



G1B10  
1999  
0020

27

## AKTIVITAS LIGNOLITIK BEBERAPA BASIDIOMISET

INA PRIYANTI



JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
1999

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## RINGKASAN

INA PRIYANTI. · Aktivitas Lignolitik beberapa Basidiomiset (*The Activity of Lignolitic of Several Basidiomycetes*). Dibimbing oleh GAYUH RAHAYU dan HILMAN AFFANDI.

Lignin merupakan salah satu komponen terbesar dari kayu di samping selulosa dan hemiselulosa. Degradasi lignin merupakan proses yang sangat penting karena lignin merupakan faktor yang membatasi laju degradasi dari selulosa, hemiselulosa dan polisakarida tanaman lain.

Cendawan yang mempunyai kemampuan mendegradasi lignin adalah cendawan busuk putih (*white rot fungi*) yang tergolong basidiomiset. Dalam penelitian ini, 17 isolat cendawan akan ditetapkan aktivitas polifenoloksidase, lakase, tirosinase dan lignase totalnya. Isolat yang memiliki aktivitas enzim dan diameter koloni yang tinggi serta mampu mendegradasi serbuk gergaji digunakan dalam uji depolimerisasi ekstrak serasah *Acacia* sp. dan *Pinus* sp. Selain itu ditetapkan pula kemampuan cendawan dalam mendegradasi serbuk gergaji. Cendawan-cendawan tersebut adalah *Agaricales* TB 2 (1), *Amauroderma* sp. (2), *Coprinus* sp. (3), *Lentinus* sp. 66 (4), *Lentinus* sp. 69 (5), *Lentinus* sp. 41 (6), *Phanerochaete chrysosporium* IPBCC 93259 (7) sebagai isolat pembanding, *Pleurotus ostreatus* 16 (8), *Pleurotus ostreatus* 39 (9), *Pleurotus sajor-caju* (10), *Polyporaceae* 1 (11), *Polyporaceae* 3 (12), *Polyporaceae* 6 (13), *Polyporaceae* 7 (14), *Pycnoporus sanguineus* (15), *Schizophyllum commune* (16) dan *Volvariella volvacea* (17).

Pada uji polifenoloksidase, media yang digunakan adalah EMPT, EMPG, EMPGu 1 dan EMPGu 2. Pada uji ini, isolat 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14 dan 15 menunjukkan aktivitasnya pada semua media. Isolat 5 tidak menunjukkan aktivitasnya pada media EMPGu 2, isolat 8 dan 17 pada media EMPG, dan isolat 1 pada media EMPG dan EMPGu 1. Isolat 16 menunjukkan aktivitas polifenoloksidase hanya pada media EMPT. Isolat 7 tidak menunjukkan aktivitasnya pada semua media. Semua isolat menunjukkan aktivitas lakase kecuali isolat 7 dan 16. Aktivitas tirosinase ditunjukkan oleh isolat 1, 2, 4, 8, 11 dan 17.

Aktivitas lignase total diuji pada dua macam media, yaitu media Glenn & Gold dengan pH 4,5 dan 7,0, serta media agar lignin. Pada media Glenn & Gold pH 4,5, aktivitas lignase total dimiliki oleh 11 isolat yaitu 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 dan 14, sedangkan pada pH 7,0 isolat 12 tidak menunjukkan aktivitasnya. Pada media agar lignin, aktivitas lignase dimiliki oleh semua isolat kecuali isolat 16.

Isolat jamur yang ditumbuhkan pada media serbuk gergaji menyebabkan penurunan bobot media tumbuhnya ( $\geq 2\%$ ), meskipun tidak semua koloni terlihat tumbuh pada media tersebut.

Isolat 13 dan 14 memiliki kemampuan baik dalam menghasilkan enzim perombak lignin, oleh karena itu kedua isolat ini digunakan dalam uji depolimerisasi ekstrak serasah *Acacia* sp. dan *Pinus* sp. disamping isolat 7 (isolat pembanding). Semua isolat mampu merombak senyawa-senyawa yang terdapat pada kedua serasah tersebut, kecuali isolat 7 pada media yang mengandung ekstrak serasah *Pinus* sp. Isolat 14 dapat mendegradasi senyawa-senyawa pada ekstrak serasah *Acacia* sp. lebih baik dibanding isolat lainnya.



## Summary

INA PRIYANTI. The Activity of Lignolytic of Several Basidiomycetes (*Aktivitas Lignolitik beberapa Basidiomiset*). Guided by GAYUH RAHAYU and HILMAN AFFANDI.

Lignin is one of the biggest component of wood besides cellulose and hemicellulose. Degradation of lignin is an important process because lignin is a limiting factor of cellulose, hemicellulose and polysaccharide degradation.

White rot fungi (basidiomycetes) are considered as a fungal group that are able to degrade lignin. The fungi are *Agaricales* TB 2 (1), *Amauroderma* sp. (2), *Coprinus* sp. (3), *Lentinus* sp.66 (4), *Lentinus* sp. 69 (5), *Lentinus* sp. 41 (6), *Phanerochaete chrysosporium* IPBCC 93259 (7) as standard isolate, *Pleurotus ostreatus* 16 (8), *Pleurotus ostreatus* 39 (9), *Pleurotus sajor-caju* (10), *Polyporaceae* 1 (11), *Polyporaceae* 3 (12), *Polyporaceae* 6 (13), *Polyporaceae* 7 (14), *Pycnoporus sanguineus* (15), *Schizophyllum commune* (16) dan *Volvarella volvacea* (17). Polyphenoloxidase, laccase, tyrosinase and total lignase activities of seventeen fungal isolates and their ability to decompose sawdust media are determined qualitatively. Selective fungi then are tested in their ability to depolymerize leaf litter extract of *Acacia* sp. and *Pinus* sp.

Polyphenoloxidase activity are determined on the bases of zonation formed on EMPT, EMPG, EMPGu 1 and EMPGu 2 agar media. Polyphenoloxidase activity are shown by isolate 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14 and 15 in all media. Isolate 5 does not show its polyphenoloxidase activity on EMPGu 2, neither isolat 8 and 17 on EMPG, nor isolate 1 on EMPG and EMPGu 1. While isolate 16 show its activity only on EMPT. Isolate 7 does not show activity all enzymes tested in all media. All isolate, except isolate 7 and 16, show laccase activity in response to 1-nafthol, while only isolate 1, 2, 4, 8, 11 and 17 show tyrosinase activity in response to p-ressol.

The activity of total lignase tested on the basic of decolorization on two media, there are media of Glenn & Gold with pH 4,5 and 7,0 and agar lignin. In media Glenn & Gold pH 4,5, total lignase activity are shown by 11 isolate, (isolate 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 and 14). While only isolate 12 does not decolorize that media at pH 7,0. All isolates, except isolate 16 discolorize lignin agar media.

All fungal isolates may reduce the weight of their sawdust media ( $\geq 2\%$ ), although not all isolates show colony growing.

Isolate 13 and 14 that have a relatively promising ligninase activity are selected to depolymerize leaf litter extract of *Acacia* sp. and *Pinus* sp. Isolate 7 is used as a standard isolate. TLC analyses show that most of the fungi may depolymerize those litter extract, except isolate 7 only show that ability on *Acacia* sp. leaf litter extract. Isolat 14 may depolymerize *Acacia* sp. leaf litter extract better than the other isolates.

# AKTIVITAS LIGNOLITIK BEBERAPA BASIDIOMISET

INA PRIYANTI

Skripsi

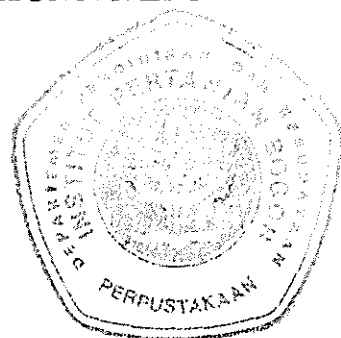
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Sains

pada

Jurusan Biologi

JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
1999





Hak cipta milik IPB University

Judul : Aktivitas Lignolitik beberapa Basidiomiset

Nama : Ina Priyanti

NIM : G04.31.0062

Menyetujui,



Dr. Ir. Gayuh Rahayu

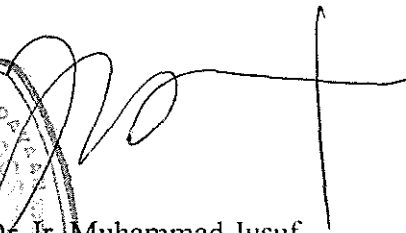
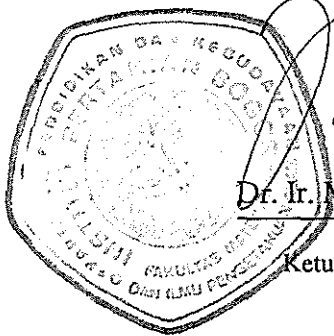
Pembimbing I



Dr. Hilman Affandi

Pembimbing II

Mengetahui,

Dr. Ir. Muhammad Jusuf

Ketua Program Studi

Tanggal Lulus : 11 JAN 1999



@ak cipta milik IPB University

IPB University

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Serang pada tanggal 12 Februari 1976 sebagai anak keempat dari empat bersaudara, keluarga Suria Wirahadinata dan Suryati.

Pada tahun 1994 penulis lulus dari SMA 1 Rangkasbitung dan pada tahun yang sama lulus seleksi masuk IPB melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB. Pada tahun 1995 penulis memilih jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunian Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret 1998 dengan judul Aktivitas Lignolitik beberapa Basidiomiset.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Gayuh Rahayu dan Dr. Hilman Affandi sebagai pembimbing yang telah memberikan bimbingan serta saran selama menyelesaikan penelitian dan karya ilmiah ini. Di samping itu ucapan terimakasih juga disampaikan pada staf dan karyawan BIOTROP, Pak Arief, Pak Samsul, Pak Widodo, mbak Yupi juga kepada Teh Aceu, Sasa, Dodo atas kerjasama dan bantuannya, serta kepada kedua orang tuaku dan seluruh keluarga atas doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

Bogor, Januari 1999

*Ina Priyanti*



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
PENDAHULUAN .....	1
<b>BAHAN DAN METODE</b>	
Waktu dan Tempat .....	2
Bahan .....	2
Metode	
Persiapan Inokulum .....	2
Penetapan Aktivitas Polifenoloksidase .....	2
Penetapan Aktivitas Lakase dan Tirosinase .....	2
Penetapan Aktivitas Lignase Total .....	2
Laju Dekomposisi Serbuk Gergaji .....	2
Depolimerisasi Ekstrak Serasah <i>Acacia</i> sp. dan <i>Pinus</i> sp. oleh Isolat Hasil Seleksi .....	3
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
Aktivitas Polifenoloksidase .....	3
Aktivitas Lakase dan Tirosinase .....	7
Aktivitas Lignase Total .....	8
Laju Dekomposisi Serbuk Gergaji .....	11
Depolimerisasi-Ekstrak Serasah <i>Acacia</i> sp. dan <i>Pinus</i> sp. oleh Isolat Hasil Seleksi .....	11
<b>KESIMPULAN</b>	
Kesimpulan .....	12
Saran .....	13
DAFTAR PUSTAKA .....	13
LAMPIRAN .....	15







## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Jamur yang diteliti .....	2
2. Perubahan warna koloni dan media setelah penetesan dengan 1-naftol dan p-kresol .....	7
3. Nilai Rf (faktor retensi) dari senyawa-senyawa yang terpisah .....	11

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPT .....	3
2. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPT pada hari ke-7. Isolat 12 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi .....	4
3. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPG .....	4
4. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPG pada hari ke-7. Isolat 11 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi .....	5
5. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPGu 1 .....	5
6. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPGu 2 .....	6
7. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPGu 2 pada hari ke-7. Isolat 14 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi .....	6
8. Aktivitas lakase dan tirosinase pada media EMP 24 jam setelah penetesan .....	8
9. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media Glenn & Gold pH 4,5 .....	8
10. Aktivitas lignase total pada media Glenn & Gold pH 4,5 pada hari ke-7. Isolat 13 dan 14 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi .....	9
11. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media Glenn & Gold pH 7,0 .....	10
12. Aktivitas lignase total pada media Glenn & Gold pH 7,0 pada hari ke-7. Isolat 14 diikuti isolat 13 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi .....	10
13. Isolat 16 tidak menunjukkan aktivitasnya (kiri), isolat 1 menunjukkan aktivitas lignase (kanan) .....	10
14. Persentase penurunan bobot substrat .....	11

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Komposisi media .....	16
2. Aktivitas polifenoloksidase .....	17
3. Aktivitas lignase total pada media Glenn & Gold .....	18
4. Persentase penurunan bobot substrat .....	18

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## PENDAHULUAN

Komponen struktural yang terdapat dalam jumlah besar pada tanaman adalah lignin, selulosa dan hemiselulosa. Dalam dinding sel tanaman, lignin berselangan dengan hemiselulosa dan bentuk matrik melingkar dari selulosa mikrofibril. Lignin merupakan polimer aromatik yang terdiri dari unit-unit fenilpropana yang dihubungkan dengan ikatan aril eter dan karbon-karbon (C-C). Struktur monomer lignin berupa kumaril alkohol, koniferil alkohol dan sinapil alkohol. Komposisi senyawa-senyawa ini sangat beragam, tidak hanya diantara spesies tanaman, tapi juga pada jaringan dan dinding sel suatu tanaman (Davin & Lewis, 1992).

Degradasi lignin merupakan proses yang sangat penting dalam siklus karbon secara menyeluruh, karena keberadaan lignin yang melimpah di alam dan karena lignin merupakan faktor yang membatasi laju degradasi dari selulosa dan polisakarida tanaman lain. Cendawan pendegradasi lignin yang telah diketahui hanya terbatas pada kelompok cendawan busuk putih (*white rot fungi*) yang tergolong basidiomiset (Fukuzumi, 1980). Cendawan yang termasuk ke dalam jenis ini di antaranya adalah *Coriolus versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium* dan *Phelbia radiata* (Higuchi, 1993).

Degradasi lignin oleh cendawan terjadi karena adanya interaksi antara lignin dengan enzim yang dihasilkan oleh cendawan. Karena besarnya molekul enzim, maka interaksinya dengan lignin baru berlangsung setelah terjadinya proses pembusukan kayu oleh agen yang memiliki massa molekul rendah yang dapat berdifusi ke dalam dinding sel kayu, sehingga pori-pori kayu membesar dan interaksi dapat berlangsung (Evans *et al.*, 1994). Cendawan busuk putih mampu mendegradasi lignin dengan sistim enzim pengoksidasi fenol seperti polifenoloksidase yang didalamnya terdapat enzim lakase dan tirosinase (Hutchinson, 1990).

Polifenoloksidase adalah monooksigenase yang mengkatalisis o-hidroksilasi fenol dan mengoksidasi o-dihidrat fenol menjadi o-kuinon menggunakan molekul oksigen (Burton *et al.*, 1993). Lakase mereduksi dioksigen menjadi dua molekul air dan melakukan oksidasi satu elektron pada substrat aromatik (Bourbonnais *et al.*, 1995). Kisaran substrat dari lakase dapat diperluas untuk

subunit nonfenolik pada lignin dengan penambahan mediator seperti 2,2-azinobis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonat) (ABTS). Kerjasama antara lakase dengan ABTS ini dapat menyebabkan delignifikasi bubur kertas (Bourbonnais *et al.*, 1995). Tirosinase mengkatalisis hidroksilasi dari monofenol menjadi o-difenol (aktivitas monofenolase) dan oksidasi dari o-difenol menjadi o-kuinon (aktivitas difenolase) (Ros *et al.*, 1993).

Di daerah tropik, pepohonan yang tumbuh sepanjang tahun menyumbang bahan organik berupa daun, ranting, cabang, batang, kulit dan akar. Bahan organik yang terdapat di atas permukaan tanah dan tersusun oleh bahan-bahan yang telah mati ini biasa disebut serasah.

Komposisi kimia serasah sangat menentukan kualitas bahan sebagai sumber makanan dan substrat bagi organisme pengurai (dekomposer). Sebagian besar serasah berupa daun mengandung unsur-unsur N, P dan karbohidrat terlarut yang lebih rendah dibandingkan dengan daun segar sebagai akibat penyerapan unsur hara sebelum daun gugur. Pada saat yang sama, konsentrasi Ca, tanin, selulosa dan lignin meningkat. Menurut Hilman (1992), daun merupakan komponen terbesar dari serasah *Pinus* sp. dan *Acacia* sp. Di antara komponen-komponen serasah, daun merupakan penyumbang unsur hara terbesar.

Pada Hutan Tanaman Industri (HTI), serasah seringkali menjadi penghambat regenerasi alami bagi pohon berkayu. Serasah *Acacia* sp. diduga mengandung senyawa-senyawa fenolik yang bersifat allelopatik bagi pertumbuhan anakan (Affandi, komunikasi pribadi). Selain itu serasah *Pinus* sp. pun mengandung senyawa-senyawa fenolik dan lignin yang secara alami sulit dirombak.

Banyak jamur kayu yang belum diketahui potensinya dalam menghasilkan enzim perombak lignin dan kemampuannya untuk merombak komponen-komponen utama serasah, oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk menetapkan aktivitas lignolitik (polifenoloksidase, lakase, tirosinase dan lignase total) dari beberapa basidiomiset secara kualitatif, mengukur laju dekomposisi serbuk gergaji, serta menganalisis kemampuan isolat hasil seleksi dalam merombak ekstrak serasah *Acacia* sp. dan *Pinus* sp.



## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret sampai dengan Agustus 1998, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium *Natural Product* BIOTROP, Bogor.

### Bahan

Jamur (Tabel 1) yang digunakan adalah koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, BIOTROP.

Tabel 1. Jamur yang diteliti

Nomor	Nama Jamur
1	<i>Agaricales</i> TB 2 no.77
2	<i>Amauroderma</i> sp. no.100
3	<i>Coprinus</i> sp. no.10
4	<i>Lentinus</i> sp. no.66
5	<i>Lentinus</i> sp. no.69
6	<i>Lentinus</i> sp. no.41
7	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> IPBCC 93259
8	<i>Pleurotus ostreatus</i> no.16
9	<i>Pleurotus ostreatus</i> no.39
10	<i>Pleurotus sajor-caju</i> no.13
11	<i>Polyporaceae</i> 1 no.1
12	<i>Polyporaceae</i> 3 no.3
13	<i>Polyporaceae</i> 6 no.50
14	<i>Polyporaceae</i> 7 no.54
15	<i>Pycnoporus sanguineus</i> no.24
16	<i>Schizophyllum commune</i> no.11
17	<i>Volvariella volvacea</i> no.18

### Metode

#### Persiapan Inokulum

Jamur diremajakan pada media EMP, dan diinkubasi selama 7 hari pada kondisi ruang. Miselia dari tepi koloni digunakan sebagai sumber inokulum.

#### Penetapan Aktivitas Polifenoloksidase

Penetapan aktivitas polifenoloksidase dilakukan berdasarkan metode Bavendamm. Inokulum berdiameter 5 mm ditanam pada 4 media uji, yaitu EMP dengan asam tanat 0,5 % (EMPT), EMP dengan asam galat 0,5% (EMPG), EMP dengan guaiakol 0,01% (EMPGu 1) dan EMP dengan guaiakol 0,5% (EMPGu 2). Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu ruang. Diameter koloni dan zona yang terbentuk diukur setiap hari selama 7 hari.

Aktivitas polifenoloksidase dinyatakan dalam perbandingan diameter zona gelap terhadap diameter koloni.

#### Penetapan Aktivitas Lakase dan Tirosinase

Aktivitas lakase dan tirosinase ditetapkan berdasarkan metode Hutchinson (1990). Inokulum ditumbuhkan pada media EMP selama 7 hari. Pada hari ke-7 koloni diberi 1-2 tetes 0,1 M 1-naftol pada posisi pukul 12 dan 0,1 M p-kresol pada posisi pukul 6. Setelah penetesan cawan ditutup dan pada bagian tepinya diberi perekat. Perubahan warna diamati 1 jam setelah penetesan dan diulang pada jam ke-24. Perubahan warna koloni dan media pada titik penetesan 1-naftol menjadi biru sampai ungu menandakan adanya lakase. Keberadaan tirosinase ditandai dengan pembentukan warna merah orange sampai coklat setelah penetesan p-kresol. Kemampuan lakase dan tirosinase ditentukan berdasarkan tingkat perubahan warna media, yaitu sangat jelas (+++), jelas (++) , kurang jelas (+) dan tidak terbentuk (-).

#### Penetapan Aktivitas Lignase Total

Aktivitas lignase total diuji pada dua macam media, yaitu media Glenn & Gold (1983) dan media agar lignin.

Inokulum ditanam pada media Glenn & Gold dengan pH 4,5 dan 7,0, dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Diameter koloni dan zona yang terbentuk diukur setiap hari selama 7 hari. Aktivitas lignase total dinyatakan dalam perbandingan diameter zona terang terhadap diameter koloni.

Pada media agar lignin, inokulum ditanam dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang. Pada akhir masa inkubasi, koloni cendawan diangkat/dikerik dengan silet. Kemudian pada biakan itu dituangkan 10 ml larutan campuran  $FeCl_3$  dan  $K_3Fe(CN)_6$  dan dibiarkan selama 10 menit dalam ruang gelap. Setelah sisa larutan dibuang, perubahan warna diamati. Zona bening yang terbentuk di bagian bawah atau sekeliling koloni cendawan menandakan terdapat aktivitas lignolitik.

#### Laju Dekomposisi Serbuk Gergaji

Sorgum sebanyak 17 sendok makan direndam dalam air semalam. Hasil rendaman direbus sampai empuk dan volumenya menjadi 1,5 kali dari volume awal ( $\pm 25,5$  sendok makan). Sebanyak 1,5 sendok makan sorgum

dimasukkan ke dalam 17 plastik dan masing-masing ditanami dengan 1 inokulum jamur. Inkubasi dilakukan selama 7 hari.

Pada akhir masa inkubasi, masing-masing biakan dalam media sorgum dibagi menjadi 3 bagian. Setiap bagian ditanam pada media serbuk gergaji dalam kantong plastik. Komposisi media ini adalah serbuk gergaji yang dicampur 2,5% dedak, 1,5% gips dan 1,5% kapur ( $\text{CaCO}_3$ ) dari bobot serbuk gergaji. Inkubasi dilakukan ditempat gelap sampai miselia memenuhi media, kemudian biakan dipindahkan ke tempat terang dengan waktu inkubasi 2 bulan. Pada awal dan akhir inkubasi bobot media serbuk gergaji ditimbang.

#### Depolimerisasi Ekstrak Serasah *Acacia* sp. dan *Pinus* sp. oleh Isolat Hasil Seleksi

Serasah *Acacia* sp. berupa *phylode* dan serasah *Pinus* sp. berupa daun jarum dipotong-potong dan kemudian digiling halus. Sebanyak 120 g bubuk dari masing-masing serasah diekstrak dengan 700 ml metanol, ekstrak dievaporasi sampai volume yang diperlukan. Ekstrak pekat dipisahkan dari endapannya menggunakan sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 5°C selama 10 menit. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak serasah diamati dengan kromatografi lapis tipis (KLT), dan sebagai indikator adanya lignin pada serasah digunakan indulin AT. Ekstrak pekat disterilisasi menggunakan milipor yang berukuran 0,22  $\mu\text{m}$ . Sebanyak 1 ml dari ekstrak pekat ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 14 ml suspensi avisel 0,01%. Campuran ini digunakan sebagai media tumbuh cendawan.

Tiga blok cendawan yang berdiameter 5 mm ditanam pada media cair ekstrak serasah dan avisel, dan diinkubasi pada mesin penggoyang dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari. Sebagai kontrol, digunakan media

tanpa cendawan. Pada akhir masa inkubasi, biakan disaring dan supernatannya dievaporasi sampai kering. Pasta yang telah kering dibilas dengan metanol dan kemudian diamati perubahan senyawanya menggunakan KLT.

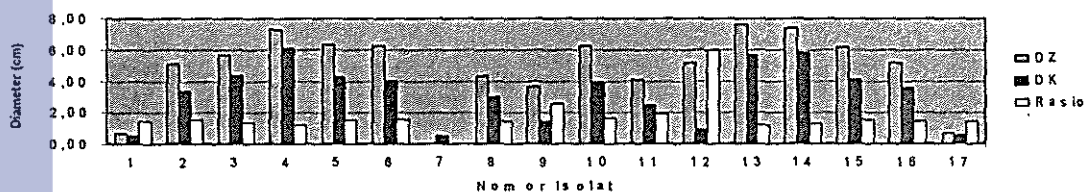
Teknik KLT dilakukan dengan meneteskan 1 tetes contoh pada lempeng KLT yang dilapisi bahan penyerap silika gel. Lempeng KLT kemudian diletakkan tegak lurus di dalam wadah kromatografi yang berisi pelarut (eluen) berupa campuran diklorometan : heksan dengan perbandingan 1:1. Pelarut akan bergerak naik dan memisahkan komponen-komponen yang terdapat pada contoh. Setiap komponen akan bergerak dengan laju tertentu yang ditunjukkan dengan Rf (faktor retensi).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

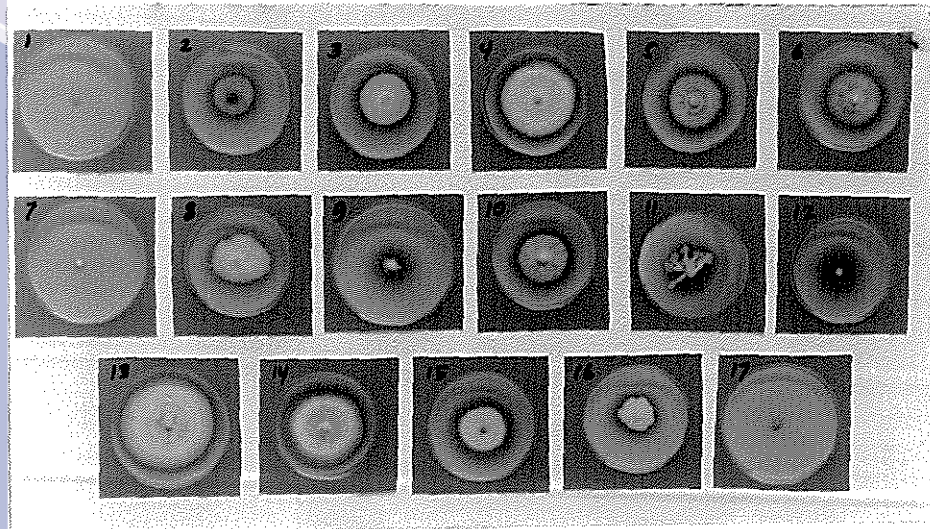
### Aktivitas Polifenoloksidase

Pada media EMPT (Gambar 1), tidak semua isolat dapat tumbuh dan memperlihatkan aktivitas polifenoloksidase. Isolat-isolat yang koloninya tidak tumbuh adalah isolat 1, 7 dan 17. Pada media ini, selain koloninya tidak tumbuh, isolat 7 juga tidak memperlihatkan aktivitas polifenoloksidase.

Diameter zona coklat yang terbentuk pada hari ke-7 (Gambar 2) berkisar antara 0,70 cm sampai 7,60 cm, dan rasionya antara 1,16 sampai 5,96. Nilai rasio yang besar menunjukkan aktivitas enzim yang tinggi. Diameter zona terbesar dimiliki oleh isolat 13 (7,60 cm) dan diikuti oleh isolat 14 (7,43 cm). Besarnya zona isolat ini diikuti oleh besarnya diameter koloni yang berturut-turut 6,57 cm dan 5,83 cm, sehingga aktivitas enzim menjadi rendah yaitu 1,16 dan 1,28. Isolat 12 memiliki aktivitas enzim yang tertinggi karena besarnya diameter zona yang terbentuk tidak diikuti oleh pertumbuhan koloni yang pesat.



Gambar 1. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPT.

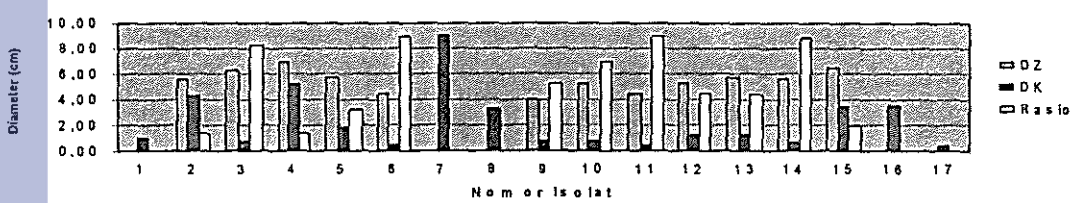


Gambar 2. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPT pada hari ke-7. Isolat 12 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi.

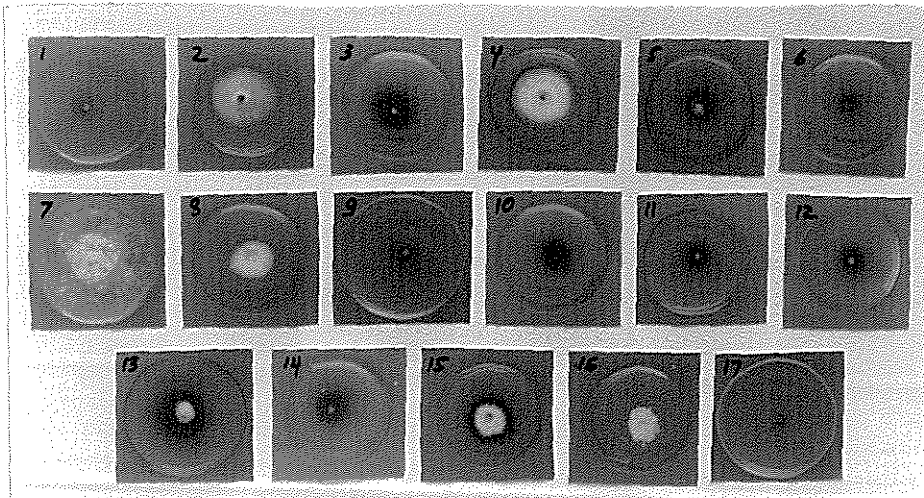
Pada media EMPG (Gambar 4), aktivitas polifenoloksidase tidak dimiliki oleh isolat 1, 7, 8, 16 dan 17. Selain tidak menunjukkan aktivitasnya, isolat 17 juga tidak tumbuh pada media ini. Sedangkan isolat lainnya menunjukkan reaksi positif. Diameter zona coklat yang terbentuk berkisar antara 4,00 cm sampai 6,87 cm (Gambar 3) dan rasionya antara 1,13 sampai 8,93. Diameter zona terbesar (6,87 cm) ditunjukkan oleh isolat 4, sedangkan aktivitas enzim tertinggi (8,93) ditunjukkan oleh isolat 11.

Pada media EMPGu 1 (Gambar 5), semua isolat uji tumbuh dengan pesat, tapi tidak semua memiliki aktivitas polifenoloksidase. Isolat yang tidak memperlihatkan aktivitasnya adalah isolat 1, 7 dan 17. Sementara isolat lainnya menunjukkan reaksi positif dengan terbentuknya zona berwarna jingga kemerahan. Diameter semua zona yang terbentuk lebih kecil.

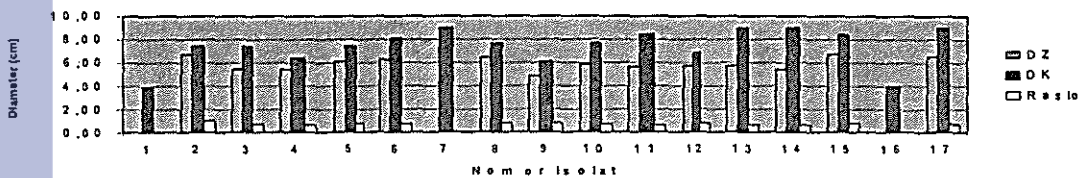
dibandingkan diameter koloninya, sehingga rasionya kurang dari satu. Diameter zona yang terbentuk berkisar antara 4,93 cm sampai 6,77 cm, sedangkan rasionya antara 0,61 sampai 0,90. Diameter zona tertinggi (6,77 cm) dimiliki oleh isolat 15, sedangkan aktivitas enzim tertinggi (0,90) dimiliki oleh isolat 2. Aribowo (1996) menganggap bahwa sifat monofelik dari guaiakol membuat guaiakol mudah dioksidasi dibandingkan dengan asam tanat atau asam galat, dan guaiakol diduga sedikit atau sama sekali tidak bersifat racun bagi pertumbuhan koloni cendawan, sehingga tidak terlalu menghambat pertumbuhannya. Kesimpulan yang diambil ini berdasarkan pada perbandingan pertumbuhan koloni pada media EMP dengan penambahan asam tanat 0,5%, EMP dengan asam galat 0,5% dan EMP dengan guaiakol 0,01%.



Gambar 3. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPG.



Gambar 4. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPG pada hari ke-7. Isolat 11 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi.



Gambar 5. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPGu 1.

Berbeda dengan pertumbuhan koloni jamur pada media EMPGu 1, semua isolat tidak tumbuh pada media EMPGu 2 (Gambar 6). Diameter koloni sama seperti saat penanaman yaitu sebesar 0,50 cm. Isolat-isolat uji tersebut memiliki aktivitas polifenoloksidase dengan terbentuknya zona berwarna ungu kemerahan (Gambar 7), kecuali isolat 5, 7 dan 16. Diameter zona yang terbentuk berkisar antara 0,50 cm sampai 3,63 cm, dengan rasio antara 1,00 sampai 7,27. Semua diameter koloni sama, diameter zona dan aktivitas enzim tertinggi dimiliki oleh isolat yang sama yaitu isolat 14 yang besarnya berturut-turut 3,63 cm dan 7,27 diikuti oleh isolat 4 yang besarnya berturut-turut 3,30 cm dan 6,60.

Dari data di atas diketahui bahwa di antara asam tanat, asam galat dan guaiakol pada konsentrasi yang sama (0,5%) dalam EMP, guaiakol ternyata lebih menghambat

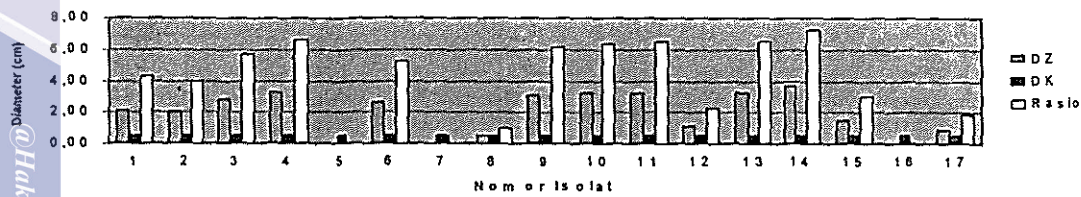
pertumbuhan koloni. Dengan demikian pernyataan Aribowo (1996) di atas kurang tepat. Warna zona media EMPGu 1 berbeda dari EMPGu 2, pada EMPGu 2 warna zonanya lebih pekat. Perubahan warna ini mungkin menggambarkan produk senyawa yang lebih bersifat racun.

Zona coklat yang muncul di sekeliling koloni pada agar malt dengan penambahan asam galat dan asam tanat menunjukkan adanya pemecahan senyawa ini oleh polifenoloksidase. Dihidroksifenol (penyusun asam galat atau tanin) yang tidak berwarna akan membentuk kuinon yang berwarna coklat gelap apabila teroksidasi secara enzimatik. Abadi (1987) mengatakan bahwa tanin dan kuinon bersifat racun terhadap sebagian besar mikroba. Abadi juga mengatakan bahwa enzim ekstraseluler oksidase yang dikeluarkan oleh jamur ternyata dapat mengurangi bahkan menghilangkan daya racun tanin dan kuinon.

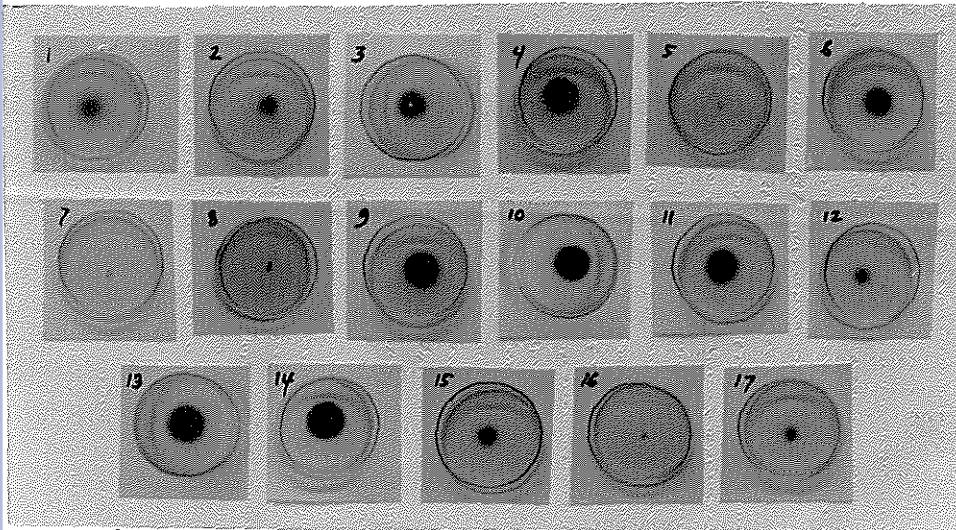


Hak Cipta Dilindungi Undang-undang  
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





Gambar 6. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media EMPGu 2.



Gambar 7. Aktivitas enzim polifenoloksidase pada media EMPGu 2 pada hari ke-7. Isolat 14 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi.

Pada penetapan aktivitas enzim polifenoloksidase ini, ternyata jumlah isolat uji yang memiliki aktivitas polifenoloksidase lebih banyak pada media EMPT (16 isolat) dibandingkan pada media EMPG (12 isolat) atau pun EMPGu (14 isolat) (Lampiran 2). Padahal struktur dari asam tanat lebih kompleks dibanding asam galat dan guaiakol. Asam tanat memiliki struktur polifenol, asam galat adalah monofenol polihidroksi (asam 3,4,5-trihidroksibenzoat) dan guaiakol adalah monofenol (2-metoksi fenol). Kebanyakan isolat-isolat tersebut mungkin memiliki enzim tanase yang mempermudah oksidasi fenol oleh aktivitas polifenoloksidase.

Isolat-isolat cendawan yang memiliki aktivitas polifenoloksidase pada keempat macam media adalah isolat 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14 dan 15 (Lampiran 2). Isolat 16 menunjukkan aktivitas positif enzim polifenoloksidase hanya pada media EMPT. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Nurdiani (1997), bahwa *S. commune* (isolat 16)

menunjukkan aktivitas polifenoloksidase pada media EMP + asam tanat 0,5%. Isolat 8 dan 17 tidak menunjukkan aktivitas enzimnya pada media EMPG. Isolat 1 tidak menunjukkan aktivitas enzimnya pada media EMPG dan EMPGu 1, sedangkan pada EMPGu 2 isolat ini memperlihatkan aktivitas enzimnya dengan membentuk zona yang warnanya agak berbeda dengan isolat lainnya, yaitu kehitaman (Gambar 8). Isolat 5 tidak memperlihatkan aktivitas enzimnya pada media EMPGu 2, sedangkan pada media EMPGu 1 aktivitasnya cukup tinggi. Isolat 7 tidak memperlihatkan aktivitasnya pada semua media.

Pertumbuhan koloni di media EMPT, EMPG dan EMPGu pada konsentrasi yang sama (0,5%), ternyata di media EMPT lebih baik dibandingkan dengan media lainnya. Jumlah isolat yang koloni tidak tumbuh di media ini sama seperti pada media EMPG yaitu 3 isolat, namun 11 isolat menunjukkan pertumbuhan yang tinggi pada media EMPT dibandingkan EMPG (Lampiran 2). Sedangkan pada media

EMPGu tidak ada satu isolat pun yang koloninya tumbuh.

#### Aktivitas Lakase dan Tirosinase

Aktivitas enzim lakase ditunjukkan dengan munculnya warna ungu pada koloni dan media pada 1 jam setelah penetesan 1-naftol. Semua isolat menunjukkan aktivitas lakase kecuali isolat 7 dan 16. Warna ungu yang muncul bertambah pekat pada 24 jam setelah penetesan (Tabel 2, Gambar 8).

Pada uji penetesan p-kresol, pada pengamatan 1 jam setelah penetesan hanya 5 isolat yang menunjukkan reaksi positif enzim tirosinase yaitu isolat 1, 2, 4, 8 dan 11 (Tabel 2, Gambar 8). Pada jam ke-24, isolat 17 pun bereaksi positif. Mungkin aktivitas tirosinase isolat 17 akan lebih baik terlihat pada koloni berumur 8 hari, meskipun isolat lainnya menunjukkan aktivitas enzim tirosinase pada koloni yang berumur 7 hari. Aktivitas tirosinase isolat 17 mungkin bersifat reinduksi sehingga waktu 1 jam inkubasi tidak cukup untuk mengoksidasi p-kresol sampai berubah warna menjadi merah orange sampai kecoklatan.

Aktivitas lakase dan tirosinase hanya dimiliki oleh 6 isolat yaitu isolat 1, 2, 4, 8, 11 dan 17. Isolat lainnya seperti isolat nomor 3, 5, 6, 9, 10, 12, 13, 14 dan 15 hanya memiliki aktivitas lakase saja. Aktivitas lakase dan

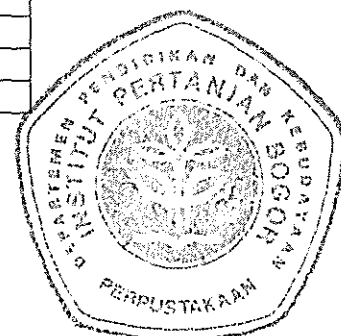
tirosinase tidak ditunjukkan oleh isolat 7 dan 16.

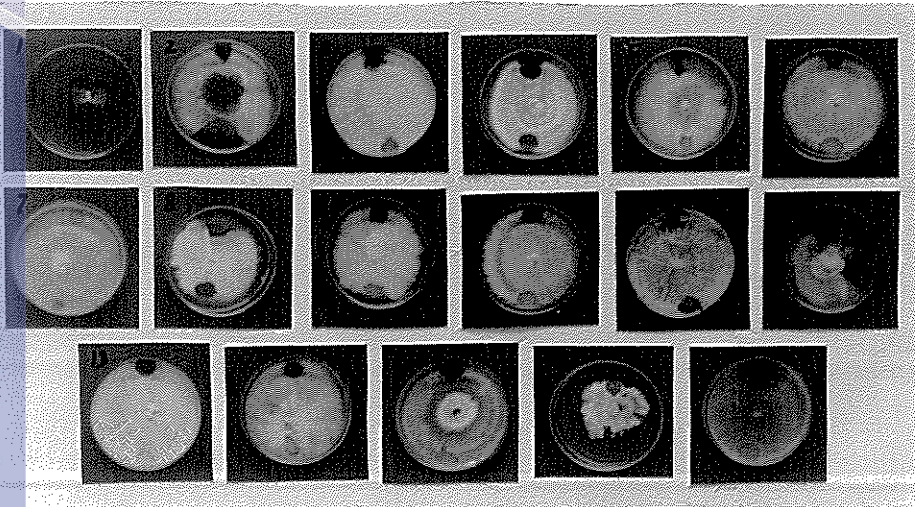
Dari uji aktivitas enzim lakase dan tirosinase dapat dilihat bahwa isolat 7 (*P. chrysosporium*) tidak menunjukkan aktivitasnya pada semua media uji. Isolat 7 juga tidak menunjukkan aktivitas polifenoloksidase pada media uji yang mengandung senyawa fenolik. Padahal Gold *et al.* (1980) mengatakan bahwa *P. chrysosporium* memiliki aktivitas polifenoloksidase. Selain itu Kennes & Lema (1994) mengatakan bahwa *P. chrysosporium* mampu mendegradasi p-kresol (aktivitas tirosinase) dan fenol (aktivitas fenoloksidase) dengan konsentrasi yang tinggi, baik secara terpisah atau campuran keduanya.

Hatakka (1994) dan Perez *et al.* (1996) mengatakan bahwa *P. chrysosporium* tidak memproduksi lakase. Sebaliknya Srinivasan *et al.* (1995) mengatakan bahwa *P. chrysosporium* selalu dapat memproduksi lakase dalam jumlah rendah. Bollag & Leonowicz (1984) bahkan mengatakan bahwa *P. chrysosporium* merupakan basidiomiset yang kaya akan lakase. Hutchinson (1990) menemukan bahwa aktivitas polifenoloksidase dari suatu cendawan berbeda jika ditumbuhkan pada media yang berbeda. Media yang digunakan dalam penelitian ini mungkin kurang menginduksi munculnya aktivitas enzim *P. chrysosporium*.

Tabel 2. Perubahan warna koloni dan media setelah penetesan dengan 1-naftol dan p-kresol

Nomor Isolat	1-naftol		p-kresol	
	setelah 1 jam	setelah 24 jam	setelah 1 jam	setelah 24 jam
1	++	+++	++	+++
2	++	+++	++	+++
3	++	+++	-	-
4	++	+++	+	++
5	++	+++	-	-
6	++	+++	-	-
7	-	-	-	-
8	++	++	+	+
9	++	+++	-	-
10	++	+++	-	-
11	++	+++	++	++
12	++	+++	-	-
13	++	+++	-	-
14	++	+++	-	-
15	++	+++	-	-
16	-	-	-	-
17	+	+++	-	+





Gambar 8. Aktivitas lakase dan tirosinase pada media EMP 24 jam setelah penetesan.

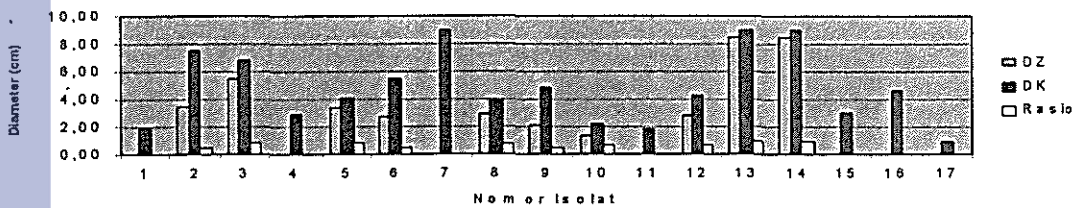
**Aktivitas Lignase Total**

Pada media Glenn & Gold dengan pH 4,5, hanya 11 isolat yang menunjukkan aktivitas lignase, dengan waktu tercepat munculnya aktivitas lignase pada hari ke-2 inkubasi. Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya perubahan warna media dari merah menjadi kuning atau kuning kemerahan. Diameter zona yang terbentuk berkisar antara 1,40 cm sampai 8,55 cm, dan rasionya antara 0,44 sampai 0,94 (Gambar 9). Diameter zona dan aktivitas enzim tertinggi dimiliki oleh isolat nomor 13 dan 14 berturut-turut 8,55 cm dan 0,94.

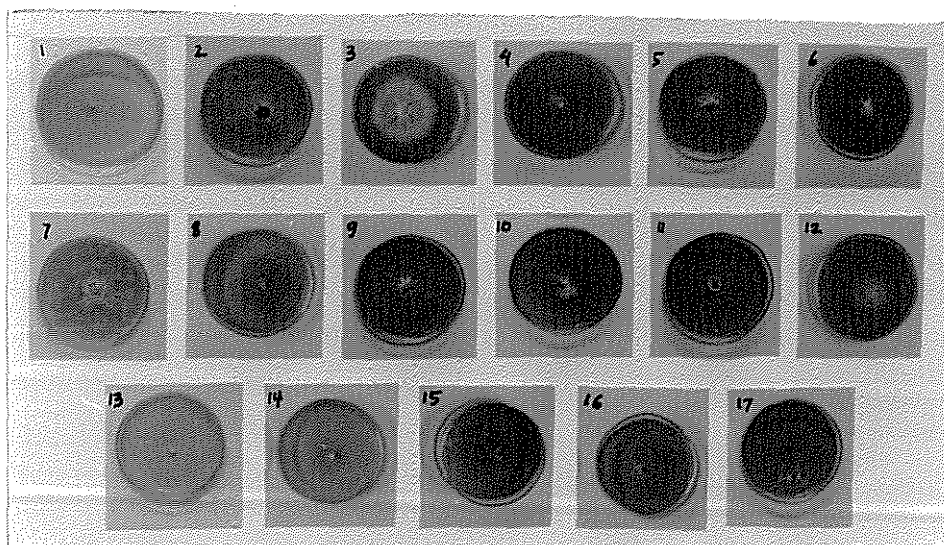
Diameter zona isolat 7 tidak bisa diukur langsung karena bentuk yang tidak beraturan, sehingga aktivitas enzim tidak bisa ditentukan (Gambar 10). Pada media ini isolat 7 mulai menunjukkan aktivitas lignase total pada

hari ke-4 inkubasi dan pada hari ke-4 ini pula koloninya telah memenuhi cawan petri (9,00 cm). Keadaan ini berbeda dengan laporan Sugipriatini (1998) yang menyatakan *P. chrysosporium* (isolat 7) baru memenuhi cawan pada hari ke-16 inkubasi. Sifat dari jamur ini mungkin berubah karena biakan seringkali diremajakan.

Perubahan warna pada media diduga karena adanya enzim lignase yang merombak pewarna Poly R-478 (polivinilamin sulfonat). Glenn & Gold mengindikasikan bahwa hilangnya warna dari Poly R-478 adalah proses metabolik sekunder dan menganggap bahwa sistem pendegradasi lignin atau bagian dari sistem ini juga dapat menghilangkan warna.



Gambar 9. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media Glenn & Gold pH 4,5.



Gambar 10. Aktivitas lignase total pada media Glenn & Gold, pH 4,5 pada hari ke-7. Isolat 13 dan 14 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi.

Pada media Glenn & Gold dengan pH 7,0 (Gambar 11), banyaknya isolat cendawan yang memiliki aktivitas lignasenya pada hari ke-7 hanya 10 isolat, dengan waktu tercepat munculnya aktivitas lignase pada hari ke-2 inkubasi. Diameter zona yang muncul berkisar antara 2,30 cm sampai 8,60 cm, dengan rasio antara 0,40 sampai 0,96. Diameter zona dan aktivitas enzim tertinggi dimiliki oleh isolat 14 yang berturut-turut sebesar 8,60 cm dan 0,96. Pada isolat 7 zona yang muncul ada yang beraturan dan ada yang tidak. Satu ulangan menunjukkan zona yang bulat, beraturan (Gambar 12). Sedangkan ulangan lainnya menunjukkan zona yang tidak beraturan.

Pada kedua tingkat kemasaman, isolat 1, 4, 11, 15, 16 dan 17 tidak menunjukkan aktivitasnya pada 7 hari inkubasi, sementara itu isolat 12 hanya menunjukkan aktivitasnya pada media dengan pH 4,5. Isolat 3, 5, 6, 13 dan 14 menunjukkan aktivitas lignase pada kedua media dengan pH yang berbeda. Zona yang terdapat pada koloni-koloni itu muncul pada hari yang sama pada dua tingkat kemasaman media. Sementara itu isolat 2, 7, 8, 9 dan 10 menunjukkan aktivitas lignase pada kedua tingkat kemasaman media, namun zona yang terdapat pada koloni-koloninya muncul pada hari yang berbeda.

Pada media dengan pH 4,5, isolat 2 menunjukkan aktivitasnya pada hari ke-6

inkubasi, isolat 7 pada hari ke-4, isolat 8 pada hari ke-6, isolat 9 pada hari ke-7 dan isolat 10 pada hari ke-3 inkubasi. Sedangkan pada media dengan pH 7,0, isolat 2 menunjukkan aktivitasnya pada hari ke-5, isolat 7 pada hari ke-7, isolat 8 pada hari ke-4, isolat 9 pada hari ke-6 dan isolat 10 pada hari ke-4 inkubasi. Dari data di atas dapat diketahui bahwa pada media Glenn & Gold dengan pH 4,5, isolat 7, 10 dan 12 menunjukkan aktivitas lignase lebih baik dibanding pada media dengan pH 7,0. Sebaliknya isolat 2, 8 dan 9 aktivitas lignasenya lebih baik jika ditumbuhkan pada media dengan pH 7,0.

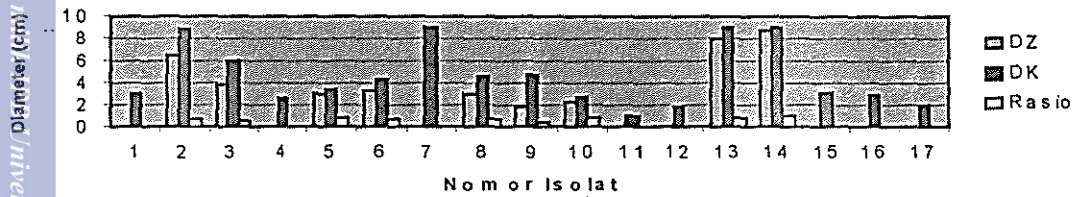
Pada media agar lignin, adanya aktivitas lignase ditandai dengan munculnya zona bening (Gambar 13) di bawah atau di sekeliling koloni cendawan. Munculnya zona ini menandakan terjadinya penguraian lignin pada media yang mengandung indulin AT. Semua isolat memiliki aktivitas lignase kecuali isolat 16. Pada isolat ini warna biakan setelah diberi pewarna menjadi hijau kebiruan.

Senyawa fenol dapat dibedakan menjadi fenol sederhana dan fenol kompleks. Fenol sederhana merupakan zat padat tanpa warna yang jika terkena udara akan berwarna gelap. Contoh fenol sederhana yang terdapat pada kayu adalah vanilin, koniferil alkohol, guaiaasil gliserol, koniferin, siringin, guaiaakil, eugenol dan fenol lain (Fengel & Wegener, 1995). Fenol pada jaringan kayu biasanya

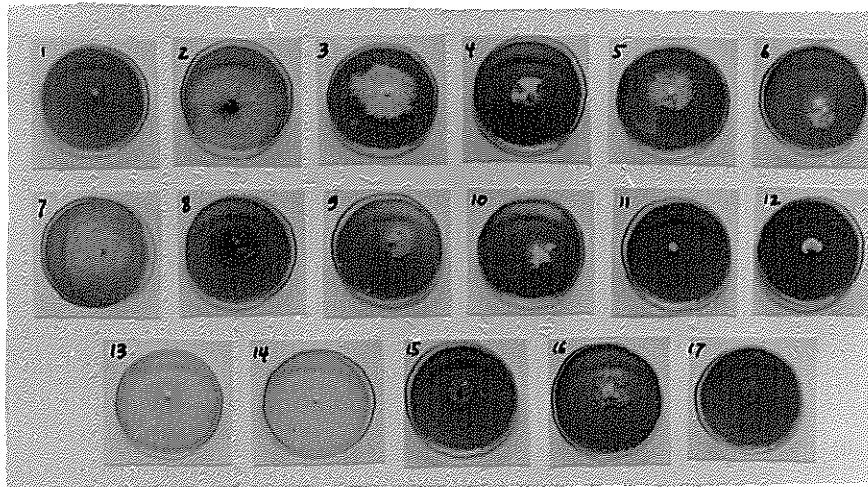
berupa fenol bebas, sedangkan pada tempat lain, fenol berbentuk glikosida (Robinson, 1995).

Fenol kompleks merupakan gabungan dari beberapa fenol sederhana. Contoh fenol jenis adalah lignan. Lignan merupakan senyawa yang terdiri dari dua unit fenilpropana yang dihubungkan melalui rantai samping alifatiknya. Senyawa ini memiliki struktur dimer yang juga

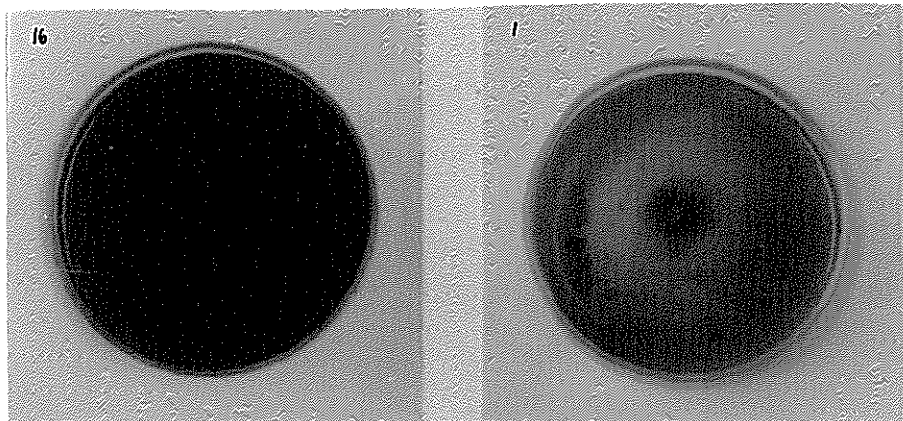
terdapat dalam molekul lignin (Fengel & Wegener, (1995). Jadi, lignin yang merupakan polimer dari beberapa jenis satuan fenilpropana juga dapat dikelompokkan ke dalam senyawa fenol kompleks. Adanya zona bening pada kebanyakan isolat yang diuji menunjukkan bahwa isolat-isolat ini memiliki sistem enzim perombak senyawa fenol kompleks.



Gambar 11. Diameter zona (DZ), Diameter koloni (DK) dan rasio antara DZ terhadap DK jamur pada hari ke-7 pada media Glenn & Gold pH 7,0.



Gambar 12. Aktivitas lignase total pada media Glenn & Gold pH 7,0 pada hari ke-7. Isolat 14 diikuti isolat 13 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi.



Gambar 13. Isolat 16 tidak menunjukkan aktivitasnya (kiri), isolat 1 menunjukkan adanya aktivitas lignase (kanan).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.  
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

### Laju Dekomposisi Serbuk Gergaji

Dari hasil penimbangan substrat, semua media yang ditumbuhkan jamur mengalami dekomposisi meskipun beberapa diantara jamur ada yang terlihat tidak tumbuh (Gambar 14). Isolat 1, 5, 8, 12, 16 dan 17 tidak tumbuh dan isolat 2 hanya sedikit tumbuh. Sementara koloni isolat 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 13, 14 dan 15 memenuhi media.

Persentase penurunan bobot substrat menunjukkan bahwa laju dekomposisi tertinggi ditunjukkan oleh isolat 7 (11,105%), diikuti oleh isolat 6, 10, 3, 13, 4, 14, 9, 15, 11, 2, 8, 17, 16, 1, 5 dan terakhir 12 (Lampiran 4). Persentase penurunan bobot substrat untuk semua jamur lebih dari 2%. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat jamur yang digunakan termasuk kedalam kelompok cendawan busuk putih (Worral *et al.*, 1997)

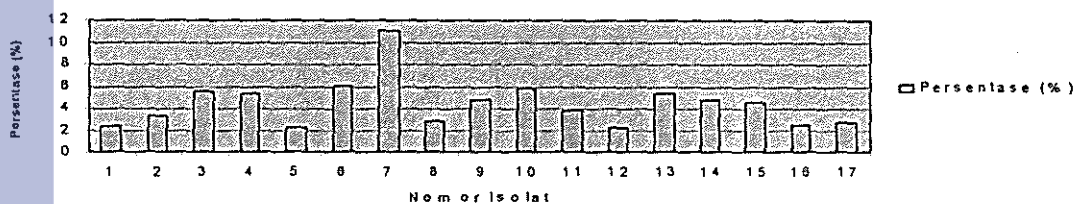
Laju dekomposisi lebih besar pada isolat-isolat jamur yang miseliumnya memenuhi media, dibanding dengan isolat yang miseliumnya tumbuh sedikit dan yang tidak tumbuh. Jamur yang tumbuh menggunakan substrat tumbuhnya sebagai sumber karbon dan energi untuk bertahan hidup. Semakin tebal miseliumnya, semakin banyak substrat tumbuh

yang terpakai sehingga pengurangan bobot dari substratnya semakin besar. Jamur yang menggunakan serbuk gergaji tersebut memecahkan senyawa-senyawa didalamnya dengan enzimnya. Senyawa-senyawa yang dalam jumlah besar terdapat pada kayu seperti lignin, selulosa dan hemiselulosa mungkin dapat didegradasi sebagian atau seluruhnya. Jadi semakin besar persentase penurunan bobot substrat, kemampuan jamur untuk mendegradasi kayu semakin besar.

### Depolimerisasi Ekastrak Serasah *Acacia* sp. dan *Pinus* sp. oleh Isolat Hasil Seleksi

Seleksi pada jamur dilakukan dengan melihat aktivitas enzim polifenoloksidase, lakase, tirosinase dan lignase total dari isolat uji. Isolat yang dipilih merupakan isolat yang memiliki aktivitas enzim yang baik dan pertumbuhan koloni yang pesat.

Analisis dengan KLT hanya menunjukkan pemisahan senyawa-senyawa yang terdapat dalam serasah akasia dan pinus (Tabel 3). Senyawa-senyawa terpisah ditunjukkan oleh perbedaan laju pergerakan (Rf atau faktor retensi).



Gambar 14. Persentase penurunan bobot substrat.

Tabel 3. Nilai Rf (faktor retensi) dari senyawa-senyawa yang terpisah

Waktu Inkubasi	Ekstrak serasah	Jamur	Rf senyawa nomor :					
			1	2	3	4	5	6
0	Akasia	-	0,047	0,093				
14	Akasia (Kontrol)	-			0,109	0,212	0,294*	
14	Akasia	No.7	0,056					
14	Akasia	No.13		0,082				
14	Akasia	No.14	0					
0	Pinus	-	0,047	0,070*	0,140	0,209	0,302	0,651
14	Pinus (Kontrol)	-		0,070*				
14	Pinus	No.7		0,078*				
14	Pinus	No.13	0,047					
14	Pinus	No.14	0,058	0,093				
0 & 14	Indulin AT	-		0,070	0,165		0,270	

\* senyawa mirip senyawa indulin AT.

Analisis KLT ekstrak serasah akasia dan pinus menunjukkan adanya dua senyawa yang terpisah pada ekstrak akasia dan 6 senyawa pada ekstrak pinus (Tabel 3). Setelah 2 minggu inkubasi, pada ekstrak akasia terdapat tiga senyawa yang lebih kecil dengan satu senyawa yang  $R_f$  nya sebesar 0,294, mendekati salah satu komponen indulin AT (0,270). Pada ekstrak pinus hampir semua senyawa hilang kecuali satu senyawa yang  $R_f$  nya mirip komponen indulin AT (0,70).

Jika pada ekstrak serasah akasia ditumbuhi jamur maka terjadi perubahan senyawa. Umumnya hanya satu senyawa yang tertinggal pada media ekstrak, kecuali jika ekstrak ditumbuhi oleh jamur 14. Pada ekstrak pinus yang ditumbuhi jamur terjadi perubahan senyawa, kecuali yang ditumbuhi jamur 7. Pada jamur 13 satu senyawa yang tertinggal dengan  $R_f$  lebih kecil dibanding kontrol, sedangkan pada jamur 14 ada dua senyawa yang tertinggal.

Pada media yang ditumbuhi dengan isolat 7, jumlah senyawa tinggal satu baik pada media dengan ekstrak akasia ataupun pinus dengan  $R_f$  masing-masing 0,056 dan 0,078. Jika dibandingkan dengan kontrol, media dengan penambahan ekstrak serasah akasia telah kehilangan beberapa senyawa, sedangkan pada media yang ditambah dengan ekstrak pinus hampir tak ada perubahan. Hal ini diduga telah terjadi degradasi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak serasah akasia sehingga senyawa-senyawa itu berubah menjadi senyawa lain yang tidak semua dapat terdeteksi dengan metode ini. Sedangkan pada media dengan penambahan ekstrak pinus, faktor retensi dari senyawa yang muncul mendekati faktor retensi dari senyawa pada kontrol (0,070) yang diduga berupa bagian dari lignin, karena memiliki faktor retensi sama dengan senyawa yang terdapat pada Indulin AT. Jadi isolat jamur ini tidak dapat mendegradasi senyawa pada ekstrak serasah pinus dalam 14 hari.

Pada media yang ditumbuhi dengan isolat jamur 13, hanya 1 senyawa yang muncul baik pada media dengan penambahan ekstrak serasah akasia maupun pinus, dengan faktor retensi berturut-turut 0,082 dan 0,047. Isolat 13 ini mampu mendegradasi ekstrak serasah akasia maupun pinus menjadi senyawa lain, yang dalam hal ini ditunjukkan dengan berubahnya faktor retensi yang dimiliki oleh senyawa-senyawa yang muncul. Senyawa yang terdapat pada ekstrak serasah pinus faktor retensinya

menjadi rendah dari 0,070 menjadi 0,047. Hal ini diduga terjadi depolimerisasi dari senyawa sejenis lignin menjadi senyawa yang lebih kecil.

Pada media yang ditumbuhi isolat jamur 14, tidak ada senyawa yang muncul pada media dengan penambahan ekstrak akasia. Hal ini diduga telah terjadi degradasi semua senyawa yang dapat muncul pada kontrol, sehingga senyawa-senyawa ini tidak dapat terdeteksi lagi pada media ini. Pada media dengan penambahan ekstrak pinus, ada 2 senyawa yang muncul dengan waktu retensi masing-masing 0,058 dan 0,093. Ini menunjukkan telah terjadi depolimerisasi dari senyawa yang diduga bagian dari lignin menjadi 2 senyawa yang berbeda oleh isolat jamur 14.

Dari semua hasil yang diperoleh, dapat dilihat bahwa isolat 14 dapat mendegradasi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak serasah akasia lebih baik dibandingkan 2 isolat lainnya (7 dan 13). Untuk senyawa yang terdapat pada ekstrak serasah pinus hanya isolat 7 yang tidak dapat menyebabkan depolimerisasi senyawa yang diduga berupa bagian dari lignin ini, sementara isolat 13 dan 14 mampu melakukan depolimerisasi menjadi senyawa lain yang lebih kecil.

## KESIMPULAN

Sebelas dari 17 isolat yang diuji, yaitu isolat 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 14 dan 15 memiliki aktivitas polifenoloksidase pada keempat media uji. Isolat 5 tidak menunjukkan aktivitasnya pada media EMPGu 2, isolat 1 pada media EMPG dan EMPGu 1, isolat 8 dan 17 pada media EMPG. Isolat 16 hanya memperlihatkan aktivitasnya pada media EMPT, dan isolat 7 tidak menunjukkan aktivitasnya pada semua media. Media EMPT lebih baik dibanding media EMPG dan EMPGu untuk pertumbuhan koloni dan untuk induksi enzimnya. Aktivitas lakase tidak dimiliki oleh 2 isolat yaitu isolat 7 dan 16. Sedangkan aktivitas tirosinase hanya dimiliki oleh 6 isolat yaitu isolat 1, 2, 4, 8, 11 dan 17.

Pada media Glenn & Gold pH 4,5, aktivitas lignase total ditunjukkan oleh 11 isolat yaitu isolat 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 dan 14 sedangkan pada pH 7,0 isolat 12 tidak menunjukkan aktivitasnya. Pada media agar lignin, aktivitas lignase ditunjukkan oleh semua isolat kecuali isolat 16.



Semua isolat jamur yang ditumbuhkan pada media serbuk gergaji dapat menyebabkan penurunan bobot dari media tumbuhnya ( $\geq 2\%$ ), meskipun tidak semua koloni terlihat tumbuh pada media tersebut. Laju dekomposisi lebih besar pada koloni yang miseliumnya memenuhi media dibandingkan dengan yang miseliumnya tumbuh sedikit dan yang tidak tumbuh.

Ketiga isolat jamur hasil seleksi melakukan aktivitas merombak senyawa-senyawa yang terdapat pada kedua serasah tersebut, kecuali isolat 7 tidak menunjukkan aktivitasnya pada media yang mengandung ekstrak serasah *Pinus* sp. Isolat 14 dapat mendegradasi senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak serasah *Acacia* sp. lebih baik dibanding isolat lainnya.

### SARAN

Perlu dilakukan penentuan bobot jamur pada uji Laju Dekomposisi Serbuk Gergaji agar diketahui penurunan bobot substrat aktual. Selain itu perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang analisis senyawa-senyawa yang terpisah pada uji KLT, agar diketahui kandungan senyawa yang terdegradasi oleh isolat uji.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, L.A. 1987. Biologi *Ganoderma boninense* Pat. pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) dan pengaruh beberapa mikroba tanah antagonistik terhadap pertumbuhannya. Disertasi. Fakultas Pascasarjana IPB, Bogor.
- Aribowo, T. 1996. Aktivitas lignolitik dan selulolitik *Ganoderma* spp serta uji ketergantungan aktivitas lignolitiknya terhadap selulosa. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor.
- Bollag, J.M. & A.Leonowicz. 1984. Comparative studies of extracellular fungal laccase. *Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 849-854.
- Bourbonnais, R., M.E. Paice, I.D. Reid, P. Lanthier & M. Yaguchi. 1995. Lignin oxidation by laccase isozim from *Trametes versicolor* and role of the mediator 2,2-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonat) in kraft lignin depolymerization. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 1876 – 1880.
- Burton, S. G., R.J.Duncan, P.T. kaye & P.D. Rose. 1993. Activity of mushroom polyphenoloxidase in organic medium. *Biotechnol. Bioeng.* 42 : 938 –944.
- Davin, L.B. & N.G. Lewis. 1992. Phenylpropanoid metabolism : Biosynthesis of monolignols, lignans and neolignans, lignin and suberin, hlm. 311 – 361. Didalam H.A. Stafford & R.K. Ibrahim. (penyunting). *Phenolic Metabolism in Plant*. Plenum Press, New York.
- Evans, C.S., M.V.Dutton, F.Guillen & R.G.Veness. 1994. Enzymes and small molecular mass agents involved with lignocellulose degradation. *FEMS Microbial Review.* 13 : 235 – 240.
- Fengel, D. & G.Wegener. 1995. *Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-reaksi*. Terjemahan Hardjono Sastrohamidjojo. Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Fukuzumi, T. 1980. Microbial decoloration and defoaming in pulping waste liquor, hlm. 161 – 178. Didalam T.K. Kirk, T. Higuchi & Hou M.C. (penyunting). *Lignin Biodegradation*. CRC Press, Florida.
- Glenn, J. K. & M.H. Gold. 1983. Decoloration of several polymeric dyes by the lignin degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45 : 424 – 435.
- Gold, M.H., T.M.Cheng, K.Krisnangkura, M.B.Mayfield & L.M.Smith. 1980. Genetic and biochemical studied on *Phanerochaete chrysosporium* and their relation to lignin degradation, hlm 65-71. Didalam T.K.Kirk, T.Higuchi & Hou M.C. (penyunting). *Lignin Biodegradation*. CRC Press, Florida.
- Hatakka, A. 1994. Lignin modifying enzymes from selected white rot fungi: production



and role in lignin degradation. *FEMS Microbial Review*. 13 : 125 – 135.

Higuchi, T. 1993. Biodegradation mechanism of lignin by white rot basidiomycete. *J. Biotechnol.* 30 : 1 – 8.

Hilman, I. 1992. Produksi, laju dekomposisi, dan pengaruh alelopati serasah *Pinus merkusi* Jungh. Et De Vrise. dan *Acacia mangium* Wild. di hutan Gunung Walat, Sukabumi, Jawa Barat. Tesis. Fakultas Pascasarjana IPB, Bogor.

Hutchinson, L. J. 1990. Studied on the systematic of ectomycorrhizal fungi in axenic culture, III. Pattern of polyphenoloxidase activity. *Mycologia*. 82 : 424 – 435.

Kennes, C. & J.M.Lema. 1994. Simultaneous biodegradation of p-cresol and phenol by the basidiomycet *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Industrial Microbiology*. 13 : 311-314.

Nurdiani, D. 1997. Penetapan aktivitas lignoselulolitik *Pycnoporus sanguineus* dan *Shizophyllum commune*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor.

Perez, J., J. Martin & T. Rubia. 1996. Purification and partial characterization of a laccase from the white rot fungus *Phanerochaete flavido-alba*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 : 4263-4267.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Ros, J. R., J. N. R. Lopez & F. G. Carnovas. 1993. Effect of l-ascorbic acid on the monophenolase activity of tyrosinase. *Biochem. J.* 295 : 309 – 312.

Srinivasan, C., T.M. D'sauza, K. Boominathan & C.A. Reddy. 1995. Demonstration of laccase in the white rot basidiomycet *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F1767. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 4274 – 4277.

Sugipriatini, D. 1998. Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas lignolitik *Ganoderma* spp. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor.

Worrall, J.J., S.E. Anagnost & R.A. Zabel. 1997. Comparison of wood decay among diverse lignicolous fungi. *Mycologia*. 89 : 199-219.





## LAMPIRAN

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
    - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
    - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
  2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

## Lampiran 1. Komposisi media

Nomor	Nama Media	Komposisi Media
1	<i>Extract Malt Pepton</i> (EMP)  EMPT EMPG EMPGu 1 EMPGu 2	Malt ekstrak 20 g Pepton 5 g Agar 15 g Akuades 1000 ml EMP + Asam Tanat 0,5 % EMP + Asam Galat 0,5 % EMP + Guaiakol 0,01 % EMP + Guaiakol 0,5%
2	Glenn & Gold a. Media dasar Glenin & Gold   Stok larutan mineral   b. Media Poly R-478	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,60 g MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,50 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .3H <sub>2</sub> O 0,40 g (NH <sub>4</sub> ) tatarat 0,22 g Sorbose 20 g Agar (oxid nomor 1) 15 g Stok larutan mineral 10 ml Akuades 1000 ml CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 7,4 g Feri sitrat 1,2 g ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,7 g MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O 0,5 g CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O 0,1 g Tiamin HCl 10 mg Akuades 1000 ml Poly R-478 0,2 g
3	Media agar lignin a. Mineral agar lignin   b. Mineral Steiner tanpa MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O   c. Larutan vitamin (5 ml/l)	Glukosa 5 g Malt ekstrak 1 g CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O 0,01 g NaCl 0,1 g MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,0,5 g FeCl <sub>3</sub> 0,02 g Indulin AT 1 g Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O 0,5 % (b/v) KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,13 % (b/v) MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,05% (b/v) TE <sub>1</sub> (unsur perunut): 0,10 % (v/v) MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O 0,1% ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,35% CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O 0,20% TE <sub>2</sub> : 0,1% (v/v) FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,5% Tween 80 2,2 ml/l Tiamin 10 mg Piridoksin 10 mg Kalsium pantotenat 10 mg Asam nikotinat 10 mg Asam p aminobenzoat 10 mg Asam folat 2 mg Vitamin B <sub>2</sub> 40 mg Biotin 20 mg Akuades 20 mg

Hak cipta milik IPB University

IPB University



## Lampiran 2. Aktivitas polifenoloksidase

Nomor isolat	EMPT			EMPG		
	DZ	DK	Rasio	DZ	DK	Rasio
1	0,70	0,50	1,40	0,00	1,03	0,00
2	5,07	3,33	1,52	5,80	4,30	1,35
3	5,67	4,33	1,31	6,30	0,77	8,21
4	7,30	6,13	1,19	6,87	5,17	1,33
5	6,33	4,27	1,48	5,73	1,80	3,18
6	6,30	4,07	1,55	4,43	0,50	8,87
7	0,00	0,50	0,00	0,00	9,00	0,00
8	4,30	2,97	1,45	0,00	3,27	0,00
9	3,67	1,43	2,56	4,00	0,77	5,22
10	6,30	3,90	1,62	5,27	0,77	6,87
11	4,10	2,43	1,86	4,47	0,50	8,93
12	5,17	0,87	5,96	5,23	1,17	4,48
13	7,60	5,67	1,16	5,70	1,30	4,38
14	7,43	5,83	1,28	5,60	6,33	8,85
15	6,20	4,13	1,50	6,50	3,43	1,89
16	5,17	3,60	1,44	0,00	3,53	0,00
17	0,70	0,50	1,40	0,00	0,50	0,00

Nomor isolat	EMPGu 1			EMPGu 2		
	DZ	DK	Rasio	DZ	DK	Rasio
1	0,00	3,90	0,00	2,10	0,50	4,24
2	6,77	7,50	0,96	2,00	0,50	4,00
3	5,43	7,37	0,74	2,83	0,50	5,67
4	5,47	6,33	0,63	3,30	0,50	6,60
5	6,07	7,50	0,81	0,00	0,50	0,00
6	6,27	8,10	0,77	2,63	0,50	5,27
7	0,00	9,00	0,00	0,00	0,50	0,00
8	6,50	7,63	0,85	0,50	0,50	1,00
9	4,93	6,13	0,80	3,07	0,50	6,13
10	5,83	7,60	0,77	3,23	0,50	6,33
11	5,67	8,50	0,67	3,23	0,50	6,47
12	5,70	6,80	0,84	1,13	0,50	2,27
13	5,73	9,00	0,64	3,27	0,50	6,53
14	5,50	9,00	0,61	3,63	0,50	7,27
15	6,77	8,47	0,86	1,50	0,50	3,00
16	0,00	4,00	0,00	0,00	0,50	0,00
17	6,57	9,00	0,73	0,93	0,50	1,87

Keterangan : DZ = Diameter zona (cm), DK = Diameter koloni (cm), Rasio = DZ per DK

## Lampiran 3. Aktivitas lignase total pada media Glenn &amp; Gold

Nomor Isolat	Glenn & Gold, pH 4,5			Glenn & Gold, pH 7,0		
	DZ	DK	Rasio	DZ	DK	Rasio
1	0,00	1,95	0,00	0,00	2,95	0,00
2	3,45	7,55	0,46	6,40	8,90	0,72
3	5,45	6,85	0,80	3,80	6,00	0,63
4	0,00	2,95	0,00	0,00	2,55	0,00
5	3,40	4,05	0,84	2,95	3,50	0,84
6	2,70	5,45	0,50	3,35	4,30	0,78
7	0,00	9,00	0,00	0,00	9,00	0,00
8	2,90	3,90	0,74	3,05	4,55	0,67
9	2,10	4,80	0,44	1,85	4,65	0,40
10	1,40	2,20	0,64	2,35	2,75	0,85
11	0,00	1,85	0,00	0,00	1,00	0,00
12	2,85	4,30	0,64	0,00	1,80	0,00
13	8,45	9,00	0,94	8,00	9,00	0,89
14	8,45	9,00	0,94	8,65	9,00	0,96
15	0,00	3,00	0,00	0,00	3,10	0,00
16	0,00	4,60	0,00	0,00	2,85	0,00
17	0,00	0,90	0,00	0,00	2,00	0,00

Keterangan : DZ = Diameter zona (cm), DK = Diameter koloni (cm), Rasio = DZ per DK

## Lampiran 4. Persentase penurunan bobot substrat

Nomor	Penurunan bobot substrat (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata
1	2,309	2,390	2,350
2	3,328	3,227	3,278
3	5,781	5,330	5,556
4	5,312	5,345	5,329
5	2,475	2,209	2,342
6	5,925	6,087	6,006
7	11,538	10,724	11,131
8	2,804	2,870	2,837
9	4,787	4,706	4,747
10	6,720	4,906	5,813
11	3,949	3,724	3,837
12	2,302	2,322	2,312
13	5,518	5,257	5,388
14	4,761	4,777	4,769
15	4,652	4,593	4,623
16	2,449	2,479	2,464
17	2,693	2,702	2,698