

ANALISIS KUANTITATIF DAN UJI HISTOKIMIA LIGNIN SENGON (*Paraserianthes falcataria*)

QUANTITATIVE ANALYSIS AND LIGNIN HISTOCHEMICAL ASSAY OF SENGON (*Paraserianthes falcataria*)

N. Sri Hartati*, Enny Sudarmonowati*, Suharsono**, Kurnia Sofyan***

*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jln. Raya Bogor Km 46 Cibinong 16911

**Departemen Biologi- FMIPA IPB, Jln. Raya Darmaga Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

***Fakultas Kehutanan-IPB, Jln. Raya Darmaga Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

e-mail: Hartati12@yahoo.com

ABSTRACT

The presence of lignin in plant cells is a factor limiting the efficiency of processing lignocellulosic materials of wood-based industries including pulp and paper industry either chemically or biologically (biopulping) process using white rot fungi. Lignin content determination of sengon collected from different areas in Indonesia indicated that it ranged low to moderate category (16.58–35.59%). Lignin histochemical assay of transverse section of stems using phloroglucinol-HCl staining showed that the initiation of lignin deposition was noted in 2 weeks old seedling. Lignin quantitative and qualitative assessment through histochemical assay showed that lignin content was varied in trees depending on height.

Keywords: *Paraserianthes falcataria, lignin, histochemical, phloroglucinol-HCl, pulp*

ABSTRAK

Keberadaan lignin pada sel tanaman merupakan faktor pembatas efisiensi pengolahan material lignoselulosa menjadi produk-produk industri berbahan dasar kayu, termasuk pulp baik secara kimia maupun biologis (biopulping) menggunakan jamur pelapuk putih. Pengujian kadar lignin yang dikoleksi dari beberapa daerah menunjukkan bahwa kadar lignin sengon termasuk kategori rendah hingga sedang (16,58%–35,59%). Uji histokimia lignin pada potongan transversal batang dengan pewarnaan phloroglucinol-HCl menunjukkan bahwa deposisi lignin tampak jelas dimulai pada umur 2 minggu. Pengujian kadar lignin secara kuantitatif menggunakan metoda Klason dan kualitatif melalui uji histokimia jaringan, menunjukkan bahwa deposisi lignin berbeda pada ketinggian pohon yang berbeda.

Kata Kunci: *P. falcataria, lignin, uji histokimia lignin, phloroglucinol-HCl, pulp*

PENDAHULUAN

Industri pulp terus berkembang dan produksinya cenderung meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan bertambahnya konsumsi kertas dunia. Pertumbuhannya dalam dekade yang akan datang diperkirakan antara 2% hingga 3,5% per tahun, sehingga membutuhkan kenaikan kayu log yang dihasilkan dari lahan hutan seluas 1 sampai 2 juta hektar setiap tahun. Kondisi ini menuntut tersedianya bahan baku yang cukup dan kontinu

terutama kayu dari berbagai jenis tanaman kehutanan sebagai bahan baku yang paling banyak digunakan.

Kayu sebagai bahan dasar dalam industri kertas mengandung beberapa komponen antara lain selulosa, hemiselulosa, lignin, dan zat ekstraktif. Di dalam proses industri pulp secara kimia seperti proses sulfat/kraft, memerlukan proses *bleaching* karena pulp yang dihasilkan berwarna gelap yang disebabkan oleh oksidasi

senyawa lignin. Kandungan lignin pada sel tanaman (monomer guaiasil dan siringil) berpengaruh terhadap pelepasan dan hidrolisis polisakarida. Pada *biopulping*, asosiasi lignin dengan selulosa membentuk suatu matriks hidrofobik yang membatasi kerja enzim-enzim hidrolitik.¹ Lignin adalah polimer penyusun biomassa tanaman yang kelimpahannya menduduki urutan kedua setelah selulosa. Pada tanaman tingkat tinggi senyawa ini memiliki peran penting pada kekuatan pohon, transpor air dan ketahanan terhadap penyakit.² Pemisahan lignin dari selulosa merupakan proses dasar pada *kraft pulping* yaitu proses yang banyak digunakan pada pembuatan pulp. Pada berbagai spesies kayu kadar lignin bervariasi antar 15–36%.³

Sengon merupakan tanaman kehutanan yang memiliki sifat cepat tumbuh, dan multiguna. Sengon selain digunakan sebagai kayu konstruksi ringan dan furnitur digunakan pula sebagai bahan baku pulp bersama dengan jenis kayu lainnya (pulp campuran). Kayu sengon memiliki sifat fisik yang menguntungkan untuk industri kertas dibanding dengan kayu pulp lainnya seperti akasia, eukaliptus, dan gmelina karena panjang seratnya paling tinggi yaitu 1356.08 μm .⁴ Di samping itu sifat kertas yang dihasilkan memiliki keunggulan dalam hal sifat tahan robeknya (*tensile strength* dan *bursting strength*) yang tinggi. Hal tersebut mungkin disebabkan kayu sengon seratnya panjang, karena panjang serat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kekuatan kertas.⁵

Dalam proses *pulping* secara kimia, delignifikasi merupakan proses terpenting karena bertujuan untuk mendegradasi dan melarutkan lignin sebanyak mungkin dan menghindari kerusakan pada serat selulosa seminimal mungkin. Perbedaan laju delignifikasi tidak hanya dipengaruhi oleh kadar lignin tetapi juga oleh reaktivitas komponen penyusun lignin. Walaupun sifat-sifat fisik kayu sengon sangat baik sebagai bahan baku industri pulp, kayu sengon bukan merupakan bahan baku pulp yang digunakan secara luas karena berat jenisnya yang relatif rendah dibanding jenis kayu pulp lainnya. Untuk meningkatkan penggunaan kayu sengon sebagai bahan baku pulp karena sifatnya yang tumbuh sangat cepat dan sifatnya fisik kayunya yang

menguntungkan, diperlukan upaya pemuliaan pohon untuk memodifikasi kadar maupun komposisi subunit lignin yang merupakan faktor pembatas perolehan rendemen selulosa yang tinggi. Berkaitan dengan hal ini diperlukan studi pendahuluan mengenai analisis kadar lignin kayu dan waktu mulainya pembentukan lignin pada sengon. Lignin terdapat pada semua sel jaringan tumbuhan, akan tetapi banyak ditemukan pada jaringan sklerenkim.⁶ Keberadaan lignin tersebut secara kualitatif dalam suatu jaringan tumbuhan dapat diketahui dengan metode histokimia menggunakan pewarnaan phloroglucinol-HCl 1%. *Section* (iris penampang melintang) suatu akar atau batang tanaman yang dicelupkan ke dalam larutan *phloroglucinol*-HCl 1% akan memberikan warna merah pada ligninnya.⁷

Penelitian mengenai perbandingan keberadaan lignin pada dinding sel kayu telah dilakukan pada beberapa spesies tanaman di antaranya *Arabidopsis thaliana*,⁸ *spruce*,⁶ dan *Eucalyptus*.⁹ Analisis histokimia lignin pada sengon telah dilakukan pada bibit sengon umur 3 bulan untuk mengetahui perbedaan kadar lignin secara kualitatif dari sengon merah dan sengon putih.¹⁰ Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar lignin sengon dari berbagai lokasi tumbuh, distribusinya pada perbedaan ketinggian pohon dan untuk menganalisis pembentukan lignin secara temporal pada berbagai tahapan umur pohon.

BAHAN DAN METODE

Analisis kadar lignin kayu sengon dilakukan terhadap kayu dari tanaman sengon yang dikoleksi dari beberapa lokasi yaitu koleksi kebun plasma nutfah Puslit Bioteknologi LIPI di Cibinong, Kebun percobaan Puslitbang Hutan Kementerian Kehutanan di Cikampek, kebun koleksi sengon Dinas Kehutanan dan Perkebunan Tasikmalaya serta koleksi sengon Pusat Penelitian Hutan Tanaman Kementerian Kehutanan di Yogyakarta. Umur tanaman yang dianalisis hampir sama yaitu sekitar 10 tahunan. Selain itu pohon yang dipilih untuk dianalisis kadar ligninnya merupakan pohon yang memiliki respon, pertumbuhan paling baik pada masing-masing lokasi tumbuhnya.

Sengon yang dikoleksi dari kebun plasma nutfah Puslit Bioteknologi-LIPI (Cibinong)

merupakan pohon plus, yang diuji dari 105 pohon yang diseleksi berdasarkan berbagai parameter yaitu diameter, tinggi, *diameter breast height* (DBH), bentuk batang, bentuk percabangan, sudut percabangan, pembuahan, ketahanan hama dan penyakit serta cacat lain.¹¹ Pada setiap lokasi penelitian masing-masing dianalisis sebanyak 5 pohon. Tinggi dan diameter pohon yang diuji adalah sekitar 30–37 m dan 40–70 cm. Kayu di koleksi dengan cara mengambil kayu beserta kulit dengan ukuran 20 x 20 cm dan ketebalan ±3 cm, pada dua titik yaitu pada ketinggian pohon 2 m dan 4 m dari pangkal batang.

Selain uji kuantitatif kadar lignin dilakukan pula uji histokimia lignin terhadap irisan melintang hipokotil bagian atas, tengah, dan bawah bibit sengon yang berasal dari Kebun Botani Serpong pada umur 3 hari, 1 minggu dan 2 minggu, 1 bulan dan 2 bulan untuk mengetahui distribusi lignin pada bagian dan umur bibit yang berbeda.

Uji kadar lignin

Kadar lignin kayu sengon diuji dengan menggunakan metode isolasi lignin Klason (TAPPI TM T222 OM88).¹² Kadar ekstraktif kayu ditentukan dengan menggunakan pelarut etanol-benzena (TAPPI TM T412 OM94).¹³ Sampel kayu sengon bebas ekstraktif sebanyak 0,3 gram dimasukkan dalam gelas vial dan ditambah dengan 4,5 ml H₂SO₄ 72%. Selanjutnya gelas vial tersebut dimasukkan dalam gelas piala yang berisi air dan dilakukan pengadukan pada 200 rpm selama 2,5 jam. Selama pengadukan suhu air dipertahankan pada 20±1°C. Kemudian sampel dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml dan ditambah dengan akuades sebanyak 171 ml dan ditutup dengan aluminium foil. Sampel diautoklaf pada 121°C selama 15 menit. Selanjutnya disaring dalam keadaan panas menggunakan gelas *filtrate*. Sebelum digunakan gelas *filtrate* dioven pada 105°C selama 24 jam, didinginkan dalam desikator selama 2 jam dan ditimbang. Gelas *filtrate* dicuci berturut-turut dengan 20 ml air dan *acetone* dan selanjutnya di

Tabel 1. Kadar Lignin Kayu Sengon yang Dikoleksi Dari Daerah Cibinong, Cikampek, Tasikmalaya dan Yogyakarta.

No.	Asal koleksi	Kode Pohon	Kadar lignin (%) pada ketinggian:	
			2 m	4 m
1	Cibinong	P I	26.57	25.26
		P II	17.93	16.58
		P III	25.63	16.96
		P IV	22.53	24.13
		P V	21.80	25.34
		Rata-rata	22.89f	21.65g
2	Cikampek	94	32.88	33.10
		56	19.68	33.62
		57	34.11	28.25
		39	31.79	31.93
		75	29.25	34.44
		Rata-rata	29.54c	32.27d
3	Tasikmalaya	TSM 1	28.95	35.59
		TSM 2	27.79	30.38
		TSM 3	31.95	29.61
		TSM 4	31.69	26.91
		TSM 5	24.14	32.78
		Rata-rata	28.9c	31.05b
4	Yogyakarta	CND1	29.47	21.30
		CND3	29.04	32.09
		CND4	23.79	22.75
		CND5	26.77	24.11
		CND6	30.01	29.47
		Rata-rata	27.82d	25.94e
Rata-rata total			27.29	27.73

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata (5%) menurut DMRT.

oven pada 105°C selama 24 jam. Setelah dioven, sampel didinginkan dalam desikator.

Kadar lignin ditetapkan berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kadar lignin} = \frac{C - A_x}{(100\% - K_a) \times B} \times 100$$

A : Berat gelas awal (sebelum penyaringan),

B : Berat sampel bebas ekstraktif,

C : Berat gelas *filtrate* setelah digunakan untuk menyaring

Ka : Kadar air sampel

Data kadar lignin selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam menggunakan perangkat lunak SPSS versi 16.0 dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT) untuk perlakuan yang berbeda nyata.

Uji histokimia lignin

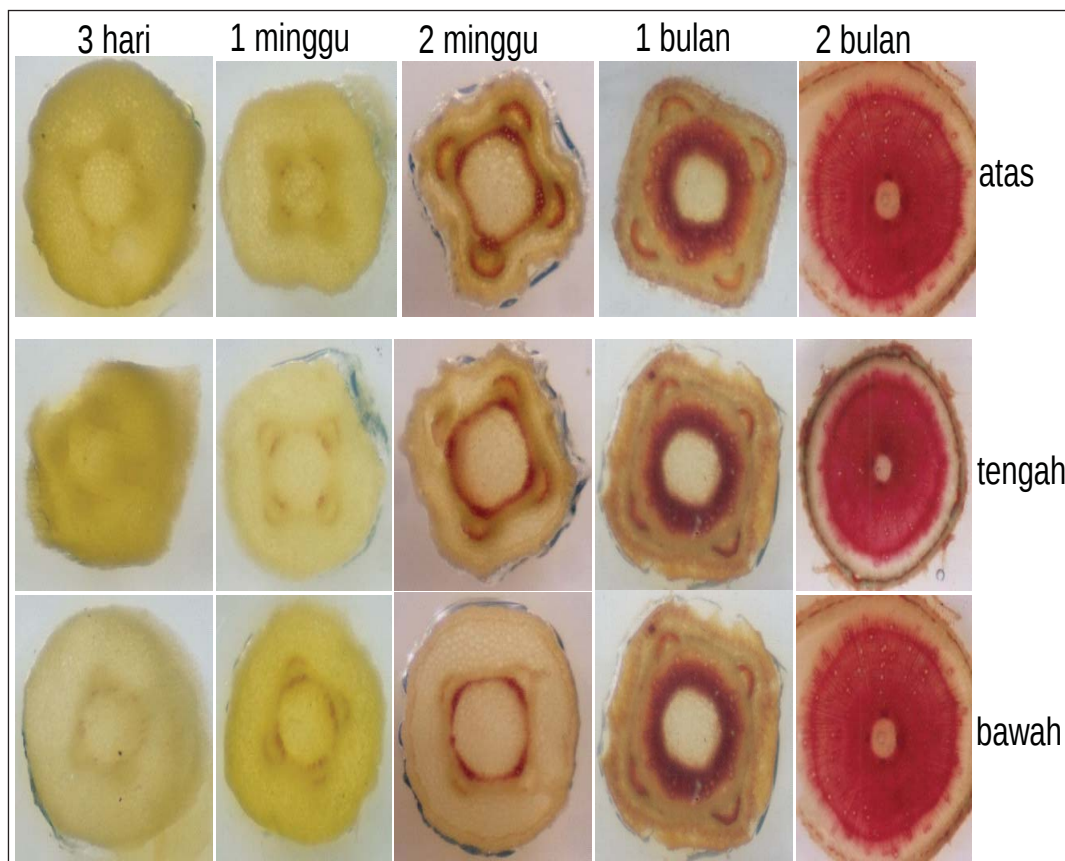
Bahan tanaman yang berupa irisan melintang batang didehidrasi menggunakan etanol dengan konsentrasi meningkat % (30, 40, 50, 60, dan 70)

masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya irisan tersebut diwarnai dengan larutan phloroglucinol-HCl 1% dalam 6N HCl selama 30 menit. Preparat dibuat permanen menggunakan perekat Entelan kemudian irisan dianalisis menggunakan mikroskop cahaya. Dokumentasi dilakukan 30 hingga 40 menit setelah pewarnaan. Analisis kualitatif kadar lignin ditentukan dengan cara skoring dengan kisaran nilai dimulai dari 1 hingga 9 yang menggambarkan intensitas warna lignin dari merah muda, merah hingga coklat.⁶

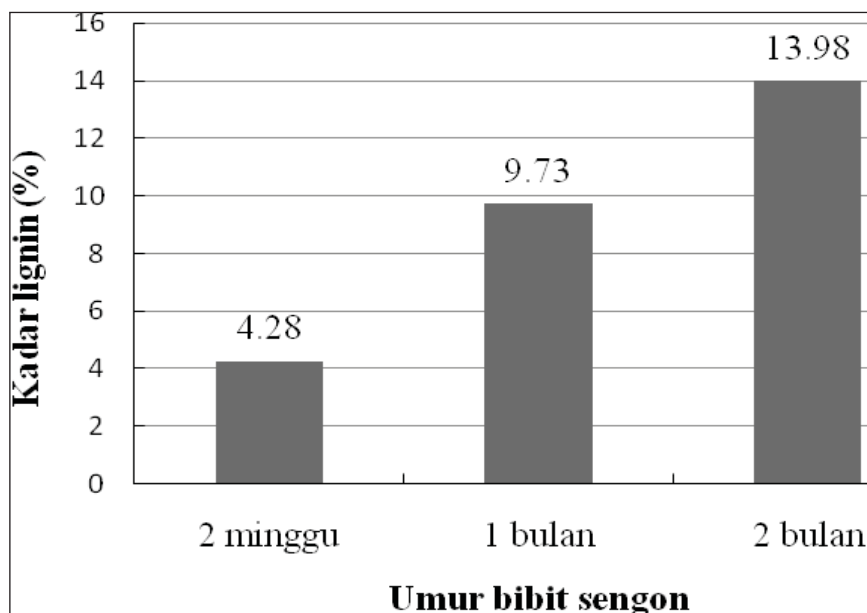
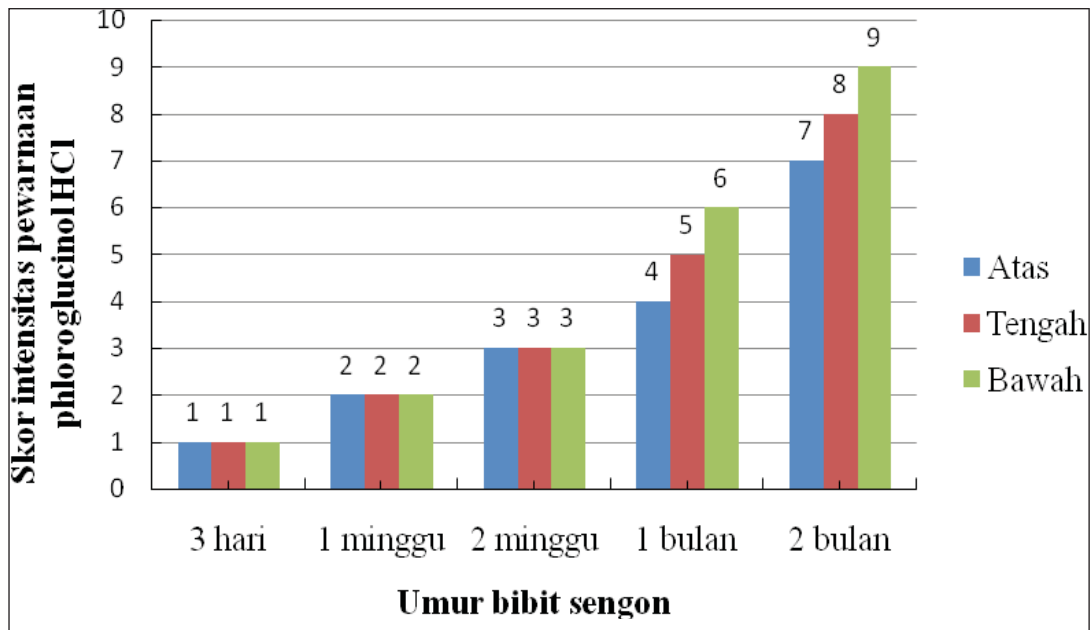
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kadar lignin

Secara umum kadar sengan dari seluruh lokasi yang diuji pada ketinggian pohon 2 m adalah (17,93–34,11%) dengan rata-rata 27,29% dan pada ketinggian 4 m adalah (16,58–35,59%) dengan rata-rata 27,73%. Sengan yang memiliki kadar lignin terendah adalah pohon PII yang merupakan koleksi dari Cibinong dengan kadar lignin rata-rata pada ketinggian 2 m dan 4 m



Gambar 1. Profil histokimia bibit sengan yang dianalisis pada berbagai umur bibit.



Gambar 2. Intensitas pewarnaan histokimia lignin dengan phloroglucinol-HCl (A) dan kadar lignin kecambah sengon pada berbagai umur (B).

adalah 17,25%. Kadar lignin tersebut termasuk kategori kayu rendah lignin yaitu kurang dari 18%.¹⁴ Selain memiliki kadar lignin yang rendah pohon ini juga kadar selulosanya cukup tinggi yaitu 51,54%.¹⁵

Berdasarkan hasil analisis kadar lignin pohon PII tersebut berpotensi untuk dibudidayakan dan diperbanyak sebagai bahan baku pulp yang efisien ataupun sebagai material pemuliaan tanaman untuk menurunkan lignin hingga kadar yang lebih rendah lagi tetapi respons pertumbuhan dan

daya hasilnya tetap menguntungkan. Perbanyak koleksi pohon unggul rendah lignin tersebut dapat dilakukan melalui stek ataupun propagasi *in vitro* untuk menjamin kesamaan identitas genetiknya.

Distribusi lignin di dalam dinding sel dan pada bagian pohon yang berbeda tidak sama. Kadar lignin yang tinggi adalah khas untuk bagian batang yang paling rendah dan paling dalam.¹⁶ Hasil analisis sidik ragam terhadap rata-rata kadar lignin dari setiap daerah serta dua titik ketinggian pengambilan sampel yang diuji, menunjukkan

bahwa kadar lignin pada ketinggian 2 m dan 4 m menunjukkan perbedaan yang nyata. Selain itu, rata-rata kadar lignin pada hampir seluruh lokasi berbeda nyata kecuali kadar lignin pada ketinggian 2 m yang dikoleksi dari Cikampek dan Tasikmalaya tidak menunjukkan perbedaan yang nyata (Tabel 1). Perbedaan kadar lignin tidak saja terdapat pada bagian pohon yang berbeda tetapi juga tergantung *Provenance*, seperti pada

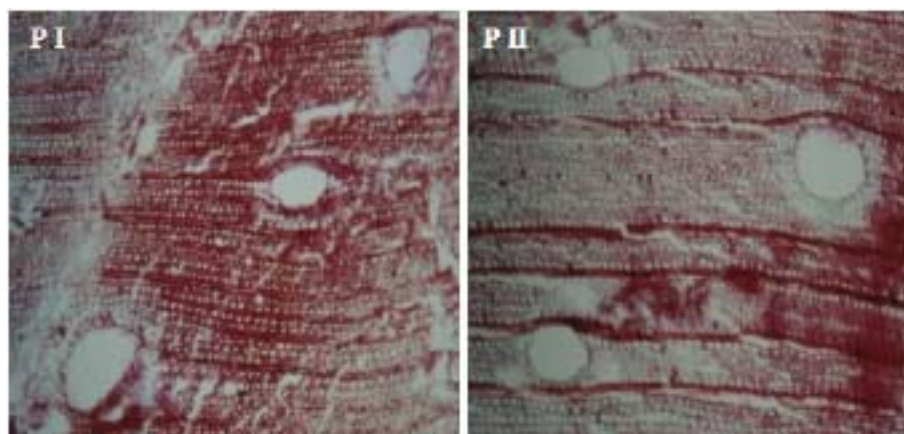
Acacia mangium yang kadar ligninnya pada tiga *provenans* yaitu Queensland, Papua New Guinea, dan Indonesia Bagian Timur bervariasi yaitu 21,98; 24,54; dan 23,33%.¹⁷



Gambar 3. Profil histokimia lignin kayu sengon bagian atas, tengah dan bawah pada pohon sengon umur 1 tahun.



Gambar 4. Profil histokimia lignin kayu sengon bagian atas (a), tengah (b) dan bawah (c) pada pohon sengon umur 2 tahun.



Gambar 5. Profil histokimia lignin kayu sengon dewasa yang dikoleksi dari Cibinong.

Uji histokimia lignin bibit sengon umur 3 hari, 1 minggu, 2 minggu, 1 bulan, dan 2 bulan

Berdasarkan hasil analisis histokimia pada berbagai umur bibit sengon yang dilakukan skor berdasarkan intensitas warna, diketahui bahwa pada umur bibit 3 hari dan 1 minggu belum tampak pewarnaan lignin. Pada umur 3 hari, pewarnaan lignin hanya tampak berupa titik-titik merah dan belum menunjukkan pembentukan jaringan yang jelas sedangkan pada umur 1 minggu sudah mulai membentuk jaringan yang melingkar yang diduga sebagai awal pembentukan jaringan xilem. Setelah 2 minggu, jaringan yang semula berbentuk melingkar berubah menjadi segiempat dan intensitas warna merah lebih pekat. Pada uji histokimia hipokotil bibit sengon umur 3 hari serta 1 dan 2 minggu, menunjukkan bahwa kandungan lignin banyak ditemukan pada daerah sklerenkim (Gambar 1). Hal ini sesuai dengan uji histokimia pada *Picea abis* dengan pewarnaan *phloroglucinol*-HCl yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa lignin banyak ditemui di daerah sklerenkim, hipodermis, dan sel atau jaringan vaskular.⁶ Berdasarkan penelitian Watanabe⁹ tentang studi histokimia distribusi lignin pada dinding sel dari dua spesies *Eucalyptus* yaitu *E. calmadulins* dan *E. globulus* dengan metode Klason menunjukkan bahwa dinding sel *E. calmadulins* mengandung gugus guaiasil dan siringil dan pada *vessel walls* umumnya mengandung gugus guaiasil. Sedangkan *E. globulus* dinding selnya hanya mengandung gugus siringil sedangkan pada *vessel walls* mengandung gugus guasil dan siringil.

Pewarnaan lignin mulai tampak pada bibit umur 2 minggu yang semakin tinggi intensitasnya pada umur 1 bulan dan 2 bulan (Gambar 2). Intensitas pewarnaan lignin pada setiap bagian yang diuji (atas, tengah, bawah) pada bibit umur 1 dan 2 bulan berbeda dimana pewarnaan lignin dengan intensitas tertinggi tampak pada bagian bawah (Gambar 2). Pada umur bibit 2 minggu, walaupun sudah terdeteksi adanya pembentukan lignin, tetapi intensitas warna pada ketiga bagian yang diuji skornya sama (Gambar 2). Seperti halnya hasil uji histokimia yang menunjukkan meningkatnya deposisi lignin seiring bertambahnya umur tanaman, kadar lignin Klason juga

meningkat pada bibit umur 2 minggu, 1 dan 2 bulan yaitu masing-masing 4,28%; 9,73%; dan 13,98% (Gambar 2). Perbedaan distribusi dan deposisi lignin pada bagian tanaman dan umur berbeda juga terjadi pada bagian atas, tengah, dan bawah dari ruas ke-10 tanaman jagung yang diamati pada 3, 5, 7, 9, 11, 13, dan 15 hari.¹⁸ Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pada tanaman jagung, terjadi peningkatan lignin hingga 50% pada pengamatan 15 hari dibanding 3 hari dengan kadar tertinggi diperoleh pada bagian bawah ruas tanaman. Pada penelitian mengenai perkembangan xilem dan dinding sel kecambah kedelai umur 5 hari menunjukkan adanya deposisi lignin yang diamati dengan *epi-fluorescen microscopy* menggunakan pewarnaan 0,5% *toluidine blue*.¹⁹ Hal ini menunjukkan bahwa lignifikasi telah terjadi sejak awal perkembangan tanaman.

Pada jaringan kayu sengon umur 1 dan 10 tahun, pewarnaan *phloroglucinol* menghasilkan warna merah yang sangat jelas. Percobaan uji histokimia pada berbagai umur bibit dan pohon sengon akan berguna untuk menguji kadar lignin secara kualitatif kadar lignin, sengon hasil transformasi dengan konstruk antisense gen penyandi enzim yang berkaitan dengan biosintesis lignin seperti halnya yang dilakukan untuk menguji kadar lignin tembakau dan poplar transgenik rendah lignin.^{19,20}

Perbedaan intensitas warna lignin pada sengon umur 1 tahun pada ketiga bagian yang diuji tidak tampak jelas (Gambar 3), tetapi pada bibit umur 2 tahun bagian pangkal memiliki intensitas warna yang lebih tinggi (Gambar 4). Adanya variasi intensitas warna pada tiga bagian kayu yang diuji yaitu atas, tengah, dan bawah, mengindikasikan adanya perbedaan kadar lignin yang berbeda tergantung ketinggian atau jarak pengambilan sampel dari pangkal batang atau bibit. Uji kualitatif deposisi lignin secara histokimia dengan *phloroglucinol*-HCl sesuai pula dengan data kuantitatif sebagaimana pada hasil uji histokimia sengon PII dibanding dengan PI, di mana PII yang memiliki intensitas pewarnaan lignin lebih lemah dari PI kadar ligninnya pun lebih rendah (Gambar 5). Distribusi lignin pada PI tampak lebih jelas dibandingkan PII.

KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis kayu sengon yang dikoleksi dari daerah Cibinong, Cikampek, Tasikmalaya, dan Yogyakarta menunjukkan bahwa kadar lignin sengon secara umum termasuk kategori kadar lignin sedang dengan kisaran (16,58–35,59%). Sengon dengan kadar lignin rendah teridentifikasi pada koleksi sengon asal Cibinong yang merupakan kandidat pohon plus. Berdasarkan uji histokimia tampak bahwa pembentukan lignin dimulai pada bibit sengon umur 2 minggu. Baik melalui pengujian kadar lignin secara kuantitatif maupun uji histokimia menunjukkan bahwa deposisi lignin pada setiap bagian batang berbeda kadarnya berbeda pula. Sengon dengan kadar lignin rendah sangat berpotensi untuk diperbanyak dan dibudidayakan untuk mendukung ketersediaan bahan baku industri pulp dan kertas yang efisien dan ramah lingkungan. Data kualitatif melalui uji histokimia lignin yang menunjukkan waktu dimulainya deposisi lignin merupakan informasi yang sangat berguna untuk penelitian lebih lanjut terkait dengan upaya modifikasi kadar dan komposisi subunit penyusun lignin yang menguntungkan untuk industri pulp dan kertas. Teknologi DNA rekombinan dengan mengatur tingkat ekspresi gen-gen yang berkaitan biosintesis lignin melalui *post transcription gene silencing* (PTGS) dapat menjadi alternatif untuk upaya penurunan kadar lignin.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Palonen, H. 2004. "Role of Lignin in the Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulose". VTT Publication. 520. Finland: Jullaisija-Utgivare. 80p.
- ²Lapierre, C, Pollet, B., Conil, M.P., Toval, G., Romero, J., Pilate, G., Leple, J.C. Boerjan, W., Ferret, V., Nadai, V., Jouanin, L. 1999. "Structural Alterations of Lignin in Transgenik poplars With Depressed Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase or Caffeic Acid O-Methyltransferase Activity Have an Opposite Impact on the Efficiency of Industrial Kraft Pulping. *Plant Physiol*, 119: 153–163.
- ³Doorsselaere, J.V., Baucher, M., Chognot, E., Chabbert, B., Tollier, M.T., Conil, M.P. 1995. "A Novel Lignin in Poplar Trees With Reduced Caffeic Acid/5hydroxyferrulic acid O-Methyltransferase Activity". *The Plant J*, 8(6): 855–864.
- ⁴Muladi, S. et al. 2004. "Utilization of Plantation Forest Species as Raw Material for Pulp and Paper Using the Kraft Pulping Method and Elementary Chlorine Free Leaching". In: *Tropical Wood Properties and Utilization in Pulp-Paper Products and Improving Liquid Waste From Plywood Production*. Muladi S (ed). Samarinda: Research Institute of Mulawarman.
- ⁵El-Hosseiny, F., Anderson, D. 1999. "Effect of Fiber Length and Coarseness on the Burst Strength of Paper". *TAPPI Journal*. January: 202–203.
- ⁶Soukupova, J., Cvikrova, M., Albrechiova, J., Rock, B.N., Ender, J. 2000. "Histochemical and Biochemical Approaches to the Study of Phenolic Compounds and Peroxidases in Needles of Norway Spruce (*Picea abies*)". *New Phytol*, 146: 403–414.
- ⁷Valette, C., Andary, C., Geiger, J.P., Sarah, J.L., and Nicole, M. 1998. "Histochemical and Cytochemical Investigation of Phenols in Roots of Banana Infected by the Burrowing Nematode *Radopholus Similes*". *Phytopathology Journal*, 88(11):1141–1153.
- ⁸Zhong, R., Morrison, W.H. 2000. "Essential Role of Caffeoyl Coenzyme A O-Methyltransferase in Lignin Biosynthesis in Woody Poplar Plants". *Plant Physiol*, 124(2): 563–578.
- ⁹Watanabe, Y., Kojima, Y., Ona, T., Asada, T., Sano, Y., Fukazawa, K., Funada, R. 2004. "Histochemical Study on Heterogeneity of Lignin in *Eucalyptus* Species ii. The Distribution of Lignins and Polyphenols in the Walls of Various Cell Types." *IWA Journal* 25 (3): 283–295.
- ¹⁰Hartati, N.S, Rusmiati, A., Sugiharti, S., Sudarmonowati, E. 2009. "Uji Aktivitas Peroksidase Sengon Merah dan Sengon Putih". *Prosiding Seminar Nasional Biokimia Tahun 2009*:1–6. Depok, 9 Januari 2008.
- ¹¹Hartati, N.S., Dwianto, W., Hermiati, E., Patriasari, W., Sudarmonowati, E. 2007. "Sengon (*Paraserianthes falcataria*) Unggul Sebagai Sumber Bahan Tanaman Berkualitas: Sifat Fisik dan Kandungan Lignin". Seminar Nasional Pengembangan Pengelolaan dan Pemanfaatan Hasil Hutan Rakyat di Indonesia. Yogyakarta, 12 Desember 2007.
- ¹²Bujanovic, B., Cameron, J.H., Yilgor, N. "Comparative Studies of Kraft and Kraft-Borate Pulping of Black Spruce". *Journal of pulp and paper science*, 129(6): 190–196.
- ¹³Schwanninger, M., Hinterstoisser, B. 2002. "Comparison of the Classical Wood Extraction Method Using a Soxhlet Apparatus With an Advanced Extraction Method". *Holz als Roh- und Werkstoff*, 60: 343–346.

- ¹⁴Pari G. 1996. "Analisis Komponen Kimia Dari Kayu Sengon dan Kayu Karet Pada Beberapa Macam Umur". *Buletin Penelitian Hutan*, 14(8): 321–327.
- ¹⁵Hartati, N.S., Sudarmonowati, E., Fatriasari, W., Hermiati, E., Dwianto, W., Kaida, R., Baba, K., Hayashi, T. 2010. 'Wood Characteristic of Superior Sengon Collection and Prospect of Wood Properties Improvement Through Genetic Engineering'. *Wood Research Journal*. 1(2): 103–107.
- ¹⁶Fengel, D. dan Wegener, G. 1995. "Kimia Kayu, Ultrastruktur dan Reaksi-reaksi". Sastrohamidjojo H, penerjemah; Prawirohatmodjo S, editor. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. Terjemahan dari *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*.
- ¹⁷Syafii, W., Siregar, I.Z. 2006. "Sifat Kimia dan Dimensi Serat Kayu Mangium. *Acacia mangium* Willd.) dari Tiga Provenans". *J. Tropical Wood Science & Technology*, 4(1): 28–32.
- ¹⁸Morrison, T., Kessleg, R., Hatfield, R., Buxtona, D.R. 1994. "Activity of Two Lignin Biosynthesis Enzymes During Development of a Maize Internode". *J Sci Food Agric*, 65: 133–139.
- ¹⁹De Micco, V., Aronne, G., Joseleau, J.P., Ruel, K. 2008. "Xylem Development and Cell Wall Changes of Soybean Seedlings Grown in Space". *Ann Bot*, 101: 661–669.
- ²⁰Sewalt, V.J., Ni, W., Blount, J.W., Jung, H.G., Masoud, S.A., Howles, P.A., Lamb, C., Dixon, R.A. 1997. "Reduced Lignin Content and Altered Lignin Composition in Transgenic Tobacco Down-Regulated in Expression of L-Phenylalanine Ammonia-Lyase or Cinnamate 4-Hydroxylase". *Plant Physiol*, 115: 41–50.

