

ISOLASI BAKTERI ASAL SALURAN PENCERNAAN RAYAP PEKERJA (*Macrotermes* spp.)

Nur Antriana¹⁾

Program Studi Keperawatan, STIKES Harapan Ibu Jambi, Indonesia

Abstrak: Rayap merupakan salah satu makroinvertebrata yang paling melimpah dan memainkan peran yang penting dalam ekologi di ekosistem tropis. Rayap mampu mendegradasi selulosa karena pada saluran pencernaannya terdapat mikroorganisme simbiosis seperti bakteri dan protozoa. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit yang bersimbiosis dengan rayap, kemudian dilakukan karakterisasi morfologi, fisiologi dan biokimia. Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif. Rayap yang digunakan dalam penelitian ini merupakan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.) yang diambil dari tanah. Isolasi dilakukan melalui dua cara yaitu tusuk dan gerus. Isolat tunggal yang diperoleh kemudian diinokulasikan pada media agar miring TSA untuk dilakukan uji fisiologis berupa uji indol, MR-VP, simmon sitrat, urease, fermentasi, katalase, oksidase, TSIA. Hasil isolasi diperoleh dua isolat yaitu isolat a dan isolat b. Isolat a berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi perifer, tepi luar koloni *entire* tegas dan nyata dengan elevasi rata sedangkan isolate b berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi perifer, tepi luar koloni *undulate* bergelombang dengan elevasi cembung. Hasil uji biokimia dan fisiologi isolat a uji indol negatif, MR negatif, VP negatif, simmon sitrat positif, urease positif, fermentasi positif, katalase positif, oksidase negatif, TSIA negatif sedangkan untuk isolat b uji indol negatif, MR positif, VP negatif, simmon sitrat negatif, urease positif, fermentasi positif, katalase positif, oksidase negatif, TSIA negatif.

Kata Kunci: Bakteri, Saluran Pencernaan, Rayap Pekerja, *Macrotermes* spp.

PENDAHULUAN

Mikroba memainkan peran penting dalam banyak sistem ekologi. Contohnya adalah hubungan simbiosis antara jamur dan sistem akar tanaman, degradasi organik oleh bakteri di perairan alami dan pencernaan selulosa oleh bakteri dalam saluran pencernaan hewan. Saluran pencernaan menyediakan lingkungan yang terpisah untuk studi ekologi mikroba (Cruden & Markovetz, 1987).

Rayap termasuk ke dalam Ordo Isoptera yang terdiri atas enam family, yaitu Mastotermitidae, Kalotermitidae, Hodotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae, dan Termitidae (Krishna & Weesner, 1969). Rayap mampu mendegradasi selulosa karena pada saluran pencernaannya terdapat mikroorganisme simbiosis seperti bakteri dan protozoa. Bakteri simbiosis yang paling banyak ditemukan pada usus belakang rayap pekerja *C. curvignathus* Holmgren yakni dari genera *Flavobacterium* dan *Enterobacter*.

Seperti pada rumen ruminansia, keberadaan mikroorganisme di dalam usus rayap merupakan suatu bentuk interaksi yang menguntungkan (simbiosis mutualisme). Rayap memberikan perlindungan berupa tempat yang anaerob dan makanan bagi mikroorganisme.

e-mail : antreemik12@gmail.com

P-ISSN: 1411-5433

E-ISSN: 2502-2768

© 2014 Saintifika; Jurusan PMIPA, FKIP, Universitas Jember

<http://jurnal.unej.ac.id/index.php/STF>

Di lain pihak mikroorganisme menyumbang enzim selulase untuk pencernaan rayap. Namun masing-masing mikroorganisme mempunyai peran yang berbeda dalam mencerna selulosa tergantung kepada kelas rayap, dimana mikroorganisme tersebut berdiam. Pada rayap kelas tinggi bakteri menjadi mikroba dominan dalam mencerna pakan (Breznak, 1982).

Saluran pencernaan rayap terdiri atas usus depan, usus tengah, dan usus belakang. Usus belakang merupakan tempat bagi sebagian besar simbiosis (Scharf & Tartar, 2008). Rayap bergantung pada mikroorganisme usus untuk pencernaan selulosanya. Mikroorganisme yang bersimbiosis dalam usus rayap memainkan fungsi fisiologis utama seperti pencernaan selulosa dan hemiselulosa, asetogenesis, hidrogenesis, metanogenesis, reduksi sulfat, dan fiksasi nitrogen (Trakunaleamsai *et al.* 2004). Selain itu, mikroba usus menciptakan kondisi yang sesuai untuk bersimbiosis melalui produksi nutrisi dan pemeliharaan pH serta kondisi anaerobik dalam usus. Meskipun penelitian yang ekstensif telah dilakukan pada hubungan simbiosis dari rayap dan mikroba yang ditemukan dalam ususnya, hanya sedikit informasi yang tersedia mengenai peran bakteri anaerob fakultatif dalam usus rayap tersebut sehingga dirasa perlu untuk melakukan penelitian ini.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA IPB bulan Desember 2014. Rayap yang digunakan dalam penelitian ini merupakan rayap pekerja (*Macrotermes* spp) yang diambil dari tanah. Isolasi dilakukan melalui dua cara yaitu tusuk dan gerus. Isolasi dengan cara tusuk dilakukan dengan cara menusuk bagian abdomen rayap menggunakan jarum inokulasi kemudian digores secara kuadran pada media EMB sedangkan isolasi dengan cara gerus dilakukan dengan cara, sebanyak 10 ekor rayap dimasukkan ke dalam larutan garam fisiologis steril selanjutnya digerus menggunakan spatula hingga hancur kemudian inokulasikan pada media EMB dengan cara kuadran. Media yang telah diinokulasikan kemudian di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Isolat tunggal yang diperoleh kemudian diinokulasikan pada media agar miring TSA untuk dilakukan uji fisiologis berupa uji indol, MR-VP, simmon sitrat, urease, fermentasi, katalase, oksidase, TSIA.

Uji MR-VP (*Methyl Red Voges-Proskauer*) dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi (Sunatmo, 2007). Satu lup biakan bakteri diinokulasikan pada media cair MR-VP 2,5 mL (sebanyak 2 tabung reaksi) dan diinkubasi selama 48 jam. Setelah 48 jam

inkubasi, tabung reaksi MR ditambahkan 3-4 tetes Merah Metil. Uji positif ditandai dengan warna larutan yang berubah menjadi warna merah yang menandakan fermentasi asam campuran, sedangkan tabung reaksi VP ditambahkan 10 tetes larutan A (α -naphthol) dan ditambahkan 10 tetes larutan B (KOH). Selanjutnya tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama 20-30 detik, dan uji positif ditandai dengan larutan berwarna merah muda yang menandai asam.

Uji TSIA dilakukan dengan menggoreskan biakan dengan ose steril pada media TSIA dengan cara menusuk ose sampai sepertiga dasar tabung. Kemudian diangkat dan digores secara zig zag pada permukaannya setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Uji indol dilakukan dengan menggunakan ose steril, diambil sebagian koloni dari TSA miring lalu diinokulasikan pada media indol dengan cara diaduk, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam ditambahkan reagen kovac sebanyak 1-2 tetes. Uji Simmon sitrat dilakukan dengan menggunakan ose steril, diambil biakan dari NA miring, lalu ditanam pada media *Simmon's citrat* dengan cara digores secara zig zag pada permukaannya, setelah itu diinkubasi selama 24 jam. Uji urease dilakukan dengan cara menusuk ose sampai sepertiga dasar tabung, kemudian diinubasi selama 24 jam. Langkah pertama pada uji fermentasi glukosa adalah sebanyak satu lup inokulasi biakan bakteri diinokulasikan pada media PRGB (*Phenol Red Glucose Broth*) 85 mL yang telah diberi tabung Durham sampai tidak ada gelembung. Media PRGB stok 1 liter mengandung trypton 10 g, glukosa 5 g, NaCl 5 g, dan *Phenol Red* 0,018 g. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan pengamatan terhadap perubahan warna dan ada tidaknya gelembung. Warna merah menandakan asam, dan warna merah kuning menandakan basa. Ada tidaknya gelembung menandai CO_2 hasil fermentasi.

Uji oksidase dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke *oxidase strip*, pengamatan dilakukan beberapa menit hingga terjadi perubahan warna, reaksi positif apabila terjadi perubahan warna biru pada kertas *oxidase strip*. Uji katalase dilakukan dengan cara meneteskan beberapa tetes H_2O_2 di atas kaca preparat kemudian isolat diinokulasikan pada H_2O_2 pengamatan dilakukan hingga beberapa menit hingga terdapat perubahan. Uji positif untuk uji katalase ditandai dengan adanya gelembung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rayap merupakan salah satu makroinvertebrata yang paling melimpah dan memainkan peran yang penting dalam ekologi di ekosistem tropis. Famili Termitidae yang lebih tinggi yaitu rayap tanah mengkonsumsi bahan organik tanah yang sangat berperan dalam tahap humifikasi (Wagner *et al.* 2003). Rayap memiliki kelimpahan dan keragaman bakteri yang bersimbiosis pada saluran pencernaannya khususnya bagian usus. Sampai saat ini telah banyak bakteri yang berhasil diisolasi dari rayap dan sebagian besar merupakan bakteri yang mampu mendekomposisi lignoselulosa, *uric acid*, dan senyawa aromatik lainnya, berperan sebagai penambat nitrogen, dan H_2/CO_2 -*acetogens*. Namun jika bakteri tersebut dikulturkan pada media hanya 10% yang mampu hidup sehingga informasi dasar mengenai sebaran, struktur komunitas dan kekerabatan antar bakteri masih sangat kurang dapat dipahami (Trakunleamsai *et al.* 2004).

Isolasi bakteri asal saluran pencernaan rayap dilakukan dengan menggunakan media EMB. Media ini mampu membedakan koliform dengan bakteri asal saluran pencernaan rayap lainnya. Koliform tampak pada media dengan warna koloni hijau atau putih metalik. Bakteri yang terpisah oleh gores kuadran dan bukan merupakan koliform diambil untuk dimurnikan serta dilakukan pengujian fisiologis. Hasil isolasi bakteri pada media EMB yang telah murni dan diinokulasikan pada media TSA disajikan pada gambar di bawah ini.




Gambar 1. Isolat murni bakteri pada rayap a) Isolasi secara tusukan langsung pada usus dan b) Isolasi secara gerus pada beberapa tubuh rayap

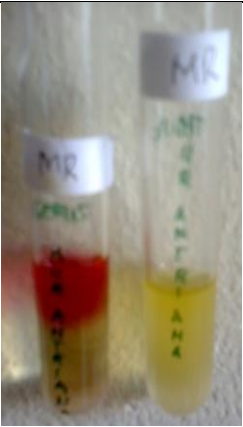



Kedua isolat diatas menunjukkan morfologi koloni yang berbeda, pada gambar a isolat berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi perifer, tepi luar koloni *entire* tegas dan nyata dengan elevasi rata. pada gambar b isolat berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi perifer, tepi luar koloni *undulate* bergelombang dengan elevasi cembung.


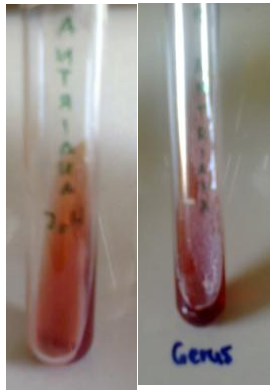


Lignoselulosa adalah suatu campuran dari tiga polimer yang dihasilkan tanaman yaitu selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Selulosa adalah polimer glukosa yang terikat oleh ikatan β -1,4 dan terikat bersama dengan hemiselulosa (Scharf & Tartar 2008). Komposisi selulosa berkisar antara 40-50% dari komposisi total penyusun dinding sel tumbuhan (Koolman, 2001).

Degradasi lignoselulosa salah satunya membutuhkan enzim selulase dan xilanase. Kedua enzim ini berasal dari mikroorganisme pada saluran pencernaan rayap. Selulase adalah kompleks enzim yang mampu mendegradasi selulosa. Menurut Taherzadeh dan Karimi (2007), Selulase merupakan enzim ekstraseluler yang terdiri atas kompleks endo- β -1,4-glukanase (endoglukanase), kompleks ekso- β -1,4-glukanase (eksoglukanase) yang terdiri dari *cellobiohydrolase* (EC 3.2.1.91) atau *cellodextranase* (EC 3.2.1.74), dan β -glukosidase (EC 3.2.1.21). Endoglukanase aktif dalam menghancurkan kristal atau selulosa murni. Eksoglukanase menghidrolisis selulosa non-kristal atau turunan selulosa terlarut. β -1,4-glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa (Wood & Garcia-Campayo, 1990). Hasil uji disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Hasil uji fisiologis bakteri usus rayap yang diisolasi secara tusukan dan gerus

Nama Uji	Hasil Uji				Gambar	Keterangan
	Tusuk		Gerus			
	(a)	(b)	(a)	(b)		
	+	-	+	-		
VP		√		√		Terbentuk cincin merah jika positif

MR	√	√		Terbentuk cincin merah jika positif
Urease	√	√		Warna media berubah menjadi pink sampai ungu.
Fermentasi Glukosa	√	√		Reaksi positif apabila terjadi perubahan warna menjadi orange hingga kuning dan apabila terbentuk gelembung pada tabung durham. Untuk isolate tusuk terjadi perubahan warna dan gelembung sedangkan gerus hanya perubahan warna
Indol	√	√		Terbentuk cincin merah jika positif

Simon Sitrat	√	√		Warna media berubah menjadi biru.
TSIA	√	√		Warna media berubah menjadi coklat tua.
Katalase	√	√		Terbentuk gelembung jika positif
Oksidase	√	√		Terjadi perubahan warna pada kertas oksidase menjadi biru jika reaksi positif

Uji fisiologis dilakukan untuk mengetahui kemampuan fisiologi bakteri selulolitik yang diperoleh. Hasil uji MR-VP menunjukkan negatif kecuali isolat gerus yang menghasilkan reaksi positif pada uji MRnya karena warna akhir yang ditunjukkan adalah merah atau merah muda. Hal tersebut mengindikasikan bahwa bakteri selulolitik hasil isolasi secara gerus mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam secara sempurna. Menurut Sunatmo (2007), uji MR-VP bertujuan mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan menghasilkan asam sebagai produk akhir dan berkonsentrasi tinggi. Uji Voges Proskauer ditujukan untuk mengevaluasi kemampuan organisme menghasilkan substansi non asam atau produk akhir netral seperti asetilmetil karbonil dari asam organik sebagai hasil metabolisme glukosa. Uji berikutnya yakni TSIA yang bertujuan untuk

membedakan berbagai genus Enterobacteriaceae yang kesemuanya adalah bakteri Gram negatif yang mampu memfermentasi glukosa dengan menghasilkan asam dan juga dapat membedakan Enterobacteriaceae dari Basillus usus lain yang Gram negatif. Hasil uji pada kedua isolat baik tusuk maupun gerus menunjukkan bagian agar merah juga bagian bawah atau tidak ada perubahan pada bagian bawah (jingga-merah). Hal ini mengindikasikan fermentasi karbohidrat tidak berlangsung tetapi katabolisme pepton terjadi dalam lingkungan anaerobik atau aerobik menghasilkan reaksi alkalin akibat produksi amonia. Apabila degradasi proton berlangsung secara aerobik maka reaksi alkalin tampak pada bagian agar miring sedangkan pada pemanfaatan aerobik dan anaerobik dari pepton maka reaksi terlihat pada bagian agar miring dan bagian bawah agar.

Uji keempat ialah uji produksi indol yang ditujukan untuk mengetahui kemampuan mikroba mendegradasi asam amino triptofan. Hasil uji pada kedua isolat baik tusuk maupun gerus menunjukkan hasil yang negatif yang artinya isolat yang diperoleh tidak memiliki kemampuan menghidrolisis triptofan. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan medium, sedangkan reaksi negatif ditandai dengan terbentuknya cincin kuning. Uji indol digunakan untuk mengetahui adanya enzim triptofanase pada bakteri yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat. Asam amino triptofan merupakan asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi. Adanya indol dapat dideteksi dengan menggunakan reagen Kovac's yang akan membentuk lapisan atau cincin merah pada permukaan medium. Warna tersebut terbentuk karena indol yang berada dalam medium diekstrak ke dalam lapisan reagent oleh komponen asam butanol dan membentuk kompleks dengan p-dimethylaminobenzaldehyde (Cappuccino & Sherman, 2005).

Uji kelima ialah uji fermentasi glukosa. Selama proses inkubasi, karbohidrat yang difermentasi akan menghasilkan asam yang menyebabkan indikator *brom cresol purple* (bcp) berubah dari warna ungu menjadi kuning dan dapat pula diikuti dengan pembentukan gas dalam tabung durham (reaksi positif), bila tidak terjadi perubahan warna medium maka reaksi negatif. Hasil praktikum pada kedua isolat baik tusuk maupun gerus menunjukkan reaksi positif pada isolate tusuk dan negatif pada isolat gerus, dikarenakan warna yang ditunjukkan pada isolate tusuk kuning sempurna disertai dengan gelembung yang banyak pada tabung durham hal ini mengindikasikan bahwa glukosa dapat terfermentasi secara sempurna pada

kondisi anaerob. Sedangkan pada isolat gerus warna media tidak kuning sempurna melainkan merah mendekati kekuningan dan tidak ada gelembung-gelembung yang terbentuk pada tabung Durham sangat kecil. Hal tersebut mengindikasikan bahwa glukosa tidak dapat terfermentasi secara sempurna.

Uji keenam ialah uji *Simmone citrate*. Sitrat merupakan salah satu komponen utama dalam siklus Krebs yang merupakan hasil reaksi antara asetil koenzim A (CoA) dengan asam oksaloasetat (4C). Sitrat dibuat oleh enzim sitrase yang menghasilkan asam oksaloasetat dan asetat kemudian melalui proses enzimatik diubah menjadi asam piruvat dan karbon dioksida. Selama reaksi tersebut medium menjadi bersifat alkali (basa) karena karbondioksida yang berikatan dengan sodium (Na) dan air (H₂O) membentuk sodium karbonat (Na₂CO₃). Adanya sodium karbonat inilah yang akan mengubah indikator *bromthymol blue* pada medium menyebabkan medium berubah warna dari hijau menjadi biru tua (biru prusia) (Cappuccino & Sherman, 2005). Hasil uji pada kedua isolat baik tusuk maupun gerus menunjukkan hasil yang positif pada isolat tusuk karena terjadi perubahan warna media setelah inkubasi selama 24 jam. Uji ketujuh ialah uji urease. Reaksi positif ditandai dengan perubahan medium menjadi merah muda (sangat merah muda). Perubahan warna dapat terjadi saat enzim urease memutuskan ikatan karbon dan nitrogen untuk membentuk amoniak. Adanya amoniak menyebabkan suasana medium menjadi alkali/basa sehingga indikator *phenol red* akan berubah menjadi merah muda pada medium, hal ini mengindikasikan terjadinya reaksi positif atau dihasilkannya urease (Cappuccino & Sherman, 2005). Hasil uji menunjukkan hasil yang positif pada kedua isolat karena pada media terbentuk warna merah muda setelah inkubasi selama 24 jam.

Selama respirasi aerobik, mikroba menghasilkan hydrogen peroksida yang dalam kasus tertentu merupakan superoksida yang sangat toksik. Akumulasi senyawa ini dapat menyebabkan kematian bila tidak segera didegradasi. Senyawa ini dihasilkan bila mikroba aerobik, anaerobik dan mikroaerofilik menggunakan lintasan respirasi aerobik dengan oksigen sebagai akseptor elektronnya dan selama degradasi karbohidrat untuk menghasilkan energi. Mikroba yang menghasilkan katalase dapat segera mendegradasi hydrogen peroksida. Mikroba aerobik yang tidak memiliki katalase dapat mendegradasi terutama superoksida toksik dengan enzim superoksida dismutase dan produk akhir adalah H₂O₂ yang kurang toksik dibanding superoksida lainnya. Produksi katalase dapat dibuktikan dengan menambahkan substrat H₂O₂ ke dalam kultur media miring TSA. Dengan adanya katalase maka timbul gelembung gas dari

oksigen bebas. Hasil uji pada praktikum ini menunjukkan reaksi yang positif pada kedua isolat.

Oksidase merupakan enzim yang sangat berperan penting dalam proses transport elektron selama respirasi aerobik. Sitokrom oksidase menghasilkan oksidasi sitokrom tereduksi oleh oksigen molecular menghasilkan H_2O_2 atau H_2O . Uji oksidase membantu membedakan bakteri genus *Neisseria* dan *Pseudomonas* yang sama-sama oksidase positif dan Enterobacteriaceae yang oksidase negative. Hasil uji oksidase pada kertas strip pada kedua isolate menghasilkan reaksi negative karena setelah bakteri diinokulasikan tidak terjadi perubahan warna menjadi biru pada *oxidase strip*. Hasil uji fisiologis yang dilakukan tidak cukup untuk menduga jenis bakteri asal saluran pencernaan rayap. Perlu dilakukan pengamatan morfologi, atau analisa molekuler untuk mengetahui jenis bakterinya. Secara umum, bakteri asal saluran pencernaan merupakan mikroorganisme simbiosis beserta fungi dan protozoa.

SIMPULAN

Dua isolat berhasil diisolasi yaitu isolat a dan isolat b. Isolat a berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi periferal, tepi luar koloni *entire* tegas dan nyata dengan elevasi rata sedangkan isolate b berwarna putih dengan bintik hitam di tengah, berbentuk sirkular dengan tepi periferal, tepi luar koloni *undulate* bergelombang dengan elevasi cembung. Hasil uji biokimia dan fisiologi isolat a uji indol negatif, MR negatif, VP negatif, simmon sitrat positif, urease positif, fermentasi positif, katalase positif, oksidase negatif, TSIA negatif sedangkan untuk isolat b uji indol negatif, MR positif, VP negatif, simmon sitrat negatif, urease positif, fermentasi positif, katalase positif, oksidase negatif, TSIA negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, L., Boopathy R. 2005. Isolation and characterization of enteric bacteria from the hindgut of Formosan termite. *Bioresour Technol.* 96(14):1592-8.
- Breznak, J.A. 1982. Intestinal mikrobiota of termites and other xylophagous insect. *Annual Review Microbiology.* 36: 323-343.
- Cappuccino. J. C, Sherman. N. 2005. *Microbiology-A laboratory Manual.* 6thEd., Pearson Education (Singapore), Indian branch, Dehli, India, pp: 280-285.
- Cruden, D.L., Markovetz, A.J. 1987. Microbial ecology of the cockroach gut. *Annual Review of Microbiology.* 41:617-643.

- Koolman, R. 2001. *Biokimia Atlas Berwarna Dan Teks*. Jakarta (ID): Hipokrates.
- Krishna, K., Weesner, F.M. 1969. Editor. *Biology of Termites*. Volume ke-1. New York (US): Academic Press. Hlm 1-17.
- Scharf, M.E., Tartar, A. 2008. Termite digestomes as sources for novel lignocellulases. *Biofuels Bioprod Bioref.* 2:540-552.
- Sunatmo, T.I. 2007. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Jakarta: Ardy Agency.
- Taherzadeh, M.J., Karimi, K. 2007. Enzyme-Based Hydrolysis Processes for Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review. *Bio Resources.* 2(4): 707-738.
- Trakulnaleamsai, S., Yuichi, H., Deevong, P., Noparatnaraporn, N. 2004. Phylogenetic Diversity of Bacterial Symbionts in the Guts of Wood-Feeding Termites. *Kasetsart J (Nat Sci)*. 38: 45 – 51.
- Wagner, D.S., Friedrich, M.W., Wagner, B., Brune, A. 2003. Phylogenetic Diversity, Abundance, and Axial Distribution of Bacteria in the Intestinal Tract of Two Soil-Feeding Termites (*Cubitermes* spp.). *Appl Environ Microbiol.* 69(10): 6007–6017.
- Wood, T.M., Garcia-Campayo, V. 1990. Enzymology of cellulose degradation. *Biodegradation.* 1:147-161.