

# Amobilisasi Inulinase *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 Galur Lokal Indonesia dengan Matrik Karbon Aktif

Saryono, Henny Olivia R.M., Elvita Sepriana, Andi Dahliati, dan Chainulfiffah A.M.

Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Riau, Pekanbaru 28293

Diterima 12-01-2007

Disetujui 16-08-2007

## ABSTRACT

Two types of inulinase are produced by *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 within the 3<sup>rd</sup> and 5<sup>th</sup> days of fermentation. The optimum condition of two types of immobilized inulinase is achieved using 20 grams of activated carbon, 200 meshes with protein adsorption of 96.71% and 96.19% respectively. Following immobilization of inulinase, incubation was carried out for 30 hours to hydrolyze inulin. After incubation, the proteins retained on the matrix are 66.96% of the 3 days fermentation enzymes and 37.36% for 5 days of fermentation enzyme.

**Keywords:** carbon active, immobilize, inulin, inulinase.

## PENDAHULUAN

*Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 adalah kapang koleksi Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau. Kapang ini diisolasi dari umbi dahlia (*Dahlia variabilis*) yang berasal dari Brastagi Sumatra Utara. Hasil penelitian pendahuluan mendapatkan bahwa *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 selain memiliki aktivitas laktase juga aktivitas inulinase yang cukup tinggi (Saryono 2002).

Inulinase adalah enzim hidrolitik yang mengkatalisis reaksi hidrolisis polisakarida (polifruktosa) inulin menjadi fruktosa yang dikenal dengan sirup fruktosa (HFS) dan atau fruktooligosakarida (FOS). Polifruktosa inulin di Indonesia banyak ditemukan pada umbi dahlia yang sampai saat ini belum dimanfaatkan secara optimal. Selain itu, sampai saat ini Indonesia masih menjadi negara pengimpor gula termasuk fruktosa. Oleh sebab itu, riset tentang inulinase perlu terus dikembangkan agar pengaplikasiannya dapat lebih cepat diterapkan. Enzim ini dapat dihasilkan oleh bakteri, jamur, maupun tumbuh-tumbuhan. Pada penelitian ini produksi inulinase dilakukan dengan menggunakan kapang *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 dalam media yang mengandung inulin sebagai induser (Saryono *et al*, 1999).

Penggunaan enzim secara langsung memiliki beberapa kelemahan, seperti tercampurnya produk dengan reaktan dan memerlukan teknik pemisahan yang relatif rumit, penggunaan enzim hanya satu kali saja sehingga produksi menjadi lebih mahal. Salah satu

teknik untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan teknik amobilisasi enzim (Winarno 2002)

Enzim/sel amobil adalah suatu enzim yang secara fisik maupun kimia tidak bebas bergerak sehingga dapat dikendalikan atau diatur kapan enzim harus kontak dengan substratnya. Salah satu metode amobilisasi enzim adalah secara adsorpsi fisika, dimana enzim di jebak di dalam bahan pendukung yang tidak larut dalam air. Babarapa bahan pendukung (adsorben) yang dapat digunakan pada metode adsorpsi fisika adalah karbon aktif, gelas, tanah liat, alumina, silica gel, bentonite, kanji, tannin-aminohexyl cellulose, concanavalin A-sepharose (Chibata 1978; Mangunwidjayja *et al*, 1992).

Pada penelitian ini, inulinase dari *Aspergillus clavatus* Gmn11.3 diamobilisasi dengan metode adsorpsi fisika menggunakan karbon aktif sebagai matrik pendukung. Pemilihan matrik ini didasari karena inulin hanya dapat larut dalam air panas ( $\pm 80^{\circ}\text{C}$ ), oleh sebab itu dibutuhkan matrik yang relatif tahan panas seperti karbon aktif, agar reaksi hidrolisis dapat berlangsung lebih sempurna.

## BAHAN DAN METODE

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, Spektrofotometer genesis II keluaran Milton Roy Co. USA, Autoklaf 1925x, Laminar flow EHC3, pH meter 210 A Orion, penangas air, timbangan analitik, sentrifuga, Water Bath Shaker WS-120, kolom kromatografi bermantel berukuran 01x40 cm. Bahan yang digunakan adalah jamur *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 koleksi Lab. Biokimia FMIPA UNRI yang

diisolasi dari tanaman dahlia yang berasal dari daerah Brastagi. Bahan kimia: inulin, enzim inulinase, karbon aktif koleksi dari Lab. Kimia fisik FMIPA-UNRI dengan mesh  $85 < A < 200$ , kantong dialisis (MWCO 6000-8000, Reorder no 132665), Polietilen glikol 35000 (PEG 35000 yaitu PEG dengan bobot molekul 35000), dan bahan kimia lain adalah proanalisis, kecuali bila disebutkan lain.

**Tahapan Penelitian.** Penelitian ini merupakan riset eksploratif dimana pada pra-penelitian dilakukan untuk mengetahui produksi optimum enzim inulinase dari *Aspergillus clavatus* Gmm 11.3. Produksi dilakukan dalam media yang mengandung inulin sebagai inducer (Vandamme & Derycke 1983). Produksi enzim dan uji aktivitas inulinase berdasarkan penguraian inulin menjadi gula pereduksi diukur dengan metode Nelson Semogyi dengan kisaran waktu 1 sampai 6 hari (Alexander *et al*, 1985). Ekstrak enzim kasar dipekatkan dengan PEG, selanjutnya enzim diamobilkan dengan karbon aktif. Hidrolisis inulin oleh enzim amobil menggunakan kolom kromatografi bermantel dengan kecepatan alir eluen 1 ml/20 menit dan variasi suhu jaket air yang mengalir 40°C, 50°C, dan 60°C. Penentuan kadar protein yang terikat sebelum dan setelah proses hidrolisis didasarkan pada perhitungan protein yang tersisa dilarutan dengan metode Lowry.

**Pembuatan Medium Padat Potato Dextrose Agar (PDA) + inulin.** Kentang 200 gram diiris-iris dan dimasukkan ke dalam 500 ml aquades, dididihkan selama 20 menit, kemudian disaring dengan kain kasa. Filtrat yang diperoleh dicampurkan dengan dekstrosa 20 gram dan ditambahkan aquades hingga volume 1000 ml. Kemudian ditambahkan agar 20 gram dan dipanaskan sampai agarnya larut. Kemudian ditambahkan inulin 1% dalam bufer asetat 0,01 M pH 5 (Zul 1999). Sebanyak 5 ml cairan medium dimasukan ke dalam tabung reaksi tertutup disterilisasi pada tekanan 15 lb, 121°C selama 20 menit di dalam autoklaf. Selanjutnya tabung-tabung tersebut dimiringkan dan dibiarkan membeku.

**Pembuatan Medium Cair Untuk Produksi Enzim Inulinase.** Inulin 1% ditambah  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,05%,  $FeSO_4$  0,015%, NaCl 0,2%, dan Tempe 1% dilarutkan dalam 500 ml aquades dan pH diatur 5. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai volumenya 1000 ml. Medium ini dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer sebanyak 500 ml dan 50 ml dalam

erlenmeyer yang lain, dan disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 15 lb, 121°C selama 20 menit. Medium siap ditanami.

**Peremajaan jamur Hasil Isolasi (Saryono et al, 2002).** *Aspergillus clavatus* Gmm 11.3, diambil 1 ose secara aseptis, kemudian diinokulasikan pada medium agar miring, selanjutnya diinkubasikan pada temperatur kamar selama tiga hari.

**Produksi Enzim Inulinase.** Koloni yang tumbuh pada medium padat hasil peremajaan dari isolat jamur, diambil secara aseptis sebanyak 3 ose dan kemudian dimasukkan ke dalam 2 erlenmeyer 100 ml yang masing-masing berisi 50 ml medium cair. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator bergoyang berkecepatan 100 rpm, suhu 30°C, selama 3 hari. Setelah 3 hari masing-masing biakan/kultur ini diinokulasi secara aseptis ke dalam 2 erlenmeyer 1000 ml masing-masing berisi 500 ml medium cair dan diinkubasi dalam inkubator bergoyang, 1 erlenmeyer selama 3 hari dan erlenmeyer yang lain selama 5 hari sesuai dengan produksi optimum yang diperoleh dari pra penelitian. Setelah 3 hari dan 5 hari medium kultur ini dipisahkan dengan sentrifugas dingin, kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Supernatan disaring dengan filter glass fiber (Whatman GF/C) kemudian ditambah  $NaN_3$  sehingga konsentrasinya menjadi 0,02 % dalam larutan ekstrak enzim kasar. Ekstrak kasar enzim inulinase ditentukan aktivitasnya dengan metode Nelson- Somogyi ( Amos 1990) dan kadar protein dengan metode Lowry.

**Preparasi Tabung Dialisis.** Tabung dialisis sebanyak 2 buah disiapkan (ukurannya dapat disesuaikan dengan kebutuhan). Kemudian tabung-tabung tersebut dididihkan selama 10 menit (10 menit dalam keadaan mendidih) dalam 500 ml 2%  $NaHCO_3$  1 mM EDTA (pH 8,0). Selanjutnya dicuci tabung luar dan dalam dengan aquades dan kemudian dididihkan lagi 10 menit dalam 500 ml 1 mM EDTA (pH 8,0) yang baru. Kemudian disimpan tabung dialisis dalam gelas piala berisi 500 ml aquades dan 0,5 ml kloroform (sebagai bahan pengawet) di lemari es. Gelas piala ditutup dengan parafilm. Sebelum digunakan, bagian dalam dan luar tabung dicuci dengan aquades beberapa kali supaya betul-betul yakin tidak ada lagi kloroform yang mungkin menempel. Bisa dicuci dengan menggunakan Pasteur pipet dengan mengklemp bawahnya 4 kali, lalu dibiarkan berputar di aquades dalam gelas piala 500 ml.

**Pemekatan Enzim Menggunakan Polyetilen Glikol.** Ekstrak kasar enzim inulinase pada hari ke-3 dan ke-5 dipekatkan dengan PEG (BM 35.000) dengan menggunakan membran selofan. Membran selofan yang berisikan larutan enzim ini diletakkan diatas PEG dalam gelas piala. Kemudian dimasukkan dalam lemari es 3-4 jam. Apabila PEG tersebut telah basah maka PEG diganti dengan yang baru. Proses ini dihentikan setelah volume larutan enzim di dalam membran selofan telah berkurang/terpekatkan menjadi setengah sampai sepertiga bagian dari volume semula. Enzim inulinase yang sudah dipekatkan ditentukan aktivitasnya dengan metode Nelson-Somogyi dan kadar protein dengan metode Lowry.

**Amobilisasi Enzim Inulinase.** Enzim inulinase pada hari ke-3 dan ke-5 sebanyak 25 ml diencerkan sampai 100 ml dengan buffer asetat 0,01 M, pH 5. Larutan ini ditambahkan karbon aktif dan diaduk secara merata dengan pengaduk magnet, dilakukan pada suhu kamar selama 30 menit (Amos 1990). Jumlah karbon aktif divariasikan dari berat: 1 g; 2,5 g; 5 g; 15 g; 20 g; 25 g; 30 g; dan 35 g.

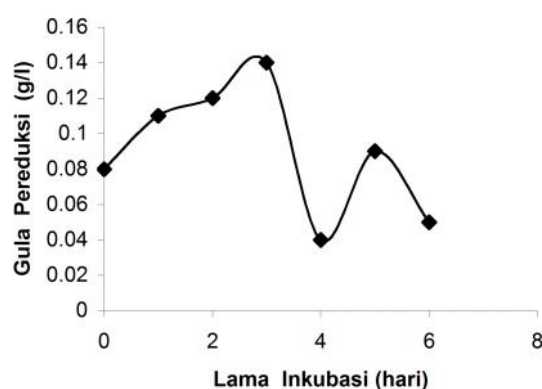
**Pengujian Protein Terikat.** Penentuan kadar protein yang terikat dan terlepas didasarkan pada perhitungan protein yang tersisa di larutan setelah proses amobilisasi dan hidrolisis ditentukan dengan metode Lowry seperti dilakukan sebelumnya oleh Amos (1990).

**Hidrolisis Inulin oleh Inulinase Amobil.** Enzim pada hari ke-3 dan ke-5 yang sudah diamobilkan dipreabsorpsi dengan buffer asetat 0,01 M pH 5, kemudian dituangkan kedalam kolom kromatografi sepanjang 20 cm secara perlahan-lahan kemudian enzim tersebut dielusi dengan buffer asetat 0,01 M pH 5. Sampel inulin dipreabsorpsi dengan buffer asetat 0,01 M pH 5 dan dimasukkan ke dalam kolom. Sampel dielusi dengan buffer asetat 0,01 M pH 5 dengan kecepatan alir eluen 1 ml/20 menit dengan variasi suhu jaket air yang mengalir 40°C, 50°C, 60 °C. Hasil fraksi tabung yang keluar ditampung sebanyak 3 ml dalam setiap vial. Hasil hidrolisis ditampung dalam 10 vial, kemudian ditentukan aktivitasnya dengan metode Nelson-Somogyi dan kadar protein dengan metode Lowry dari masing-masing vial (Alexander *et al*, 1985).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi inulinase oleh *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 menghasilkan dua puncak aktivitas, yaitu setelah 3 hari fermentasi dan 5 hari fermentasi (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan bahwa *Aspergillus clavatus* memproduksi dua jenis inulinase. Studi pendahuluan oleh Saryono (2002) menunjukkan bahwa kedua enzim ini memiliki berat molekul yang berbeda yaitu 65,2 dan 62,4 kDa, tetapi belum diketahui apakah kedua enzim ini memiliki tipe yang berbeda (ekso atau endoinulinase). Hasil ini sejalan dengan penelitian Ettalibi & Barrati (1987), yang menemukan endo dan eksoinulinase dari *Aspergillus ficuum*. Nakamura *et al*, 1994 mengisolasi dua tipe endoinulinase dari *Aspergillus niger* mutan 817.

Ekstrak enzim ekstraselular hasil fermentasi hari ke-3 dan hari ke-5 dipekatkan dengan menggunakan Polietilen Glikol untuk mendapatkan aktivitas enzim yang lebih tinggi. Setelah pemekatan aktivitas enzim naik 200%, seperti dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Produksi Inulinase dari *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3

Tabel 1. Aktivitas inulinase yang dihasilkan

Ekstrak enzim	Akt. (unit)	Kons. Prot. (mg/ml)	Tot. Akt. (unit)	Total Prot. (mg/ml)	Akt. Sp. (U/mg)
Hari ke-3					
a. Ekstrak kasar (400 ml)	0,10	0,447	40	190,8	0,2096
b. Hasil pemekatan (200 ml)	0,3	1,347	60	269,4	0,2227
Hari ke-5					
a. Ekstrak kasar (400 ml)	0,05	0,232	20	92,8	0,2155
b. Hasil pemekatan (200 ml)	0,15	0,645	30	129,0	0,2325

Ket. 1 unit aktivitas = jumlah enzim yang dapat menghasilkan 1 m Mol fruktosa/jam

Kadar protein terikat pada matrik arang aktif optimum pada penambahan 30 g arang aktif untuk enzim hari ke-3 dan 15 g untuk enzim hari ke-5, seperti ditunjukkan pada Tabel 2 dan Tabel 3. Perbedaan konsentrasi arang aktif ini disebabkan karena kadar protein dan berat molekul kedua enzim ini juga berbeda yaitu 33666,66 µg pada hari ke-3 dan 16051,28 µg pada hari ke-5. Hal ini mendekati hasil penelitian Amos (1990) yang mendapatkan bahwa berat optimum karbon aktif untuk mengikat protein sebanyak 16307 µg adalah 15 g karbon aktif. Pada Tabel 2 dan 3 dapat dilihat bahwa jumlah protein terikat bertambah dengan meningkatnya jumlah karbon aktif yang ditambahkan, sampai pada konsentrasi tertentu (30 g pada enzim hari ke-3 dan 15 g pada enzim hari ke-5) kenaikan adsorpsi mencapai kejenuhan.

Hidrolisis inulin menggunakan kolom inulinase amobil dengan kecepatan alir 1 ml/20 menit dan suhu divariasikan 40°C, 50°C, dan 60°C. Enzim inulinase hari ke-3 dan hari ke-5 mencapai optimum pada suhu 50°C, masing-masing pada fraksi ke-4. Suhu 40°C belum mampu mencapai hidrolisis maksimum. Hasil penelitian Saryono *et al.*, (2002), mendapatkan suhu optimum enzim inulinase dari *Aspergillus clavatus* tanpa amobilisasi adalah 50°C. Dalam hal ini tidak terdapat perbedaan suhu optimum enzim bebas dengan enzim yang diamobilisasi.

**Kadar protein terikat setelah hidrolisis.** Setelah penggunaan kolom enzim amobil untuk menghidrolisis inulin selama 30 jam, 33,02% protein enzim hari ke-3 terlepas dari matriknya sedangkan enzim hari ke-5 dengan perlakuan yang sama terlepas lebih banyak yaitu 62,59%. Ikatan enzim dengan matrik amobil relatif lemah, oleh sebab itu pada saat elusi kolom protein enzim ikut terlepas bersama dengan produk. Perbedaan daya ikat enzim hari ke-3 dan hari ke-5 diduga karena ukuran molekul kedua enzim ini berbeda, sehingga mempengaruhi daya ikatnya terhadap matrik arang aktif.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa enzim inulinase hari ke-3 yang telah diamobilisasi dengan karbon aktif dapat dipergunakan untuk menghidrolisis inulin secara kontinyu dengan waktu alir 1 ml/20 menit dengan suhu 50°C sebanyak 3 kali, dengan perkiraan setiap kali hidrolisis 10,08% enzim telah terlepas dari matriknya. Sedangkan enzim inulinase hari ke-5 dengan perlakuan yang sama hanya dapat dipergunakan

Tabel 2. Rata-rata protein inulinase hari ke 3 yang terikat karbon aktif

Karbon aktif (g)	Protein terikat (µg) <sup>*)</sup>	Persen terikat (%) <sup>*)</sup>
1	13239,32 <sup>a</sup> ± 46,22	38,75 <sup>a</sup> ± 0,11
2	22547,01 <sup>b</sup> ± 46,22	65,94 <sup>b</sup> ± 0,15
5	26213,68 <sup>c</sup> ± 33,92	76,65 <sup>c</sup> ± 0,10
10	26811,96 <sup>d</sup> ± 55,14	78,43 <sup>d</sup> ± 0,12
15	30632,47 <sup>e</sup> ± 51,28	89,56 <sup>e</sup> ± 0,15
20	33042,73 <sup>f</sup> ± 40,54	96,60 <sup>f</sup> ± 0,00
25	33213,67 <sup>g</sup> ± 94,55	98,50 <sup>g</sup> ± 0,15
30	33666,66 <sup>h</sup> ± 53,91	99,98 <sup>h</sup> ± 0,06
35	33666,66 <sup>h</sup> ± 53,91	99,98 <sup>h</sup> ± 0,06

<sup>\*)</sup>Harga rata-rata dengan pangkat huruf yang sama tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% (P>0,05) berdasarkan test Duncan jarak berganda, sedangkan pangkat huruf berbeda adalah berbeda secara nyata.

Tabel 3. Rata-rata protein inulinase hari ke 5 yang terikat karbon aktif

Karbon aktif (g)	Protein terikat (µg) <sup>*)</sup>	Persen terikat (%) <sup>*)</sup>
1	6239,32 <sup>a</sup> ± 71,37	38,75 <sup>a</sup> ± 0,26
2	10538,46 <sup>b</sup> ± 66,62	63,58 <sup>b</sup> ± 0,46
5	12341,88 <sup>c</sup> ± 40,54	74,43 <sup>c</sup> ± 0,17
10	15982,91 <sup>d</sup> ± 39,52	96,30 <sup>d</sup> ± 0,00
15	16051,28 <sup>e</sup> ± 29,92	99,95 <sup>e</sup> ± 0,16
20	16051,28 <sup>e</sup> ± 29,92	99,95 <sup>e</sup> ± 0,16
25	16051,28 <sup>e</sup> ± 29,92	99,95 <sup>e</sup> ± 0,16

<sup>\*)</sup>Harga rata-rata dengan pangkat huruf yang sama tidak berbeda secara nyata pada tingkat 5% (P>0,05) berdasarkan test Duncan jarak berganda, sedangkan pangkat huruf berbeda adalah berbeda secara nyata.

sebanyak 2 kali dengan perkiraan sekali hidrolisis protein yang terlepas dari matrik karbon aktif 20,80%.

## KESIMPULAN

Inulinase dari *Aspergillus clavatus* Gmn 11.3 dapat diamobilisasi dengan menggunakan arang aktif dengan ukuran 200 mesh sebagai matrik, dimana lebih dari 96% protein enzim inulinase dapat terikat dengan baik pada matrik. Berat karbon aktif optimum yang dibutuhkan untuk proses amobilisasi inulinase hari ke-3 dengan kadar protein 33,66 mg adalah 30 g, sedangkan inulinase hari ke-5 dengan kadar protein 16,06 mg membutuhkan arang aktif 15 g. Hidrolisis inulin menggunakan kolom enzim amobil, mencapai optimum pada suhu 50°C dengan kecepatan alir 1 ml/20 menit. Setelah penggunaan kolom enzim amobil selama 30 jam, sebanyak 66,96% protein enzim hari ke-3 masih terikat pada matrik, sedangkan enzim hari ke-5 pada kondisi yang sama yang terikat hanya 37,36%. Hal ini menunjukkan bahwa enzim pada hari

ke-3 terikat lebih baik pada matrik arang aktif dibandingkan dengan enzim hari ke-5.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau atas bantuan fasilitas yang digunakan untuk penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alexander R.R., Griffith, J.M., & Wilkinson, M.L.** 1985. *Basic Biochemical Methods*. Singapore: John Willey & Sons.
- Amos.** 1990. Amobilisasi enzim invertase dengan menggunakan karbon aktif. *Skripsi S1*. Pekanbaru: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Riau.
- Chibata, I.** 1978. *Immobilized Enzyme: research and development*. Tokyo: Kodansha Ltd.
- Ettalibi M. & Barrati, J.C.** 1987. Purification, properties, and comparison of Invertase, exoinulinase, and endoinulinase of *Aspergillus ficuum*. *J. Appl. Microbiology-Biotechnology* **26(1)**: 13-20.
- Mangunwidjaja, D., Suprihatin, & Sunarti, T.C.** 1992. Pendayagunaan inulin dahlia (*Dahlia pinnata*) untuk ultra high fructose sirup dengan teknik imobilisasi sel *Kluyveromyces marxianus* dan enzim inulinase. *Laporan Penelitian. Fakultas Teknologi Pertanian*. Bogor: IPB.
- Nakamura T., Nagatomo, Y., Hamada, S., Nisino, Y., & Ohta, K.** 1994. Occurance of two form of extracellular endoinulinase from *Aspergillus niger* mutant 817. *Journal of Fermentation and Biotechnology* **78(2)**: 134-139.
- Saryono, Soekartadireja, E.M., Supriatna, & Hadiman, H.R.** 1999. Identifikasi jamur penghasil enzim inulinase pada rizosfir umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). *Kongres HITI VII*. Bandung.
- Saryono.** 2002. Pemurnian dan penentuan beberapa sifat inulinase ekstraselular dari isolat jamur lokal yang tumbuh pada umbi dahlia (*Dahlia variabilis*). *Disertasi Pasca Sarjana*. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Saryono, Martina, A., & Chainulfifah.** 2002. Isolasi dan karakterisasi jamur penghasil inulinase yang tumbuh pada umbi dahlia. *Jurnal Natur Indonesia*. **4(2)**: 171-177.
- Vandamme, E.J. & Derycke, D.G.** 1983. Microbial inulinases process, properties and applications. *Adv. Appl. Microb.* **29**: 139-176.
- Winarno, F.G.** 1983. *Enzim Pangan*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia.
- Zul, D.** 1999. Produksi, purifikasi dan karakterisasi inulinase rizosfer Dahlia pinnata. *Tesis Pasca Sarjana*. Yogyakarta: Program Studi Bioteknologi Jurusan Antar Bidang UGM.