

IV. METODE PENELITIAN

4.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah RBBR, medium PDA, medium N-Limited, indulin, serbuk kayu akasia dan isolat jamur Aphylophorales yang terdiri dari *Trametes* sp1., *Trametes* sp2, *Fomes* sp1, *Pycnoporus* sp., *Polyporus* sp.1, *Polyporus* sp2, *Polyporus* sp3, *Microporus* sp1, *Microporus* sp2, *Lenzites* sp, *Ganoderma* sp., *Stereum* sp., AMS 1 dan AMS 27.

4.2. Metode Penelitian

4.2.1. Uji aktivitas ligninolitik pada lignin sintetik

Isolat jamur Aphylophorales strain lokal didapat dari penelitian terdahulu, ditumbuhkan ke medium PDA. Agar yang ditumbuhi miselia isolat dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm. Potongan miselia ditumbuhkan ke medium N-Limited steril (Lestan *et al.*, 1990) yang telah dimodifikasi (Martina, 1998) dengan komposisi (g/l) : KH_2PO_4 0,2, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,11, NH_4NO_3 0,095, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,0425, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,035, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,007, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,007, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,0009, NaCl 0,000095, yeast ekstrak 0,2, Tween 80 0,05%, H_2O_2 0,26 ml, agar 15 serta indulin AT 0,5. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C. Diameter miselia diukur setiap hari sampai terdapat petri yang penuh. Aktivitas peroksidase ligninolitik dihitung melalui pengukuran zona bening pada petri.

4.2.2. Uji aktivitas ligninolitik pada lignoselulosa

Uji aktivitas terhadap lignoselulosa menggunakan medium N-Limited-RBB yang ditambah serbuk kayu akasia (*Acacia mangium*) ukuran 40 mesh dengan komposisi (g/l)

serbuk kayu 4 g Komposisi dan cara pembuatan medium sama dengan medium agar N-Limited-RBB yang mengandung indulin, kecuali indulin digantikan oleh serbuk kayu. (Martina, 1998; Artiningsih, 2000).

Potongan miselia agar dari setiap isolat diinokulasi ke dalam medium N-Limited-RBB yang mengandung lignoselulosa diinkubasi pada suhu 37°C. Diameter miselia diukur setiap hari sampai terdapat petri yang penuh. Uji aktivitas peroksidase ligninolitik isolat terhadap lignoselulosa dilakukan secara kualitatif dengan mengamati zona perubahan warna medium.



Gambar 1. Miselia jamur yang tumbuh pada medium N-Limited-RBB yang mengandung selulosa, indulin, dan serbuk kayu. Petri dish (A) dan (B) menunjukkan pertumbuhan miselia jamur pada petri dish.

Pengujian aktivitas lignolitik jamur dilakukan dengan mengamati zona perubahan warna medium yang mengandung lignoselulosa. Zona perubahan warna medium yang menunjukkan aktivitas lignolitik jamur adalah zona berwarna hitam yang terbentuk di sekitar miselia jamur. Hal ini menunjukkan bahwa jamur tersebut memiliki kemampuan untuk menghidrolisis lignin yang terkandung dalam lignoselulosa. Hasil pengujian menunjukkan bahwa jamur yang diuji memiliki aktivitas lignolitik yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan lignolitik jamur tersebut berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan lignolitik jamur tersebut berbeda-beda.