UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Diversity of Lignocellulose-Degrading Bacteria from the Gastro-Intestinal Tract of Bawean Deer (Axis kuhlii)**
Arief Muammar, Prof. Dr. Endah Retnaningrum, M.Eng.; Assoc. Prof. Dr. Clemens Karl Peterbauer; Prof. Dr. Budi Se
**Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/**

# ABSTRACT

Although several studies have examined the Bawean deer (*Axis kuhlii*), no research has characterized its gastro-intestinal tract (GIT) bacterial diversity or functional genes. Fecal samples from wild and captive Bawean deer were analyzed using full-length *16S rRNA* gene amplicon sequencing, PICRUSt2 functional prediction, shotgun metagenomics, functional metagenomics, and heterologous gene expression. Wild and captive deer displayed distinct gut microbial communities. Although species richness and diversity were similar between populations, beta-diversity analyses revealed significant differences in microbial composition and community heterogeneity. Across all samples, 1,138 bacterial species representing 23 phyla were identified, with Bacillota and Bacteroidota dominating the microbiome. Functional predictions indicated that genes involved in lignocellulose degradation, including *endoglucanases*, *β-glucosidases*, and *cellobiohydrolases*, were more abundant in wild deer, likely reflecting their more diverse, fiber-rich diet. Shotgun metagenomics generated over 600,000 contigs, yielding more than 83,000 annotated genes. CAZyme analysis identified diverse carbohydrate-active enzyme families, with GH13, GH3, GH5, and GH2 being the most abundant. Metagenomic screening detected 31 putative *endoglucanase* genes and 154 *β-glucosidase* genes. Using multiplex PCR, rolling-circle amplification, and heterologous expression in *Komagataella phaffii*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli*, we recovered several active enzymes, including five endoglucanases, three β-glucosidases, one cellobiohydrolase, and two aryl-alcohol dehydrogenases. Enzyme assays confirmed cellulose-degrading activity, demonstrating that the GIT microbiome of *A. kuhlii* harbors a valuable reservoir of lignocellulolytic enzymes. These findings provide the first characterization of the Bawean deer GIT microbiome and highlight its relevance for conservation and biomass-conversion applications.

Key words: lignocellulolytic enzymes, Bawean deer, gastro-intestinal tract (GIT), functional metagenomic

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Diversity of Lignocellulose-Degrading Bacteria from the Gastro-Intestinal Tract of Bawean Deer (Axis kuhlii)**
Arief Muammar, Prof. Dr. Endah Retnaningrum, M.Eng.; Assoc. Prof. Dr. Clemens Karl Peterbauer; Prof. Dr. Budi Se
**Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/**

# *INTISARI*

Meskipun telah dilakukan beberapa penelitian mengenai rusa Bawean (*Axis kuhlii*), belum ada penelitian yang mengarakterisasi keanekaragaman bakteri maupun gen fungsional pada saluran pencernaan (*gastro-intestinal tract*/GIT) spesies ini. Sampel feses dari rusa Bawean liar dan rusa Bawean dalam penangkaran dianalisis menggunakan sekuensing amplikon *full length* gen *16S rRNA*, prediksi fungsi berbasis PICRUSt2, *shotgun* metagenomik, metagenomika fungsional, dan ekspresi gen heterolog. Rusa liar dan rusa penangkaran menunjukkan komunitas mikroba GIT yang berbeda. Meskipun kekayaan dan keanekaragaman spesies relatif serupa antar populasi, analisis beta-diversitas mengungkapkan perbedaan yang signifikan dalam komposisi mikroba dan heterogenitas komunitas. Sebanyak 1.138 spesies bakteri yang mewakili 23 filum berhasil diidentifikasi dari seluruh sampel, dengan Bacillota dan Bacteroidota sebagai filum yang paling dominan. Prediksi fungsi menunjukkan bahwa gen-gen yang terlibat dalam degradasi lignoselulosa, termasuk *endoglukanase*, *β-glukosidase*, dan *selobiohidrolase*, lebih melimpah pada rusa liar, yang kemungkinan mencerminkan pola pakan alami yang lebih beragam dan kaya serat. Analisis metagenomika shotgun menghasilkan lebih dari 600.000 kontig dan lebih dari 83.000 gen yang berhasil dianotasi. Analisis CAZyme mengidentifikasi beragam famili enzim aktif karbohidrat, dengan GH13, GH3, GH5, dan GH2 sebagai famili yang paling melimpah. Analisis metagenomik mengidentifikasi 31 gen *endoglukanase* putatif dan 154 gen *β-glukosidase* putatif. Dengan memanfaatkan multipleks PCR, *rolling-circle* amplifikasi, dan ekspresi heterolog pada *Komagataella phaffii*, *Bacillus subtilis*, dan *Escherichia coli*, kami berhasil memperoleh beberapa enzim aktif, yaitu lima endoglukanase, tiga β-glukosidase, satu selobiohidrolase, dan dua aril-alkohol dehidrogenase. Uji aktivitas enzim mengonfirmasi kemampuan degradasi selulosa, yang menunjukkan bahwa mikrobioma GIT *A. kuhlii* merupakan sumber potensial enzim lignoselulolitik. Temuan ini merupakan karakterisasi pertama mikrobioma GIT rusa Bawean dan menegaskan potensinya bagi upaya konservasi maupun aplikasi konversi biomassa.

Kata kunci: enzim lignoselulolitik, rusa Bawean, *gastro-intestinal tract*/GIT, metagenomika fungsional