrat. Penurunan kandungan NDF merupakan akumulasi penurunan komponen fraksi serat (selulosa, hemiselulosa dan lignin). Fluktuasi perubahan NDF dipengaruhi oleh perubahan komponen fraksi serat.

Tabel 4. Degradasi lignin dan efisiensi proses biodegradasi lignin substrat

Peubah	Lama Fermentasi (hari)				
	5	10	15	20	25
Degradasi Lignin (%)	29,75 ^{ab} ±5,43	38,61 ^a ±4,14	29,09 ^b ±4,88	30,03 ^{ab} ±5,44	32,11 ^{ab} ±1,90
Efisiensi Proses Degradasi	5,52 ^b ±1,61	5,65 ^b ±0,15	3,87 ^a ±0,22	3,75 ^a ±0,44	3,01 ^a ±0,05

Ket: superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Lignin merupakan komponen dinding sel tanaman yang mengalami perkembangan setelah tanaman mengalami proses pendewasaan. KBK sebagai limbah tanaman tua, dinding selnya telah mengalami lignifikasi tahap lanjut. Kandungan lignin KBK cukup tinggi yaitu sekitar 27,95 (Amirroenas 1990) sampai 38,78% (Laconi 1998). Rataan kandungan lignin KBK sebelum fermentasi dalam percobaan ini adalah 38,45% (Tabel 3).

Besaran kandungan lignin dipengaruhi lama fermentasi. Perubahan kandungan lignin pada substrat terjadi karena perombakan struktur lignin menjadi komponen yang lebih sederhana. Kehilangan kandungan lignin selama fermentasi berkisar antara 29,09-38,61% (Tabel 4).

Potensi kapang pelapuk putih dalam mendegradasi lignin sangat bervariasi tergantung pada strain, tipe fermentasi dan periode inkubasi

(Dinis *et al.* 2009). Jalc (2002) melaporkan degradasi lignin pada jerami gandum berkisar antara 2 - 65%. Arora *et al.* (2002) menyebutkan persentase kehilangan lignin jerami oleh *Phlebia radiata* dan *Trametes versicolor* masing-masing sebesar 18,5% dan 12,5%. Degradasi lignin tongkol kapas yang difermentasi dengan *P. chrysosporium* sebesar 20,7% setelah difermentasi selama 4-10 hari (Shi *et al.* 2009).

Degradasi lignin KBK pada penelitian ini sangat berfluktuasi dengan nilai terbesar pada lama fermentasi 10 hari yaitu 38,61%. Hasil degradasi KBK ini lebih tinggi dari yang dilaporkan peneliti terdahulu yaitu 18,36% (Laconi 1998) dan 17,06% (Alemawor *et al.* 2009). Perbedaan disebabkan oleh jenis kapang, media dan fermentasi yang digunakan. Laconi (1998) menggunakan *P. chrysosporium* tanpa penambahan mineral dan Alemawor *et al.* (2009) menggunakan *P. ostreatus* dengan penambahan mineral Mn. Mn memacu pemecahan lignin secara efektif oleh fungi.

Degradasi lignin pada fermentasi hari ke-10 lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain. Penelitian yang dilakukan Shi *et al.* (2009) terhadap tongkol kapas dengan *P. chrysosporium* menunjukkan bahwa sebagian besar degradasi lignin terjadi pada 4-10 hari setelah fermentasi. Gupte *et al.* (2007) melaporkan kehilangan lignin maksimum oleh *P. chrysosporium* terjadi pada hari ke-10 setelah inkubasi yaitu sebesar 20,5%. Degradasi lignin yang tinggi pada lama fermentasi ini berhubungan dengan produksi enzim ligninase. Jager *et al.* (1985) melaporkan bahwa produksi enzim ligninolitik tertinggi terjadi pada hari ke-6 setelah inokulasi, sementara peneliti lain (Arora *et al.* 2002) melaporkan bahwa aktivitas ligninolitik pada *P. chrysosporium* baru terdeteksi pada hari ke-8 walau kehilangan bahan organik total telah terjadi pada hari ke-4. Aktivitas enzim LiP *P. chrysosporium* pada substrat biji anggur mulai terdeteksi pada hari ke-4 dan mencapai puncak produksi pada hari ke-8, sementara pada substrat jerami gandum sudah terdeteksi pada hari pertama dengan aktivitas tertinggi pada hari ke-12 (Couto *et al.* 2001).

Degradasi lignin terendah terjadi pada hari ke-15 fermentasi. Penurunan degradasi lignin diduga oleh peningkatan ketersediaan nutrisi hasil perombakan komponen lignoselulosa. Hal ini dapat dilihat dari kandungan BETN (51,85%), bahan terlarut (20,51%), hemiselulosa (4,78%) dan selulosa (31,31%) yang relatif lebih tinggi pada hari ke-10 fermentasi. Degradasi lignin merupakan reaksi spontan upaya memenuhi kebutuhan

nutrien untuk pertumbuhan. Hasil perombakan komponen lignoselulosa ini akan dimanfaatkan oleh kapang untuk pertumbuhan yang berarti akan menekan proses degradasi lignin dan aktivitas degradasi akan terjadi kembali jika ketersediaan nutrisi dalam media berkurang. Degradasi lignin akan membuka akses untuk perombakan selulosa dan hemiselulosa. Zeng *et al.* (2010) melaporkan bahwa selama proses biokonversi limbah pertanian dengan *P. chrysosporium* ditemukan dua puncak produksi enzim pendegradasi lignin yaitu pada hari ke-10 dan hari ke-21. Hasil senada dilaporkan oleh Couto *et al.* (2001) bahwa terjadi beberapa puncak produksi enzim ligninolitik selama fermentasi serutan kayu oleh *P. chrysosporium* berlangsung.

Rataan kandungan selulosa awal KBK sebesar 30,25%. Kandungan selulosa pada lama fermentasi 0, 5 dan 10 hari berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan 15, 20 dan 25 hari. Perbedaan disebabkan perombakan komponen lignoselulosa oleh kapang. *P. chrysosporium* disamping menghasilkan enzim ligninolitik juga menghasilkan enzim selulolitik. Pola perubahan selulosa berbeda dengan komponen lignoselulosa lain. Kandungan selulosa pada lama fermentasi 5 dan 10 hari mengalami peningkatan dibanding kandungan selulosa awal. Peningkatan kandungan selulosa diestimasi akibat proses degradasi lignin yang lebih intensif pada periode 5 dan 10 hari, masing-masing 29,75% dan 38,61%. *P. chrysosporium* merupakan kapang pelapuk putih yang mampu mendegradasi komponen lignoselulosa secara selektif (Tuomela *et al.* 2000) dan meninggalkan selulosa yang berwarna putih. Degradasi lignin yang tinggi pada periode 5-10 hari fermentasi juga terkait dengan produksi enzim ligninolitik.

Kandungan selulosa pada fermentasi 15 sampai 25 hari mengalami penurunan dibanding kandungan selulosa awal. Perubahan ini akibat peningkatan produksi enzim pemecah selulosa. Penelitian yang dilakukan Zeng *et al.* (2010) menunjukkan bahwa puncak produksi CMCase oleh *P. chrysosporium* tercapai pada hari ke-12.

Proses degradasi oleh *P. chrysosporium* terjadi jika tidak tersedia nutrisi yang mencukupi bagi pertumbuhan kapang. Perombakan komponen lignoselulosa pada periode sebelumnya telah meningkatkan ketersediaan nutrisi yang dapat dimanfaatkan. Kondisi ini dicerminkan oleh peningkatan kandungan BETN (51,85%) dan bahan terlarut (20,51%). Kapang akan memanfaatkan nutrisi yang ada, termasuk selulosa untuk pertumbuhan dan mengurangi aktivitas degradasi lignin.

Efisiensi proses biodegradasi lignin (EFBL) merupakan perbandingan degradasi lignin dengan kehilangan bahan organik. Nilai EPBL yang makin tinggi menggambarkan proporsi kehilangan lignin yang makin tinggi dibanding komponen bahan organik lainnya. Nilai EPBL percobaan ini berkisar antara 3.01-5.65. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan EPBL jerami yang dilaporkan oleh Mukherjee dan Nandi (2004) yaitu sebesar 0,76-0,99. Perbedaan antar bahan dapat disebabkan oleh kandungan lignin awal, jenis kapang yang digunakan dan lama fermentasi.

P. chrysosporium secara selektif merombak lignin terlebih dahulu kemudian diikuti dengan selulosa. Rasio selulosa dan lignin (RSL) merupakan salah satu indikator efektivitas degradasi komponen serat oleh kapang (Vargas-Garcia *et al.* 2007). Rasio selulosa lignin KBK sebesar 0,79 lebih rendah dibandingkan RSL pada jerami padi (6,21), kulit kopi (1,75) dan daun pisang (1,96) (Vega *et al.* 2005). RSL yang tinggi menunjukkan tingkat ketersediaan selulosa yang lebih baik pada bahan.

Rasio selulosa lignin KBK mengalami perubahan yang fluktuatif mengikuti besaran degradasi lignin oleh *P. chrysosporium*. Kulit buah kakao tanpa fermentasi mempunyai rasio selulosa lignin sebesar 0,79 dan tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan fermentasi 15 hari (0,87), 20 hari (0,86) dan 25 hari (0,83) tetapi berbeda nyata ($P<0,05$) dengan fermentasi 5 hari (1,18) dan 10 hari (1,25). Perbedaan disebabkan oleh perbedaan besaran degradasi lignin oleh *P. chrysosporium* dalam setiap satuan waktu perlakuan. Kerem dan Hadar (1995) menyebutkan penambahan Mn dalam substrat mampu meningkatkan rasio selulosa lignin dari 2,5 menjadi 3,3.

Peningkatan nilai rasio selulosa lignin menunjukkan tingkat degradasi lignin yang lebih besar dibandingkan degradasi selulosa. Depolimerisasi dan demineralisasi lignin oleh kapang menjadi CO_2 dan air menyebabkan penurunan kandungan lignin substrat. *P. chrysosporium* mempunyai kemampuan untuk mendegradasi lignoselulosa secara selektif yaitu mendegradasi lignin lebih dahulu diikuti dengan perombakan hemiselulosa dan selulosa (Tuomela *et al.* 2000). Peningkatan degradasi lignin (Tabel 4) diikuti dengan peningkatan RSL (Tabel 3). Keeratan hubungan rasio selulosa lignin (y) dengan degradasi lignin (x) substrat digambarkan dengan persamaan $y = 0,031x + 0,009$ ($R^2=0,501$; $P<0,05$). Peningkatan RSL menunjukkan peningkatan ketersediaan selulosa yang dapat digunakan oleh ternak.

KESIMPULAN

Fermentasi kulit buah kakao dengan penambahan 100 ppm Mn dan 1 190 ppm Ca selama 10 hari memberikan hasil yang terbaik yaitu degradasi lignin (38,61%), efisiensi biodegradasi lignin (5,65), dan rasio selulosa terhadap lignin (1,25).

DAFTAR PUSTAKA

- Adamafo N.A., I.K. Afeke, J. Wepeba, E.K. Ali and F.O. Quaye. 2004. Biochemical composition and in vitro digestibility of cocoa (*Theobroma cocoa*) pod husk, cassava (*Manihot esculata*) peel and plantain (*Musa paradisiaca*) peel. *Ghana J. Sci.* 44:29-38.
- Alemawor F., V.P. Dzogbefia, E.O.K. Oddoye and J.H. Oidham. 2009. Effect of *Pleurotus ostreatus* fermentation on cocoa pod husk composition: Influence of fermentation period and Mn^{2+} supplementation on the fermentation process. *Afr. J. Biotechnol.* 8:1950-1958.
- Amirroenas D.E. 1990. Mutu Ransum Berbentuk Pellet dengan Bahan Serat Biomasa Pod Coklat (*Theobroma cacao* L.) untuk Pertumbuhan Sapi Perah Jantan. Tesis. Fakultas Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- [AOAC] Association of Official Agricultural Chemists. 1998. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, Ed ke-16. AOAC International. Gaithersburg.
- Aregheore E.M. 2002. Chemical Evaluation and digestibility of cocoa (*Theobroma cacao*) byproducts fed to goats. *Trop. Anim. Health Prod.* 34:339-348.
- Aregheore E.M. 2006. Utilization of concentrate supplements containing varying levels of copra cake (*Cocos nucifera*) by growing goats fed a basal diet of napier grass (*Pennisetum purpureum*). *Small. Rumin. Res.* 64:87-93.
- Arora D.S., M. Chander and P.K. Gill. 2002. Involvement of lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase in degradation and selective ligninolysis of wheat straw. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 50:115-120.
- Arora D.S. and R.K. Sharma. 2009. Enhancement in *in vitro* digestibility of wheat straw obtained from different geographical regions during solid state fermentation by white rot fungi. *Bioresources.* 4(3):909-920.

- Couto S.R., A. Dominguez and A. Sanroman. 2001. Utilisation of lignocellulosic wastes for lignin peroxidase production by semi-solid-state cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Biodegradation*. 12: 283–289,
- Dinis M.J., R.M.F. Bezerra, F. Nune, A.A. Dias, C.V. Guedes, L.M.M. Ferreira, J.W. Cone, G.S.M. Marques A.R.N. Barros and M.A.M. Rodrigues. 2009. Modification of wheat straw lignin by solid state fermentation with white-rot fungi. *Bioresour. Technol.* 100:4829-4835.
- Gervais P. 2008. Water relations in solid state fermentation. In: Pandey A, C.R. Soccol, C. Larroche, editor. *Current Developments in Solid-State Fermentation*. Asiatech Publisher Inc. New Delhi.
- Gupte A., S. Gupte and H. Patek. 2007. Ligninolytic enzyme production under solid-state fermentation by white rot fungi. *J. Scient. Industr. Res.* 66:611-614.
- Gutierrez A., Rio JC del, M.J. Martinez-Inigo, M.J. Martinez and A.T. Martinez. 2005. Production of new unsaturated lipids during wood decay by ligninolytic basidiomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1344-1350.
- Haddadin M.S.Y., J. Haddadin, O.I. Arabiyat and B. Hattar. 2009. Biological conversion of olive pomace into compost by using *Trichoderma harzianum* and *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresour. Technol.* 100:4773–4782
- Howard R.L., E. Abotsi, E.L.J. van Rensburg and S. Howard. 2003. Lignocellulose biotechnology: issues of bioconversion and enzyme production. *Afr. J. Biotechnol.* 2:602-619.
- Iyayi E.A. 2004. Changes in the cellulose, sugar and crude protein contents of agro-industrial by-products fermented with *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. *Afr. J. Biotechnol.* 3:186-188.
- Jager A., S. Croan and T.K. Kirk. 1985. Production of ligninase and degradation of lignin in agitated submerged cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 50:1274-1278.
- Jalč D. 2002. Straw enrichment for fodder production by fungi. In: Kempken F, Bennet JW, Editor. *The Mycota XI. Agricultural Applications*. Springer-Verlag, Berlin. hlm 19-38.
- Jimenez E.L. and V.P. Garcia. 1992. Relationship between organic carbon and total organic matter in municipal solid waste and refuse composts. *Bioresour. Technol.* 41:265-272.
- Kerem Z. and Y. Hadar. 1995. Effect of manganese on preferential degradation of lignin by *Pleurotus ostreatus* during solid-state fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 3057-3062.
- Laconi E.B. 1998. Peningkatan Kualitas Kakao melalui Amoniasi dengan Urea dan Biofermentasi dengan *Phanerochaete chrysosporium* serta Penjabarannya dalam Formulasi Ransum Ruminansia. Disertasi. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Maheswari R. 2005. *Fungi: Experimental Models in Biology*. Taylor and Francis. Boca Rotan.
- Mukherjee R. and B. Nandi. 2004. Improvement of in vitro digestibility through biological treatment of water hyacinth biomass by two *Pleurotus* species. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 53: 7– 12.
- Rodriguez-Vazquez R., T. Cruz-Cordova, J.M. Fernandez-Sancieiz, T. Roldan-Carrillo, A. Mendoza-Cantu, G. Saucedo-Castaneda and A. Tomasini-Campocosoie. 1999. Use of sugarcane bagasse pith as solid substrate for *P. chrysosporium* growth. *Folia Microbiol.* 44:213-218.
- Sanchez C. 2009. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnol. Advan.* 27:185-194.
- Shi J., M.S. Chinn and R.R. Sharma-Shivappa. 2008. Microbial pretreatment of cotton stalks by solid state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresour. Technol.* 99:6556–6564
- Shi J., R.R. Sharma-Shivappa and M.S. Chin. 2009. Microbial pretreatment of cotton stalk by submerged cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioreour. Technol.* 100:4388-4395.
- Shi J.G., G.M. Zeng, X.Z. Yuan, F. Dai, J. Liu and X.H. Wu. 2006. The stimulative effects of surfactants on composting of waste rich in cellulose. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 22:1121-1127.
- Suparjo, Yatno dan H. Handoko. 2010. Stimulasi produksi enzim ligninolitik dari *Phanerochaete chrysosporium*. *J. Penelitian Universitas Jambi* 12(4):1-7.
- Tuomelo M., M. Vikman, A. Hatakka and Itavaara M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Biosresour. Technol.* 72:169-183.

- Van Soest P.J. and H.K. Goering. 1970. Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). USDA Agricultural Handbook No. 379
- Vega A., R.E. Caballero, J.R. Garcia and N. Mori. 2005. Bioconversion of agroindustrial residues by *Pleurotus ostreatus* cultivation. *Revista Mexicana de Micologia* 20:33-38.
- Xu C., F. Ma and X. Zhang. 2009. Lignocellulose degradation and enzyme production by *IrpeX lacteus* CD2 during solid-state fermentation of corn stover. *J. Biosci. Bioengin.* 108:372–375.
- Zadrazil F. 1977. The conversion of straw into feed by basidiomycetes. *Eur. J. Microbiol.* 4:273-281.
- Zadrazil F. and A.K. Puniya. 1993. Effect of oxygen on upgrading of wheat straw with *Pleurotus sajor caju* at high partial pressure of carbondioxide. *J. Appl. Anim. Res.* 4: 73-82.
- Zeng G., M Yu, Y. Chen, D. Huang, J. Zhang, H. Huang, R. Jiang and Z. Yu. 2010. Effects of inoculation with *Phanerochaete chrysosporium* at various time points on enzyme activities during agricultural waste composting. *Bioresour. Technol.*101:222–227.