



## Biodelignifikasi Enceng Gondok untuk Meningkatkan Digestibilitas pada Proses Hidrolisis Enzimatik

Eka-Sari<sup>1\*</sup>, Siti Syamsiah<sup>2</sup>, Hary Sulisty<sup>2</sup>, dan Muslikhin Hidayat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa  
Jl. Raya Jendral Sudirman Km 3 Cilegon, Banten

<sup>2</sup>Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada  
Jl. Grafika 2, Yogyakarta

\*Penulis korespondensi: [ekasari\\_gt@yahoo.com](mailto:ekasari_gt@yahoo.com)

### Abstract

**BIODELIGNIFICATION OF WATER HYACINTH TO IMPROVED DIGESTIBILITY ON THE ENZYMATIC HYDROLYSIS PROCESS.** *Water hyacinth is one of lignocellulose that has potential to bioethanol feedstocks. This is due to the high content of cellulose and hemicellulose its rapid growth and the plant is abundant in nature. Bioconversion of water hyacinth begins with biodelignification process. This biodelignification aims to remove lignin and reduce crystallinity of cellulose and hemicellulose to increase its digestibility in enzymatic hydrolysis processes. The purpose of this study was to evaluate the effect of biodelignification of water hyacinth using fungi and the effect on the digestibility of water hyacinth in the enzymatic hydrolysis process. In this study, Biodelignification using Solid State Fermentation (SSF) method using *Phanerochaete Chrysosporium* (PC). Hyacinth is inserted in a bioreactor and incubated for 28 days. The analysis of composition of water hyacinth is conducted every 4 days. After the biodelignification process followed by hydrolysis process using cellulase enzyme. Glucose generated from this hydrolysis process will be analyzed using the Somogyi Nelson method. The results show that biodelignification process can improve the digestibility of water hyacinths characterized by increased glucose yield. Without biodelignification process, glucose yield only reached 3.98%. After biodelignification prior to the hydrolysis process, the highest glucose yield was achieved at 67.66% for 16 days incubation.*

**Keywords:** *biodeglinification; glucose; hydrolysis; lignin; cellulast*

### Abstrak

*Enceng gondok adalah salah satu lignoselulosa yang berpotensi untuk dijadikan bahan baku bioetanol. Hal ini disebabkan oleh kandungan selulosa dan hemiselulosa yang tinggi dan pertumbuhannya yang cepat sehingga ketersediaannya di alam sangat melimpah. Biokonversi enceng gondok dimulai dengan proses biodelignifikasi. Biodelignifikasi ini bertujuan menghilangkan lignin dan mengurangi kristalinitas selulosa dan hemiselulosa untuk meningkatkan digestibilitasnya pada proses hidrolisis enzimatik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi pengaruh biodelignifikasi enceng gondok dengan jamur terhadap digestibilitas enceng gondok pada proses hidrolisis enzimatik. Biodelignifikasi pada penelitian ini menggunakan metode Solid State Fermentation (SSF) menggunakan jamur *Phanerochaete Chrysosporium* (PC). Enceng gondok dimasukkan dalam sebuah bioreaktor dan diinkubasi selama 28 hari. Analisis perubahan komposisi enceng gondok dilakukan setiap 4 hari. Setelah proses biodelignifikasi dilanjutkan dengan proses hidrolisis menggunakan enzim selulase. Glukosa yang dihasilkan dari proses hidrolisis ini akan dianalisis menggunakan metode Somogyi Nelson. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses biodelignifikasi dapat*

meningkatkan digestibilitas enceng gondok yang ditandai dengan meningkatnya yield glukosa. Tanpa proses biodelignifikasi, yield glukosa hanya mencapai 3,98%. Setelah dilakukan biodelignifikasi sebelum proses hidrolisis maka yield glukosa tertinggi dicapai sebesar 67,66% selama 16 hari inkubasi.

**Kata kunci:** biodeglinifikasi; glukosa; hidrolisis; lignin; selulase

**How to Cite This Article:** Eka-Sari, Syamsiah, S., Sulisty, H., dan Hidayat, M., (2017), Biodelignifikasi Enceng Gondok untuk Meningkatkan Digestibilitas pada Proses Hidrolisis Enzimatis, Reaktor, 17(1), 53-58, <http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.17.1.53-58>

## PENDAHULUAN

Salah satu bahan lignoselulosa yang potensial untuk memproduksi bioetanol yaitu enceng gondok (Mishima dkk., 2008). Enceng gondok memiliki selulosa dan hemiselulosa yang tinggi (Hronich dkk., 2008; Gunnarson dan Petersen, 2007). Secara keseluruhan potensi enceng gondok dapat dikonversi menjadi bioetanol mencapai 60% dari berat keringnya. Enceng gondok merupakan tumbuhan air yang memiliki pertumbuhan sangat cepat. Enceng gondok dapat berkembang biak mencapai 100% hanya memerlukan waktu 4 hari (Gunnarson dkk., 2006). Dengan pertumbuhan yang sangat cepat ini, akan menjamin ketersediaan enceng gondok sebagai sumber energi baru dan terbarukan.

Permasalahan pada biokonversi enceng gondok menjadi bioetanol terkendala adanya lignin. Lignin ini menghalangi akses enzim selulase pada proses hidrolisis enzimatis (Taherzadeh and Karimi, 2008). Oleh karena itu lignin perlu dihilangkan dengan proses biodelignifikasi. Tanpa proses delignifikasi maka digestibilitas enceng gondok rendah sehingga yield glukosa yang dihasilkan pada proses hidrolisis enzimatis juga rendah.

Proses delignifikasi dapat menggunakan berbagai metode baik fisik, kimia, biologi dan kombinasinya. Salah satu yang banyak dikembangkan saat ini adalah proses delignifikasi menggunakan mikroorganisme yang dikenal sebagai biodelignifikasi. Proses biodelignifikasi yang paling populer menggunakan jamur pelapuk putih dan jamur yang paling sering digunakan adalah jamur *Phanerochaete Chrysosporium* (Hattaka, 2001).

Dalam rangka meningkatkan digestibilitas bahan lignoselulosa pada proses hidrolisis enzimatis, maka perlu dievaluasi pengaruh biodelignifikasi dengan jamur terhadap perolehan yield glukosa pada proses hidrolisis enzimatis. Beberapa penelitian yang mengevaluasi pengaruh proses biodelignifikasi terhadap perolehan glukosa pada proses hidrolisis telah dilakukan oleh beberapa peneliti (Taniguchi dkk., 2005; Zhang dkk., 2007; Shi dkk., 2008; Sun dkk., 2011; Wan, 2011; Song dkk., 2013). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses biodelignifikasi dapat meningkatkan perolehan glukosa pada hidrolisis enzimatis. Wan (2011) mengevaluasi pengaruh biodelignifikasi pada tongkol jagung dengan jamur *Ceriporiopsis subvermispora* terhadap yield glukosa, hasil penelitian menunjukkan bahwa biodelignifikasi dapat meningkatkan yield glukosa dari 15% menjadi

66,61%. Hal yang sama ditunjukkan dengan hasil penelitian Taniguchi dkk. (2005) yang menghasilkan peningkatan yield glukosa hampir 3 kali lipat dari 12,9% menjadi 33,1% setelah biodelignifikasi jerami padi menggunakan jamur *Pleurotus ostreatus* (PO) selama 72 hari. Peningkatan yield glukosa hampir 3 kali lipat atau dari 25,69% menjadi 73,99% pada biodelignifikasi tongkol jagung dengan dengan jamur *Trametes hirsuta* (yj9) selama 42 hari inkubasi (Sun dkk., 2011). Hasil evaluasi ini menunjukkan bahwa proses biodelignifikasi lignoselulosa dapat meningkatkan yield glukosa pada proses hidrolisis.

Dalam rangka mempersiapkan enceng gondok menjadi bioetanol, maka perlu dilakukan proses biodelignifikasi. Sebelumnya kajian biodelignifikasi lignoselulosa menggunakan jamur banyak menggunakan lignoselulosa yang memiliki kandungan lignin yang tinggi lebih tinggi dari 20% seperti tongkol jagung, jerami padi, kayu, tandan kosong kelapa sawit dan lain-lain (Taniguchi dkk., 2005; Zhang dkk., 2007; Yu dkk., 2009; Sun dkk., 2011). Enceng gondok merupakan salah satu bahan lignoselulosa yang berkadar lignin rendah hanya sekitar 3,5-10% (Eka-Sari dkk., 2014). Perbedaan kadar lignin enceng gondok dengan lignoselulosa yang telah diteliti sebelumnya diduga memiliki perbedaan, oleh karena perlu dilakukan penelitian ini. Jamur yang dipilih pada penelitian ini adalah jamur *Phanerochaete Chrysosporium* (PC), jamur ini dikenal sebagai jamur yang selektif mendegradasi lignin (Hattaka, 2001). Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk pengembangan proses biodelignifikasi bahan lignoselulosa yang berkadar lignin rendah untuk pengembangan kearah skala komersial.

## EKSPERIMEN

### Bahan

Enceng gondok (*Eichhornia Crassipes*) diperoleh dari Yogyakarta. Enceng gondok yang digunakan memiliki ukuran 4,76-10 mm. Komposisi enceng gondok yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7,98% lignin, 27,71% selulosa, 34,72% hemiselulosa, 13,24% abu, 7% air, dan 9,02% zat lain. Persiapan enceng gondok untuk proses biodelignifikasi ini sesuai dengan yang telah dilakukan oleh Eka-Sari dkk. (2011, 2013).

Jamur yang digunakan adalah jamur *Phanerochaete Chrysosporium*. Jamur ini dikoleksi

oleh Departemen Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong, Bogor.

**Metode**

**Tahap persiapan**

Enceng gondok kering yang ditimbang sebanyak 17,5 g dan selanjutnya diletakkan dalam bioreaktor batch berbahan gelas yang memiliki volume 500 ml. Selanjutnya ditambahkan air untuk mencapai 70% dan ditambahkan pula Co-factor Mn<sup>2+</sup> dengan konsentrasi 0,5% dan molase 2% dari berat kering enceng gondok. Bioreaktor disterilisasi dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C dan selanjutnya didinginkan selama 24 jam pada suhu ruang dan siap diinokulasi dengan jamur.

Jamur *Phanerochaete Chrysosporium* dikembangbiakan pada media Potatoe Dextrose Agar (PDA) dalam bentuk agar miring dan media liquid. Persiapan jamur ini dapat dilihat pada Eka-Sari dkk. (2011, 2013).

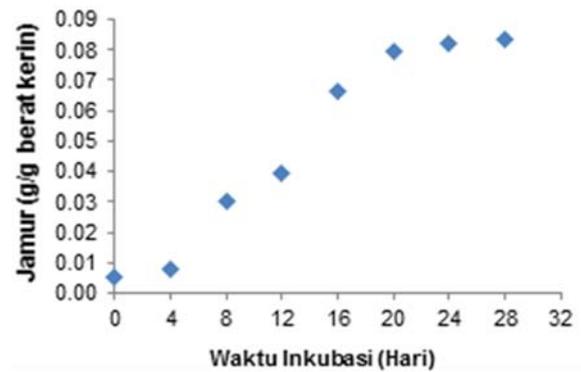
**Proses biodelignifikasi**

Proses biodelignifikasi ini menggunakan metode *Solid State Fermentation* (SSF). Jamur diinokulasikan pada enceng gondok telah disiapkan dan diinkubasi selama 28 hari. Komposisi enceng gondok dianalisis setiap 4 hari. Evaluasi perubahan komposisi senyawa yang larut dalam air dianalisis menggunakan metode *hot water soluble* (HWS) dan analisis kandungan lignin, selulosa, dan hemiselulosa menggunakan metode Chesson-Datta (Datta, 1981). Untuk perhitungan berat kering jamur berdasarkan analisis protein menggunakan Metode Total Kjeldahl Nitrogen (TKN) mengikuti persamaan pada Shi dkk. (208).

Setelah proses biodelignifikasi, enceng gondok di hidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim selulase dan diinkubasi selama 72 jam. Perolehan glukosa dari proses hidrolisis enzimatik akan dianalisis menggunakan metode Somogyi Nelson.

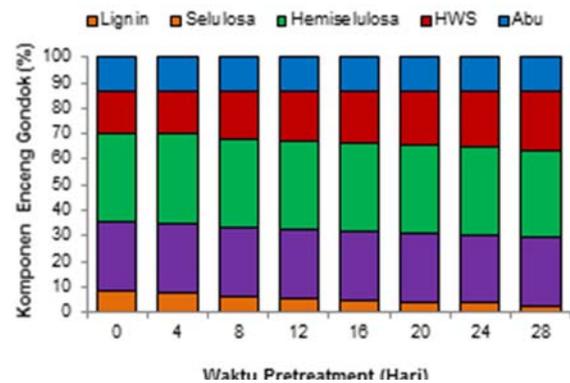
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Profil pertumbuhan jamur selama proses biodelignifikasi dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa fase lag atau fase adaptasi kurang dari 4 hari. Fase eksponensial atau fase pertumbuhan jamur pada rentang inkubasi dari 4 sampai dengan 20 hari inkubasi, selanjutnya pertumbuhan jamur memasuki fase stasioner yang ditandai dengan melambatnya pertumbuhan. Jamur *Phanerochaete Chrysosporium* merupakan jamur berserabut yang tumbuh pada permukaan enceng gondok, pada fase eksponensial jamur tumbuh dan menyebar ke semua permukaan enceng gondok, jika seluruh permukaan enceng gondok telah ditumbuhi jamur maka pertumbuhan jamur mulai melambat dan memasuki fase stasioner.



Gambar 1. Profil pertumbuhan jamur selama proses biodelignifikasi

Perubahan komposisi enceng gondok selama proses biodelignifikasi dapat dilihat seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Perubahan komposisi enceng gondok setelah biodelignifikasi

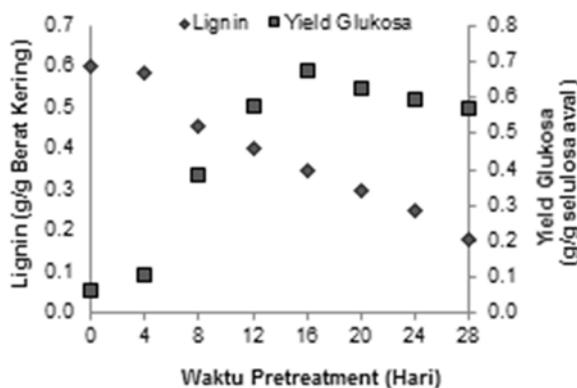
Gambar 2 menunjukkan terjadi perubahan komposisi enceng gondok selama proses biodelignifikasi. Lignin, selulosa, dan hemiselulosa mengalami penurunan atau terdegradasi, tetapi sebaliknya senyawa yang larut dalam air panas (HWS) menunjukkan jumlah yang semakin meningkat, sedangkan abu cenderung tidak berubah. Senyawa sederhana yang larut dalam air ini semakin meningkat seiring dengan banyaknya substrat yang terdegradasi yang terlihat pada peningkatan komponen senyawa HWS atau zat ekstraktif yang larut dalam air panas.

Setelah proses biodelignifikasi selama 28 hari inkubasi, enceng gondok mengalami kehilangan berat sekitar 7,15%, sedangkan degradasi lignin mencapai 69,98%. Selain itu degradasi selulosa mencapai 8,99% dan degradasi hemiselulosa mencapai 9,13%. Senyawa yang larut dalam air (HWS) meningkat terus sampai akhir biodelignifikasi. Pada awal biodelignifikasi HWS hanya mencapai 16,79% dan pada akhir proses biodelignifikasi HWS mencapai 23,48%. Hal ini menunjukkan bahwa jamur PC memiliki kemampuan untuk mendegradasi substrat

di dalam enceng gondok dan memutus rantai karbon dari substrat menjadi senyawa sederhana yang larut dalam air.

Sebelum melakukan penelitian ini, telah dilakukan penelitian pemilihan kondisi proses biodelignifikasi pada enceng gondok ini, meliputi pemilihan kadar air, pemilihan ukuran butir, penambahan co-factor  $Mn^{2+}$  dan penambahan molase. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemilihan kondisi proses biodelignifikasi dapat meningkatkan digestibilitas enceng gondok sehingga lebih mudah dihidrolisis (Eka-Sari dkk., 2015a: 2015b).

Evaluasi korelasi penurunan lignin pada proses biodelignifikasi dengan perolehan yield glukosa pada proses hidrolisis enzimatik dapat dilihat pada Gambar 3.

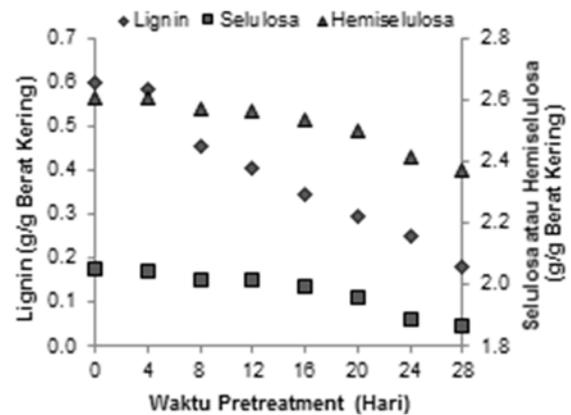


Gambar 3. Korelasi antara perolehan yield glukosa dan penurunan lignin pada enceng gondok yang telah biodelignifikasi

Gambar 3 menunjukkan bahwa lignin mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu biodelignifikasi. Hal berbeda ditunjukkan oleh yield glukosa. Yield glukosa meningkat sampai dengan hari ke 16 inkubasi selanjutnya menurun sampai akhir inkubasi. Pada awal inkubasi sampai dengan inkubasi hari ke 16, penurunan lignin menyebabkan peningkatan yield glukosa. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak lignin yang terdegradasi dapat meningkatkan yield glukosa pada proses hidrolisis enzimatik. Berbeda dengan setelah 16 hari inkubasi penurunan lignin justru menyebabkan penurunan yield glukosa. Hal ini diduga disebabkan pada pada hari ke 16 ini telah terjadi kerusakan struktur morfologi sehingga jamur PC yang masih mendegradasi lignin dapat mengakses selulosa dan hemiselulosa, selanjutnya didegradasi sebagai sumber karbon. Hal ini dapat menyebabkan enceng gondok mengalami kehilangan selulosa dan hemiselulosa, sehingga ketika di hidrolisis maka yield glukosa yang dihasilkan rendah (Eka-Sari dkk., 2014. Yield glukosa tertinggi ditunjukkan pada inkubasi hari ke 16 dengan yield glukosa mencapai 66,67%. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Wan (2011) yang

menghasilkan yield glukosa mencapai 66,61% setelah tongkol jagung dibiodelignifikasi dengan jamur, hal sama ditunjukkan oleh hasil penelitian Sun dkk. (2011) yang menghasilkan yield glukosa mencapai 73,99% setelah jerami padi di biodeglinifikasi dengan jamur.

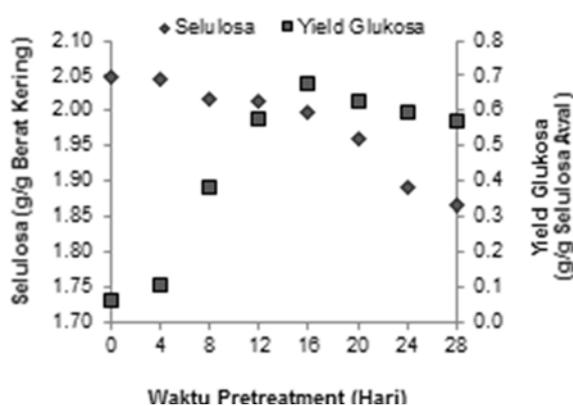
Untuk mengevaluasi korelasi penurunan lignin terhadap penurunan selulosa dan hemiselulosa dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Korelasi antara penurunan lignin dengan penurunan selulosadan hemiselulosa pada enceng gondok yang telah biodelignifikasi

Gambar 4 menunjukkan bahwa terjadi penurunan lignin yang sangat signifikan dibandingkan dengan penurunan selulosa dan hemiselulosa. Hal ini mendukung dugaan bahwa dengan pemilihan kondisi proses biodelignifikasi, maka jamur PC dikondisikan untuk fokus dalam mendegradasi lignin, sehingga degradasi selulosa dapat dikendalikan. Jika sebelum pemilihan kondisi proses biodelignifikasi, terjadi kerusakan struktur morfologi lignin pada 42 hari inkubasi, menunjukkan bahwa degradasi selulosa masih sangat tinggi mencapai 25,3% dan degradasi hemiselulosa mencapai 20,12%. Setelah pemilihan kondisi proses biodelignifikasi maka terjadi kerusakan struktur morfologi lignin menjadi lebih singkat yaitu 16 hari dengan degradasi selulosa menurun secara signifikan hanya mencapai 2,24% dan degradasi hemiselulosa mencapai 2,71%.

Untuk mengevaluasi korelasi antara penurunan selulosa dengan yield glukosa dapat dilihat pada Gambar 5. Gambar 5 menunjukkan bahwa selulosa menurun sedikit dari awal inkubasi sampai dengan hari ke 16, selanjutnya menurun sangat signifikan sampai akhir inkubasi. Hal ini sejalan dengan perolehan yield glukosa dimana yield glukosa meningkat secara signifikan sampai dengan hari ke 16 selanjutnya menurun sampai akhir inkubasi. Pada keadaan ini diperkirakan telah terjadi kerusakan struktur morfologi lignin pada hari ke 16, hal ini terlihat dari perolehan yield glukosa tertinggi dan terjadinya penurunan selulosa yang signifikan.



Gambar 5. Korelasi antara penurunan selulosa dan yield glukosa pada enceng gondok yang telah di biodelignifikasi

## KESIMPULAN

Proses biodelignifikasi enceng gondok dengan jamur PC dapat meningkatkan digestibilitasnya pada proses hidrolisis enzimatik, ditandai dengan meningkatnya yield glukosa. Yield glukosa ini meningkat seiring dengan meningkatnya degradasi lignin dan menurunnya degradasi selulosa dan hemiselulosa. Waktu inkubasi 16 hari menunjukkan yield glukosa tertinggi mencapai 66,67%.

## DAFTAR PUSTAKA

Datta, A., Bettermann, A., and Kirk, T.K., (1981), Identification of a Specific Manganese Peroxidase Among Lignolytic Enzymes Secreted by *Phanerochaete Chrysosporium* during Wood Decay, *Appl. Environ. Microb.*, 57, pp. 1453-1460.

Eka-Sari, (2010a), Studi Penghilangan Lignin pada Enceng Gondok Sebagai Bahan Baku Pembuatan Bioetanol Menggunakan Basa Kuat, *Prosiding Seminar Teknik Kimia UNPAR: Pemanfaatan Biomassa untuk Pangan, Energi, dan Bahan Kimia*, Bandung, hal. 34-40.

Eka-Sari, (2010b), Study of Lignin Removal in Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) using Low Concentration of Ammonia and the Effect on Yield Glucose for Bioethanol Production, *Proceeding of 17th Regional Symposium Chemical Engineering*, Bangkok, Thailand, pp. 119-125.

Eka-Sari and Hemati, E., (2010), Biodegradation Lignin in Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) using Combination White Rot Fungi for Bioethanol Production, *Proceeding of International Conference on Advances in Renewable Energy Technology*, Kuala Lumpur, pp. 95-102.

Eka-Sari, Syamsiah, S., Sulisty, H., and Hidayat, M., (2011), The Kinetic of Biodegradation Lignin in Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) by

*Phanerochaete Chrysosporium* using Solid State Fermentation (SSF) Method for Bioethanol Production, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, p. 54

Eka-Sari, Syamsiah, S., Sulisty, H., and Hidayat, M., (2013), Study on the Effect of Material Size on the Lignin Removal and Biological Digestibility of Water Hyacinth for Bioethanol Production, *Proceeding of International Conference on Chemical and Biochemical Engineering (ICBE 2013)*, Istanbul, Turkey, pp. 122-128

Eka-Sari., Syamsiah, S., Sulisty, H., and Hidayat, M., (2014), Effect of Biological Pretreatment of Water Hyacinth on the Enzymatic Hydrolysis for Bioethanol Production, *Asian Journal of Chemistry*, 26(20), pp. 6727-6732.

Eka-Sari, Syamsiah, S., Sulisty, H., and Hidayat, M., (2015a), Biological Pretreatment of Water Hyacinth by Solid State Fermentation of *Phanerochaete Chrysosporium*, *Modern Applied Science*, 9(2), pp. 228-234.

Eka-Sari, Syamsiah, S., Sulisty, H., and Hidayat, M., (2015b), Model of *Phanerochaete chrysosporium* Growth and Multisubstrate Degradation on The Biological Pretreatment of Water Hyacinth, *Advanced Material Research*, 1101, pp. 280-285.

Gunnarsson, C. and Petersen, C.M., (2007), Water Hyacinth as a Resources Agriculture and Energy Production: A Literature Review, *Waste Management*, 27(1), pp. 117-129

Hattaka, A., (2001), *Biodegradation of lignin*, In: Steinbüchel A.[Ed] Biopolimer Vol. 1: Lignin, Humic Substances and Coal. Germany: Wiley VCH pp. 129-180.

Shi, J., Chin, M., and Sharma-Shivappa, R.R., (2008), Microbial Pretreatment of Cotton Stalks by Solid State Cultivation of *Phanerochaete Chrysosporium*, *Bioresources Technology*, 99(14), pp. 6556-6564.

Song, L., Yu, H., Ma, F., and Zhang, X., (2013), Biological Pretreatment under Non-Sterile Conditions for Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover, *BioResources*, 8(3), pp. 3802-3816.

Sun, F., Li, J., Yuan, Y., Yan, Z., and Liu, X., (2011), Effect of Biological Pretreatment with *Trametes hirsuta* on Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover, *J. Int. Biodeterioration Biodegradation*, 65(7), pp. 931-938.

Taherzadeh, M.J. and Karimi, K., (2008), Pretreatment of Lignocellulosic Waste to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review, *Internasional Journal of Molecular Science*, 9, pp. 1621-1651.

Taniguchi, M., Suzuki, H., Watanabe, D., and Sakai, K., (2005), Evaluation of Pretreatment with *Pleurotus Ostreatus* for Enzymatic Hydrolysis of Rice Straw, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 1, pp. 637-643.

Wan, C., (2011), Microbial Pretreatment of Corn Stover with *Ceriporiopsis Subvermispora* for Enzymatic Hydrolysis and Ethanol Production, *Electronic Theses and Dissertation of the Ohio State University*.

Yu, H., Guo, G., Zhang, X., Yan, K., and Xu, C., (2009), The Effect of Biological Pretreatment with the Selective White-Rot Fungus *Echinodontium Taxodii* on Enzymatic Hydrolysis of Softwoods and Hardwoods, *Bioresources Technology*, 100, pp. 5170-5175.

Zhang, X., Yu, H., Huang, H., and Liu, Y., (2007), Evaluation of Biological Pretreatment with White Rot Fungi for the Enzymatic Hydrolysis of Bamboo Culms, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 60(3), pp. 159-164.