

Final report for the Science Fund for the project entitled:

**Bioconversion of Palm Kernel Cake (PKC) to Value
Added Feed Using Fibrolytic Bacteria and Fungi
(02-01-10-SF0005)**

Clemente Michael Wong Vui Ling

**Biotechnology Research Institute
Universiti Malaysia Sabah
2009**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SYNOPSIS

The inclusion of PKC in poultry diet is limited due to the presence of several anti-nutritive materials in PKC such as galactomannan and xylan. These anti-nutritive materials increase the viscosity of the diet due to their high absorbability of water and therefore inhibit the absorption of nutrients by the animals. One way to overcome this problem is to treat PKC with enzyme or enzyme-producing microorganisms to digest those recalcitrant components. Hence, this work was carried out to isolate microorganisms; especially bacteria and fungi with fibrolytic activities such as galactomannanase, xylanase and endoglucanase which can be used to treat PKC.

A total of one thousand one hundred and forty six (n= 1146) colonies were isolated from various empty fruit bunch (EFB) compost samples, effective microbe solution, raw EFB, water and soils. Out of that number, a total of 627 bacteria, 219 actinobacteria, 101 yeast and 199 fungi were isolated and screened. Fifteen isolates with the ability to produce mannanase, endoglucanase and xylanase were assayed for their enzyme activities. These assays indicated that 5 isolates of the bacteria and fungi, 7DY7, 7DU3, 4DB3, 7DF12 and 4DP5 exhibited significantly higher activity when compared to the other twelve bacterial isolates for mannanase with a maximum activity of 1.05 U, 0.88 U, 0.85 U, 0.72 U and 1.01 U respectively, endoglucanase with a maximum activity of 0.31 U, 0.35 U, 0.22 U, 0.25 U and 0.03 U respectively, and xylanase with a maximum activity of 0.05 U, 0.04 U, 0.18 U, 0.16 U and 0.12 U respectively. The 3 bacteria isolates 7DY7, 7DU3 and 4DB3 were identified as *Bacillus subtilis* and the 2 fungi 7DF12 and 4DP5 were identified as *Cladosporium herbarum* and *Emercella nidulans* respectively.

Solid-state fermentation (SSF) was used to upgrade the quality of PKC using some of the microbes isolated. Two fungi, *Emericella nidulans*, *Cladosporium herbarum* and three strains of bacteria *Bacillus subtilis* were used in combinations to improve the nutritive value of PKC as animal feed through lab-scale solid-state fermentation. The inoculum size was 20% with a 110% moisture content, pH 7.0 and PKC particle size 0.8mm. Treatment of PKC with the combination of *Emericella nidulans* (4DP5) and *Bacillus subtilis* (7DY7) showed advantages over other treatments. This treatment produced the highest increase in reducing sugar content in PKC to 418.3%, moderate crude protein increment of 1.86% and a reduction of hemicellulose of 9.07%. In addition to that, this treatment also gave the lowest increase in aflatoxin level of only 26.8% from 9.99ppb (aflatoxin content in untreated PKC) to 12.67ppb.



SINOPSIS

Kegunaan PKC dalam makanan ternakan ayam dan itik adalah terhad kerana sifat anti-nutrisi seperti galaktomanan dan xylan yang terdapat dalam PKC. Sifat anti-pemakanan ini meningkatkan kelikatan diet akibat daripada penyerapan air yang tinggi dan ini akan menghadkan penyerapan nutrisi oleh haiwan ternakan. Satu cara untuk mengatasi masalah ini ialah dengan merawat PKC dengan enzim atau mikroorganisma yang menghasilkan enzim yang boleh menghadamkan komponen tegar bagi meningkatkan nilai pemakanan PKC. Dengan itu, projek ini dilaksanakan untuk memencilkan bacteria dan fungi serta menyaring dan mengasai keupayaan mikrob tersebut dalam menghasilkan enzim galactomannanase, endoglucanase dan xylanase. Enzim-enzim tersebut yang menghadamkan sirat di dalam PKC dapat meningkatkan kualiti nutrisi PKC.

Sebanyak satu ribu satu ratus dan empat puluh enam ($n = 1146$) mikroorganisma telah dipencilkan dari sumber kompos "empty fruit bunch" (EFB), larutan mikrob efektif, EFB mentah, tanah dan air. Dari itu, 627 bacteria, 219 actinobacteria, 101 yis dan 199 fungi telah diasingkan dan disaring. Lima belas isolate dengan keupayaan menghasilkan enzim mannanase, endoglucanase, xylanase telah diasai aktiviti enzim mereka. Asai tersebut menunjukkan 5 isolat bacteria, dan kulat 7DY7, 7DU3, 4DB3, 7DF12 dan 4DP5 menghasilkan aktiviti yang lebih tinggi berbanding dengan 12 isolat bacteria yang lain bagi mannanase dengan aktiviti maksimum 1.05 U, 0.88 U, 0.85 U, 0.72 U dan 1.01 U masing-masing, aktiviti endoglucanase maksimum 0.31 U, 0.35 U, 0.22 U, 0.25 U dan 0.03 U masing-masing, dan aktiviti xylanase maksimum sebanyak 0.05 U, 0.04 U, 0.18 U, 0.16 U and 0.12 U masing-masing. Tiga isolate bacteria 7DY7, 7DU3 dan 4DB3 telah dikenalpasti sebagai *Bacillus subtilis* dan dua kulat 7DF12 dan 4DP5 telah dikenalpasti sebagai *Cladosporium herbarum* and *Emericella nidulans* masing-masing.

Kaedah SSF telah digunakan dalam kajian ini untuk meningkatkan kualiti PKC dengan menggunakan sebahagian mikrob yang telah dipencilkan kerana SSF menyediakan keadaan yang sesuai untuk kebanyakan mikroorganisma. Fungi *Emericella nidulans* dan *Cladosporium herbarum* dan bacteria *Bacillus subtilis* fibrolitik yang dipencilkan digunakan dalam beberapa bentuk kombinasi untuk meningkatkan kualiti PKC melalui SSF berskala makmal. Dengan keadaan penapaian ditetapkan kepada 20% inokulum, 110% kelembapan, pH 7.0 dan saiz partikel PKC pada 0.8mm, lima jenis kombinasi mikrob telah diuji. Rawatan dengan kombinasi *Emericella nidulans* (4DP5) dan *Bacillus subtilis* (7DY7) menunjukkan kelebihan berbanding jenis rawatan yang lain. Rawatan ini menghasilkan peningkatan gula penurunan dalam PKC sebanyak 418.3%, peningkatan protein kasar sebanyak 1.86% dan penurunan hemicellulose sebanyak 9.07%. Selain dari itu, rawatan ini juga menghasilkan peningkatan kandungan aflatoxin yang paling rendah iaitu 26.8% daripada 9.99ppb kepada 12.67ppb. Pada masa yang sama, EFB dan POME digunakan secara meluas sebagai sungkupan dan baja organik di ladang-ladang kelapa sawit.

