

ABSTRAK

Tingkat produksi selulase bergantung pada kemampuan suatu isolat dalam menghasilkan enzim, namun penelitian mengenai produksi selulase oleh isolat jamur lokal asal Indonesia masih terbatas. Seleksi jamur yang diisolasi dari alam merupakan cara yang tepat untuk menemukan sumber gen pengkode selulase baru. Selain itu, produksi selulase oleh jamur umumnya dikendalikan oleh adanya represi katabolit karbon, namun terdapat beberapa gen yang tidak terepresi dengan adanya glukosa sehingga perlu dilakukan identifikasi gen terkait produksi selulase guna menghasilkan isolat jamur dengan produksi selulase yang tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji tingkat produksi endoglukanase dan β -glukosidase yang dihasilkan oleh berbagai jamur lokal yang diisolasi dari Indonesia, serta mengidentifikasi gen-gen yang terlibat dalam produksi dan regulasi selulase pada jamur terpilih melalui analisis genomik dan transkriptomik. Sepuluh isolat jamur lokal asal Indonesia ditumbuhkan pada media padat untuk mengetahui apakah jamur tersebut dapat menghasilkan selulase, kemudian tingkat produksi selulase diuji pada media cair yang mengandung karboksimetil selulosa (CMC) sebagai sumber karbon dan pada media CMC dengan penambahan glukosa pada berbagai konsentrasi yang berbeda. Isolat yang menghasilkan aktivitas enzim tertinggi kemudian diuji lebih lanjut melalui analisis genomik dan transkriptomik. Sekuen genom digunakan untuk mengidentifikasi gen-gen yang terlibat pada produksi selulase dan pengukuran ekspresi gen-gen tersebut dilakukan melalui analisis transkriptomik menggunakan sekuen RNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua jamur yang diuji pada penelitian ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan endoglukanase dan β -glukosidase dengan tingkat produksi enzim yang berbeda-beda serta memiliki respon yang berbeda terhadap represi katabolit. *Trichoderma asperellum* PK1J2 dapat menghasilkan enzim yang tinggi bila dibandingkan dengan jamur yang lain. *T. asperellum* PK1J2 menghasilkan endoglukanase sebesar 79 U per 100 mL media dan β -glukosidase sebesar 149 U per 100 mL media. Berdasarkan analisis genomik, *T. asperellum* PK1J2 memiliki 10 gen endoglukanase dan 14 gen β -glukosidase, dan seluruh gen-gen tersebut terepresi pada analisis transkriptomik. Ekspresi gen endoglukanase didominasi oleh *cel5b* dengan ekspresi sebesar 306,48 TPM dan *egl1* sebesar 162,9 TPM, sedangkan ekspresi gen β -glukosidase didominasi oleh *cella* yaitu sebesar 84,74 TPM. Terdapat 14 gen pengkode regulator yang berperan pada sintesis selulase pada *T. asperellum* PK1J2 yaitu *xlr1*, *hap2*, *hap3*, *hap5*, *pac1*, *area*, *vib-1*, *creA*, *creB*, *creC*, *creD*, *ace1*, *ace2*, dan *ace3*. Pada *T. asperellum* PK1J2 terdapat 2 gen endoglukanase dan 4 gen β -glukosidase yang tidak terepresi oleh glukosa, yaitu *egla*, *egl1*, *bglA*, *2 SV*, *cella*, dan *bglE*. Pada *egla* dan *2 SV* tidak ditemukan sisi pengikatan represor Cre1 (5'-SYGGRG-3') dan Ace1 (5'-AGGCA-3') pada daerah promoter, sedangkan *Cella* dan *BglA* memiliki residu terkait toleransi glukosa yaitu C169 dan F170 pada sekuen *Cella* serta W294 dan R247 pada sekuen *BglA*. *T. asperellum* PK1J2 menghasilkan endoglukanase dan β -glukosidase yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan isolat jamur lokal lain yang diteliti pada penelitian

ini serta terdapat satu gen endoglukanase dan satu gen β -glukosidase yang menunjukkan ekspresi gen yang tinggi dan tidak terepresi oleh glukosa yaitu *egl1* dan *cella*.

ABSTRACT

The study of cellulases production by indigenous fungi is limited. Screening of fungi from nature is one of the important ways to get novel cellulase, these newly screened fungi are sources of new cellulase genes with diverse properties. Production of cellulase by fungi is generally subjected to carbon catabolite repression, but there are several genes did not repressed in the presence of glucose. It is necessary to identify the genes responsible to the regulation of the enzyme production in order to produce high cellulase production strain. The objectives of the works were to examine the production of endoglucanase and β -glucosidase in some indigenous fungi and to identify the genes responsible for the regulation of the cellulases production by genomic and transcriptomic analysis in selected fungus. Ten strains of indigenous fungi were grown in both solid and liquid media with carboxymethyl cellulose (CMC) as a sole carbon source supplemented with different level of glucose and examined for endoglucanase and β -glucosidase production. The strain produced more enzymes was examined further for genomic and transcriptomic analysis. Based on the genome sequence of the strain the genes responsible for the cellulases production was identified. The expression of those genes was examined based on the RNA sequences. All strains examined produced endoglucanase and β -glucosidase with varying level of enzyme production and showed different respons of glucose repression. Among 10 fungal strains examined, *Trichoderma asperellum* PK1J2 was the highest enzyme producer, giving endoglucanase of 79 U per 100 mL medium and β -glucosidase of 149 U per mL medium. Based on the genomic analysis, the strain possessed 10 of endoglucanase genes and 14 of β -glucosidase genes and all the genes was expressed based on the transcriptomic analysis. The expression of endoglucanase genes was dominated by *cel5b* with an expression of 306.48 TPM and *egl1* of 162.9 TPM, while β -glucosidase genes was dominated by *cella* with an expression of 84.74 TPM. There were 14 regulatory genes for cellulases synthesis in the strain, i.e.: *xlr1*, *hap2*, *hap3*, *hap5*, *pac1*, *areA*, *vib-1*, *creA*, *creB*, *creC*, *CreD*, *ace1*, *ace2* and *ace3*. *T. asperellum* PK1J2 has 2 endoglucanase and 4 β -glucosidase that were not repressed by glucose, i.e: *egla*, *egl1*, *bglA*, 2 *SV*, *cella*, and *bglE*. There were no repressor binding sites of Cre1 (5'-SYGGRG-3') and Ace1 (5'-AGGCA-3') on the promoter region of *egla* and 2 *SV*, while Cell1a and BglA had residues related to glucose tolerant, i.e.: C169 and F170 at Cell1a sequence and W294 and R247 at BglA sequence. *T. asperellum* PK1J2 gave high level of endoglucanase and β -glucosidase production compared to the other indigenous strains examined and there were one endoglucanase gene and one β -glucosidase gene which show high expression and did not repressed by glucose, i.e.: *egl1* and *cella*.