

**ISOLAT DAN KARAKTERISASI ENZIMATIS MIKROBA LIGNOSELULOLITIK
DI TIGA TIPE EKOSISTEM TAMAN NASIONAL (*Isolates and Enzymatic
Characterisation of Lignocellulolytic Microbes Collected from Three Types of National
Park Ecosystems**)**

Oleh/By :

Luciasih Agustini¹, Ragil S.B. Irianto¹, Maman Turjaman, dan/*and* Erdy Santoso¹

¹Pusat Penelitian dan Pengembangan Konservasi dan Rehabilitasi
Jl. Gunung Batu No. 5 Po Box 165; Telp. 0251-8633234, 7520067; Fax. 0251-8638111
e-mail: luciagustini@yahoo.com

*)Diterima : 5 Juli 2011; Disetujui : 21 September 2011

ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is often considered as waste from forestry and agriculture industries. In fact, the material containing lignin, cellulose and hemicellulose is an important resource for biochemical industries and can be developed as an alternative energy source. Microbes contribute significantly to the biomass degradation including its recycling. Indonesian forests are rich in microbial biodiversity, however research on the biodiversity of microbes that can degrade lignocellulosic biomass remains lacking. This research, therefore, was aimed at exploring and bioprospecting microbes that can produce lignocellulolytic enzymes. Microbes were explored from Karimunjawa National Park, Mt. Ciremai National Park and Bali Barat National Park. Microbes were isolated from various type of samples, i.e. soil, litter and wood. The isolated microbes were screened using selective media (i.e. Carboxymethylcellulose (CMC)-agar and Xylan-agar) and particular chemical reagents (i.e. -naphthol and pyrogallol) to determine their enzyme properties. Five hundreds seventeen isolates were collected, and seven of them showed the best potency for synthesizing the four tested lignocellulolytic enzymes.

Keywords: Biodegradation, biosynthesis, enzyme, lignocellulolytic, lignocellulolytic-biomass, microbes

ABSTRAK

Biomassa berlignoselulosa sering dianggap sebagai limbah dari industri kehutanan dan pertanian. Sebenarnya, material yang mengandung senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa ini dapat menjadi sumber energi dan sumberdaya baru yang penting bagi pengembangan industri yang lebih ramah lingkungan. Di alam banyak terdapat mikroba yang berpotensi untuk proses perombakan biomassa, baik berupa jamur, bakteri, maupun ragi atau khamir. Hutan Indonesia kaya akan biodiversitas mikroba, namun penelitian mengenai biodiversitas mikroba yang mampu mendegradasi biomassa berlignoselulosa masih sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang eksplorasi dan bioprospeksi mikroba yang berpotensi menghasilkan enzim-enzim lignoselulolitik. Eksplorasi mikroba dilakukan di Taman Nasional Karimunjawa, TN Gunung Ciremai dan TN Bali Barat. Isolat diperoleh dari berbagai macam sampel, seperti tanah, serasah dan kayu. Mikroba yang terisolasi diseleksi berdasarkan potensi enzimatisnya menggunakan media selektif (*Carboxymethylcellulose* (CMC)-agar dan Xylan-agar) dan *reagent* pendeteksi (Pyrogallol dan -naphthol). Diperoleh 517 isolat, tujuh diantaranya terindikasi memiliki kemampuan untuk mensintesa empat jenis enzim lignoselulolitik yang diujikan sekaligus.

Kata kunci: Biodegradasi, biosintesa, biomassa berlignoselulosa, enzim, lignoselulosa, lignoselulolitik, mikroba

I. PENDAHULUAN

Indonesia, sebagai wilayah tempat pertemuan dua lempeng biogeografis (Indomalaya dan Australasia) dengan garis *Wallaceae* diantaranya, memiliki hutan dengan *megabiodiversity* dan tingkat en-

demisitas tinggi. Seperti halnya hutan-hutan tropis di dunia, lantai hutan tropis Indonesia merupakan habitat yang dihuni oleh sejumlah besar mikroba pendegradasi bahan-bahan organik, yang umumnya merupakan senyawa lignoselulosa,

oleh karena itu mengingat potensi biomassa berlignoselulosa yang dapat dikonversikan menjadi produk yang bernilai ekonomis dan dapat digunakan sebagai media pendukung program rehabilitasi lahan yang terdegradasi serta potensi keragaman hayati mikroba di hutan tropis Indonesia, maka penelitian ini bertujuan mencari mikroba lignoselulolitik unggulan yang terkarakterisasi potensi enzimatisnya secara kualitatif dari tiga wilayah hutan tropis di dalam kawasan Taman Nasional di Jawa dan Bali

Perkembangan di bidang industri pertanian dan kehutanan menyebabkan peningkatan jumlah biomassa berlignoselulosa yang sering dianggap sebagai limbah. Lignoselulosa yang merupakan komponen utama tanaman, terdiri atas senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa (Howard *et al.*, 2003). Secara konvensional, biomassa ini ditangani dengan cara dibakar. Padahal residu biomassa tanaman ini, dengan bantuan mikroba lignoselulolitik, dapat diubah menjadi produk yang memiliki nilai tambah, seperti bahan bakar nabati (*biofuel*), bahan kimia organik dan sumber nutrisi berkualitas, baik untuk pakan ternak ataupun sumber pangan (Gold and Alic, 1993; Kuhad *et al.*, 2007; Rosales *et al.*, 2002).

Dikaitkan dengan permasalahan energi alternatif dan pemanasan global, biomassa berlignoselulosa ini dapat menjadi solusi di masa depan. Komponen selulosa dan hemiselulosa dalam biomassa ini masih dapat didayagunakan sebagai bahan baku untuk produksi bioetanol, karena komponen selulosa dan hemiselulosa ini merupakan rantai polimer dari senyawa gula yang dapat difermentasikan menjadi bioetanol. Mikroorganisme, dengan sistem enzimatik yang dimilikinya, menentukan proses penguraian biomassa tanaman menjadi komponen lignin, selulosa dan hemiselulosa maupun pada proses fermentasi selulosa menjadi etanol.

Dikaitkan dengan permasalahan di bidang kehutanan, mikroba lignoselulolitik juga berperan dalam memelihara dan me-

ningkatkan produktivitas tanah, terutama pada kondisi tanah yang terdegradasi, agar dapat didayagunakan secara optimal. Salah satu ciri tanah yang terdegradasi adalah meningkatnya kekerasan tanah, yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan akar tanaman. Adanya lapisan biomassa berlignoselulosa yang telah terdekomposisi pada tanah yang terdegradasi tersebut, selain memperbaiki struktur tanah, juga dapat meningkatkan unsur-unsur hara tanah, kapasitas tukar kation dan total nitrogen (Reganold *et al.*, 1987). Penggunaan biomassa berlignoselulosa untuk keperluan ini pun ditentukan oleh laju dekomposisi yang terkait langsung dengan aktivitas mikroba lignoselulolitik.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang mikroba lignoselulolitik unggulan yang terkarakterisasi potensi enzimatisnya secara kualitatif dari tiga wilayah hutan tropis di dalam kawasan taman nasional (TN), yaitu TN Karimunjawa (kepulauan), TN Bali Barat (dataran rendah, lahan kering) dan TN Gunung Ciremai (dataran tinggi).

II. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini merupakan eksplorasi di lapangan yang dilanjutkan dengan rangkaian pekerjaan isolasi, purifikasi dan seleksi di laboratorium. Eksplorasi dilakukan di TN Karimunjawa (April 2010), TN Bali Barat (Juli 2010) dan TN Gunung Ciremai (Oktober 2010). Seluruh kegiatan laboratorium dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Hutan, Pusat Litbang Konservasi dan Rehabilitasi di Bogor. Lokasi eksplorasi tertera pada Tabel 1.

B. Bahan dan Alat Penelitian

Mikroorganisme yang menjadi target dalam penelitian ini diisolasi dari specimen tanah, serasah, kayu lapuk dan tubuh buah jamur. Adapun bahan-bahan kimia

yang diperlukan, yaitu : media NA (*Nutrient Agar*-Merck 1.05450.0500), NB (*Nutrient Broth*-Merck 1.05443.0500),

PDA (*Potato Dextrose Agar*-Merck 1.10130.0500), PDB (*Potato Dextrose*

Tabel (Table) 1. Lokasi eksplorasi mikroba lignoselulolitik (*The exploration sites of lignocellulolytic microbes*)

| Lokasi (<i>Location</i>) | Tapak eksplorasi (<i>Exploration sites</i>) | Tipe ekosistem (<i>Type of Ecosystem</i>) | Ketinggian (<i>Altitude</i>) |
|----------------------------|---|--|--------------------------------|
| TN Karimunjawa | Legon Lele & Legon Boyo | Hutan tropis dataran rendah | 57-65 m dpl |
| TN Bali Barat | Klapakan, Teluk Terima & Prapat Agung | Hutan tropis dataran rendah dan hutan lahan kering | 25-40 m dpl |
| TN Gunung Ceremai | Cibeureum, Ciayakan (Ds. Seda) dan Balong Dalem | Hutan tropis pegunungan | 521-630 m dpl |

Broth-Acumedia 7585A), CMC (*Carboxymethylcellulose Sodium Salt*-Fluka 21901), Xylan-SIGMA X4252, Pyrogallol-Merck 1.00612.0050, 1-Naphthol-Merck 1.06223.0050, H₂O₂, NaNO₃, NaCl, KCl, CaCl₂.2H₂O, KH₂PO₄, Na₂HPO₄.12 H₂O, MgSO₄, FeSO₄.7H₂O, KI, I₂, etanol, aquades, agar-agar. Peralatan yang digunakan adalah: tabung reaksi, cawan petri, labu Erlenmeyer, gelas ukur, gelas *beaker*, timbangan analitik, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, pH meter, *48-pin replicator*, *96-microwell plate* (NUNC) dan *cooler box*.

C. Metode Penelitian

1. Eksplorasi

Eksplorasi dilakukan di tiga kawasan taman nasional (dua di P. Jawa dan satu di P. Bali, Tabel 1). Pada setiap lokasi ditetapkan dua atau tiga tapak eksplorasi dan di dalamnya masing-masing terdapat 2-3 plot. Pengumpulan sampel dilakukan secara acak pada jalur yang dilalui di setiap plot, selama 1-1,5 jam. Panjang jalur yang dieksplorasi bervariasi dalam kisaran 1,3-2 km, bergantung dari kondisi topografinya. Serasah, tanah, kayu lapuk dan tubuh buah yang ditemukan diambil dan dimasukkan ke dalam plastik sampel dan diberi label : kode sampel, tanggal koleksi, tipe sampel dan lokasi, lalu disimpan ke dalam *cooler-box*. Sampel yang berupa tubuh buah dikering-anginkan terlebih dahulu sebelum dibawa ke laboratorium untuk meminimalkan poten-

si terkontaminasi jamur atau bakteri selama perjalanan.

2. Isolasi dan Purifikasi

Untuk sampel berupa tanah dan serasah, isolasi dilakukan dengan mensuspensikan satu gram tanah atau serasah (yang sudah dihaluskan partikel-partikelnya) ke dalam 10 ml aquades steril, lalu dikocok dan dibuat seri pengenceran 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁸ ke dalam tabung reaksi yang terpisah. Setiap konsentrasi suspensi sampel, diambil masing-masing satu ml lalu dituangkan ke dalam cawan petri berisi sembilan ml media 1/5 NA (*Nutrient Agar*) dan cyclohexamide untuk menumbuhkan bakteri dan ke dalam cawan petri berisi media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan klorampenikol untuk menumbuhkan jamur dan *yeast*/khamir. Sampel yang ditumbuhkan dalam 1/5 NA diinkubasi selama 24-48 jam, sedangkan yang ditumbuhkan dalam PDA diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu ruang. Setiap satu koloni yang tumbuh pada cawan isolasi tersebut, segera disubkultur ke media yang baru untuk mendapatkan kultur murni. Satu cawan hanya berisi satu koloni mikroba.

Seri pengenceran sampel tanah dan serasah ini juga digunakan untuk mengetahui kerapatan mikroba, dengan menghitung jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada cawan petri yang berisi media agar. Kerapatan koloni jamur dihitung dari koloni yang tumbuh pada media PDA + kloramfenikol, sedangkan koloni bakteri dihitung dari media NA + cyclohexami-

de. Cawan yang digunakan untuk menghitung kerapatan koloni mikroba ini, hanya cawan petri yang ditumbuhi 30-300 koloni mikroba (Fardiaz, 1993). Cawan yang berisi koloni mikroba berjumlah kurang dari 30 dan yang lebih dari 300 koloni diabaikan dalam metode perhitungan ini, karena berpotensi memperbesar bias dari taksiran populasi mikroba pada sampel yang diambil. Setiap konsentrasi pengenceran dilakukan tiga kali ulangan. Nilai rata-rata dari ketiga ulangan tersebut yang kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran, digunakan dalam penghitungan kerapatan populasi.

Untuk sampel yang berupa kayu lapuk atau tubuh buah jamur, isolasi dilakukan setelah dilakukan proses sterilisasi permukaan dengan larutan desinfektan. Isolasi dengan cara mengambil bagian yang tampak mengandung hyfa atau bagian yang *fertile* dari tubuh buah, lalu ditumbuhkan dalam media PDA dan diinkubasi selama 4-7 hari pada suhu ruang. Setiap koloni jamur yang tumbuh disubkultur ke media baru.

Kultur mikroba yang telah dimurnikan ditumbuhkan dalam media cair sebagai persiapan untuk *screening* enzimatik. Kultur bakteri disubkultur pada 1/5 NB (*Nutrient Broth*) media, kultur jamur disubkultur pada media PDB (*Potato Dextrose Broth*).

3. Karakterisasi Potensi Biosintesis Enzim Lignoselulolitik

a. Uji Enzim Selulase

Sebanyak lima μ l kultur mikroba diteskan pada CMC-agar media, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang (sekitar 28-30°C). Kemudian larutan Gram's Iodine (2,0 g KI dan 1,0 g I₂ dalam 300 ml aquades steril) dituangkan ke dalam cawan petri, sampai seluruh permukaan cawan tersebut tergenang, lalu dibiarkan selama 3-5 menit. Larutan Gram's Iodine dibuang dari dalam cawan petri. Terbentuknya zona transparan (Gambar 1) di sekitar koloni mikroba mengindikasikan adanya aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh mikroba tersebut (Kasana *et al.*, 2008).

b. Uji Enzim Hemiselulase

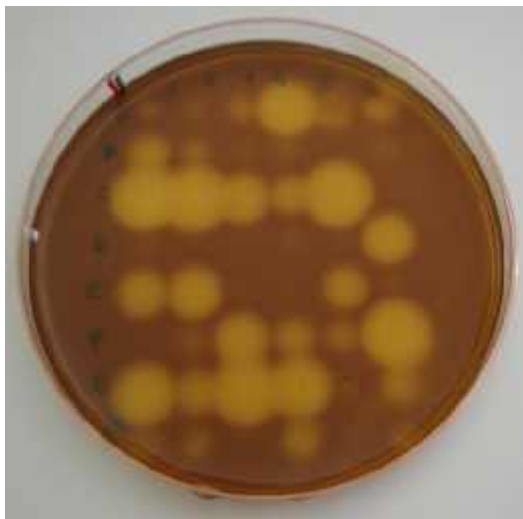
Sebanyak lima μ l kultur mikroba diteskan pada "mineral basal medium" (yang terdiri dari: 4,0 g NaNO₃; 1,0 g NaCl; 1,0 r KCl; 0,1 g CaCl₂.2H₂O; 3,0 g KH₂PO₄; 3,0 g Na₂HPO₄.12 H₂O; 0,2 g MgSO₄; 0,001 g FeSO₄.7H₂O, dalam setiap liter media), yang telah diperkaya dengan 0,2% xylan (hemiselulosa) sebagai sumber karbon (Zhang *et al.*, 2005). Kultur diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Larutan Gram's Iodine (2,0 g KI dan 1,0 g I₂ dalam 300 ml aquadest steril) dituangkan ke dalam cawan petri, sampai



Gambar (Figure) 1. Metode *screening* enzim selulase dan hemiselulase dengan menggunakan metode Gram's Iodine; anak panah menunjukkan zona bening di sekitar isolat (*Screening methods of cellulase and hemicellulase using Gram's Iodine; arrow shows the transparent zone around the isolate's growth*)

seluruh permukaan cawan tersebut tergenang, lalu dibiarkan selama 3-5 menit. Selanjutnya larutan Gram's Iodine dibuang dari dalam cawan petri. Zona transparan di sekitar koloni mikroba menunjukkan adanya aktivitas enzim hemiselulase yang dihasilkan oleh mikroba tersebut.

Mengingat banyaknya jumlah isolat mikroba yang harus diuji, maka untuk meningkatkan efisiensi *screening* mikroba penghasil enzim selulolitik dan hemiselulolitik, isolat mikroba dikulturkan selama 24 jam pada 96-*microwell plate* yang pada setiap lubangnya berisi 500 μ l $\frac{1}{2}$ PDB (untuk isolat jamur) atau $\frac{1}{2}$ NB (untuk isolat bakteri). Pengujian ini dilakukan dalam 2 tahap. Tahap pertama : proses *screening* dilakukan dengan menggunakan 48-*pin replicator* yang dicelupkan pada isolat mikroba yang dikulturkan di dalam 96-*microwell plate*, lalu ditempelkan cawan petri yang berisi media CMC-agar atau Xylan-agar, sehingga pada satu cawan uji terdapat 48 isolat (Gambar 2). *Screening* dilakukan dengan tiga kali ulangan.



Gambar (Figure) 2. Modifikasi metode Gram's Iodine (Kasana *et al.*, 2008) yang diterapkan pada seleksi tahap pertama (*Modified Gram's Iodine methods which were applied during the first step of screening*)

Isolat yang menunjukkan reaksi positif (yang ditentukan oleh terbentuknya zona bening di sekitar titik tumbuh isolat), di-

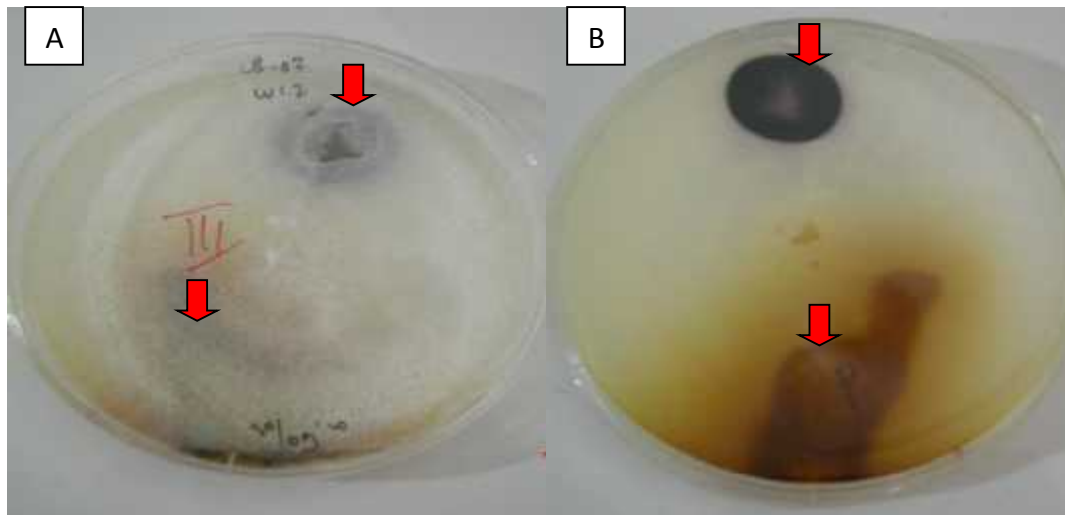
uji kembali di tahap kedua. Uji tahap kedua ini diprioritaskan pada isolat-isolat yang menunjukkan reaksi positif yang relatif lebih baik dibanding isolat lainnya (ditentukan dari besar-kecilnya zona bening pada *screening* tahap pertama). Seleksi tahap kedua ini dilakukan dengan metode yang sama dengan tingkat kerapatan isolat dalam satu cawan uji yang lebih sedikit (3-5 isolat per cawan) dan dengan tiga kali ulangan. Diameter zona transparan dan diameter koloni diukur, sehingga isolat-isolat tersebut dapat diurutkan berdasarkan potensi penghasil enzim selulolitik/hemiselulolitik yang dapat ditentukan dari besarnya nilai indeks selulolitik/hemiselulolitik. Indeks selulolitik/hemiselulolitik ini merupakan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni (Meryandini *et al.*, 2009).

c. Uji Enzim Ligninase

Untuk menguji adanya enzim-enzim pendegradasi lignin (ligninase), yaitu lignin peroxidase dan laccase, dilakukan *spot test* dengan meneteskan larutan 1,0% pyrogallol yang telah dicampur dengan 0,4% H₂O₂ (komposisi 1:1) pada bagian tepi kultur mikroba yang diuji (yang masih aktif tumbuh). Kultur diamati tiga jam, 24 jam dan 72 jam setelah penetesan. Warna kuning kecoklatan pada bagian yang ditetesi *reagent* pyrogallol tersebut menunjukkan adanya aktivitas enzim lignin peroksidase (Gambar 3). Enzim laccase dideteksi dengan menggunakan *reagent* 0,1 M 1-naphthol yang dilarutkan dalam ethanol 96%. Cara dan waktu pengamatan dilakukan seperti uji lignin peroksidase di atas. Warna merah keunguan (Gambar 3) menjadi indikator positif adanya enzim laccase yang disintesis oleh mikroba pada kultur tersebut (Stalpers, 1978).

D. Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini merupakan data kualitatif. Penyajian data dan analisisnya dilakukan secara deskriptif.



Gambar (Figure) 3. Metode tetes untuk mendeteksi sintesis enzim lignin peroksidase dan laccase (*Spot tests for lignin peroxidase and laccase detections*), A. Bagian atas media kultur (*Surface side*); B. Bagian bawah media kultur (*Bottom side*). Anak panah menunjukkan reaksi positif (*Arrows show the positive reaction of the spot tests*)

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolat Mikroba dari Ketiga Taman Nasional

Mikroba merupakan komponen yang diyakini menyumbangkan keragaman tertinggi pada biodiversitas yang ada di hutan tropis Indonesia, karena mikroorganisme dapat hidup pada kisaran habitat yang sangat luas, baik di dalam tanah, di atas permukaan tanah, air, serasah, udara bahkan di dalam tubuh organisme lain. Namun demikian untuk memastikan jumlah dan besaran mikroba ini tidaklah mudah. Diperkirakan hanya sekitar satu persen saja yang dapat diisolasi dan dikultur di laboratorium.

Tabel 2 menggambarkan kekayaan mikroba dari sampel-sampel tanah dan serasah yang diambil pada penelitian ini. Terlihat bahwa kepadatan populasi mikroba yang hidup pada media tanah/serasah berjumlah sekitar lebih dari 10^5 koloni pada setiap gramnya. Jumlah koloni bakteri cenderung lebih banyak daripada koloni fungi, mengingat siklus reproduksi bakteri pun lebih cepat dibandingkan fungi.

Hasil perhitungan taksiran kepadatan populasi mikroba pada Tabel 2 menun-

jukkan bahwa secara umum, serasah memiliki kelimpahan populasi yang lebih banyak dibandingkan sampel berupa tanah (kecuali untuk sampel MK-10 dan MK-12 dari TN Bali Barat). Namun hal ini tidak berarti bahwa populasi mikroba di tanah lebih sedikit daripada serasah. Besar kemungkinan bahwa sejumlah mikroba yang ada di tanah merupakan *resting spores* (mikroba dalam fase istirahat/*dormant*), sehingga tidak dapat tumbuh (atau tumbuh sangat lambat) pada saat diisolasi dengan metode cawan sebar tersebut. Metode cawan sebar memang memiliki keterbatasan, metode ini hanya menghitung total sel yang hidup pada media isolasi, padahal hanya kurang dari satu persen mikroba yang dapat dikulturkan. Namun demikian, data ini dapat dijadikan indikasi bahwa sampel, berupa serasah menawarkan peluang yang lebih besar untuk memperoleh isolat lignoselolitik daripada sampel tanah. Indikasi ini akan dikonfirmasi dengan data hasil *screening* potensi enzimatik isolat-isolat tersebut.

Dari sampel berupa tubuh buah dengan persentase keberhasilan isolasi 80,4% diperoleh total 127 isolat dan dari sampel berupa kayu lapuk diperoleh 43

Tabel (Table) 2. Kerapatan populasi mikroba pada tanah dan serasah yang dikoleksi (*Population density of microbes isolated from soils and litters sample*)

| Lokasi (<i>Location</i>) | Kode sample (<i>Samples code</i>) | Kerapatan koloni mikroba (<i>Microbial population density</i>) (CFU/gr) | |
|----------------------------|-------------------------------------|---|-----------------------------|
| | | Fungi (<i>Fungi</i>) | Bakteri (<i>Bacteria</i>) |
| TN Karimunjawa | LB-09 (Serasah) | 1.89 x 10 ⁵ | 1.41 x 10 ⁵ |
| | LB-11 (Serasah) | 2.27 x 10 ⁵ | 2.21 x 10 ⁵ |
| | LB-13 (Tanah) | 1.17 x 10 ⁵ | 1.89 x 10 ⁵ |
| | LL-21 (Serasah) | 1.48 x 10 ⁵ | 1.86 x 10 ⁵ |
| | LL-22 (Tanah) | 9.99 x 10 ⁴ | 1.17 x 10 ⁵ |
| | LL-23 (Tanah) | 1.01 x 10 ⁵ | 1.01 x 10 ⁶ |
| TN Bali-Barat | MK-03 (Serasah) | 1.51 x 10 ⁵ | 1.04 x 10 ⁵ |
| | MK-10 (Serasah) | 1.27 x 10 ⁵ | 1.41 x 10 ⁵ |
| | MK-12 (Tanah) | 1.30 x 10 ⁶ | 1.44 x 10 ⁶ |
| | MK-14 (Serasah) | 1.26 x 10 ⁵ | 1.33 x 10 ⁵ |
| | MK-19 (Tanah) | 1.27 x 10 ⁵ | 1.07 x 10 ⁶ |
| TN Gunung Ciremai | CBR-03 (Serasah) | 1.17 x 10 ⁵ | 1.41 x 10 ⁶ |
| | CBR-04 (Tanah) | 1.21 x 10 ⁵ | 1.35 x 10 ⁶ |
| | SD-22 (Tanah) | 1.17 x 10 ⁵ | 1.27 x 10 ⁶ |
| | SD-27 (Serasah) | 1.11 x 10 ⁵ | 9.46 x 10 ⁶ |
| | BD-50 (Tanah) | 1.22 x 10 ⁵ | 2.32 x 10 ⁶ |
| | BD-53 (Serasah) | 1.38 x 10 ⁶ | 9.29 x 10 ⁶ |

isolat (persentase keberhasilan isolasi 45,7%). Rendahnya keberhasilan isolasi dari kayu lapuk cenderung dipengaruhi oleh tingkat kesulitan pada tahap pemurnian kultur. Pada kayu lapuk telah terinvestasi berbagai jenis mikroorganisme pelapuk, baik dari kelompok fungi, bakteri maupun aktinomisetes; baik yang berperan sebagai *primary decomposer* maupun *secondary* ataupun *tertiary decomposer*. Keberadaan *secondary* atau *tertiary decomposer* pada umumnya lebih cepat tumbuh dan bersporulasi merupakan tantangan tersendiri dalam proses memurnikan kultur mikroba menjadi isolat tunggal. Koleksi mikroba yang diperoleh dari isolasi tubuh buah dan kayu lapuk ini berupa kultur fungi, dengan total koleksi 170 isolat. Empat diantaranya (LL-18 W2.1 ; TT-02 W1 dari sampel kayu lapuk dan MK-09 F3; MK- 20 F1 dari tubuh buah) mengindikasikan kemampuan biosintesis enzim selulase, hemiselulase dan ligninase sekaligus (Lampiran 1).

B. Keanekaragaman Isolat dan Potensi Enzim Lignoselulolitiknya

Jumlah total isolat yang terkoleksi dalam penelitian ini adalah 517 isolat, namun hanya 95,4% dari total isolat terkoleksi yang diseleksi potensi penghasil enzim lignoselulolitiknya. Dua puluh empat isolat lainnya terkontaminasi dalam proses pemeliharaan sebelum proses seleksi dilakukan. Uji kemampuan biosintesis enzim lignoselulolitik isolat-isolat terangkum dalam Tabel 3.

Data yang diperoleh, tidak ada korelasi yang signifikan antara perbedaan ketinggian lokasi tempat pengambilan sampel (Tabel 1) dengan total jumlah mikroba yang terisolasi dari lokasi-lokasi tersebut (Tabel 3). Tapak eksplorasi di TN Bali Barat, yang merupakan ekosistem hutan tropis dataran rendah (ketinggian 25-40 m dpl), menghasilkan isolat lebih sedikit dari tapak eksplorasi di TN Gunung Ciremai yang merupakan ekosistem hutan tropis dataran tinggi. Namun sebaliknya, hal ini pun tidak berarti bahwa hutan tropis dataran tinggi memiliki kelimpahan mikroba lebih banyak dibandingkan di dataran rendah. Data menunjukkan bahwa tapak eksplorasi di TN Karimunjawa (ekosistem hutan tropis dataran rendah kepulauan; ketinggian sekitar

Tabel (Table) 3. Potensi enzim lignoselulolitik isolat mikroba dari tiga lokasi Taman Nasional di Pulau Jawa dan Bali (*The potency of lignocellulolytic enzymes of microbes isolated from three national parks in Java and Bali*)

| Lokasi (Location) | Jml total isolat (Total number of isolates) | Tipe mikroba (Type of microbes) | Jml isolate (Numbers of isolate) | Potensi enzimatis (Enzymatic potency) | | | |
|-------------------|---|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | | | | Sel ^a | Hem ^b | Li-P ^c | Lac ^{d*} |
| TN Karimunjawa | 240 | Fungi | 154 | 73 | 53 | 102 | 11 |
| | | Bakteri | 67 | 54 | 53 | 68 | 0 |
| | | Kontaminan | 19 | ---- | ---- | ---- | ---- |
| TN Bali-Barat | 108 | Fungi | 57 | 41 | 42 | 37 | 18 |
| | | Bakteri | 50 | 40 | 33 | 48 | 0 |
| | | Kontaminan | 1 | ---- | ---- | ---- | ---- |
| TN Gunung Ciremai | 169 | Fungi | 120 | 87 | 80 | 67 | 60 |
| | | Bakteri | 45 | 29 | 28 | 45 | 4 |
| | | Kontaminan | 4 | ---- | ---- | ---- | ---- |

Keterangan (Remarks) :

a. Sel = Selulase (*Cellulase*); b. Hem = Hemiselulase (*Hemicellulase*); c. Li-P = Lignin peroksidase (*Lignin peroxidase*); d. Lac = Laccase (*Laccase*)

* Berdasarkan perubahan *reagent* indikator setelah inkubasi 3 jam (*Based on the reagent changing colour after 3 hr incubation*)

57-65 m dpl) menghasilkan jumlah isolat mikroba terbanyak. Populasi mikroba lebih dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti pH, kelembaban udara, temperatur, substrat tempat tumbuh pada relung ekologi mikroba tersebut (O'Brien and Lindow, 1989). Jha *et al.* (1992) menambahkan bahwa komposisi spesies dan aktivitas mikroba tanah dipengaruhi oleh faktor fisika dan kimia tanah serta iklim dan vegetasi. Akan tetapi, Widawati dan Suliasih (2001) yang melakukan penelitian di Cikaniki, Gunung Botol dan Ciptarasa yang termasuk kawasan TN Gunung Halimun; serta Ma *et al.* (2004) yang melakukan penelitian di Danau Kalasi, Sungai Urumqi dan Sungai Sangong di Xinjiang, Cina, melaporkan adanya keterkaitan antara kelimpahan populasi mikroba dengan ketinggian tempat. Populasi mikroba pada ketinggian yang lebih tinggi cenderung lebih sedikit dibandingkan lokasi pada ketinggian yang lebih rendah.

Karakterisasi enzimatis ini, diketahui sejumlah isolat yang berpotensi untuk mendegradasi lignin. Lignin merupakan komponen biomasa berlignoselulosa yang paling sulit didegradasi (Kuhad *et al.*, 2007). Lignin adalah senyawa hidrofobik

yang merupakan polimer dari koniferil, sinapil dan p-koumaril alkohol (Urairuj *et al.*, 2003). Meskipun mekanisme penguraian lignin belum sepenuhnya diketahui, namun jamur akar putih telah banyak dilaporkan dapat mengurai lignin menjadi karbon dioksida dan air (Risna and Suhirman, 2002). Penelitian ini menguatkan hal tersebut. Isolat-isolat yang terindikasi dapat mensintesis enzim lignin peroksidase dan laccase merupakan isolat dari kelompok jamur akar putih.

Pada tataran aplikatif, isolat-isolat jamur yang bersifat lignolitik ini dapat digunakan untuk proses *biopulping* pada industri *pulp* dan kertas. *Biopulping* adalah proses *pretreatment* menggunakan isolat jamur pendegradasi lignin pada potongan-potongan kayu (*wood chips*) sebelum potongan-potongan kayu tersebut dimasak menjadi *pulp* (Akhtar *et al.*, 1998). Adanya produksi enzim lignolitik oleh isolat jamur, *pretreatment* ini menyebabkan jaringan kayu menjadi mengembang dan struktur dinding sel kayu menjadi rusak, sehingga porositas dari potongan kayu pun menjadi lebih besar (Blanchette *et al.*, 1997; Ferraz *et al.*, 1998). Hal ini membantu meningkatkan proses penetrasi

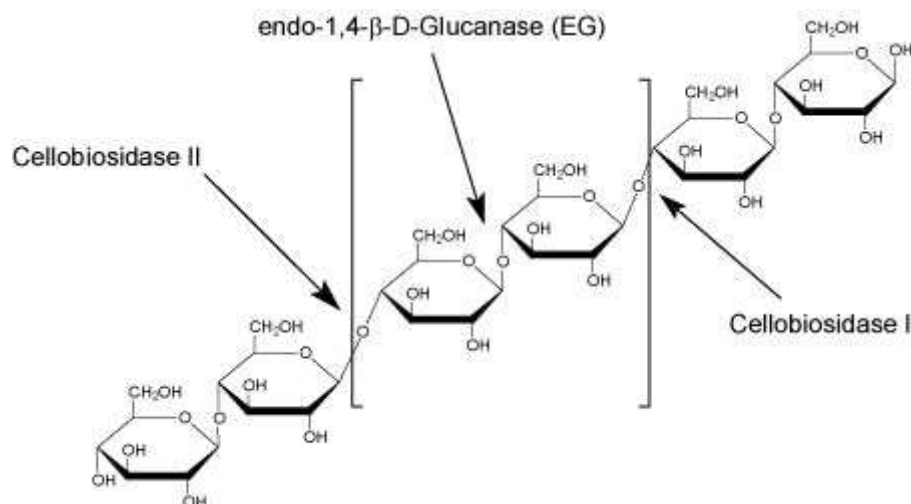
zat kimia ke dalam jaringan kayu, sehingga proses pembuatan *pulp* menjadi lebih efisien (Scoot *et al.*, 1998). Penerapan *pretreatment* dengan jamur lignolitik ini telah menghemat 30% energi listrik yang digunakan, karena waktu yang diperlukan untuk memasak potongan kayu menjadi lebih singkat (dari 90 menjadi 30 menit) tanpa mengurangi kualitas produk akhir; meningkatkan kekuatan (*strength*) kertas dan meningkatkan kecerahan (*brightness*) kertas yang dihasilkan (Akhtar *et al.*, 1998; Ferraz *et al.*, 1998).

Sebanyak 324 isolat menunjukkan reaksi positif terhadap uji enzim pendegradasi selulosa, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona transparan pada media kultur yang mengandung CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*). CMC merupakan substrat selulosa murni yang berbentuk *amorphous*. Terurainya CMC menjadi oligo-sakarida atau rantai selulosa merupakan hasil dari aktivitas enzim endo-1,4- β -glukanase (Gambar 4) yang memecah ikatan β -1,4-glikosidik pada polimer glukosa ini (Meryandini *et al.*, 2009). Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa penelitian ini telah berhasil mengoleksi lebih dari 300 isolat yang dapat menghasilkan enzim endo-1,4- β -glukanase.

Selain itu diperoleh 289 isolat yang menunjukkan reaksi positif terhadap uji

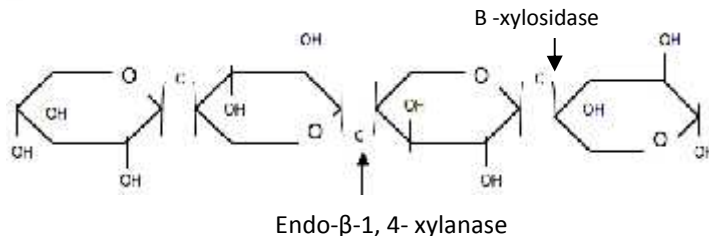
enzim pendegradasi hemiselulosa. Hemi-selulosa memiliki struktur yang sangat kompleks, terdiri dari berbagai tipe gula. Komponen terbanyak gula penyusun hemiselulosa adalah xylan (Kubata *et al.*, 1994; Saha, 2002). Struktur kimia hemiselulosa terdiri atas rantai utama (*backbone*) berupa homopolimer D-xylopiranosa yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan β -1,4 D-glikosidik (Saha, 2002) dan rantai cabang berupa o-acetyl, -L-arabinofuranosyl, D-glucuronyl dan o-methyl-D-glucuronyl (Ali *et al.*, 2004; Kubata *et al.*, 1994; Saha, 2003). Penguraian hemiselulosa (xylan) ini terutama melibatkan dua enzim, yaitu endo- β -1,4-xylanase dan β -xylosidase (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa penelitian ini telah menghasilkan lebih dari 250 isolat yang berpotensi menghasilkan enzim endo- β -1,4-xylanase dan β -xylosidase.

Ratusan isolat yang berpotensi menghasilkan enzim-enzim lignoselulolitik tersebut, 60 isolat yang memiliki zona bening minimal dua kali diameter koloninya, diuji kembali. Hasil pengujian tahap kedua ini tertera pada Lampiran 1. Jika ditinjau dari nilai indeks selulolitik dan hemiselulolitiknya, riset ini telah berhasil mengoleksi isolat-isolat potensial untuk mendegradasi selulosa dan hemiselulosa sekaligus dengan nilai indeks sekitar lima,



Gambar (Figure) 4. Reaksi hidrolisis enzimatis selulosa (*Enzymatic hydrolysis of cellulose*)

Sumber (Source) : <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/enzymes-for-aer.html>



Gambar (Figure) 5. Reaksi hidrolisis enzimatik hemiselulosa (*Enzymatic hydrolysis of hemicellulose*)
 Sumber (Source) : <http://ejournal.vudat.msu.edu/index.php/mmg445/article/viewArticle/381/348>

antara lain : BD-50 T.10, BD-50 T.11, MK-03 S.23, SD-22 T.10, SD-22 T.12, SD-27 S.9, MK-14 S.2, MK-03 S1, LL-21 S.13, LL-20 S.11, dan LL-20 S.10. Pada umumnya isolat-isolat tersebut adalah kelompok bakteri. Namun, mengingat lignin merupakan kendala yang harus diperhitungkan dalam mengekstrak selulosa dan hemiselulosa dari biomassa berlignoselulosa, maka penentuan isolat potensial tidak hanya melihat dari nilai indeks selulolitik dan hemiselulolitiknya saja. Kemampuan isolat tersebut dalam mendegradasi lignin pun menjadi hal penting untuk diperhatikan. Dengan memperhitungkan kemampuan biosintesis keempat enzim yang diamati, maka isolat BD-50 T.4, LL-18 W2.1, MK-09 F.3, MK-14 S.7, MK-15 F.2, MK-20 F.1, dan TT-02 W.1 merupakan isolat unggulan pertama, karena dapat mensintesis enzim selulase dan hemiselulase (dengan indeks yang cukup besar, > 2,5) serta menghasilkan enzim ligninase (lignin peroksidase dan laccase) yang terdeteksi pada awal pengamatan (tiga jam setelah ditetesi *reagent* indikator). Ketujuh isolat unggulan ini merupakan isolat fungi. Selain itu, ada 10 isolat yang dapat dikategorikan sebagai unggulan kedua karena biosintesis enzim ligninase baru terdeteksi setelah 24 atau bahkan 72 jam sejak ditetesi *reagent* indikator. Biosintesis enzim laccase pada isolat CBR-03 S.11, MK-03 S.8, MK-19 T.8 dan enzim lignin peroksidase pada isolat BD-53 S.2 dan SD-27 S.4 baru terdeteksi setelah 24 jam, sedangkan isolat BD-50 T.9, LB-09 S.9, MK-14 S.2, SD-22 T.8, SD-27 S.9 terdeteksi mensintesis enzim laccase setelah 72 jam.

Penelitian mengenai mikroba lignoselulolitik telah lama dimulai di dunia internasional. Salah satu mikroba yang telah diteliti secara intensif dan sudah dipergunakan untuk keperluan komersial dalam mensintesis enzim selulolitik dan hemiselulolitik adalah *Trichoderma reesei* beserta strain-strainnya (Kuhad *et al.*, 2007). Untuk mendegradasi lignin, jamur akar putih (*white-rot fungi*) dari kelompok basidiomisetes telah diteliti secara intensif dan terbukti memiliki efisiensi yang tinggi dalam mendegradasi lignin (Gold and Alic, 1993).

Diperolehnya tujuh isolat yang dapat mensintesis enzim pendegradasi senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa sekaligus, dapat diharapkan proses biokonversi biomassa berlignoselulosa yang selama ini sering dianggap sebagai limbah dapat berlangsung dengan lebih efektif dan efisien. Namun tentu saja, untuk sampai pada tahap aplikasi yang bernilai ekonomis, masih diperlukan serangkaian tahapan penelitian penunjang. Sebagai langkah awal, penelitian ini telah memberikan harapan bagi pengembangan studi lebih lanjut untuk dapat memanfaatkan potensi industri kehutanan yang ramah lingkungan, sekaligus membuka peluang untuk mengoptimalkan pemanfaatan biomassa berlignoselulosa dalam rehabilitasi lahan kritis dan sebagai sumber energi alternatif di Indonesia.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Eksplorasi mikroba lignoselulolitik di hutan tropis yang terletak di ka-wasan

- Taman Nasional (TN) Kari-munjawa, TN Bali Barat dan TN Gunung Ciremai ini telah berhasil mengoleksi 517 isolat, yaitu 240 isolat dari TN Karimunjawa, 108 dari TN Bali Barat dan 169 dari TN Gunung Ciremai, namun hanya 493 isolat yang telah terseleksi berpotensi menghasilkan enzim pendegradasi senyawa lignoselulosa, sedangkan 24 isolat lainnya terkontaminasi.
- Isolat BD-50 T.10, BD-50 T.11, MK-03 S.23, SD-22 T.10, SD-22 T.12, SD-27 S.9, MK-14 S.2, MK-03 S1, LL-21 S.13, LL-20 S.11, dan LL-20 S.10 merupakan isolat-isolat yang memiliki indeks selulolitik dan hemiselulolitik tinggi.
 - Isolat BD-50 T.4, LL-18 W2.1, MK-09 F.3, MK-14 S.7, MK-15 F.2, MK-20 F.1 dan TT-02 W.1 merupakan isolat unggulan dan berpotensi untuk digunakan pada penelitian lanjutan, karena berdasarkan seleksi secara kualitatif terindikasi dapat menghasilkan enzim pendegradasi lignin, selulosa dan hemiselulosa sekaligus.

B. Saran

Mengingat penelitian ini merupakan penelitian tahap awal, maka diperlukan serangkaian tahapan penelitian lanjutan untuk dapat menghasilkan data dan informasi yang lebih komprehensif bagi pengembangan industri pemanfaatan biomassa berlignoselulosa. Penelitian lanjutan yang diperlukan antara lain :

- Riset mengenai efektivitas mikroba-mikroba tersebut dalam mensintesis enzim lignoselulolitik yang terukur secara kuantitatif.
- Riset mengenai aktivitas enzim yang dihasilkan dalam mendegradasi biomassa berlignoselulosa serta faktor-faktor fisika yang mempengaruhi optimalitasnya.
- Riset mengenai separasi dan purifikasi enzim dan produk-produk bernilai tambah (senyawa-senyawa gula

yang akan digunakan untuk produksi bioetanol atau senyawa organik lainnya)

- Riset mengenai disain kultur (fermentor) yang efektif dan efisien dan lain-lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, M., R.A. Blanchette, G. Myers and T.K. Kirk. 1998. An overview of biomechanical pulping research. *In: R. A. Young and M. Akhtar (Eds.), Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry*, John Wiley and Sons, New York. pp. 309-340.
- Ali, M.K., F.B. Rudolph and G.N. Bennet. 2004. Thermostable xylanases 10B from *Clostridium acetobutylicum* ATCC824. *J. Ind. Microbiol. Technol.* 31:229 - 234.
- Blanchette, R.A., E.W. Krueger, J.E. Haight, M. Akhtar and D.E. Akin. 1997. Cell wall alterations in loblolly pine wood decayed by the white-rot fungus, *Ceriporiopsis subvermispora*. *J. Biotechnol.* 53:203-213.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis mikrobiologi pangan. PT. Grafindo Persada, Jakarta.
- Ferraz, A., L. Christov and M. Akhtar. 1998. Fungal pretreatment for organosolv pulping and dissolving pulp production. *In: R. A. Young and M. Akhtar (Eds.), Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry*, John Wiley and Sons, New York. pp. 421-447.
- Gold, M.H. and M. Alic. 1993. Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium*. *Microbiol. Rev.* 57:605-622.
- Howard, R.L., E. Abotsi, E. L. J. van Rensburg and S. Howard. 2003. Lignocellulose biotechnology :

- issues of bioconversion and enzyme production. *African Journal of Biotechnology* 2:602-619.
- Jha, D.K., G.D. Sharma and R.R. Mishra. 1992. Ecology of soil microflora and mycorrhizal symbionts in degraded forests at two altitudes. *Biol. Fert. Soils* 12:272 - 278.
- Kasana, R.C., R. Salwan, H. Dhar, S. Dutt and A. Gulati. 2008. A rapid and easy method for detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Curr. Microbiol.* 57:503-507.
- Kubata, B.K., T. Suzuki, H. Horitsu, K. Kawal and K. Takamizawa. 1994. Purification and characterization of *Aeromonas caviae* ME-1 xylanases V, which produces exclusively xylobiose from xylan. *Applied & Environmental Microbiology* 60:531 - 535.
- Kuhad, R.C., S. Kuhar, M. Kapoor, K.K. Sharma and A. Singh. 2007. Lignocellulolytic microorganisms, their enzymes and possible biotechnology based on lignocellulolytic microorganisms and their enzymes. In: R. C. Kuhad and A. Singh (Eds.), *Lignocellulose biotechnology: future prospect*, I.K. International Publishing House Pvt.Ltd, New Delhi, India.
- Ma, X., T. Chen, G. Zhang and R. Wang. 2004. Microbial community structure along an altitude gradient in three different localities. *Folia Microbiol.* 49:105 - 111.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, N. Sunarti, N. Rahmania dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains* 13:33-38.
- O'Brien, R.D and S.E. Lindow. 1989. Effect of plant species and environmental condition on epiphytic population size of *Pseudomonas syringae* and other bacteria. *Phytopathology* 79:619-627.
- Reganold, J., L. Elliott and Y. Unger. 1987. Long-term effect of organic and conventional farming on soil erosion. *Nature* 330:370 - 372.
- Risna, R.A. dan Suhirman. 2002. Ligninolytic enzyme production by *Polyporaceae* from Lombok, Indonesia. *Fungal Diversity* 9:123 - 134.
- Rosales, E., S.R. Couto and A. Sanroman. 2002. New uses of food waste: application to laccase production by *Trametes hisuta*. *Biotechnol. Lett.* 24:701-704.
- Saha, B.C. 2002. Purification and characterization of an extracellular α -xylosidase from newly isolated *Fusarium verticilloides*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 27:241 - 245.
- Saha, B.C. 2003. Hemicellulose bioconversion. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30:279 - 291.
- Scout, G.M., M. Akhtar, M.J. Lentz, T.K. Kirk and R.E. Swaney. 1998. New technology for papermaking: Commercializing biopulping. *Tappi Journal* 81:153-257.
- Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. *Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Baarn. Studies in Mycology* 16:1-248.
- Urairuj, C., C. Khanongnuch, S. Lumyong. 2003. Ligninolytic enzymes from tropical endophytic *Xylariaceae*. *Fungal Diversity* 13:209 -210.
- Widawati, S. dan Suliasih. 2001. The population of nitrogen fixing bacteria and phosphate solubilizing bacteria in the rhizosphere from Gunung Halimun National Park - Edisi Khusus Biodiversitas Taman Nasional Gunung Halimun. *Berita Biologi* 5 No. 6:691 - 695.
- Zhang, G.-L., Y-T, Wu, X-P Qian and Q Meng. 2005. Biodegradation of crude oil by *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of rhamnolipids. *Journal of Zhejiang University Science* 6B:725-730.

Lampiran (Appendix) 1. Seleksi enzimatis tahap kedua pada 60 isolat potensial (*The second enzymatic screening of 60 potential isolates*)

| No. | Kode isolat (<i>Isolates code</i>) | Tipe mikroba (<i>Type of microbes</i>) | Uji selulase (<i>Cellulase test</i>) | Indeks selulase (<i>Cellulase index</i>) | Uji hemiselulase (<i>Hemicellulase test</i>) | Indeks hemiselulase (<i>Hemicellulase index</i>) | Li-P * | Lac* |
|-----|---|---|---|---|---|---|--------|------|
| 1 | BD-50 T1 | Fungi | + | 3.7 | + | 3.4 | - | - |
| 2 | BD-50 T10 | Bakteri | + | 5.9 | + | 5.0 | + | - |
| 3 | BD-50 T11 | Bakteri | + | 4.8 | + | 5.2 | + | - |
| 4 | BD-50 T13 | Bakteri | + | 4.3 | + | 4.5 | + | - |
| 5 | BD-50 T4 | Fungi | + | 4.8 | + | 3.7 | + | + |
| 6 | BD-50 T9 | Fungi | + | 2.7 | + | 4.0 | + | - |
| 7 | BD-53 S2 | Fungi | + | 3.0 | + | 4.0 | - | + |
| 8 | CBR-02 FB2.2 | Fungi | - | 0 | + | 3.4 | - | - |
| 9 | CBR-03 S.11 | Bakteri | + | 4.1 | + | 4.4 | + | - |
| 10 | CBR-03 S.13 | Bakteri | - | 0 | + | 4.3 | + | - |
| 11 | CBR-06 FB2.2 | Fungi | - | 0 | + | 2.9 | + | + |
| 12 | CBR-13 W1 | Fungi | - | 0 | + | 3.4 | - | + |
| 13 | LB-2W2.1 | Fungi | - | 0 | + | 3.1 | + | - |
| 14 | LB-5 W1.1 | Fungi | + | 4.2 | + | 3.8 | - | - |
| 15 | LB-7 S.8 | Fungi | + | 3.4 | + | 3.5 | - | - |
| 16 | LB-9 S.11 | Bakteri | + | 4.3 | + | 4.6 | + | - |
| 17 | LB-9 S.12 | Bakteri | + | 4.2 | + | 4.6 | + | - |
| 18 | LB-9 S.9 | Bakteri | + | 4.0 | + | 4.5 | + | - |
| 19 | LL-02W1.2 | Fungi | + | 4.2 | + | 3.1 | + | - |
| 20 | LL-10FB1.2 | Fungi | + | 2.9 | + | 2.8 | - | + |
| 21 | LL-18W1.1 | Fungi | + | 2.6 | + | 2.9 | - | - |
| 22 | LL-18W2.1 | Fungi | + | 2.7 | + | 2.9 | + | + |
| 23 | LL-18W2.3 | Fungi | + | 2.9 | + | 2.7 | - | + |
| 24 | LL-19FB1.1 | Fungi | - | 0 | + | 3.0 | - | - |
| 25 | LL-20 S.10 | Bakteri | + | 4.1 | + | 4.9 | + | - |
| 26 | LL-20 S.11 | Bakteri | + | 4.5 | + | 4.9 | + | - |
| 27 | LL-20 S.12 | Bakteri | - | 0 | + | 3.7 | + | - |
| 28 | LL-21 S.13 | Bakteri | + | 4.6 | + | 5.4 | + | - |
| 29 | LL-21S.8 | Fungi | + | 2.6 | + | 3.3 | - | - |
| 30 | LL-22T.9 | Bakteri | + | 3.7 | + | 3.0 | + | - |
| 31 | MK-01 W1 | Fungi | + | 4.2 | + | 3.5 | + | - |
| 32 | MK-01 W2 | Fungi | - | 0 | + | 3.4 | + | - |
| 33 | MK-03 S.12 | Bakteri | - | 0 | + | 5.3 | + | - |
| 34 | MK-03 S.18 | Bakteri | + | 4.6 | + | 5.8 | + | - |
| 35 | MK-03 S.23 | Bakteri | + | 5.2 | + | 6.4 | + | - |
| 36 | MK-03 S1 | Fungi | + | 4.7 | + | 4.9 | + | - |
| 37 | MK-03 S8 | Fungi | + | 2.6 | + | 3.1 | + | - |
| 38 | MK-03 S9 | Fungi | + | 2.8 | + | 2.9 | + | - |
| 39 | MK-09 F1 | Fungi | + | 2.4 | + | 2.7 | + | - |
| 40 | MK-09 F3 | Fungi | + | 3.8 | + | 3.0 | + | + |
| 41 | MK-10 S6 | Fungi | + | 2.5 | + | 2.9 | + | - |
| 42 | MK-10 S.13 | Bakteri | + | 4.5 | + | 6.2 | + | - |

Lampiran (Appendix) 1. Lanjutan (Continued)

| No. | Kode isolat (<i>Isolates code</i>) | Tipe mikroba (<i>Type of microbes</i>) | Uji selulase (<i>Cellulase test</i>) | Indeks selulase (<i>Cellulase index</i>) | Uji hemiselulase (<i>Hemicellulase test</i>) | Indeks hemiselulase (<i>Hemicellulase index</i>) | Li-P * | Lac* |
|-----|---|---|---|---|---|---|--------|------|
| 43 | MK-12 S.12 | Bakteri | + | 4.8 | - | 0 | + | - |
| 44 | MK-14 S2 | Fungi | + | 5.0 | + | 4.7 | + | - |
| 45 | MK-14 S3 | Fungi | + | 2.8 | + | 3.0 | + | - |
| 46 | MK-14 S7 | Fungi | + | 3.6 | + | 3.4 | + | + |
| 47 | MK-15 F2 | Fungi | + | 4.9 | + | 4.1 | + | + |
| 48 | MK-19 T.10 | Bakteri | - | 0 | + | 2.1 | + | - |
| 50 | MK-19 T8 | Bakteri | + | 4.2 | + | 3.3 | + | - |
| 51 | MK-20 F1 | Fungi | + | 3.1 | + | 3.1 | + | + |
| 52 | SD-22 T.10 | Bakteri | + | 5.5 | + | 6.6 | + | - |
| 53 | SD-22 T.11 | Bakteri | - | 0 | + | 4.5 | + | - |
| 54 | SD-22 T.12 | Bakteri | + | 5.2 | + | 6.1 | + | - |
| 55 | SD-22 T.13 | Bakteri | - | 0 | + | 5.1 | + | - |
| 56 | SD-22 T.8 | Bakteri | + | 4.3 | + | 5.7 | + | - |
| 57 | SD-27 S4 | Bakteri | + | 4.4 | + | 4.7 | - | + |
| 58 | SD-27 S9 | Bakteri | + | 4.8 | + | 5.7 | + | - |
| 59 | SD-34 W1.2 | Fungi | + | 4.4 | + | 3.6 | + | - |
| 60 | TT-02 W1 | Fungi | + | 3.1 | + | 2.8 | + | + |

Keterangan (*Remarks*) :

Li-P = Lignin peroksidase (*Lignin peroxidase*); Lac = Laccase (*Laccase*)

* Berdasarkan perubahan reagen indikator setelah inkubasi 3 jam (*Based on the reagent changing colour after 3 hr incubation*)