

This file has been cleaned of potential threats.

If you confirm that the file is coming from a trusted source, you can send the following SHA-256 hash value to your admin for the original file.

0b85e55fd9ad10b9431cc4f0140948cff971a5736a42cead656a154c35db41ba

To view the reconstructed contents, please SCROLL DOWN to next page.

**AKTIVITAS ENZIM *HYDROXYMETHYLGLUTARYL COENZYME
A REDUCTASE* PADA INDUKSI GAHARU *Aquilaria malaccensis*
MENGUNAKAN PUPUK UREA DAN *Fusarium solani***

**(*Hydroxymethylglutaryl Coenzyme a Reductase activity on Aquilaria malaccensis
Agarwood Induction With Nitrogen Fertilizer and Fusarium solani*)**

Resti Wahyuni¹

¹Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu
Jl. Dharma bhakti No.7 Ds. Langko, Lingsar, Lombok Barat, NTB
Telp. 03706175552; Email :resti_bio@yahoo.com

ABSTRACT

Aquilaria malaccensis is an agarwood producer in Indonesia, which have suffered injury and/or are infected by fungi. Agarwood contain chemical compounds. Sesquiterpene is one of the biggest components of agarwood that related to the agarwood fragrance and colour. Biosynthesis of sesquiterpene can be predicted by Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase (HMGR) activity as a key enzyme of sesquiterpene biosynthesis through mevalonate (MVA) pathway. HMGR enzyme activity was measured by spectrophotometer. This study was conducted to know the activity of Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase (HMGR) on *A. malaccensis* agarwood induced by nitrogen fertilizer and *Fusarium solani* to predict the sesquiterpenoid synthesis pathway. HMGR enzyme activity for combination treatment of nitrogen fertilizer and *F. solani* was 0.0796 units/mgP, treatment of *F. solani* was 0.0130 units/mgP, no treatment (control) was 0.0023 units/mgP, while treatment of nitrogen fertilizer was also 0.0023 units/mgP on 30 days after treatment (DAT). HMGR enzyme activity on 30 DAT was affected by interaction between nitrogen fertilizer and *F. solani* treatment. HMGR enzyme activity of *A. malaccensis* treated by nitrogen fertilizer and *F. solani* was very low.

Keywords : Agarwood, *Aquilaria malaccensis*, *Fusarium solani*, *Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase*, sesquiterpene

ABSTRAK

Aquilaria malaccensis merupakan salah satu spesies penghasil gaharu di Indonesia. Senyawa gaharu terbentuk sebagai respon pertahanan pohon gaharu terhadap berbagai gangguan seperti gangguan fisik, infeksi patogen atau perlakuan kimiawi. Gaharu mengandung bermacam-macam senyawa kimia. Kandungan senyawa kimia terbesar adalah *sesquiterpen*. Biosintesis *sesquiterpen* dapat diprediksi dengan melihat aktivitas enzim *Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase* (HMGR). Pengukuran aktivitas enzim HMGR menggunakan metode spektrofotometri. Penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas enzim HMGR pada induksi gaharu *Aquilaria malaccensis* perlakuan pupuk urea dan *Fusarium solani* untuk memperkirakan terjadi atau tidaknya sintesis *sesquiterpen* melalui jalur asam mevalonat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas enzim HMGR pada kombinasi perlakuan pemupukan urea dan *F. solani* sebesar 0,0796 unit/mgP, pada perlakuan *F. solani* sebesar 0,0130 unit/mgP, pada perlakuan pupuk urea maupun tanpa perlakuan (kontrol) sebesar 0,0023 unit/mgP saat 30 hari setelah perlakuan (HSP). Aktivitas enzim HMGR saat 30 HSP dipengaruhi oleh interaksi antara perlakuan pupuk urea dan *F. solani*. Aktivitas enzim HMGR saat 30 HSI masih tergolong rendah sehingga kemungkinan belum terjadi sintesis terpenoid melalui jalur asam mevalonat.

Kata kunci: Gaharu, *Aquilaria malaccensis*, *Fusarium solani*, enzim *Hydroxymethylglutaryl coenzyme a reductase*, urea

I. PENDAHULUAN

Gaharu merupakan suatu produk hasil hutan bukan kayu yang dihasilkan oleh tumbuhan anggota Thymelaeaceae yang mengalami perlukaan dan atau terinfeksi oleh cendawan (Zhang *et al.* 2014). Gaharu bernilai ekonomi tinggi karena bermanfaat sebagai parfum maupun bahan obat-obatan (Kakino *et al.* 2010). Permintaan gaharu di pasar global meningkat dari waktu ke waktu (Azah *et al.* 2013). *Aquilaria malaccensis* merupakan salah satu spesies anggota Thymelaeaceae yang dapat menghasilkan gaharu. Semua spesies dalam genus *Aquilaria* telah masuk dalam Appendix II CITES yang berarti bahwa tumbuhan tersebut ketersediaannya di alam telah langka dan perdagangan tumbuhan tersebut maupun produk gaharu dan turunannya diatur oleh undang-undang (CITES, 2010).

Gaharu budidaya dapat menjadi salah satu cara untuk mendapatkan gaharu yang legal untuk memenuhi permintaan pasar global. Pembentukan gaharu budidaya tidak dapat terjadi dengan sendirinya tetapi perlu adanya induksi baik internal maupun eksternal. Metode induksi tradisional yaitu menggunakan pisau untuk melukai batang serta menanam paku pada batang (Mohamed *et al.* 2014). Cara tersebut memerlukan waktu yang lama untuk dapat menghasilkan gaharu (Li *et al.* 2015). Metode lain yang telah berkembang yaitu menggunakan bahan kimia, mikroorganisme serta kit.

Jenis senyawa kimia yang terkandung dalam gaharu bermacam-macam. Kandungan kimia gaharu dari genus *Aquilaria* antara lain *sesquiterpen*, 2-(2-feniletil)-4H kromen derivatif, senyawa aromatik, triterpen, dan lain-lain (Chen *et al.* 2012). *Sesquiterpen* dan 2-(2-feniletil)-4H kromen derivatif merupakan dua jenis senyawa kimia yang umumnya dominan terkandung dalam gaharu (Ishihara, 1993; Chen *et al.* 2012).

Sintesis *sesquiterpen* terjadi di sitosol melalui jalur asam mevalonat (MVA) (Taiz & Zeiger, 2010). Enzim HMGR merupakan enzim pertama pada jalur MVA

serta sebagai enzim kunci untuk biosintesis terpenoid melalui jalur MVA (Pateraki & Kanellis 2010).

Aktivitas enzim HMGR diharapkan dapat digunakan untuk memperkirakan terjadi atau tidaknya sintesis terpenoid melalui jalur MVA. Sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengukur aktivitas enzim HMGR pada induksi gaharu *Aquilaria malaccensis* menggunakan perlakuan pupuk urea dan *Fusarium solani* untuk memperkirakan terjadi/tidak nya sintesis *sesquiterpen* melalui jalur asam mevalonat.

II. BAHAN DAN METODE

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai November 2015 di Rumah Kaca Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor. Pengukuran aktivitas enzim HMGR dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor.

B. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan yaitu bibit *A. malaccensis* berumur 10 bulan yang berasal dari persemaian komersial di Bogor, pupuk urea dan *F. solani* (kode Lt) yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Hasil Hutan Bukan Kayu Mataram. Bibit *A. malaccensis* yang digunakan memiliki tinggi tanaman 71-94 cm, diameter batang 0,8 – 1 cm, jumlah daun berkisar 10-18 helai. Bibit *A. malaccensis* ditanam pada pot berdiameter 20 cm dan media tanam berupa tanah sebanyak 1,5 kg tiap pot.

Pemberian pupuk urea sebanyak 2 gram per bibit dilakukan bersamaan dengan waktu inokulasi *F. solani*. Bibit *A. malaccensis* diletakkan dalam rumah kaca yang dilengkapi paranet 50%. Penyiraman pada bibit dilakukan setiap dua hari. Suhu rumah kaca 25-30 °C dan kelembaban 60-70%.

F. solani yang digunakan untuk inokulasi diremajakan dalam media padat *Potato Dextrose Agar* (PDA) menggunakan cawan petri dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. *F. solani* tumbuh membentuk koloni pada media PDA. Kriteria *F. solani* yang digunakan untuk inokulasi adalah warna hifa putih dan koloni tumbuh di seluruh media PDA dalam cawan petri.

C. Rancangan Percobaan Induksi Gaharu

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial. Faktor I adalah pemupukan urea terdiri dari dua taraf yaitu 0 g/bibit dan 2 g/bibit. Faktor II adalah inokulasi dengan *F. solani* terdiri dari dua taraf yaitu 0 cm² dan 1 cm². Kombinasi perlakuan seperti pada Tabel 1. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan rancangan percobaan faktorial
Table 1. Treatment combination on completely randomized factorial design

No <i>Number</i>	Kombinasi perlakuan <i>Treatment combination</i>
1.	Bibit <i>A. malaccensis</i> perlakuan pupuk urea 0 g/bibit dan <i>F.solani</i> 0 cm ² (P0A)
2.	Bibit <i>A. malaccensis</i> perlakuan pupuk urea 2 g/bibit dan <i>F.solani</i> 0 cm ² (P1A)
3.	Bibit <i>A. malaccensis</i> perlakuan pupuk urea 0 g/bibit dan <i>F.solani</i> 1 cm ² (P0AF)
4.	Bibit <i>A. malaccensis</i> perlakuan pupuk urea 2 g/bibit dan <i>F.solani</i> 1 cm ² (P1AF)

D. Metode Inokulasi *F. solani*

Metode inokulasi yang digunakan adalah dengan menyayat atau melukai batang bibit *A. malaccensis* yang kemudian ditempel isolate *F. solani* dalam media padat PDA. Penyayatan batang secara melingkar pada kulit batang menggunakan silet dengan lebar sayatan 1 cm serta jarak antar sayatan 10 cm (Mohamed *et al.* 2014) dengan modifikasi. Jarak sayatan terbawah dari permukaan tanah sebesar 5 cm. Bibit *A.malaccensis* ditempel *F. solani* yang tumbuh di media PDA dengan ukuran seluas 0 dan 1 cm². Bekas sayatan yang telah ditempel inokulan kemudian ditutup dengan kasa dan disiram akuades steril setiap hari.

E. Aktivitas Enzim *Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase* (HMGR)

Materi uji yang digunakan adalah daun dewasa (posisi ketiga dari bawah) dari bibit *A.malaccensis* yang diperlakukan dengan pupuk urea dan *F. solani* (Tabel 1). Daun diambil dari bibit *A.malaccensis* saat 30 hari setelah perlakuan. Preparasi materi uji dilakukan dengan mengikuti metode Jiang & Huang (2001) dan digunakan oleh Hamim *et al.* (2007) dengan modifikasi. Sebanyak 0,2 gram sampel daun segar digerus dan diekstrak dalam 4 ml larutan yang mengandung 50 mM buffer fosfat (pH 7,0),

1% polyvinylpyrrolidon dan 0,2 mM asam askorbat. Hasil gerusan disentrifus pada 4.500 g selama 30 menit sehingga diperoleh supernatan. Supernatan disimpan di *freezer* pada suhu -30°C yang selanjutnya digunakan untuk analisis aktivitas enzim HMGR. Aktivitas enzim HMGR diukur menggunakan spektrofotometer UV sesuai petunjuk kerja pada kit HMGR– sigma. Satu mililiter (ml) sampel yang akan diukur aktivitas enzim HMGR dimasukkan ke dalam kuvet kemudian ditambah 915 µl assay buffer, 20 µl NADPH, 60 µl HMG-KoA dan 5 µl HMGR. Sampel dan reagen tersebut dihomogenisasi hingga homogen. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Pembacaan absorbansi dilakukan setiap 15 detik selama 5 menit. Aktivitas enzim HMGR dihitung dengan rumus :

$$\text{Unit/mgP} = \frac{(A_{340}/\text{min}_{\text{sampel}} - A_{340}/\text{min}_{\text{blank}}) \times TV}{12,44 \times V \times 0,6 \times LP}$$

Keterangan (*Remark*):

- $A_{340}/\text{min}_{\text{sampel}}$: Delta absorbansi sampel pada panjang gelombang 340 nm
- $A_{340}/\text{min}_{\text{blank}}$: Delta absorbansi blanko pada panjang gelombang 340 nm
- 12,44 : NADPH yang dikonsumsi selama reaksi
- TV : Volume sampel (ml)
- V : Volume enzim yang digunakan (ml)
- 0,6 : Konsentrasi enzim dalam mg protei (mgP/ml)
- LP : *Light path* (bernilai 1 untuk kuvet) (Sigma-aldrich, 2011)

F. Analisis Data

Data aktivitas enzim HMGR dianalisis dengan ANOVA menggunakan aplikasi software SPSS 23.0.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas enzim HMGR saat 30 hari setelah perlakuan (HSP) paling tinggi diperoleh

dari perlakuan pupuk urea 2g/bibit dan *F. solani* 1 cm² (P1AF) (Tabel 2). Aktivitas enzim HMGR perlakuan P1AF 7 kali lipat lebih tinggi dibandingkan perlakuan P0AF dan 35 kali lipat lebih tinggi dibandingkan perlakuan P0A maupun P1A (Tabel 2). Aktivitas enzim HMGR saat 30 HSP dipengaruhi oleh interaksi antara perlakuan pupuk urea dan *F. solani* ($p < 0.05$, Tabel Lampiran).

Tabel 2. Aktivitas enzim HMGR pada hari ke-30 setelah perlakuan
Table 2. HMGR enzyme activity on 30 days after treatment

Perlakuan <i>Treatment</i>	Aktivitas enzim HMGR <i>HMGR enzyme activity</i> (units/mgP)
Pupuk urea 0 g/bibit dan <i>F.solani</i> 1 cm ² (P0AF)	0.0130 b
Pupuk urea 2g/bibit dan <i>F.solani</i> 1 cm ² (P1AF)	0.0796 a
Pupuk urea 0g/bibit dan <i>F.solani</i> 0 cm ² (P0A)	0.0023 c
Pupuk urea 2g/bibit dan <i>F.solani</i> 0 cm ² (P1A)	0.0023 c

Keterangan (*remark*): Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$)

Enzim HMGR merupakan enzim pertama pada jalur MVA (asam mevalonat) serta sebagai enzim kunci untuk biosintesis terpenoid melalui jalur MVA (Pateraki dan Kanellis 2010). Terpenoid khususnya *sesquiterpen* merupakan salah satu komponen terbesar gaharu (Ishihara 1993, Chen *et al.* 2012). Aktivitas enzim HMGR diharapkan dapat digunakan untuk memperkirakan terjadi atau tidaknya sintesis terpenoid melalui jalur MVA.

Aktivitas enzim HMGR saat 30 HSP masih tergolong rendah jika dibandingkan dengan level basal aktivitas enzim HMGR sebesar 2 units/mgP (Moore & Oishi 1993). Aktivitas enzim HMGR yang rendah ini menunjukkan kemungkinan belum terjadi sintesis terpenoid melalui jalur asam mevalonat. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemupukan urea dan inokulasi *F. solani* selama satu bulan pada *A. malaccensis* telah menginduksi aktifnya enzim HMGR di daun tetapi aktivitasnya masih rendah dan belum menunjukkan adanya sintesis terpenoid

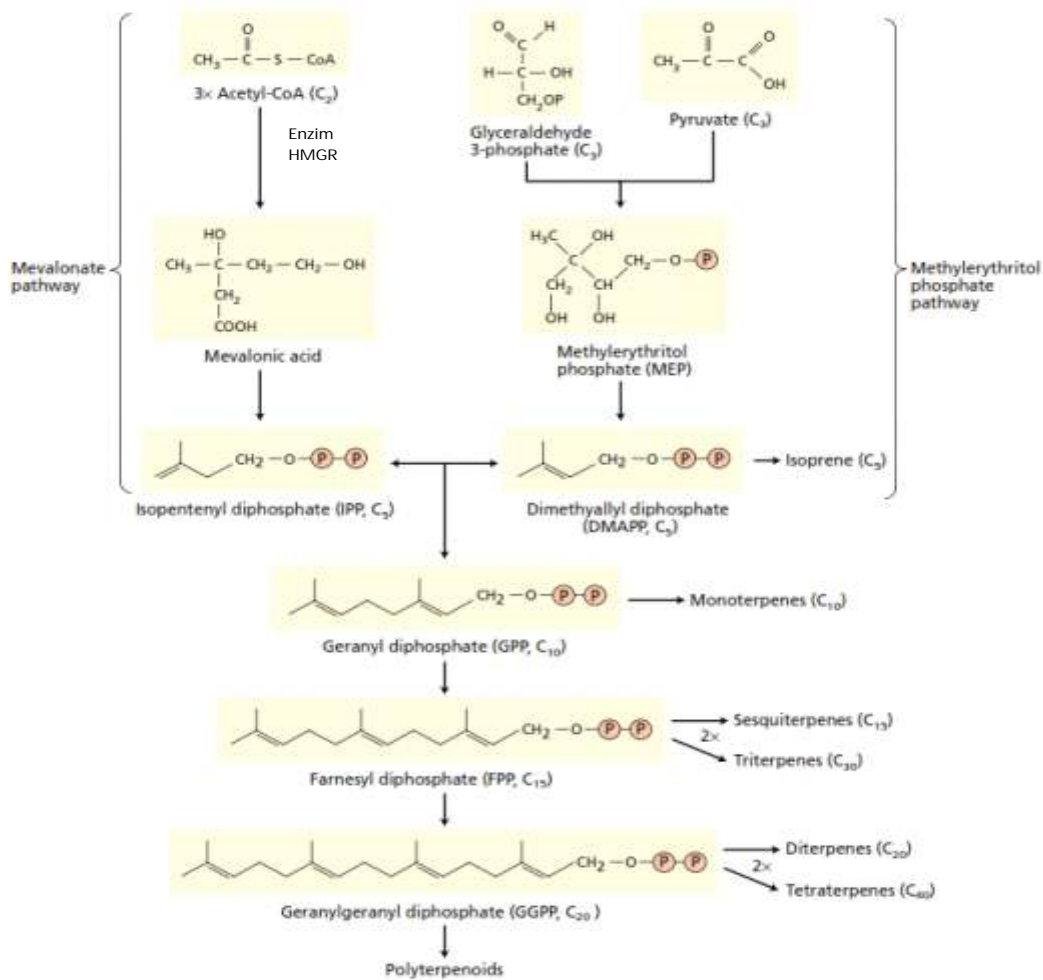
yang akhirnya akan terdeposit pada floem jejari dan memunculkan warna gaharu yang gelap.

Tumbuhan khususnya jenis yang beradaptasi terhadap lingkungan ekstrim akan memproduksi metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan. Salah satu jenis metabolit sekunder tersebut adalah terpenoid atau isoprenoid (Taiz & Zeiger, 2010). Terpenoid juga merupakan metabolit sekunder volatil dengan kelas yang paling besar dibandingkan jenis metabolit sekunder lainnya yaitu lebih dari 22.000 komponen senyawa (Degenhardt *et al.* 2009; Mc Garvey & Croteau, 1995). Terpenoid secara umum berperan sebagai hormon tanaman (giberelin dan asam absisat), pigmen fotosintesis, pembawa elektron (ubiquinon dan plastoquinon), komponen struktural membran (fitosterol) (Mc Garvey & Croteau, 1995). Anggota terpenoid khususnya jenis C₁₀, C₁₅, dan C₂₀ berperan dalam komunikasi dan pertahanan tanaman misalnya atraktan polinator, fitoksin, antibiotik, toksin untuk herbivora (Harborne, 1991). Jenis monoterpen (C₁₀) dan

C₂₀ berperan dalam komunikasi dan pertahanan tanaman misalnya atraktan polinator, fitoksin, antibiotik, toksin untuk herbivora (Harborne,1991). Jenis *monoterpen* (C₁₀) dan *sesquiterpen* (C₁₅) adalah yang paling umum diproduksi sebagai respon tanaman terhadap serangan herbivora.

Terpenoid diproduksi pada sel tumbuhan dengan dua jalur yang berbeda dan lokasi yang berbeda, salah satunya terdapat di sitoplasma dan yang lain di plastida. Jalur sintesis pada sitoplasma disebut jalur *mevalonat* (MVA) sedangkan jalur yang terjadi di plastid disebut jalur *Methylerythritol 4-phosphate* (MEP). Jalur MEP menyediakan prekursor untuk sintesis monoterpen, diterpen, isopren,

karotenoid, fitohormon giberelin dan asam absisat, tokoferol, filoquinon dan plastoquinon. Sedangkan jalur MVA menyediakan *isopentenyl diphosphate* untuk sintesis *sesquiterpen*, *sterol*, *brasinosteroid*, *polyprenol*. Pembentukan *sesquiterpen* melalui jalur MVA melibatkan aktivitas enzim-enzim, salah satunya *Hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase* (HMGR). Enzim ini mensintesis asam mevalonat melalui reduksi 3-hidroksi-3-metilglutaril-KoA, merupakan enzim pertama pada jalur MVA dan juga sebagai enzim kunci untuk biosintesis terpenoid melalui jalur MVA (Pateraki & Kanellis, 2010). Jalur biosintesis terpenoid disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Jalur biosintesis terpenoid (Taiz & Zeiger, 2010)
Figure 1. Terpenoid biosynthesis pathway (Taiz & Zeiger, 2010)

IV. KESIMPULAN

Aktivitas enzim HMGR pada kombinasi perlakuan pemupukan urea 2 g/bibit dan *Fusarium solani* 1 cm² sebesar 0,0796 unit/mgP, pada perlakuan *F. solani* 1 cm² sebesar 0,0130 unit/mgP, pada perlakuan pupuk urea 2 g/bibit maupun tanpa perlakuan (kontrol) sebesar 0,0023 unit/mgP saat 30 hari setelah perlakuan (HSP). Aktivitas enzim HMGR saat 30 HSP dipengaruhi oleh interaksi antara perlakuan pupuk urea dan *F. solani*. Aktivitas enzim HMGR perlakuan pupuk urea 2 g/bibit dan *F. solani* 1 cm² tergolong rendah saat 30 HSP dan menunjukkan belum terjadi sintesis terpenoid melalui jalur mevalonat (MVA).

DAFTAR PUSTAKA

- Azah, MN., Husni, SS., Mailina, J., Sahrim, L., Majid, JA., & Faridz, ZM. (2013). Classification of agarwood by resin content. *Journal of Tropical Forest Science*, 25(2), 213–219.
- Chen, H., Wei, J., Yang, J., Zhang, Z., Yang, Y., Gao, Z., Sui, C., & Gong, B. (2012). Chemical constituents of agarwood originating from the endemic genus *Aquilaria* plants. *Chemistry and Biodiversity*, 9, 236–250.
- CITES. (2010, November). Appendix II of convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora. Diakses dari <https://cites.org/eng/notif/2010/E007A.pdf>
- Degenhardt, J., Köllner, TG., & Gershenzon, J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70, 1621–1637.
- Hamim., Miftahudin., & Triadiati. (2007). Studi enzim dan senyawa antioksidan yang terlibat dalam penyelamatan spesies oksigen aktif (AOS) akibat cekaman kekeringan pada kedelai (hibah bersaing). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Harborne, JB. (1991). *Recent advances in the ecological chemistry of plant terpenoids*. Oxford: Clarendon Press.
- Ishihara, M., Tsuneya, T., & Uneyama, K. (1993). Fragrant sesquiterpenes from agarwood. *Phytochemistry*, 33(5), 1147–1155.
- Jiang, Y., & Huang, B. (2001). Physiological and biochemical responses of plants to drought and heat stress. In: M. Kang (ed.) *Crop Improvement in the 21st Century*. New York: The Haworth Press.
- Kakino, M., Tazawa, S., Maruyama, H., Tsuruma, K., Araki, Y., Shimazawa, M., & Hara, H. (2010). Laxative effects of agarwood on low-fiber diet-induced constipation in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10, 68–75.
- Li, W., Cai, CH., Guo, ZK., Wang, H., Zuo, WJ., Dong, WH., Mei, WL., & Dai, HF. (2015). Five new eudesmane-type sesquiterpenoids from Chinese agarwood induced by artificial holing. *Fitoterapia*, 100, 44–49.
- Mcgarvey, DJ., & Croteau, R. (1995). Terpenoid Metabolism. *Plant Cell*, 7, 1015–1026.
- Mohamed, R., Lee, JP., & Kudus, KA. (2014). Fungal inoculation induced agarwood in young *Aquilaria malaccensis* trees in the nursery. *Journal of Forestry Research*, 25(1), 201–204.
- Moore, KB., & Oishi, KK. (1993). Characterisation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity during maize seed development, germination and seedling emergence. *Plant Physiology*, 101, 485–491.
- Pateraki, I., & Kanellis, A. (2010). Stress and developmental responses of terpenoid biosynthetic genes in *Cistus creticus* subsp. *Creticus*. *Plant Cell Reports*, 29, 629–641.

Sigma-aldrich. (2011, Maret). HMG-CoA reductase assay kit. Technical bulletin. Diakses dari www.sigma-aldrich.com

Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). *Plant physiology*. USA: Sinauer Associates.

Zhang, Z., Wei, J., Han, X., Liang, L., Yang, Y., Meng, H., Xu, Y., & Gao, Z. (2014). The

sesquiterpene biosynthesis and vessel-occlusion formation in stems of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg trees induced by wounding treatments without variation of microbial communities. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(12),23589-23603.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis ANOVA aktivitas enzim HMGR 30 hari setelah perlakuan (Appendix 1. Results of ANOVA analysis HMGR enzyme activity 30 days after treatment)

Sumber keragaman (<i>Source diversity</i>)	db	Jumlah kuadrat (<i>total middle</i>)	Kuadrat tengah (<i>squares middle</i>)	F	Sig.
Pupuk urea	1	0,003	0,003	208,333	0,00
<i>F. solani</i>	1	0,006	0,006	363	0,00
Pupuk urea x <i>F. solani</i>	1	0,003	0,003	208,333	0,00
Galat	8	0,000	0,000016		
Total terkoreksi	11	0,013			

