

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI LIGNINOLITIK PADA
SERASAH PERKEBUNAN NANAS (*Ananas comosus*) PT. GREAT GIANT
PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH**

(Skripsi)

Oleh

INTEN WAHYUNINGTIAS



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI LIGNINOLITIK PADA SERASAH PERKEBUNAN NANAS (*Ananas comosus*) PT. GREAT GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH

Oleh

Inten Wahyuningtias

Di perkebunan nanas proses dekomposisi lignin berlangsung sangat lambat karena struktur kimia lignin yang kompleks sehingga bersifat *recalcitrant* atau sulit dirombak. Oleh karena itu perlu ditambahkan bioaktivator untuk mempercepat proses degradasi lignin, salah satunya dengan memanfaatkan fungi ligninolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik dari perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Terbanggi Besar Lampung Tengah serta mengetahui karakteristik isolat fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik dari serasah perkebunan nanas.

Pengambilan serasah dilaksanakan di perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Terbanggi Besar Lampung Tengah. Isolasi dan karakterisasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, pada bulan Desember 2018 sampai dengan Maret 2019. Isolasi

dilakukan dengan metode *Moist Chamber*. Perlakuan seleksi isolat fungi ligninolitik disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Parameter dalam penelitian ini meliputi rasio zona warna, perhitungan jumlah spora dan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*). Lalu isolat fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik dikarakterisasi kemampuan tumbuhnya pada kondisi pH, suhu dan herbisida berbeda, lalu diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Kemudian data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif.

Hasil dari penelitian ini yaitu diperoleh 11 isolat fungi dari serasah perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) dan terdapat 2 isolat yang memiliki kemampuan ligninolitik yaitu Bioggp 2 (*Trichoderma* sp. 1) dan Bioggp 5 (*Trichoderma* sp. 2). *Trichoderma* sp. 1 dan *Trichoderma* sp. 2 menunjukkan pertumbuhan yang baik pada kondisi asam (pH 5) dan suhu 30 °C serta tahan terhadap pengaruh herbisida Diuron.

Kata kunci: fungi ligninolitik, isolasi, karakterisasi, lignin, serasah nanas

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI LIGNINOLITIK PADA
SERASAH PERKEBUNAN NANAS (*Ananas comosus*) PT. GREAT GIANT
PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH**

Oleh

INTEN WAHYUNINGTIAS

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI LIGNINOLITIK PADA SERASAH PERKEBUNAN NANAS (*Ananas comosus*) PT. GREAT GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH**

Nama Mahasiswa : **Inten Wahyuningtias**

No. Pokok Mahasiswa : 1517021002

Jurusan : Biologi

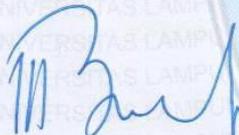
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

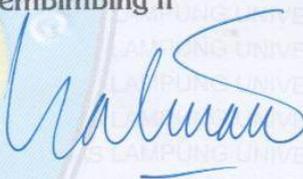
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II


Dr. Bambang Irawan, M.Sc.
NIP. 196503031992031006


Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 196104181987031001

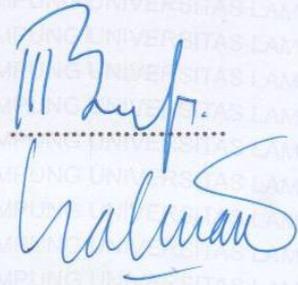
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP. 196101121991031002

MENGESAHKAN

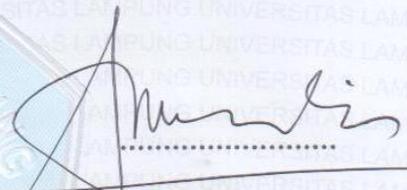
1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.



Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.

**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Sumardi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Suratman, M.Sc.
MP. 19640604 199003 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 14 Juni 2019

RIWAYAT HIDUP



Inten Wahyuningtias adalah anak ketiga dari empat bersaudara merupakan anak dari pasangan suami istri Bapak Basaruddin dan Ibu Ropi'ah. Lahir di Mada Jaya, pada tanggal 30 Desember 1996. Penulis mengawali pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Islam Assyafi'iyah pada tahun 2001. Setelah itu melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 01

Mada Jaya pada tahun 2003 dan melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 02 Kedondong pada tahun 2009, dilanjutkan Sekolah Menengah Atas di SMAN 01 Ambarawa pada tahun 2012. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Perguruan Tinggi Negeri di Universitas Lampung pada tahun 2015 di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswi, Penulis aktif berorganisasi dan pernah menjadi anggota Bidang Ekspedisi di Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO). Selain itu penulis pernah menjadi anggota Klub Selam Anemon FMIPA UNILA. Penulis juga pernah menjadi Asisten Praktikum Mikrobiologi Umum dan Mikologi. Pada tahun 2018 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di

Desa Pagar Dewa, Kecamatan Pagar Dewa, Kabupaten Tulang Bawang Barat, Lampung selama 40 hari. Penulis juga pernah melaksanakan Kerja Praktik di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor, Jawa Barat selama 30 hari dengan judul “IDENTIFIKASI CEMARAN JAMUR PADA EKSPLAN RUMPUT GAJAH (*Pennisetum purpureum*) RUMAH KACA BB BIOGEN YANG TELAH DIBERI MINYAK ATSIRI SEBAGAI ANTIFUNGI DI BALAI BESAR PENELITIAN VETERINER BOGOR”.

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah puji syukur kupanjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat untukku sehingga skripsi ini bisa terselesaikan dengan baik. Karya sederhanaku ini ku persembahkan untuk :

Abahku Basaruddin dan Emakku Ropi'ah, yang selalu berkorban untuk putra putrinya dan atas doa serta jerih payah kalianlah saya dapat menggapai cita-cita. Semoga cita-citaku ini bisa menjadi persembahan yang membahagiakan kalian.

Kakakku Dian Sahadat dan Wais Alqorni serta adikku Bangkit Pamungkas, yang selalu mengalah dalam hal apapun. Terimakasih atas doa, dukungan dan semangat yang tulus dari kalian, semoga awal dari kesuksesan saya ini dapat membanggakan kalian.

Bapak dan Ibu Dosen khususnya pembimbingku yang selalu sabar, bijaksana dan tak pernah lelah dalam membimbing dan memberikan ilmu.

*Teman-temanku
Atas kebersamaan, pengalaman, bantuan dan dukungan selama masa studi.*

*Serta Almamaterku tercinta
Universitas Lampung*

Motto

Pengetahuan adalah cahaya hati dan ilmu adalah lantera akal. Dalam setiap pengalaman terdapat pelajaran (Ali bin Abi Thalib)

Pilihan anda pada saat ini adalah awal kehidupan yang baru (Albert Einstein)

Aku bertanggung jawab atas pikiranku, maka aku harus bertanggung jawab atas semua perbuatanku (Dr. Ibrahim Elfiky)

Di pintu spiritual, terdapat jalan keluar bagi semua persoalan (Wayne W. Dyer)

Ketika aku membahagiakan orang lain, aku juga akan bahagia (Inten Wahyuningtias)

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang karena atas rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“ISOLASI DAN KARAKTERISASI FUNGI LIGNINOLITIK PADA SERASAH PERKEBUNAN NANAS (*Ananas comosus*) PT. GREAT GIANT PINEAPPLE (GGP) TERBANGGI BESAR LAMPUNG TENGAH”**.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini banyak sekali bantuan yang Penulis dapatkan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini Penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua, kakak, serta adik tercinta yang selalu memberikan doa, kasih sayang, kesabaran, dukungan, dan semangat serta dorongan moril maupun materil yang tiada henti sehingga Penulis dapat menggapai cita-cita. Serta keponakan-keponakan yang selalu mampu menjadi tempat melepas penat yang luar biasa selama penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Bambang Irawan, M.Sc., selaku Pembimbing I yang telah dengan sabar memberi masukan, arahan serta bimbingan kepada Penulis dari proses penelitian sampai dengan terselesaikannya skripsi ini.
3. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, koreksi, saran, kritik dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.

4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si., selaku Pembahas yang telah banyak memberikan kritik dan koreksi serta masukan kepada Penulis dalam proses penelitian sampai dengan terselesaikannya skripsi ini.
5. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
6. Bapak Drs. Suratman, M.Sc., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Ibu Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada Penulis selama masa studi di jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
8. Karyawan dan Staff serta Laboran di Jurusan Biologi yang telah memberikan bantuan dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman penelitianku Niken, Ola, dan Dila atas bantuan, kehangatan, keceriaan, kerjasama, dan perjuangan selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini. Kalian luar biasa, sukses selalu dalam mengejar mimpi kita masing-masing. Kebaikan kalian akan selalu dikenang. Buat Ola jangan lupa PUBG terus sampe jago, jangan lupain gue yang noob ini hahaha.
10. Tim Microholic'15 (Cahya, Eka, Mak e, Nosep, Iqbal, Wuri, Supi, Nuril, Yunita, Sundari, Elin, dan Mb Fika) serta ponakan Microholic'15 Eriola atas canda tawa, kehangatan, tegur sapa, semangat, dorongan, bantuan, dan kekeluargaan selama masa studi sehingga Penulis bertahan hingga lulus seleksi alam.
11. Mabest Salira University (Lily, Stevi, Uwik, Jumik, Desi, Yohana, Puput, Renti) terimakasih udah jadi teman yang awet sampe sekarang dan aku berharap selamanya amin. Walaupun kadang kalian agak ngaco tapi kalian

selalu rajin ngasih semangat ketika aku terlihat capek, putus asa, dan tentunya ketika agak gila. Kalian juga selalu menjadi penghibur dimanapun dan kapanpun.

12. Sahabat-sahabat kos Meliya, Sharen, Selly, Desma, Ria, dan Yesi.
Terimakasih banyak sudah menjadi sahabat dari awal kuliah sampe sekarang. Banyak hal yang udah dilalui bareng-bareng. Ketika lulus kita semua terpisah oleh jarak, semoga persahabatan kita selamanya amin.
13. Penghuni kosan Putri Mercy (Widi, Irma, Wiwik, Fitri, Hepi dan yang lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu) atas keceriaan, semangat dan dorongan serta selalu bisa menghilangkan rasa lelah Penulis.
14. Kesayanganku Rezky Ervinda Dinar manusia paling ngotot sedunia dan suka lupa ingatan yang Insyallah segera sembuh hahaha. Thanks selalu menemani saat begadang mengerjakan skripsi sampe aku sekarang sedikit suka kopi, menyemangati, dan mendengarkan keluh kesah selama drama perskripsian. Banyak hal yang tidak bisa diungkapkan tapi terimakasih sudah sabar dan mampu memahami aku yang galak ini.
15. Sahabatku bang Riyan, bang Rico, terimakasih udah sering bantu dalam bentuk apapun.
16. Teman-teman Biologi angkatan 2014, 2015, dan 2016 atas bantuan dan semangat yang diberikan kepada Penulis.
17. Semua pihak yang telah berjasa dan membantu menyelesaikan skripsi ini, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.
18. Almamater tercinta Universitas Lampung.

Semoga segala kebaikan dan ketulusan yang telah diberikan akan dibalas oleh Allah SWT dengan jumlah yang berlipat ganda, Amin. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 24 Juni 2019
Penulis

Jnten Wahyuningtias

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Inten Wahyuningtias
NPM : 1517021002
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya-sungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:

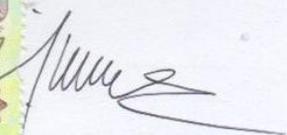
“Isolasi dan Karakterisasi Fungi Ligninolitik pada Serasah Perkebunan Nanas (*Ananas comosus*) PT. Great Giant Pineapple (GGP) Terbanggi Besar Lampung Tengah”

adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan apabila sebagian atau seluruh data pada skripsi ini digunakan oleh dosen dan/atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan.

Jika dikemudian hari terbukti pernyataan saya tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 24 Juni 2019
Yang menyatakan,




Inten Wahyuningtias
NPM. 1517021002

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	xv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR GAMBAR	xx
 I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	3
C. Manfaat Penelitian	3
D. Kerangka Pikir	3
E. Hipotesis	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.)	6
B. Lignin	8
C. Ligninase	11
D. Serasah	13
E. Fungi	13
F. Pembentukan Spora	19

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	22
B. Alat dan Bahan Penelitian	22
C. Rancangan Penelitian	23
D. Prosedur Kerja	24
1. Isolasi Fungi	24
2. Peremajaan Isolat Fungi	25
3. Seleksi Isolat Fungi Ligninolitik	25
4. Perhitungan Spora dan CFU	26
5. Karakterisasi pH	28
6. Karakterisasi Suhu	29
7. Karakterisasi Herbisida	29
8. Identifikasi Isolat Fungi Ligninolitik	29
E. Analisis Data	30
F. Diagram Alir Penelitian	31

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil	32
1. Isolasi dan Seleksi Isolat Fungi Ligninolitik	32
2. Jumlah Spora dan Nilai CFU Isolat Fungi Ligninolitik	34
3. Karakterisasi Isolat Fungi Ligninolitik	35
a. Karakterisasi pH	35
b. Karakterisasi Suhu	36
c. Karakterisasi Herbisida	37
4. Identifikasi Isolat Fungi Ligninolitik	38
B. Pembahasan	40
1. Isolasi dan Seleksi Isolat Fungi Ligninolitik	40
2. Jumlah Spora (Produksi Spora)	42
3. Nilai CFU (Viabilitas Fungi)	43
4. Karakterisasi pH	44
5. Karakterisasi Suhu	46
6. Karakterisasi Herbisida	47
7. Identifikasi Fungi Ligninolitik	49

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	50
B. Saran	50

DAFTAR PUSTAKA	51
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	58
-----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Komposisi Kimia Serat Daun Nanas	8
Tabel 2. Perbandingan Volume Larutan Asam Sitrat dan Natrium Sitrat .	28
Tabel 3. Indikator Aktivitas Enzim Ligninolitik	33
Tabel 4. Jumlah Spora dan Viabilitas Spora Isolat Fungi	35
Tabel 5. Pengaruh pH Terhadap Pertumbuhan Isolat Fungi	36
Tabel 6. Pengaruh Suhu Terhadap Pertumbuhan Isolat Fungi	37
Tabel 7. Pengaruh Herbisida Terhadap Pertumbuhan Isolat Fungi	38
Tabel 8. Karakter Isolat Fungi Ligninolitik Secara Makroskopis dan Mikroskopis	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Bagian-bagian Nanas	7
Gambar 2. Struktur Kimia Penyusun Lignin	10
Gambar 3. Struktur Kimia Lignin	10
Gambar 4. Diagram Alir Penelitian	31
Gambar 5. Reaksi Oksidasi Positif dan Negatif Isolat Fungi	34
Gambar 6. Hasil Reaksi Oksidasi <i>Guaiacol</i>	34
Gambar 7. Mikroskopis <i>Trichoderma</i> sp 1.	39
Gambar 8. Mikroskopis <i>Trichoderma</i> sp. 2.	39
Gambar 9. Bagan Alir Isolasi Fungi	58
Gambar 10. Bagan Alir Peremajaan Isolat	59
Gambar 11. Bagan Alir Seleksi Isolat Fungi Ligninolitik	60
Gambar 12. Bagan Alir Perhitungan Spora	61
Gambar 13. Bagan Alir Perhitungan CFU	62
Gambar 14. Bagan Alir Karakterisasi pH	63
Gambar 15. Bagan Alir Karakterisasi Suhu	64
Gambar 16. Bagan Alir Karakterisasi Herbisida	65
Gambar 17. Bagan Alir Identifikasi Isolat Fungi	66
Gambar 18. Isolat Fungi Hasil Isolasi dari Serasah Perkebunan Nanas ...	67

Gambar 19. Isolat Bioggp 2	67
Gambar 20. Isolat Bioggp 3	67
Gambar 21. Isolat Bioggp 4	68
Gambar 22. Isolat Bioggp 5	68
Gambar 23. Isolat Bioggp 6	68
Gambar 24. Isolat Bioggp 7	68
Gambar 25. Isolat Bioggp 8	69
Gambar 26. Isolat Bioggp 9	69
Gambar 27. Isolat Bioggp 10	69
Gambar 28. Isolat Bioggp 11	69
Gambar 29. Isolat Bioggp 12	70
Gambar 30. Perhitungan Jumlah Spora Isolat Menggunakan <i>Haemocytometer</i>	70
Gambar 31. Perhitungan Nilai CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) Bioggp 2.....	71
Gambar 32. Perhitungan Nilai CFU (<i>Colony Forming Unit</i>) Bioggp 5.....	71
Gambar 33. Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 2	71
Gambar 34. Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 5	72
Gambar 35. Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 2.....	72
Gambar 36. Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 5.....	72
Gambar 37. Pengaruh Herbisida terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 2 .	73
Gambar 38. Pengaruh Herbisida terhadap Pertumbuhan Isolat Bioggp 5	73

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Lampung merupakan Provinsi penghasil nanas terbesar dengan produksi sebesar 633.095 ton atau 35,25 persen dari total produksi nasional (Subdirektorat Statistik Hortikultura, 2017). Keberadaan PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) sebagai perusahaan nanas di Kabupaten Lampung Tengah menyebabkan produksi nanas di Provinsi Lampung dikuasi oleh Kabupaten tersebut. Saat ini PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) tercatat sebagai tiga besar produsen nanas kalengan di dunia (Respati, 2016). Semakin meningkatnya produksi nanas tersebut, maka limbah yang dihasilkan perkebunan nanas juga akan semakin meningkat.

Nanas merupakan tanaman tahunan, tanaman ini harus diganti dengan tanaman nanas yang baru setelah 2-3 kali panen, dengan demikian banyak limbah daun nanas yang dihasilkan setelah pasca panen. Daun nanas sendiri memiliki komposisi kimia serat daun seperti lignin sebesar 4,4-4,7 % (Onggo dan Jovita, 2005). Lignin merupakan polimer fenilpropanoid yang strukturnya heterogen dan sangat kompleks sehingga bersifat *recalcitrant* atau sulit dirombak. Lebih dari 30 % lignin menyusun material tumbuhan,

sehingga kayu mendapatkan kekuatan terhadap serangan mikroorganisme (Orth *et al.*, 1993).

Selain komponen penyusun utama pada tumbuhan berpembuluh yang memberikan kekuatan dan kekakuan pada tumbuhan lignin juga berikatan pada humat tanah dan kompos, sehingga komposisi substansi humat tanah akan dipengaruhi oleh kandungan lignin pada bahan organik tanah dan heterogenitasnya. Di lingkungan proses dekomposisi lignin berlangsung sangat lambat karena struktur kimia lignin yang kompleks, heterogen, tidak larut dalam air dan aromatik (Martina *et al.*, 2013). Oleh karena itu perlu ditambahkan bioaktivator untuk mempercepat proses degradasi lignin, salah satunya dengan memanfaatkan fungi ligninolitik.

Fungi juga dapat hidup pada sisa tumbuhan atau hidup melekat pada organisme lain. Fungi memiliki kemampuan dan fungsi yang berbeda-beda sesuai dengan lingkungan yang ditinggalinya. Salah satu media yang biasa digunakan untuk tempat tumbuhnya adalah batang kayu. Fungi yang tumbuh pada batang kayu memiliki kemampuan dalam menguraikan substansi kayu. Berdasarkan kemampuan menguraikan substansi kayu, fungi dibagi kedalam 2 kelompok yaitu kelompok *white rot* dan *brown rot*. Kelompok fungi yang mampu menguraikan lignin, selulosa dan hemiselulosa yaitu kelompok *white rot* (Hammel, 1997). Sedangkan kelompok fungi yang hanya dapat menguraikan selulosa dan hemiselulosa yaitu kelompok dari *brown rot* (Artiningsih, 2006).

Peranan fungi pengurai lignin dalam bidang industri dan pengolahan limbah serta lingkungan sangatlah penting, oleh karena itu penelitian dalam bidang ini terus dikembangkan, agar semakin banyak ditemukan fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik sehingga mampu dikembangkan dan dapat dijadikan sebagai sumber inokulum yang dapat mempercepat proses pengomposan.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi dan menyeleksi fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik dari perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.
2. Mengetahui karakteristik fungi ligninolitik dari serasah perkebunan nanas.

C. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai jenis dan karakter fungi ligninolitik serta kemampuannya dalam mendegradasi senyawa lignin yang diperoleh dari perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung serta dapat menjadi acuan bagi penelitian yang terkait selanjutnya.

D. Kerangka Pikir

PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung memiliki perkebunan nanas yang luas

dan memiliki serasah nanas yang banyak. Nanas merupakan tumbuhan yang tersusun atas senyawa lignin cukup tinggi, lignin merupakan senyawa kompleks, sehingga serasah nanas sulit untuk didegradasi secara alamiah, oleh karena itu perlu adanya bioaktivator untuk mempercepat degradasi senyawa lignin salah satunya dengan bantuan fungi ligninolitik. Lingkungan yang mendukung seperti banyaknya sisa-sisa tumbuhan nanas memungkinkan adanya pertumbuhan fungi ligninolitik sangat tinggi.

Sehingga penelitian ini dilakukan isolasi fungi saprotrof pada serasah yang diambil dari perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung dengan metode *Moist Chamber*. Isolat yang sudah didapat kemudian diseleksi kemampuan ligninolitiknya, dengan cara pengujian kualitatif ligninolitik dengan mendegradasi lignin yaitu dengan menumbuhkannya pada media penguji kualitatif yang diperkaya *guaiacol* dengan 3 kali ulangan, munculnya warna coklat gelap mengindikasikan adanya reaksi oksidasi *guaiacol* dan merupakan tanda positif dihasilkan enzim pendegradasi lignin. Selanjutnya isolat fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik diuji produksi dan viabilitas spora. Produksi spora dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* dan viabilitas spora dengan perhitungan nilai CFU (*Colony Forming Unit*). Selanjutnya isolat fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik dikarakterisasi kemampuan tumbuhnya pada kondisi pH, suhu dan herbisida yang berbeda. Kemudian isolat fungi yang memiliki kemampuan ligninolitik diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis, secara makroskopis dengan melihat warna

koloni. Secara mikroskopis melalui teknik *slide culture*, lalu diamati morfologinya di bawah mikroskop seperti bentuk hifa (bersekat atau tidak bersekat) dan bentuk spora. Kemudian hasilnya dicocokkan dengan buku acuan identifikasi. Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif.

E. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Didapatkan isolat fungi ligninolitik dari serasah perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung, ditandai dengan munculnya warna coklat gelap pada media penguji yang diperkaya *guaiacol*.
2. Tumbuhnya isolat fungi ligninolitik pada media penguji kualitatif dengan kondisi suhu, pH, dan herbisida yang berbeda.

II. TINJAUAN PUSTAKA

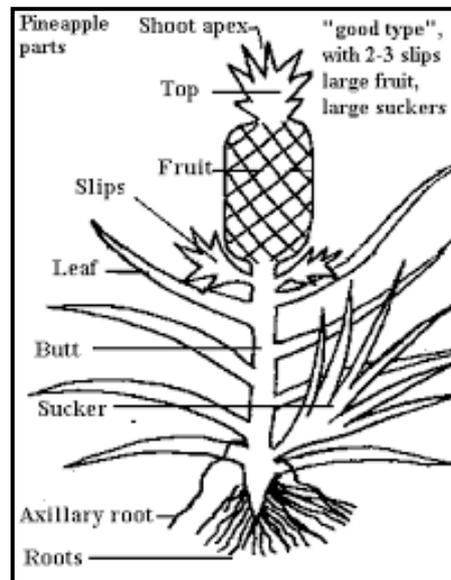
A. Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Nanas atau dalam bahasa ilmiah *Ananas comosus* (L.) Merr. merupakan tanaman asli dari negara Brazilia, Argentina dan Paraguay. Pada saat ini tanaman nanas sudah tersebar di seluruh negara yang beriklim tropis. Di Indonesia, awalnya tanaman nanas hanya ditanam di pekarangan rumah saja, namun seiring perkembangan tanaman nanas kemudian ditanam di lahan kering dan dijadikan sebagai tanaman perkebunan (Adawiyah, 2010).

Tanaman nanas hidupnya bersifat tahunan. Tanaman nanas berbentuk semak yang terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan tunas-tunas. Sistem perakaran tanaman nanas terbatas, berakar serabut (monocotyledonae), melekat pada pangkal batang dan akar-akarnya dapat dibedakan menjadi akar tanah dan akar samping. Menurut Riama *et al.* (2012) tinggi tanaman nanas mencapai 50-150 cm, daunnya memanjang seperti pedang dengan panjang 80-150 cm dan tepi daun berduri maupun tidak berduri. Nanas merupakan tanaman xerofit atau tanaman yang sangat tahan terhadap kondisi kekeringan. Tanaman nanas berbunga pada umur 15-22 bulan, bergantung pada asal bibit dan kondisi lingkungan.

Menurut APG (2003) klasifikasi tanaman nanas adalah sebagai berikut:

- Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Liliopsida
 Bangsa : Poales
 Suku : Neliaceae
 Marga : *Ananas*
 Jenis : *Ananas comosus* (L.) Merr.



Gambar 1. Bagian-bagian Nanas (Sumber: Rukmana, 1996).

Nanas *queen* dan nanas *smooth cayenne* merupakan varietas yang sudah lama dikembangkan di Indonesia. Nanas *queen* memiliki daun yang pendek berduri tajam, dan buahnya lonjong mirip kerucut, memiliki rasa yang lebih manis dari nanas *smooth cayenne*. Sedangkan nanas *smooth cayenne* memiliki daun yang halus, tidak berduri, dan buahnya besar. Perkebunan PT.

Great Giant Pineapple menghasilkan buah nanas varietas *smooth cayenne* dengan hasil sampingan berupa sisa tanaman nanas antara lain, daun sebanyak 90 %, tunas batang 9 %, dan batang 1 % (Wardani, 2018).

Menurut Onggo dan Jovita (2015) komposisi kimia serat daun nanas adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Kimia Serat Daun Nanas

Komposisi kimia serat daun nanas	Nilai (%)
Selulosa	69,5 – 71,5
Pentosan	17,0 – 17,8
Lignin	4,4 – 4,7
Pektin	1,0 – 1,2
Lemak dan Wax	3,0 – 3,3
Abu	0,7 – 0,8
Zat-zat lain (protein, asam organik, dll).	4,5 – 5,3

B. Lignin

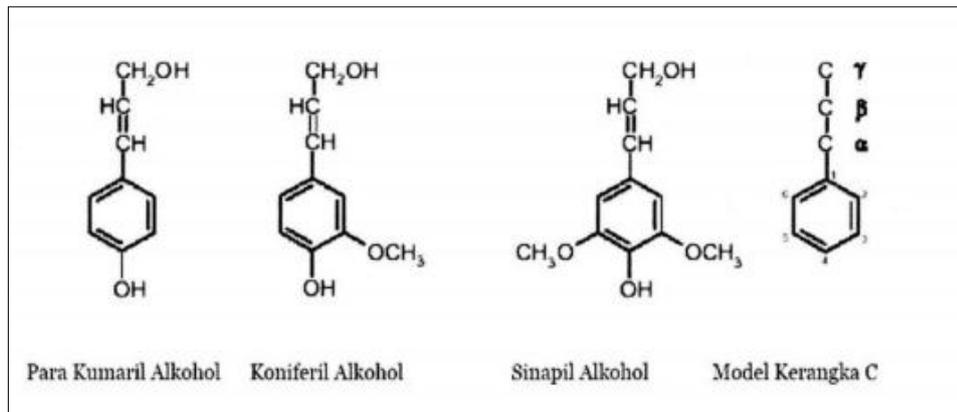
Lignin merupakan suatu gabungan beberapa senyawa dengan ikatan yang kuat mengandung karbon, hidrogen, dan oksigen serta merupakan komponen utama penyusun lignoselulosa. Lignin memiliki inti dengan satu unit aromatik dan berstruktur rantai yang mengandung unit dasar fenil propane, dengan gugus metoksi berkadar 5-15 % (Anggorodi, 1990).

Komposisi dan struktur lignin tergantung pada genetik. Semakin bertambahnya umur tanaman maka kadar lignin juga bertambah, akibatnya daya cerna semakin rendah (Jouany, 1991). Lignin memberikan bentuk yang kokoh terhadap tanaman, terutama terkonsentrasi pada lamela tengah dan

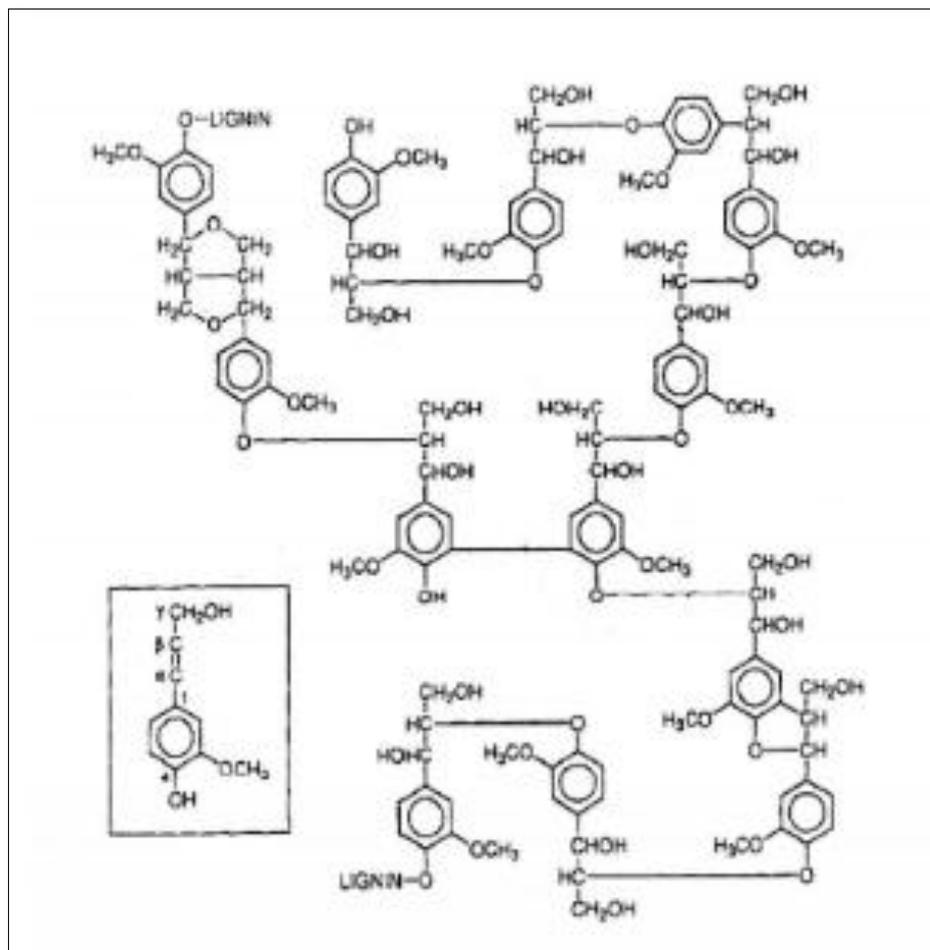
lapisan dinding sel. Lignin tersebut terbentuk selama proses lignifikasi jaringan tanaman. Lignin juga membentuk ikatan yang kuat dengan polisakarida yang melindungi polisakarida dari degradasi mikroba (Steffen, 2003). Selain itu Lignin sangat tahan terhadap degradasi kimia termasuk degradasi enzimatik. Menurut penelitian Irawan *et al.* (2014) *Geotrichum* sp. merupakan salah satu fungi saprofit yang memiliki sifat lignoselulolitik yaitu fungi yang dapat mendegradasi lignin.

Lignin memiliki struktur yang rumit dan ikatan yang bersifat non-hydrolysable sehingga lebih sulit dipecah dibandingkan selulosa dan hemiselulosa. Molekul lignin tersusun atas 3 sub unit yaitu, hidrosifenol (H-type), guaiacyl (G-type) dan syringil (S-type). Strukturnya juga tidak mempunyai ikatan tunggal yang berulang antar sub unitnya dan bahkan bersifat random dengan paling tidak ada 10 jenis ikatan (Tuomela *et al.*, 2000). Fraksi lignin tidak hanya berisi lignin tetapi juga kutin dan tanin (Knabner, 2002). Lignin tidak hanya mengeraskan mikrofibril selulosa, namun juga berikatan secara fisik dan kimia dengan hemiselulosa. Adanya ikatan aril eter yang terdiri dari *carbon-oxygen (ether)* dan *carbon-carbon (C-C)* menyebabkan lignin dapat bertahan terhadap hidrolisis (Parthasarathi *et al.*, 2011).

Berikut adalah struktur kimia penyusun lignin:



Gambar 2. Struktur Kimia Penyusun Lignin (Sumber: Steffen, 2003)



Gambar 3. Struktur Kimia Lignin (Sumber: Hammel, 1997)

Lignin memiliki susunan yang kompleks dan sulit untuk terdegradasi sehingga degradasi lignin dapat dilakukan oleh enzim ekstraseluler suatu mikroorganisme (Lankinen, 2004). Menurut Niati (2017) proses degradasi lignin dimulai ketika jamur pelapuk putih menembus dan membentuk koloni dalam sel kayu, kemudian mengeluarkan enzim yang berdifusi melalui lumen dan dinding sel. Jamur pelapuk putih tersebut menyerang komponen lignin dari kayu hingga menyisakan selulosa dan hemiselulosa sehingga pelapukan selanjutnya mudah dilakukan. Lignin berfungsi memberikan kekakuan kepada tanaman, mempertahankan kekuatan dinding, dan permeabilitas serta membantu transport air. Kerusakan lignin akibat proses anaerobik lambat dikarenakan bentuk cincin aromatik tahan terhadap proses anaerobik oleh karena itu lignin tahan serangan mikroorganisme (Bismarck *et al*, 2005).

Seperti hemiselulosa, biasanya lignin larut dalam air pada suhu 180 °C dalam kondisi netral (Olesen dan Plackett, 1999). Tidak ada metoda yang mapan untuk mengisolasi lignin dalam kondisi asli dari serat. Lignin tidak terhidrolisis oleh asam, namun dalam alkali panas lignin dapat larut, lignin juga dapat teroksidasi, dan terkondensasi dengan mudah oleh fenol (Bismarck *et al.*, 2005). Selain itu lignin berfungsi untuk melindungi hemiselulosa dan selulosa dari aksi kimiawi (Schlegel dan Schmidt, 1994).

C. Ligninase

Ligninase adalah enzim yang mampu mendegradasi komponen lignin pada dinding sel tumbuhan (Aurora *et al.*, 1992). Secara umum, enzim ligninase terbagi menjadi dua kelompok utama yaitu *laccase* (Lac) dan peroksidase

(Perez *et al.*, 2002). Peroksidase sendiri terbagi menjadi dua yaitu lignin peroksidase (LiP) dan manganese peroksidase (MnP) (Chahal dan Chahal, 1998).

Lignin peroksidase (LiP) merupakan enzim peroksidase ekstraseluler yang mengandung *heme* dan aktivitasnya bergantung pada H_2O_2 , mempunyai potensial redoks yang besar dan pH optimum yang rendah (Gold dan Alic, 1993). LiP mengoksidasi inti aromatik (fenolik dan non-fenolik) dan menghasilkan radikal kation dan fenoksil melalui pelepasan satu elektron (Akhtar, Blanchette dan Kirk, 1997). Sedangkan manganese peroksidase (MnP) merupakan *heme* peroksidase ekstraseluler yang membutuhkan Mn^{2+} sebagai substrat pereduksinya, Mn^{2+} dioksidasi menjadi Mn^{3+} , yang selanjutnya mengoksidasi struktur fenolik menjadi radikal fenoksil. Mn^{3+} yang terbentuk tersebut sangat reaktif dan membentuk kompleks dengan mengkelat asam organik seperti asam oksalat atau malat (Cui dan Dolphin, 1990; Kishi *et al.*, 1994). Radikal fenoksil bereaksi dan melepaskan CO_2 . MnP merupakan salah satu peroksida pendegradasi lignin yang dihasilkan oleh beberapa kapang pelapuk kayu dan pengurai serasah. Enzim ekstraseluler ini biasanya mempunyai berat 40-50 Kda, aktif pada pH antara 3-4 (Hofrichter, 2002). *Laccase* adalah fenol oksidasi yang mengandung tembaga dan tidak membutuhkan H_2O_2 tetapi menggunakan molekul oksigen (Thurston, 1994). O_2 tersebut direduksi menjadi H_2O dalam substrat fenolik melalui reaksi melepas satu elektron dan membentuk radikal bebas yang dapat disamakan dengan radikal kation yang terbentuk pada reaksi MnP (Kersten *et al.*, 1990).

D. Serasah

Serasah merupakan bahan-bahan yang sudah mati yang terdapat di atas permukaan tanah yang nantinya akan mengalami dekomposisi dan mineralisasi (Aprianis, 2011). Menurut Bargali *et al.* (2015) tanaman menghasilkan bahan organik yang disebut serasah, yang kemudian bahan organik ini akan dikembalikan ke dalam tanah. Serasah tanaman dapat berupa daun, batang, ranting, atau akar. Lepasnya organ tumbuhan seperti daun, bunga, buah, dan bagian lain merupakan peristiwa jatuhnya serasah yang terjadi di luar organ tumbuh-tumbuhan, peristiwa tersebut merupakan input bahan material organik pada tanah dan siklus hara serta aliran energi (Chairul, 2010).

E. Fungi

Fungi merupakan organisme eukariotik, bersifat heterotrof dan memiliki siklus reproduksi seksual dan juga aseksual. Pertumbuhan fungi berbentuk filamen, bersel tunggal dan yeast. Dinding sel pada fungi tersusun atas kitin dan selulosa. Selain itu fungi tidak berklorofil (Gandjar *et al.*, 1999). Fungi memiliki inti sel yang jelas, sitoplasma dilapisi oleh membran, memiliki selaput inti dan selaput organel, serta membran selnya mengandung sterol dan aliran sitoplasma oleh karena itu fungi disebut organisme eukariotik (Noor, 2006).

Fungi merupakan organisme yang tersusun atas benang-benang yang disebut hifa, kumpulan benang hifa yang membentuk jala disebut miselium.

Umumnya hifa berdinding, berinti banyak (multinukleat), atau berinti tunggal (mononukleat), dan memperoleh nutrisi dengan cara absorpsi (Gandjar *et al.*, 2006). Berdasarkan bentuknya hifa dibedakan menjadi dua macam, yaitu hifa bersepta dan hifa tidak bersepta. Hifa bersepta yaitu ciri dari fungi tingkat tinggi, atau yang termasuk Eumycetes. Sedangkan hifa yang tidak bersepta yaitu ciri fungi tingkat rendah, atau yang termasuk Chytridiomycota. Hifa adalah sel yang memanjang, bercabang-cabang, yang terdiri atas sitoplasma dengan banyak inti (soenositik) (Sumarsih, 2003). Terdapat dua macam miselium pada fungi yaitu miselium vegetatif dan miselium fertil. Miselium vegetatif tumbuh secara vertikal dan berfungsi menyerap nutrisi pada substrat. Menurut Deacon (1997) makanannya disimpan dalam bentuk glikogen. Miselium fertil tumbuh secara horizontal membentuk spora dan berfungsi dalam proses perkembangbiakan (Gandjar *et al.*, 2006).

Menurut Rao (1994) fungi berkembang biak dengan cara seksual dan aseksual. Perkembang biakan secara seksual terjadi ketika hifa berkonjugasi atau ketika sporangia askus dan basidia terbentuk. Sedangkan perkembang biakan secara aseksual terjadi dengan fragmentasi secara mitosis dengan atau tanpa diselingi daur perkembangbiakan yang jelas (Paul dan Clark, 1996).

Menurut Sumarsih (2003) sebagai makhluk heterotrof, fungi mempunyai 3 sifat sebagai berikut:

1. Parasit Obligat

Parasit obligat merupakan sifat fungi yang hanya dapat hidup pada inangnya, sedangkan saat di luar inangnya fungi ini tidak dapat hidup.

Contohnya, *Pneumonia carinii* yaitu khamir yang menginfeksi paru-paru penderita AIDS.

2. Parasit Fakultatif

Parasit fakultatif merupakan fungi yang ketika mendapatkan inang yang sesuai maka fungi tersebut bersifat parasit, tetapi ketika mendapatkan inang yang tidak cocok maka fungi ini bersifat saprofit.

3. Saprofit

Saprofit adalah fungi pelapuk dan pengubah susunan zat organik yang sudah mati. Organisme yang telah mati seperti kayu tumbang dan buah jatuh akan diserap oleh fungi saprofit sebagai makanannya. Sebagian besar enzim hidrolase dikeluarkan oleh fungi saprofit pada substrat makanan untuk mendekomposisi molekul kompleks menjadi molekul sederhana sehingga mudah diserap oleh hifa. Selain itu, bahan-bahan organik dalam bentuk sederhana yang dikeluarkan oleh inangnya juga dapat langsung diserap oleh hifa fungi saprofit.

Simbiosis mutualisme merupakan cara hidup fungi yang lainnya. Menyerap makanan dari organisme lain dan menghasilkan zat tertentu yang bermanfaat bagi simbiannya merupakan cara hidup fungi dengan bersimbiosis. Mikoriza dan liken merupakan contoh cara hidup bersimbiosis antara fungi dengan tanaman.

Fungi saprotrof membutuhkan nutrisi dari sisa-sisa organisme dalam bentuk organik karena fungi ini tidak memiliki klorofil dan bersifat heterotrof sehingga tidak dapat membuat makanannya sendiri (Dwidjoseputro, 1978).

Sisa-sisa organisme dalam bentuk organik yang dibutuhkan fungi yaitu glukosa, asam-asam organik, disakarida, polisakarida, pektin, selulosa, dan lignin sebagai sumber energi (Alexander, 1997). Sebagai sumber energinya, fungi hanya dapat memanfaatkan nutrisi dalam bentuk monosakarida dan asam amino, jika yang tersedia dalam bentuk disakarida atau polisakarida, maka fungi mengeluarkan enzim ekstraseluler terlebih dahulu yang berfungsi melakukan proses depolimerisasi yaitu pemecahan senyawa polimer kompleks menjadi senyawa sederhana, untuk mendegradasinya terlebih dahulu (Campbell *et al.*, 2002).

Menurut Kilham (2006) di alam mikrofungi selain menyusun sebagian besar biomassa tanah, mikrofungi juga berperan sebagai dekomposer utama pada proses dekomposisi bahan organik. Dalam ekosistem, mikrofungi memiliki peran aktif yaitu sebagai pendegradasi bahan organik dan agregasi tanah serta hidup di sisa-sisa bahan organik dan sampah. Mikrofungi mendapatkan sumber energi dan nutrisi dari sisa-sisa tumbuhan dan hewan dengan cara mengurai bahan organik kompleks menjadi bahan anorganik (Noor, 2006), menyerap sebagian hasil penguraian tersebut dan melepaskan bahan yang sederhana yang dapat digunakan kembali oleh tanaman sebagai sumber nutrisi (Sunarto, 2003). Fungi saprotrof menguraikan bahan organik dalam tanah dan menghasilkan bahan yang mirip dengan humus dalam tanah. Humus merupakan habitat untuk mikroba (Rao, 1994). Pada penelitian Irawan *et al.* (2014) didapatkan fungi yang bersifat lignolitik, xilanolitik dan selulolitik yang diisolasi dari kompos.

Menurut Deacon (1997) berdasarkan jenis substrat, kondisi lingkungan serta interaksinya dengan organisme lain, fungi saprotrof dibagi ke dalam 5 kelompok sebagai berikut:

1. Fungi Patogen dan Parasit Lemah

Fungi ini biasanya tumbuh dengan menggunakan senyawa terlarut dari inang di awal fase dekomposisi dan merupakan kompetitor lemah pada dekomposisi serasah contohnya yaitu, *Alternaria* spp., *Cladosporium herbarum* dan *Botrytis cinerea*.

2. Fungi Saprotrof Pioner

Merupakan kompetitor yang baik dan biasanya menggunakan substrat senyawa terlarut sederhana, tumbuh cepat dan siklus hidupnya pendek. Contohnya yaitu, *Mucor*, *Rhizopus* dan *Phytium* spp.

3. Fungi Pendegradasi Polimer

Substrat polimer seperti selulosa, hemiselulosa, dan khitin, mampu digunakan oleh fungi ini, mengeluarkan antibiosis untuk mempertahankan sumberdaya, dan mempunyai substrat spesifik. Contohnya yaitu, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Hemicola* dan *Trichoderma*.

4. Fungi Pendegradasi Senyawa Rekalsitrans

Senyawa rekalsitrans seperti lignin mampu didegradasi oleh fungi ini dan mempunyai substrat spesifik. Contohnya yaitu, *Mycena galopus*, *Marasmius oreades*, dan *Phanaerochaete chrysosporium*.

5. Fungi Oportunis Sekunder

Nutrien yang berasal dari sisa-sisa fungi lainnya digunakan oleh fungi ini, toleran terhadap metabolit fungi lain dan biasanya antagonistik.

Contohnya yaitu, *Thermomyces lanuginosis*, *Phytium oligandrum* dan *Mortierella* spp.

Gandjar *et al.* (2006) menyatakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan fungi yaitu sebagai berikut:

1. Substrat

Substrat merupakan sumber nutrisi utama bagi fungi. Nutrien baru dapat dimanfaatkan setelah fungi mengekskresikan enzim-enzim ekstraseluler yang dapat mengurai senyawa-senyawa kompleks dari substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Fungi yang tidak dapat menghasilkan enzim ekstraseluler sesuai komposisi substrat maka fungi tidak dapat memanfaatkan nutrisi-nutrisi dalam substrat tersebut.

2. Kelembaban

Fungi tingkat rendah seperti *Rhizopus* atau *Mucor* memerlukan lingkungan dengan kelembaban nisbi 90%, sedangkan kapang *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, dan banyak hypomycetes lainnya dapat hidup pada kelembaban nisbi yang lebih rendah, yaitu 80%. Dengan mengetahui sifat-sifat fungi ini penyimpanan bahan pangan dan materi dapat dicegah kerusakannya.

3. Suhu

Berdasarkan kisaran suhu lingkungan yang baik untuk pertumbuhan fungi, fungi dapat dikelompokkan sebagai fungi psikrofil yaitu fungi yang mampu tumbuh pada kisaran suhu 0-30 °C, mesofil yaitu fungi yang mampu tumbuh pada kisaran suhu 25-37 °C, dan termofil yaitu fungi yang mampu tumbuh pada kisaran suhu 40-74 °C.

4. Derajat Keasaman (pH)

pH substrat sangat penting untuk pertumbuhan fungi, karena enzim-enzim tertentu hanya akan mengurai suatu substrat sesuai dengan aktivitasnya pada pH tertentu. Umumnya fungi dapat hidup dengan pH dibawah 7,0.

F. Pembentukan Spora

Sporulasi yaitu suatu respon karena adanya penurunan kadar nutrisi dalam medium terutama sumber karbon dan nitrogen. Apabila sel membuat repressor dari senyawa yang terkandung dalam medium untuk mencegah terjadinya sporulasi maka pengaturan pembentukan spora bersifat negatif. Sporulasi akan terjadi jika proses tersebut menurun (Moat *et al.*, 2002). Pada akhir fase logaritmik dan awal fase stasioner sporulasi atau pembentukan spora ini terbentuk (Fardiaz, 1992).

Terdapat dua macam sporulasi pada fungi yaitu secara aseksual dan secara seksual. Secara aseksual yaitu dengan pembentukan spora yang mengalami pembelahan mitosis dalam kantung spora dan selanjutnya spora dikeluarkan ke lingkungan (Solomon *et al.*, 2008). Sedangkan pembentukan spora secara seksual yaitu dilakukan dengan cara fusi pada sel fungi yang haploid.

Apabila dua hifa memiliki genetik yang cocok maka hifa tersebut akan mendekat, lalu sitoplasmanya menyatu (plasmogamy) kemudian menghasilkan sel dengan dua inti haploid. Pada waktu tertentu dua inti sel haploid tersebut akan berfusi, proses ini disebut karyogami. Hasil fusi ini disebut sebagai zigot nukleus yang bersifat diploid dan akan mengalami meiosis untuk menghasilkan gamet spora haploid kembali (Moore dan

Landecker, 1972). Fungi yang berada pada fase teleomorf bisa ditemukan dalam kondisi struktur spora seksual. Fungi yang berada pada fase anamorf bisa ditemukan dalam kondisi struktur spora aseksual (Webster dan Weber, 2007). Berbeda dengan sel somatik fungi, spora pada fungi menghasilkan struktur yang khusus.

Sporulasi dipengaruhi oleh sumber nitrogen, selain itu sumber nitrogen juga mempengaruhi hasil metabolit primer ataupun sekunder. Pertumbuhan dan sporulasi dapat dipacu pula oleh beberapa asam amino seperti asam aspartat, asam glutamat, alanin serta ion Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , dan Ca^{2+} dalam konsentrasi yang cukup (Dulmage *et al.*, 1990). Selain itu suhu dan pH juga berpengaruh terhadap proses pertumbuhan. Alaminya pada pH netral fungi cenderung tumbuh baik, karena reaksi enzimatik dipengaruhi oleh pH. Pada kondisi terlarut protein cenderung mudah berinteraksi dengan pelarutnya, apabila pH larutan mengalami perubahan baik diatas atau dibawah pH optimum, maka akan langsung bersentuhan dengan sisi aktif enzim sehingga akan terjadi penurunan aktivitas enzim dengan cepat.

Menurut Singh *et al.* (2008) perpindahan proton di dalam membran sel dipengaruhi oleh perubahan pH. Sehingga akan mengganggu proses sporulasi. Suhu berperan penting dalam proses pertumbuhan dan pembentukan metabolit. Peningkatan suhu diatas optimum dapat mengakibatkan penurunan dan kematian sel. Suhu juga mempengaruhi proses produksi. Suatu produksi akan terbatas jika suhu dalam keadaan tinggi karena pada struktur stabil enzim terjadi pemutusan ikatan ion dan hidrogen

sehingga denaturasi akan terjadi (Shuler dan Kargi, 2002). Denaturasi menyebabkan jumlah protein menurun akibatnya pembentukan spora juga menurun.

Menurut Deacon (2005) berikut merupakan beberapa karakteristik yang penting dari spora yang membedakannya dengan sel tubuh fungi yang lain:

1. Dinding spora lebih tebal, dengan tambahan lapisan atau tambahan pigmen seperti melanin.
2. Sitoplasma spora padat, dan beberapa organela seperti RE dijumpai kurang berkembang.
3. Kadar air spora rendah, tingkat respirasi rendah, dan tingkat sintesis protein dan asam nukleat rendah.
4. Spora memiliki materi penyimpanan energi seperti lemak, glikogen atau trehalose.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan Maret 2019. Pengambilan bahan serasah campuran untuk isolasi fungi saprotrof dilakukan di perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Isolasi, seleksi, karakterisasi, dan identifikasi fungi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Bandar Lampung.

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hotplate magnetik stirer*, *autoclave*, timbangan digital, *vortex mixer*, *laminar airflow cabinet*, inkubator kapang, *freezer*, mikroskop, *haemocytometer*, bunsen, gelas beaker, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, pipet volumetri, mikropipet, mikrotip, pipet tetes, ose runcing, gelas objek, gelas penutup, scalpel, tusuk gigi, sendok, corong plastik, sumbat, aluminium foil, tisu dan alat tulis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media PDA racik, media penguji kualitatif ligninolitik, *guaiacol liquid*, aquades, alkohol 70%, asam sitrat, trinitrium sitrat, NaOH, HCL, Ametrin, Diuron, spirtus, *lactophenol cotton blue*, serasah nanas dan tanah yang diambil dari perkebunan PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan pengambilan bahan serasah campuran sumber isolat fungi di perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP), dilakukan dengan metode *Pourposive Sampling*. Isolat fungi yang diperoleh kemudian diinokulasikan pada media penguji kualitatif ligninolitik yang diperkaya *guaiacol* dengan mengikuti metode Okino *et al.* (2000). Tahap seleksi fungi ligninolitik menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan membuat 3 kali ulangan dan dilakukan pengamatan setelah 7 hari inkubasi. Kemudian hasil rata-rata nilai seleksi tersebut digunakan untuk menetapkan isolat yang mempunyai kemampuan tertinggi dalam mendegradasi lignin. Produktivitas isolat fungi ligninolitik diketahui dengan menghitung jumlah spora dan viabilitas spora diketahui dengan menghitung nilai CFU (*Colony Forming Unit*). Tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat fungi ligninolitik dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan membuat 3 kali ulangan yaitu dengan perlakuan kondisi asam meliputi variasi pH mulai dari pH 3, pH 4 dan pH 5, sehingga

diperoleh 9 satuan penelitian. Perlakuan kondisi suhu meliputi variasi suhu mulai dari 30 °C, 35 °C dan 37 °C, sehingga diperoleh 9 satuan penelitian. Perlakuan kondisi zat kimia meliputi variasi herbisida yaitu ametrin dan diuron, sehingga diperoleh 6 satuan penelitian. Selanjutnya dilakukan identifikasi anggota isolat fungi ligninolitik secara makroskopis dan mikroskopis melalui teknik *slide culture*. Data yang didapat dianalisis secara deskriptif.

D. Prosedur Kerja

1. Isolasi Fungi

Isolasi dilakukan dengan menggunakan bahan serasah campuran yang diambil dari perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP) Kecamatan Terbanggi Besar Kabupaten Lampung Tengah Provinsi Lampung. Isolasi dilakukan dengan mengikuti metode Malloch (1981) yaitu Teknik Isolasi Langsung dengan metode *Moist Chamber*. Teknik isolasi *Moist Chamber* yaitu pertama campuran serasah dipotong dengan ukuran ± 2 cm lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi tisu dan aquades steril dan dibiarkan terendam selama satu malam, kemudian aquades dibuang namun kelembaban *Moist Chamber* harus tetap terjaga. Kemudian pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat fungi yang muncul, setiap fungi yang muncul diambil sporanya dengan metode Pemindahan Langsung yaitu dengan menyentuhkan ujung ose yang diberi agar pada spora fungi yang muncul lalu dipindahkan pada media PDA hingga diperoleh kultur murni. Isolat fungi yang diperoleh kemudian

dicatat kodenya dan untuk memastikan tidak ada isolat yang sama, isolat tersebut terlebih dahulu diamati morfologinya di bawah mikroskop.

2. Peremajaan Isolat Fungi

Peremajaan isolat fungi dilakukan dengan menggunakan media PDA. Media PDA dibuat dengan modifikasi metode Malloch (1981) dengan melarutkan 200 gr kentang ditambah dengan 18 gr dextrose dan 13,5 gr agar dalam aquades sebanyak 900 ml. Lalu dituangkan sebanyak 15-20 ml ke cawan petri kemudian dibiarkan sampai memadat. Selanjutnya spora isolat fungi yang diperoleh diinokulasi dalam cawan petri secara aseptik. Kemudian diinkubasi selama 7 hari.

3. Seleksi Isolat Fungi Ligninolitik

Seleksi isolat fungi ligninolitik dilakukan secara kualitatif. Proses pengujian kualitatif ligninolitik terhadap produksi enzim pendegradasi lignin pada isolat fungi dilakukan dengan mengikuti metode Okino *et al.* (2000). Isolat fungi hasil isolasi yang diperoleh ditumbuhkan pada media penguji kualitatif ligninolitik yang telah diperkaya dengan *guaiacol* yang komposisinya adalah glukosa 10 g, pepton 2,0 g, *yeast extract* 1,0 g, agar 18 g dan 4 mM *guaiacol* dalam 1 L aquades (D'Souza *et al.*, 2006). Cawan petri yang telah diinokulasi isolat fungi tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C dalam gelap selama 7 hari. Munculnya warna coklat gelap di bawah dan di sekitar koloni mengindikasikan adanya reaksi

oksidasi *guaiacol* dan merupakan tanda positif dihasilkannya enzim pendegradasi lignin (Okino *et al.*, 2000).

4. Perhitungan Spora dan CFU (*Colony Forming Unit*)

Isolat fungi ligninolitik yang sudah berumur 14 hari dihitung jumlah spora untuk uji produktivitas isolat dan CFU (*Colony Forming Unit*) untuk uji viabilitas isolat dengan metode Prescott (2002). Spora dipanen dengan cara menambahkan aquades steril pada cawan yang berisi isolat lalu miselium isolat fungi dipisahkan dari media menggunakan drigalsky. Miselium yang telah dipisahkan dari media dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades 9 ml, tahap ini menghasilkan tingkat pengenceran 10^{-1} . Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit. Selanjutnya pada tingkat pengenceran 10^{-2} dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ml suspensi pada tingkat pengenceran 10^{-1} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades, lalu dihomogenkan menggunakan vortex (Malloch,1981). Setelah homogen diambil 1 tetes lalu teteskan pada *haemocytometer* secara perlahan kemudian gelas penutup diletakan diatasnya, setelah itu diserap menggunakan tisu. Jumlah spora dihitung dalam spora/ml (Gabriel dan Riyanto,1989). Jumlah spora dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$S = \frac{t \cdot d}{n \cdot 0.25} \times 10^6$$

Keterangan:

- S = Jumlah spora per ml larutan
- t = Jumlah total spora dalam kotak sampel yang diamati
- d = Tingkat pengenceran
- n = Jumlah kotak yang diamati (5 kotak besar x 16 kotak kecil)
- 0,25 = Faktor koreksi penggunaan kotak sampel skala kecil pada
haemocytometer

Selanjutnya dilakukan uji viabilitas spora, proses ini dilakukan dengan perhitungan CFU (*Colony Forming Unit*). Perhitungan ini dilakukan dengan cara menambahkan aquades steril pada cawan yang berisi isolat lalu miselium isolat fungi dipisahkan dari media menggunakan kaca preparat. Miselium yang telah dipisahkan dari media dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades 9 ml, tahap ini menghasilkan tingkat pengenceran 10^{-1} , dilakukan pengenceran hingga 10^{-7} dengan cara yang sama seperti pada tahapan perhitungan spora. Lalu hasil pengenceran *diplating* dengan mengambil 1 ml hasil pengenceran ke dalam cawan petri kemudian dituangkan media penguji kualitatif ligninolitik dengan metode *pourplate* dan dibuat dalam 2 cawan petri atau *duplo*. Setelah itu diinkubasi selama 4 hari lalu dihitung koloni fungi yang terbentuk untuk menentukan gambaran tingkat viabilitas spora dengan kriteria perhitungan 8-80 koloni per cawan petri (Sutton, 2011). Perhitungan viabilitas spora dilakukan dengan persamaan sebagai berikut (Prescott, 2002):

$$\text{Jumlah koloni per gram bahan} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Pengenceran}} \text{ CFU}$$

5. Karakterisasi pH

Dilakukan pembuatan larutan asam sitrat dan trinitrium sitrat yang akan digunakan sebagai buffer pH. Buffer pH yang digunakan yaitu pH 3, pH 4 dan pH 5. Komposisi pembuatannya adalah dengan mencampurkan larutan asam sitrat dan trinitrium sitrat dengan perbandingan volume yang telah ditentukan (Tabel 2). Diencerkan dengan aquades sampai 100 ml untuk membuat pH yang diinginkan. Perbandingan volume yang diinginkan adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Perbandingan Volume Larutan Asam Sitrat dan Natrium Sitrat (Stoll, V. S. and Blanchard J.S., 1990).

pH	Asam Sitrat 0.1 M (ml)	Natrium Sitrat 0.1 M (ml)
3	46.5	3.5
4	33.0	17.0
5	20.5	29.5

Setelah kedua larutan tersebut dicampurkan maka dilakukan pengecekan pH menggunakan pH meter. Apabila pH larutan belum sesuai maka ditambahkan NaOH atau HCL sesuai kebutuhan.

Isolat fungi ligninolitik hasil seleksi diinokulasikan pada media pengujian kualitatif ligninolitik yang telah diperkaya dengan *guaiacol* dengan pH media yang telah sesuai yaitu pH 3, pH 4 dan pH 5. Cawan petri yang telah diinokulasi isolat fungi ligninolitik tersebut kemudian diinkubasi

pada suhu 25 °C dalam gelap selama 7 hari. Kemudian diamati pertumbuhan dan kemunculan warna coklat gelap di bawah dan di sekitar koloni fungi.

6. Karakterisasi Suhu

Isolat fungi ligninolitik hasil seleksi diinokulasikan pada media pengujian kualitatif ligninolitik yang telah diperkaya dengan *guaiacol* pada cawan petri. Cawan petri yang telah diinokulasi isolat fungi ligninolitik tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C, 35 °C dan 37 °C dalam gelap selama 7 hari. Kemudian diamati pertumbuhan dan kemunculan warna coklat gelap di bawah dan di sekitar koloni fungi.

7. Karakterisasi Herbisida (Ametrin dan Diuron)

Isolat fungi ligninolitik hasil seleksi diinokulasikan pada media pengujian kualitatif ligninolitik yang telah diperkaya dengan *guaiacol* dan herbisida Ametrin 1 % atau Diuron 1 %. Cawan petri yang telah diinokulasi isolat fungi ligninolitik tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C dalam gelap selama 7 hari. Kemudian diamati pertumbuhan dan kemunculan warna coklat gelap di bawah dan di sekitar koloni fungi.

8. Identifikasi Isolat Fungi Ligninolitik

Identifikasi isolat fungi ligninolitik dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis meliputi warna koloni. Pengamatan secara mikroskopik dilakukan melalui teknik *slide culture*

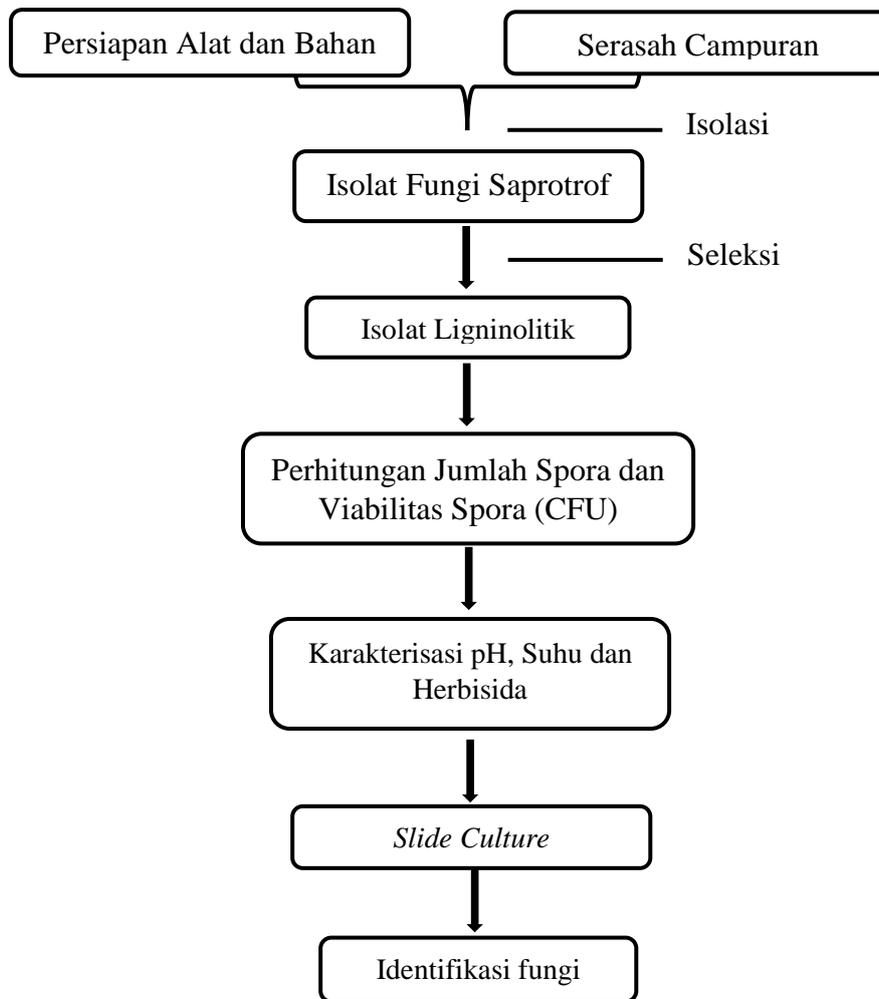
yang dibuat dengan mengikuti metode Malloch (1981). Pertama disiapkan cawan petri untuk pembuatan *Moist Chamber* dan kemudian diletakkan tangkai gelas berbentuk huruf V diatas kertas filter lembab. Satu medium agar yang telah dipotong dengan ukuran 1 cm² diletakkan diatas objek glass (*slide*) yang disterilkan dengan api bunsen kemudian diletakkan di dalam cawan *Moist Chamber*. Bagian tepi media kemudian diinokulasi dengan isolat fungi lalu dilitutup dengan *cover glass* steril. Selanjutnya diinkubasi selama 5 hari atau hingga fungi tumbuh. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan membuang agarnya dan *dimounting*. Identifikasi fungi didasarkan pada karakter morfologi isolat lalu dicocokkan dengan buku acuan berjudul *Their Isolation, Cultivation, and Identification* (Malloch, 1981) dan *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 1998).

E. Analisi Data

Penelitian dirangkai menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dari rata-rata perhitungan rasio zona, perhitungan jumlah spora, perhitungan CFU dan hasil karakterisasi dianalisis secara deskriptif.

F. Diagram Alir Penelitian

Rancangan tahapan penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada diagram alir berikut ini:



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

1. Diperoleh 11 isolat fungi dari serasah perkebunan nanas PT. *Great Giant Pineapple* (GGP), terdapat 2 isolat yang memiliki kemampuan ligninolitik yaitu Bioggp 2 (*Trichoderma* sp. 1) dan Bioggp 5 (*Trichoderma* sp. 2).
2. *Trichoderma* sp. 1 dan *Trichoderma* sp. 2 menunjukkan pertumbuhan yang baik pada kondisi asam (pH 5) dan suhu 30 °C serta tahan terhadap pengaruh herbisida Diuron.

B. SARAN

Perlu adanya penelitian lanjutan untuk pembuatan inokulum fungi ligninolitik yaitu *Trichoderma* sp. 1 dan *Trichoderma* sp. 2 yang dapat mempercepat proses pengomposan pada serasah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R. 2010. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus*) dan Lama Pemeraman Terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak Kelapa (*Cocos nucifera* L.). *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Akhtar, M., R. A. Blanchette dan T. K. Kirk. 1997. Fungal Delignification and Biomechanical Pulping of wood. *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*. 57: 159-195.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Academic Press. New York.
- Anggorodi, R. 1990. *Ilmu Makanan Ternak Umum*. PT. Gramedia. Jakarta.
- A.P.G (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification of the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 141.
- Aprianis Y. 2011. Produksi dan laju dekomposisi serasah *Acacia crassicarpa* A. Cunn. di PT Arara Abadi. *Tekno Hutan Tanaman*. 4(1): 41-47.
- Artiningsih, T. 2006. Aktivitas Ligninolitik Jenis Ganoderma pada Berbagai Sumber Karbon. *Biodiversitas*. 7:307-311.
- Aurora, D. K., R. P. Elander dan K. G. Mukerji. 1992. *Handbook of Applied Mycology*. CRC Prees. New York. 1114 p.
- Bargali, K. Shukla, L. Singh L, L. Ghosh, M. L. Lakhera. 2015. Leaf litter decomposition and nutrien dynamics in four tree species of dry deciduous forest. *Tropical Ecology*. 56(2): 191–200.
- Barnett, H. L. dan Barry B. Hunter. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Fourth Edition. APS Press. USA.
- Bismarck, A., S. Mishra, dan T. Lampke. 2005. *Plant Fibers as Reinforcement for Green Composites*. In: Mohanty, A.K., Misra, M., and Drzal, L.T. (Ed.), *Natural Fibers, Biopolymer, and Biocomposites*. CRC Press Taylor and Francis group, Boca Raton.

- Campbell, N. A., Reece, J.B., & Mitchell, L.G. 2002. *Biologi*. Jilid 1. Edisi Kelima. Alih Bahasa: Wasmen. Erlangga. Jakarta.
- Chahal, P. S. dan D. S. Chahal. 1998. Lignocellulosic Waste: Biological Conversion. In: Martin, A.M. [eds]. *Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products*. Ed ke-2. London: Blackie Academic & Professional. p. 376-422.
- Chairul. 2010. Laju dekomposisi serasah daun beberapa jenis pohon pionir di plot permanen Hutan Penelitian dan Pendidikan Biologi (HPPB). Universitas Andalas. Padang. *Prosiding seminar dan rapat tahunan BKS-PTN Wilayah 2*, 10-11 Mei 2010.
- Crawford R. L. L. E. Robinson dan R. D. Foster. 1981. Polyguaiacol: A Useful Model Polymer for Lignin Biodegradation Research. *Applied and Environmental Microbiology*. 41(5): 1112-1116.
- Cui F. dan D. Dolphin. 1990. The role of manganese in model systems related to lignin biodegradation. *Holzforchung*. 44: 279-283.
- Dabhi, B. K. R. V. Vyas dan H. N. Shelat. 2017. Biodegradation og lignin by fungal cultures. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 6(4):1840-1842.
- Deacon, J. W. 1997. *Modern Mycology*. 3rd ed. Blackwell Science. New York.
- Deacon, J. W. 2005. *Fungal Biology*. Blackwell Publishing. United Kingdom.
- Dermiyati. 1997. Pengaruh Mulsa terhadap Aktivitas Mikroorganisme Tanah dan Produksi Jagung Hibrida C-1. *J. Tanah Trop*. Vol. 5: 63-68.
- D'Souza D.T., R. Tiwari, A. K. Sah. dan C. Raghukumar. 2006. Enhanced Production of Laccase by A Marine Fungus during Treatment of Colored Effluent and Synthetic Dyes. *Enzyme and MicrobialTechnology*. 38: 504-511.
- Dulmage T., A. A. Yousten, S. Singer, L. A. Lacey. 1990. *Guidelines for production of Bacillus thuringiensis H-14 and Bacillus sphaericus*. UNDP/WHO special programme for research and training in tropical diseases (tdr).
- Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Mikologi*. Edisi Kedua. Alumni. Bandung. Hal 1-2.
- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Gabriel, B. P. dan Riyanto. 1989. *Metarhizium anisopliae* Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya. Proyek Pengembangan Perlindungan Tanaman Perkebunan. Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Gandjar, I., A. S. Robet., V. D. Karin., O. Ariyanti., dan S. Iman. 1999. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gandjar, Indrawati, Wellyzar Sjamsuridzal dan Ariyanti Oetari. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Gold, M. H. dan M. Alic. 1993. Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol. Rev.*, 57: 605-622.
- Hammel, K.E. 1997. Fungal Degradation of Lignin. <http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/PDF1997/hamme97a.pdf>. Diakses pada tanggal 5 November 2018. Pukul 20.02 WIB.
- Hofrichter, M. 2002. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzym Microbiol. Technol.*, 30: 454-466.
- Irawan, Bambang., R.S Kasiamdari., B.H. Sunarminto dan E. Sutariningsih. 2014. Preparation Of Fungal Inoculum For Leaf Litter Composting From Selected Fungi. *Journal of Agricultural and Biological Science*. Vol 9 (3): 89-94.
- Jouany, J. P. 1991. Defaunation of the rumen. In: *Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion*. J.P Jouany (Ed.). INRA, Paris.
- Kersten, P. J., B. Kalyanaraman, K. E. Hammel, B. Reinhammar dan T. K. Kirk. 1990. Comparison of lignin peroxidase, horseradish peroxidase and laccase in the oxidation of methoxybenzenes. *Biochem. J.*, 268: 475-480
- Kilham, W. 2006. The First Of The Occurrence Of Anthracnose Disease Caused By *Colletitrichum gloeosporoides* (Penz) Penz. and Sacc. On Dragon Fruit (*Hylocercus*). *American Journal Of Applied Science*. 6(5); 902-912. Tersedia: <http://www.scipub.org>.
- Kishi K., H. Wariishi, L. Marquez, H. B. Dunford and M. H. Gold. 1994. Mechanism of manganese peroxidase compound II reduction. Effect of organic acid chelators and pH. *Biochemistry*, 33: 8694-8701.
- Knabner, I. K. 2002. The Macromoleculer Organic Composition Of Plant and Microbial Residues as Inputs to Soil Organic Mater. *Journal of Soil Biology & Biochemistry*. Vol 34: 139-162.

- Koduri, R. S. dan M. Tien. 1995. Oxidation of Guaiacol by Lignin Peroxidase. *The Journal of Biological Chemistry*. 270(38): 22254-22258.
- Kubicek, C. P. dan G. E. Harman. 2002. Trichoderma & Gliocladium. *Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. Vol 1. The Taylor & Francis e-Library. 278 pp.
- Lankinen, P. 2004. Ligninolytic Enzymes of The Basidiomycetous Fungi *Agaricus bisporus* and *Phlebia radiata* on Lignocellulose-Containing Media. [Dissertation]. University of Helsinki. Finland.
- Larasati, A. S. 2013. Analisis Kandungan Zat Gizi Makro dan Indeks Glikemik Snack Bar Beras Warna Sebagai Makanan Selingan Penderita Nefropatidiabetik. *Jurnal Penelitian*. Universitas Diponegoro.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-dasar Biokimia*. Thenawidjaja M, penerjemah. Erlangga. Jakarta. Terjemahan dari: *Principles of Biochemistry*.
- Mabrouk, A. M., Z. H. Kheiralla, E. R. Hamed dan A. A. Youssry. 2010. Screening of some marine-derived fungal isolates for lignin degrading enzymes. LDEs) production. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1(4): 591-599.
- Mahalingam, P.U. dan R. R. P. Maruthamalai. 2014. Screening and characterization lignin degrading fungi from decayed sawdust. *European journal of Experimental Biology*, 4(5): 90-94.
- Malloch, M. S., dan J. E. Hobbie. 1981. *Moulds: Their Isolation, Cultivation, and Identification*. University of Toronto Press.
- Martina, A., L. Bernadeta. Fibriarti, M. Rodesia. Roza, Zul Delita, Eka P. Sari. 2013. *Isolasi dan Seleksi Kapang Ligninolitik dari Tanah Gambut di Desa Rimbo Panjang Kabupaten Kampar Propinsi Riau*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Martin, D. W., et al. 1983. *Harper's Review of Biochemistry*. Large Medical Publication. California.
- Mikata, K. 1999. Preservation of yeast culture by L-drying: viability after 15 years storage at 5°C. *IFO Research Communication*. 19:71-82.
- Moat, Albert G., W. John. Foster dan Michael P. Spector. 2002. *Microbial Physiology* 4Ed. Wiley-Liss, Inc. New York.
- Moenandir, J. 1990. *Fisiologi Herbisida*. Rajawali Press. Jakarta.
- Moore, Elizabeth dan Landecker. 1972. *Fundamental of the Fungi*. Prentice Hall, Inc. United States of America.

- Natalia H., D. Nista. dan S. Hindrawati. 2009. *Keunggulan gamal sebagai pakan ternak*. BPTU Sembawa.
- Niati, S. 2017. Studi aplikasi inokulum fungi *Geotrichum* sp. pada kondisi asam dengan media sorghum (*Sorghum bicolor* l.) terhadap kualitas kompos serasah. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Lampung.
- Noor, Rasuane. 2006. Sebaran dan Kemampuan Dekomposisi Isolat Mikrofungi Tanah dari Kawasan Sumber Air Panas di Desa Sukajadi Kecamatan Suoh Kabupaten Lampung Barat. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Okino L.K., K. M. G. Machado., C. Fabric. dan V. L. R. Bonomi. 2000. Lignolytic Activity of Tropical Rainforest Basidiomycetes. *World J. of Microbiol. Biotech.* 16: 889-893.
- Olesen, P.O., dan D. V. Plackett. 1999. *Perspectives on the Performance of Natural Plant Fibres*. In: *Natural Fibres Performance Forum Copenhagen*. p. 27th-28th May 1999. Copenhagen, Denmark.
- Onggo, H. J. T. dan Astuti. 2005. Pengaruh Sodium Hidroksida dan Hidrogen Peroksida Terhadap Rendemen dan Warna Pulp Dari Serat Nanas. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis* 3 (1) : 1-7.
- Orth, A.B., D.J. Royse, dan M. Tien. 1993. Ubiquity of Lignin Peroxidase among Various Wood-Degrading Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (12) : 4017-4023.
- Parthasarathi R, R. A. Romero, A. Redondo, S. Gnanakaran. 2011. Theoretical Study of The Remarkably Diverse Linkages in Lignin. *J Phys Chem Lett.* 2(20):2660-2666.
- Paul, E. A. dan F. E. Clark. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Second Edition. Academic Press. San Diego.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Perez, J., J. Munoz, T.. Rubia, dan J. Martinez. 2002. Biodegradation and Biological Treatments Of Cellulose, Hemicelluloses And Lignin: An Overview. *J. of Int Microbiol* 5 : 53 – 63.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Prescott, L. M. 2002. Prescott-Harley-Klein's: *Microbiology*, 5th ed., 553, The McGraw-Hill Companies. New York.

- PubChem Chemistry database. 2017. Tersedia di:
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/coumpound/guaiacol#section=top>.
- Rao, S. 1994. *Mikroba Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Respati, Efi. 2016. *Outlook Nenas*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Riama, G., Veranika, A., dan Prasetyowati. 2012. Pengaruh H₂O₂, Konsentrasi NaOH dan Waktu Terhadap Derajat Putih Pulp dari Mahkota Nanas. *Jurnal Teknik Kimia* 18(3) : 27 – 28.
- Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycology*. Pap. 116: 1-56.
- Rukmana, R. 1996. *Nenas Budidaya dan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Schlegel, H.G. dan Schmidt, K. 1994. *Mikrobiologi Umum Edisi keenam*. Alih Bahasa: Baskoro T. UGM-Press. Yogyakarta.
- Sembodo, D. R. J. 2010. *Gulma dan Pengelolaannya*. Graha Ilmu. Yogyakarta. 168 hal.
- Shuler dan Kargi. 2002. *Biology Tissue Culture for Animals*. *Article Biology*
- Singh, V., C. K. M. Tripathi., B. Vinod. 2008. Prodction, Optimization and Purification of Antifungl Compound from *Streptomyces capoamus* MTCC 8123. *Med Shem Res*. Vol. 17 : 94-102.
- Solomon, E.P, L. R. Berg, D.W. Martin. 2008. *Biology 8th Edition*. Thomson. Singapore.
- Steffen, K. T. 2003. Degradation Of Recalcitrant Biopolymers And Polycyclic Aromatic Hydrocarbons By Litter Decomposing Basidiomycetous Fungi. *Desertasi*. Helsinki: Division of Microbiology Departement of Applied Chemistry and Microbiology Viikki Biocenter, university of Helsinki.
- Stroll, Vincent S. dan Ajhon S. Blanchard. 1990. Buffer Principles and Practice. *Journal Methods in Enzimology*. 182: 8-9.
- Subdirektorat Statistik Hortikultura. 2017. *Statistik Tanaman Buah-Buahan dan Sayuran Tahunan Indonesia*. Badan Pusat Statistik. Jakarta, Indonesia.
- Suhartono, M. T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Bogor: Departemen pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.

- Sumarsih, S., 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Yogyakarta.
- Sunarto. 2003. *Peranan Dekomposisi Dalam Proses Produksi Pada Ekosistem Laut*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sutedjo, dan Mul Mulyati. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Sutton, S. 2011. Determination of Inoculum for Microbiological Testing. *Journal of GXP Compliance*. Vol. 15(3): 49-53.
- Tuomelo M., M. Vikman, A. Hatakka, dan M. Itavaara. 2000. Biodegradation of Lignin in a Compost Environment: A review. *Biosresource Technol.* 72:169-163.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press. Malang.
- Wardani, R. A. K. 2018. Pemanfaatan Daun Nanas Sebagai Bahan Baku Papan Serat Dengan Perkat Organik. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Webster J. dan R. W. S. Weber. 2007. *Introduction to Fungi 3rd Edition*. Cambridge University Press. Singapore.
- Yakub dan S. Yarnelis. 2002. *Gulma dan Teknik Pengendaliannya*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 160 hal.