

INTISARI

Xilanase terdiri dari endo-xilanase dan β -xilosidase. Keduanya diproduksi oleh berbagai jamur dengan tingkat produksi yang berbeda-beda. Produksi enzim oleh mikrobia unggul dibutuhkan untuk mendapatkan yield yang besar. Namun produksi xilanase dibatasi oleh adanya represi katabolit, yaitu hasil pemecahan polimer xilan yang akan menghambat produksi enzim-enzim tersebut. Oleh sebab itu, untuk meningkatkan produksi xilanase biasanya dilakukan dengan menghilangkan represi katabolit atau menambah jumlah gen penyandi enzim tersebut. Informasi tentang bagaimana cara kerja gen penyandi represor kunci dan gen lainnya yang berhubungan dengan represi katabolit perlu untuk diketahui. Analisis transkriptomik diharapkan dapat memberikan informasi tersebut sehingga dapat memberikan informasi mengenai terjadinya represi katabolit pada jamur. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kemampuan beberapa jamur dalam memproduksi endo-xilanase dan β -xilosidase serta respon jamur terhadap glukosa sebagai represor dan analisis transkriptomik dari jamur yang produksi xilanasenya mengalami represi katabolit. Empat belas jamur diinokulasikan dalam medium padat dan cair yang terdiri dari xilan dan xilan ditambahkan dengan glukosa sebagai represor (0, 1, 3, dan 5%) kemudian dilakukan pengukuran produksi endo-xilanase dan β -xilosidase. Untuk analisis transkriptomik, RNA miselium jamur diisolasi dan disekuon urutan basa nitrogennya diikuti dengan analisis perbedaan gen ekspresi. Analisis transkriptomik dilakukan pada *A. tubingensis* FNCC 6114 yang ditumbuhkan pada media xilan dan xilan yang ditambahkan 5% glukosa. Hasil penelitian menunjukkan dari ke-14 galur yang dianalisis, *Aspergillus tubingensis* FNCC 6114 menghasilkan endo-xilanase dan β -xilosidase tertinggi. Namun untuk galur lain, tidak menunjukkan hal serupa. *A. aculeatus* FIG1 menghasilkan endo-xilanase tertinggi setelah *A. tubingensis* FNCC 6114, namun *Trichoderma asperellum* PK1J2 yang menghasilkan β -xilosidase yang tertinggi setelah *A. tubingensis* FNCC 6114. Galur MLT2J2, GAP1, FIG1, MLT5J1, KKB4, dan MLT3J2 menghasilkan β -xilosidase sebesar 0,021-0,036 U/mL. Sedangkan galur lainnya hanya menghasilkan β -xilosidase sebesar 0,004-0,016 U/mL. Penambahan 1% glukosa pada xilan medium menurunkan produksi endo-xilanase kurang dari 50% pada galur FNCC 6114, FIG1, GAP1, PK1J2, FNCC 6005 dan MLT4J1. Penurunan lebih dari 95% terjadi pada galur KKB4. Sedangkan galur lainnya menurunkan produksi endo-xilanase dari 63%-84% ketika 1% glukosa ditambahkan dalam medium. Represi yang terjadi pada penambahan 3% glukosa tidak berbeda secara signifikan dengan penambahan 5% glukosa. Secara umum produksi endo-xilanase sangat rendah saat dilakukan penambahan glukosa dengan konsentrasi 3% atau lebih. Produksi β -xilosidase pada semua galur juga mengalami represi saat dilakukan penambahan glukosa pada medium pertumbuhan. Pada galur FIG1, FNCC 6151, MLT1J1, MLT4J1 dan FNCC 6114, penambahan 1% glukosa pada medium pertumbuhan menurunkan produksi β -xilosidase kurang dari 50%. Sedangkan pada galur KKB4, G2J2, ML3J2 dan MLT4J1, PK1J2, MLT2J2, MLT5J1, GAP1, FNCC 6005, dan FNCC 6012 menurunkan produksi enzim lebih dari 50%. Penambahan 3% glukosa atau lebih juga menurunkan produksi β -xilosidase pada semua galur yang diuji. Hasil penelitian mengidentifikasi 5104 gen

downregulated dan 890 gen *upregulated*. Penambahan glukosa mengakibatkan penurunan regulasi sepuluh gen yang terlibat dalam degradasi xilan. Sebagai aktivator, faktor transkripsi XlnR dan AraR menginduksi lebih banyak ekspresi pada medium xilan daripada xilan yang ditambahkan dengan glukosa. Namun, represor CreA dan faktor regulasi lain CreB, CreC dan CreD menunjukkan respon yang beragam. Hasil analisis promoter juga ditemukan adanya sisi pengikatan represor yang dapat menjadi penyebab terjadinya represi katabolit pada galur ini. Hasil analisis transkriptomik mendukung hasil analisis fenotip pada aktivitas xilanase yang mengalami represi katabolit.

Kata kunci: jamur, endo-xilanase, β -xilosidase, represi katabolit karbon, Sekuensing RNA, transkriptomik

ABSTRACT

Xylanase includes endo-xylanase and β -xylosidase. Both are produced by different fungi at varying rates. Enzyme production by better microorganisms is required for high yields production. Unfortunately, xylanase production is limited by catabolite repression, which results from the breakdown of xylan polymers and inhibits the production of these enzymes. As a result, increasing xylanase output typically involves removing catabolite repression or increasing the number of genes encoding the enzyme. It is necessary to understand how important repressor-coding genes and other genes associated with catabolite repression function. It is believed that transcriptomic analysis will give this information, allowing researchers to better understand the incidence of catabolite suppression in fungus. In this work, the ability of several fungi to produce endo-xylanase and β -xylosidase and their responses to glukosa as a repressor were determined. Besides, this research also was conducted to investigate and describe changes in endoxilanase production, β -xylosidase production, and gene transcription in fungi after glukosa addition. The effect of glukosa addition to fungi grown in xilan medium contributes to understand the mechanism of carbon catabolite repression related to endoxilanase and β -xylosidase production. Fourteen fungi were grown in a solid and liquid medium consisting of xylan and xylan supplemented with glukosa as the repressor (0, 1%, 3%, and 5%), and the endo-xylanase and β -xylosidase productions were assayed. Transcriptomic analysis was performed to describe and investigate the changing of gene expression of fungi grown in xylan and xylan containing glucose medium. The RNA of mycelium was extracted and sequenced using next-generation RNA sequencing Illumina NextSeq 550 platform followed by different expression genes analysis. The results showed that among the 14 strains tested, *Aspergillus tubingensis* FNCC 6114 produced the most endo-xylanase as well as the most β -xylosidase. However, other strains did not exhibit the same behavior. After *A. tubingensis* FNCC 6114, *A. aculeatus* FIG1 generated the greatest endo-xylanase, whereas *Trichoderma asperellum* PK1J2 produced the highest β -xylosidase. MLT2J2, GAP1, FIG1, MLT5J1, KKB4, and MLT3J2 strains generated β -xylosidase at concentrations ranging from 0.021 to 0.036 U/mL. The other strains produced just 0.004-0.016 U/mL of β -xylosidase. In the FNCC 6114, FIG1, GAP1, PK1J2, FNCC 6005, and MLT4J1 lines, adding 1% glucose to the xylan medium reduced endo-xylanase output by less than 50%. The KKB4 line had a reduction of more than 95%. When 1% glucose was introduced to the medium, the other strains reduced endo-xylanase output by 63%-84%. The suppression caused by the addition of 3% glucose was not significantly different from that caused by the administration of 5% glucose. When glucose is supplied at a concentration of 3% or more, the synthesis of endo-xylanase is very low. When glucose was introduced to the growing medium, β -xylosidase production was suppressed. The addition of 1% glucose to growing media reduced β -xylosidase production by less than 50% in FIG1, FNCC 6151, MLT1J1, MLT4J1, and FNCC 6114 strains. The addition of 3% glucose or more inhibited β -xylosidase production in all tested strains. *A. tubingensis* FNCC 6114 was chosen to be analyzed in transcriptomic analysis. It identified 5104 downregulated and 890 upregulated genes supporting enzymes

production above. The addition of glukosa resulted in the downregulation of ten genes that were involved in the breakdown of xilan. As activators, the transcription factors XlnR and AraR induced more expression in the xilan medium than in the xilan medium supplemented with glukosa. However, repressor CreA and other regulation factors CreB, CreC and CreD showed various responses. The promoter analysis revealed the presence of a repressor binding site, likely contributing to catabolite repression in this strain. This finding aligns with transcriptomic analysis results, which support phenotypic observations indicating that xylanase activity is subject to catabolite repression.

Keywords: filamentous fungi, endo-xylanase, β -xylosidase, carbon catabolite repression, RNA seecuening, transkriptomik