

PERKEMBANGAN KONSENTRASI HORMON PERTUMBUHAN UNTUK METAMORFOSIS ULAT SUTERA (*BOMBYX MORI L.*)

Sulistyo Dwi Kartining Putro¹, Umie Lestari,²Betty Lukiati.²

¹Jurusan Pendidikan Biologi, Universitas Negeri Malang

²Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang

Jl. Semarang 5 Malang 65145

sulistyo28putro@gmail.com

Peranan hormon dalam metamorfosis meliputi proses pengelupasan kulit larva, dan pembentukan pupa pada serangga holometabola. Hormon Juvenil menjadi salah satu kunci hormon yang berperan dalam mengatur aktivitas pertumbuhan serangga. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan isolasi 10kDa yang merupakan hormon juvenil sebagai pengatur utama hormon pertumbuhan dan prekursor utama diapause hormon. Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif. Materi hormon 10kDa diisolasi dari hemolympha ulat sutera (*Bombyx mori L.*) fase Instar 3, instar 4, instar 5, serta fase pupa menggunakan *phosphate buffered saline* kemudian di *running* menggunakan SDS-PAGE dan dikoleksi dengan elektroelusi. Karakterisasi hormon 10 kDa pada instar 3, 4, 5 dan pupa meliputi penentuan berat molekul melalui SDS-PAGE dan kandungan protein dengan metode nanodrop *spectrophotometer*. Hasil running isolat hormon menggunakan metode SDS-PAGE diperoleh pita protein hormon yang terdiri atas 5 pita dengan berat molekul 62,42; 39,10; 30,94; 15,34; dan 10,3 kDa. Kadar Isolat protein hormon 10 kDa diperoleh dengan purifikasi menggunakan metode elektroelusi. Kandungan protein dalam isolate protein hormon 10 kDa pada instar 3 sebesar sebesar 0,121 mg/ml, instar 4 sebesar 0,012 mg/ml, dan instar 5 sebesar 0,117 mg/ml.

Kata Kunci : Karakterisasi, Isolasi, Hormon, Ulat sutera (*Bombyx ori L.*), SDS-PAGE.

1. PENDAHULUAN

Ulat sutera *Bombyx mori L.* adalah sejenis serangga monofagus yang mampu menghasilkan serat benang sutera dari salah satu tahapan proses perkembangan hidupnya. Ulat sutera mempunyai 4 stadium dalam siklus hidupnya, yaitu telur, larva, pupa, dan imago. Siklus hidup perkembangan ulat sutera merupakan suatu serangkaian proses berbagai stadia yang terjadi pada seekor serangga dalam pertumbuhannya sejak dari fase telur hingga menjadi fase imago. Proses perkembangan yang mengubah pradewasa instar pertama menjadi dewasa disebut metamorfosis (*metamorphosis*), yang arti sebenarnya adalah perubahan bentuk (Harnawan, 2012). Perkembangan serangga terjadi sejak larva instar1 sampai munculnya serangga dewasa. Serangga mempunyai kerangka luar yang tidak memungkinkan pertumbuhan memperbesar tubuh (ukurantubuh). Masalah ini diatasi dengan proses ganti kulit (*molting*). Proses metamorfosis tidak pernah lepas dari peran suatu hormon.

Peranan hormon dalam metamorphosis meliputi proses pengelupasan kulit larva, dan pembentukan pupa pada serangga holometabola, dan pengelupasan kulit nimfa pada serangga hemimetabola (Murray, *et. Al.* 2003). Hormon yang berperan dalam metamorphosis terdiri dari atas tiga macam yaitu, hormon otak, hormon molting (ekdison), dan hormon juvenile (Prasetyawati, 2012).

Hormon Juvenil (JH) tentu saja merupakan kandidat besar karena merupakan hormon yang mengontrol perkembangan insekta, terlibat dalam pengaturan proses fisiologis seperti metamorfosis dan reproduksi pada sebagian besar insekta (Gaubard, 2005).

Hormon Juvenil (JH) pada insekta berperan sebagai pengatur berbagai macam dari proses perkembangan sampai fisiologis. Tanpa adanya hormon juvenil insekta dewasa tetap akan steril. Pada insekta, tahapan pupa ke dewasa dan akhirnya menjadi dewasa akan terjadi jika juvenil hormon tidak ada (Habibi, 2011).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Zhang, sai, *et. al.*, 2011) mengenai hormon juvenil pada ulat sutera *Bombyx mori L.* melalui analisis proteomic pada midgut *Bombyx mori* ikatan molekul pada hormon juvenil terikat pada berat molekul 10 kDa yang dimana merupakan fungsi untuk pengatur utama hormon pertumbuhan dan prekursor utama diapause hormon. Penelitian yang dilakukan (Zurovex, Michal *et. al.*, 1998) menemukan bahwa berat molekul protein penghasil serat benang sutera pada 22,5 kDa dan 23 kDa, dimana pada protein ini memproduksi asam amino pereduksi benang sutera pada *Bombyx mori L.*

Penelitian selanjutnya oleh (Ramazan, *et. al.*, 2009) menegaskan bahwa pada ulat sutera yang dilakukan melalui analisis protein dari hemolympha ulat sutera, diketahui penyimpanan protein terbesar terdapat pada

berat molekul (72 kDa-76 kDa), 30kDa protein pertumbuhan, lipophorin (230 kDa), dan vitellogenins (178 kDa dan 42kDa) dengan hasil menunjukkan bahwa protein hemolymph besar memiliki kepekaan yang berbeda untuk fenoxycarb dan pengaruh protein merupakan faktor yang lebih penting untuk mendapatkan respon perkembangan.

Dengan berbagai dasar adanya berbagai macam protein pertumbuhan pada ulat sutera inilah yang menjadi ide dasar untuk melakukan analisis perkembangan konsentrasi hormon pertumbuhan pada ulat sutera melalui isolat hormon juvenil *Bombyx mori* L.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan melalui 2 tahapan. Penelitian Tahap 1 dilaksanakan di Pusat Pembibitan Ulat Sutera (PPUS) Candiroto, Jawa Tengah. Penelitian tahap 1 dimaksudkan untuk proses pemeliharaan ulat sutera pada bulan Januari-Februari. Penelitian tahap 2 dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler FMIPA Universitas Negeri Malang pada bulan Maret-April. Rancangan penelitian bersifat deskriptif eksploratif yang mendeskripsikan hasil beberapa berat molekul pada protein pada hormon juvenil ulat sutera yang didapatkan dengan SDS-PAGE.

Parameter yang diamati untuk karakterisasi hasil isolasi hormon juvenil ulat sutera meliputi berat molekul, dan kandungan kadar hormon melalui elektroelusi dan nanodrop spektrometer. Hormon Juvenil yang diamati dalam penelitian ini diambil dari Pupa dan hemolymph dari larva instar 3, larva instar 4, dan larva instar 5 ulat sutera *bombyx mori* L. Larva instar pada tiap fase stadium diambil secara acak pada hari ke-2 setelah *molting* (pergantian kulit).

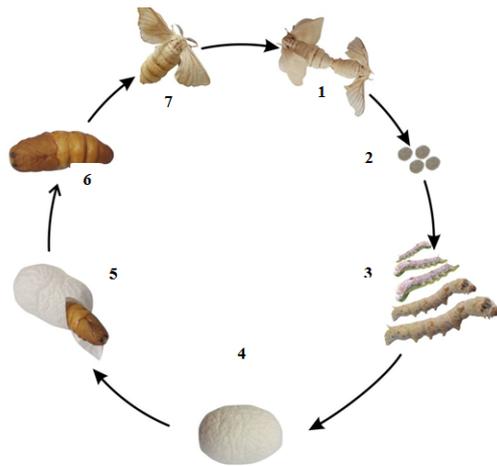
Hemolymph yang sudah diperoleh dari tiap larva instar dan pupa ulat sutera *Bombyx mori* L. dilakukan isolasi ekstrak kasar dengan cara penghalusan menggunakan larutan *phosphate buffered saline* yang berfungsi untuk melisiskan sel sehingga komponen yang terdapat didalam membran dapat diambil dan disentrifuse dingin kecepatan 12000rpm selama 2x10 menit dan menyisahkan pellet. Hasil pelet isolat ekstrak kasar dicampur dengan larutan Tris-HCL yang berfungsi untuk mengencerkan ekstrak protein dan buffer pelarut protein pada saat pengukuran kadar protein menggunakan nanodrop kemudian kembali disentrifuse dingin dengan kecepatan 12000rpm selama 2x10 menit dan diambil supernatant.

Untuk mengetahui karakter biokimiawi 10 kDa dari hormon juvenil ulat sutera dilakukan elektroforesis SDS PAGE untuk menentukan berat molekulnya. Elektroelusi dilakukan untuk menentukan kadar protein pada berat molekul 10kDa pada tiap larva instar. Nanodrop spektrometer dilakukan untuk mengukur kadar crude protein hormon ulat sutera dan juga hasil elektroelusi 10kDa.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

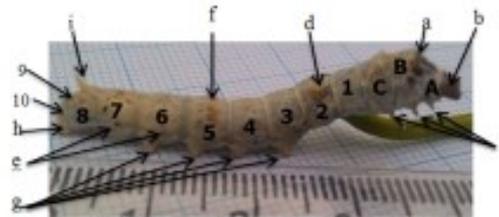
Pertumbuhan dan Perkembangan *Bombyx mori* L.

Ulat sutera memiliki siklus hidup metamorfosis sempurna dengan empat stadium, telur, larva, pupa, dan imago (ngengat dewasa) (**Gambar 1**). Tubuh larva berbentuk silindris. Tubuh dibedakan atas kepala dan badan. Tubuh ulat sutera terdiri dari 13 segmen. Pada ujung anterior kepala ditutupi oleh lempeng kitin yang berwarna gelap. Badan yang menyambung dengan kepala ditutupi oleh kutikula eksternal. Badan terbagi atas tiga segmen, terdiri dari dada (*thorax*) dan 10 segmen abdomen. Torax memiliki 3 pasang kaki dan abdomen memiliki 4 pasang kaki dan satu pasang kaki bagian kaudal. Pada permukaan segmen abdomen ke-8 terdapat *caudal horn*. Terdapat 9 pasang spirakel, satu pasang dada segmen abdomen ke-1 sampai 8 (**Gambar 2**) (Veda *et.al.*, 1997).



Gambar1. Siklus Hidup Ulat Sutera *Bombyx mori* L.

Keterangan: 1. Ngengat kopulasi; 2. Telur (9-10hari); 3. Larva Instar (larva instar 1-5 : 20 hari); 4. Kokon (4-5hari); 5. Pupa di dalam kokon ; 6. Pupasi (10-15 hari); 7. Ngengat. (Sumber: Dokumentasi pribadi).



Gambar 1.Morfologi Ulat Sutera *Bombyx mori*L.

Keterangan: A,B,C (Segmen toraks) ; 1-10 segmen abdominal; a. Bintik mata; b. Kepala; c. Kaki toraks; d. Tanda ‘Bulan sabit’; e. Spirakel; f. Tanda bintang; g. Kaki abdominal; h. Kaki kaudal; i. ‘Tanduk’ kaudal (*caudal horn*)(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Proses pergantian kulit larva menjadi pupa akan terjadi didalam kokon. Pembentukan pupa berlangsung 4-5hari setelah serta kokon terbentuk sempurna. Lama masa pupasi didalam kokon 9-10hari. Selama tahapan fase pupa tidak tampak gejala hidup, padahal terjadi perubahan besar yang sukar dilukiskan. Tungkai tambahan yang terdapat disepanjang perut ulat menghilang. Pada bagian dada muncul tiga pasang tungkai baru berbentuk tungkai dewasa. Bentuk tungkai ini lebih panjang dan lebih langsing. Selain itu disusun pula sayap, sistem otot baru dan semua bagian tubuh dewasanya (**Gambar 3**)



Gambar 3.Morfologi Pupa Ulat sutera.(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

Peran hormon untuk pertumbuhan ulat sutera

Peranan hormon dalam metamorfosis meliputi proses pengelupasan kulit larva, dan pembentukan pupa pada serangga holometabola, dan pengelupasan kulit nimfa pada serangga hemimetabola (Murray, *et al.* 2003). Hormon yang berperan dalam metamorphosis terdiri dari atas tiga macam yaitu, hormon otak, hormon molting (ekdison), dan hormon juvenil (Prasetyawati. 2012). Hormon otak disebut juga ecdysiotropin, disimpan didalam corpora cardiaca, sedangkan hormon molting (ekdison) dihasilkan oleh kelenjar protoraks, yaitu suatu segmen pada tubuh serangga yang mempunyai pasangan kaki terdepan dari ketiga pasangan kaki terdepan serangga, oleh karena itu maka hormon ini juga dinamakan hormon protoracic gland atau disingkat menjadi PGH, hormon

juvenil (JH) dihasilkan oleh corpora allata, yaitu sepasang kelenjar endokrin yang terletak di dekat otak (Murray, *et al.* 2003).

Hormon otak mengandung kolesterol yaitu suatu senyawa steroid, atau juga berupa protein yang merupakan rangkaian senyawa polipeptida, sedangkan hormon juvenile masih belum jelas benar strukturnya. Menurut Murray, *et al* (2003), hormon juvenil terdiri atas senyawa hidrokarbon alifatik, sedangkan menurut Prihananto (2004), hormon juvenile berupa farnesol, yaitu suatu prekursor kolesterol dan sterol-sterol lain.

Isolasi Hormon Juvenil Ulat Sutera

Isolasi protein hormon merupakan proses pemisahan protein hormon dengan komponen sel yang lain dengan tujuan untuk mendapatkan isolat protein hormon murni. Isolat yang diperoleh dalam penelitian ini diukur konsentrasinya menggunakan spektrofotometer nano drop. Hasil konsentrasi isolat protein hormon dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Crud Protein Nano Drop Isolat Protein Hormon *Bombyx mori*L.

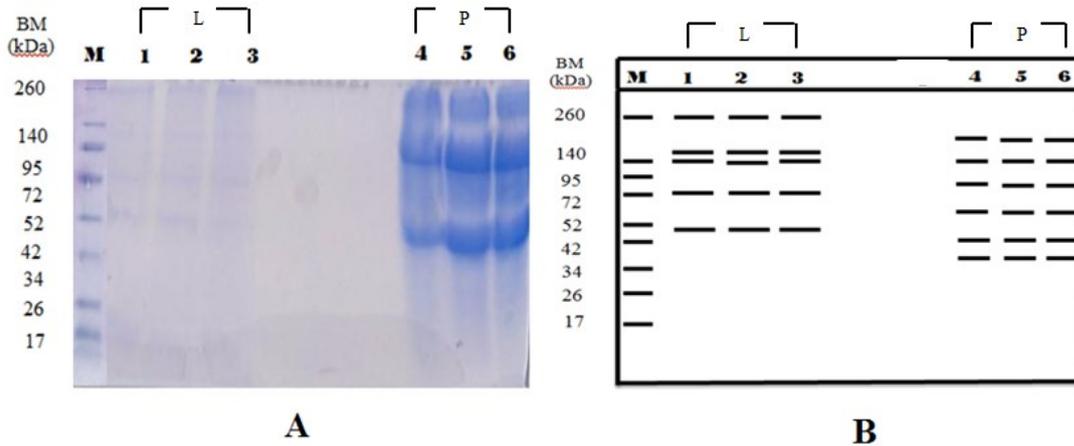
Sample ID	Protein Conc.
Instar 3	9,063 mg / mL
Instar 4	11,428mg / mL
Instar 5	17,006 mg / mL
Pupa	10,633 mg / mL

Pada Tabel 1, diketahui kadar protein hormon crud instar 3 sebesar 9,063mg / mL, instar 4 sebesar 11,428mg / mL, instar 5 sebesar 17,006mg / mL, dan pupa 10,633 mg / mL. Dari hasil analisa tersebut semakin besar instar semakin tinggi pula kadar hormon yang dimiliki. Hal ini dikarenakan semakin besar fase, maka tugas dan fungsi hormon semakin meningkat.

Untuk metamorfosis dari larva ke dewasa atau pupa ke dewasa, periode sensitive biasanya sekitar seperempat dari masa instar. Metamorfosis larva ke pupa lebih kompleks instar larva sebelumnya mempunyai masa sensitif yang berbeda untuk bagian tubuh yang berbeda dan organ yang berbeda, dan akibatnya hanya pemberian JH dalam jangka waktu yang lama dapat menghasilkan efek penuh, seperti terbentuknya larva yang sangat besar (Habibi, S. 2011).

Berat Molekul Hasil Elektroforesis SDS PAGE

Berat molekul isolat protein hormon juvenil ulat sutera *Bombyx mori* L. pada larva instar 3, instar 4 dan instar 5 ditentukan dengan mengplotkan harga Rf yang diperoleh pada persamaan regresi linier $Y = -1.693 + 2$ kurva hubungan antara Rf (sumbu X) dengan log BM protein standar (sumbu Y) sehingga diperoleh pita protein yang terdiri atas 5 pita dengan berat molekul 62,42; 39,10; 30,94; 15,34; dan 10,3 kDa sedangkan isolat protein pupa ulat sutera diperoleh pita protein yang terdiri atas 6 pita dengan berat molekul 49,4; 22,6; 14,1; 8,88; 7,03; dan 5,56 kDa (**Gambar 4**)



Gambar 4. Hasil Elektroforegram Hormon Juvenil Ulat Sutera.

Keterangan: A. hasil elektroforesis SDS PAGE, B. Zimogram elektroforesis. (M)=Marker; (1L)=Larva Instar 3; (2L)=Larva instar 4; (3L)=Larva instar 5; (4P,5P,6P)=Pupa

Berdasarkan hasil elektroforesis menggunakan SDS PAGE diperoleh berat molekul pita protein yang sama antara larva instar 3, larva instar 4 dan larva instar 5, namun diperoleh berat molekul pita protein yang berbeda antara fase larva instar dengan fase pupa. Berat molekul pada tiap pita larva instar 3, instar 4, dan instar 5 disajikan pada **Tabel 2** dan hasil berat molekul pupa disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 2. Berat molekul hasil SDS PAGE protein hormon larva instar3, instar4, dan instar5

No	BM instar 3	BM instar 4	BM instar 5
1	62,4	62,4	62,4
2	39,1	39,1	39,1
3	30,9	30,9	30,9
4	15,3	15,3	15,3
5	10,4	10,4	10,4

Tabel 3. Berat molekul hasil SDS PAGE protein hormon pada pupa

No	BM Pupa
1	49,4
2	22,7
3	14,2
4	8,9
5	7,0
6	5,6

Dari hasil tersebut diperoleh Berat molekul 10 kDa. Menurut (Zhang, sai, *et al.*, 2011) berat moleku dengan 10kDa pada ulat sutera *Bombyx mori* L. merupakan hormon juvenil sebagai pengatur utama hormon pertumbuhan dan prekursor utama diapause hormon. Pada larva/nimfa insekta, pada berat molekul 7 kDa (**Tabel.3**) merupakan hormon yang berperan dalam pengontrolan metamorfosis, dengan cara memblokir ekspresi fase imago seperti sayap, organ reproduksi, dan organ genital luar, sehingga menyebabkan insekta tetap dalam keadaan "larva atau nimfa". Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Ahmed, R. *et al.*, 2010) berat molekul 6,5kDa pada *Bombyx mori* L. tinggi akan konsentrasi protein asam amino peptidoglycan dengan penyusun *fucose*, *glucosamine*, *galactosamine*, *glucose*, dan *galactose*. Protein asam amino pada proses pertumbuhan dan perkembangan metamorphosis mampu meningkatkan berat dan panjang tubuh larva serta dapat meningkatkan kualitas penghasil kokon serat tinggi (Putro, 2010).

Menurut Murray, *et al.*, (2003), jika terdapat substansi asam amino yang berlebih pada proses katabolisme selanjutnya, maka asam amino tersebut akan membentuk piruvat, dimana penyebab dari hal tersebut akan mengakibatkan penyakit metabolik yang berkaitan dengan katabolisme glisin yang mencakup glisinuria dan hiperoksaluria primer. Hasil dari katabolisme tersebut, mengakibatkan sel-sel dalam tubuh akan mengalami kerja metabolisme yang sangat berlebih, sehingga beberapa sel-sel tubuh akan mengalami proses lisis. Oleh sebab itu konsentrasi protein asam amino peptidoglycan dengan penyusun *fucose*, *glucosamine*, *galactosamine*, *glucose*, dan *galactose* pada berat molekul 6,5 kDa berfungsi untuk antioxidant peptidoglycan pada tubuh larva.

Pada berat molekul 30 kDa Pada penelitian (Ramazan, *et al.*, 2009) 30kDa protein pertumbuhan, merupakan protein faktor yang lebih penting untuk mendapatkan respon perkembangan. Insekta dewasa secara seksual, hormon ini berperan sebagai penstimulasi aspek reproduksi seperti menstimulasi produksi kuning telur dari telur insekta betina, dan kelenjar aksesoris untuk memproduksi protein yang dibutuhkan untuk cairan seminal insekta jantan (Prasetyawati, S. 2012). Jika konsentrasi hormon juvenil relatif lebih tinggi daripada ecdison maka akan merangsang perkembangan larva, dan mencegah proses pembentukan pupa, namun mencegah proses pembentukan larva. Jika suatu serangga mengelupas kulitnya tanpa adanya hormon juvenil maka hewan tersebut akan berdiferensiasi menjadi bentuk dewasa. Ecdison secara kontinu dihasilkan sampai pengelupasan kulit menjadi dewasa, ecdison berperan merangsang sintesa RNA dan protein yang diperlukan pada proses pembentukan kepingan kepingan imaginal.

Pada serangga dewasa tidak terdapat ecdison untuk pengelupasan kulit, karena kelenjar-kelenjar protoraknya sudah mengalami degenerasi setelah metamorfosis, namun corpora allata akan menggetahkan hormon juvenil kembali setelah pengelupasan kulit pendewasaan. Hormon juvenil ini akan mempengaruhi metabolisme protein dan lemak, serta membentuk protein-protein vitelogenik (Murray, *et al.*, 2003).

Elektroelusi

Elektro elusi bertujuan untuk memotong protein hormone dengan berat molekul yang diinginkan, kemudian protein tersebut dilarutkan didalam larutan *buffer fosfat* sehingga diperoleh crud protein murni. Pada protein hormone dari larva instar 3,4 dan 5 yang dipotong memiliki berat molekul 10kDa, dan protein hormone pada pupa memiliki berat protein 7kDa. Hasil elektroelusi protein hormon pada larva maupun pupa dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan crud murni elektroelusi

Sampel	Sample ID	Protein Conc.
Larva instar 3	10kda	0.121 mg/ml
Larva instar 4	10kda	0.117 mg/ml
Larva instar 5	10kda	0.181 mg/ml
Pupa	7 kda	0.241 mg/ml

Dari hasil elusi, pada larva instar 3 10kDa yang diduga hormon juvenil sebagai pengatur control diapause pada serangga sebesar 0,121mg/ml, instar 4 sebesar 0,117mg/ml, instar 5 sebesar 0,181mg/ml, dan pupa sebesar

0,241mg/ml. Nilai kadar larva instar 3 lebih tinggi daripada instar 4, namun instar 5 paling tinggi. Hal ini dikarenakan pada instar 5 mengalami kenaikan sekresi hormone yang dibutuhkan oleh larva untuk tetap mempertahankan fase hidupnya fase lama perkembangan ulat sutera dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Lama Perkembangan Ulat sutera *Bombyx mori* L.

Stadium	Lama Perkembangan (hari)
Telur	9-10
Larva instar 1	4
Larva instar 2	3
Larva instar 3	3
Larva instar 4	5
Larva instar 5	5
Pupa	10

Hal tersebut dapat dianalisa dengan hasil observasi lama perkembangan hari pada larva instar 5 (tabel 5). Sedangkan pada fase pupa memiliki nilai kadar yang lebih tinggi dari yang lainnya sebesar 0,241mg/ml hal ini dikarenakan pada kondisi stadium pupa, harus benar benar mempertahankan eksistensi bentuk sebagai pupa didalam kokon. Namun kedudukan hormon juvenile mulai berkurang dan akan digantikan oleh hormon ecdison untuk pembentukan bagian imago dewasa.

4. SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang diuraikan di atas maka dapat diambil kesimpulan bahwadari hemolymph ulat sutera *Bombyx mori* L. protein hormon pada saat proses metamorphosis ulat sutera *Bombyx mori* L. memperoleh hasil berat molekul dengan fungsi dan karakteristik yang berbeda-beda. Tiap kadar berat molekul yang terinterpretasi mempunyai kadar protein rata-rata sebesar $\pm 0,615$ kandungan hormon juvenile pada tahap instar maupun tahap pupa.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan purifikasi secara murni pada hormon juvenile ulat sutera dan untuk mengetahui kandungan murni yang terdapat pada hormone juvenile ulat sutera serta berat kadar pada tiap kandungan yang terdeteksi.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, Rehab., Ren, Wang., Sang-Ho Yoo. 2011. Purification and Characterization of a 6.5 kDa Antioxidant Peptidoglycan Purified from Silk Worm (*Bombyx mori* L.) Pupae Extract. *Food Sci. Biotechnol.* 20(1): 243-249 (2011). DOI 10.1007/s10068-011-0033-6. Diakses dari: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10068-011-0033-6#page-2>.
- Gaubard, Y. 2005. juvenile hormone binding proteins, importance on the JH action. Department of ecology chemical ecology. Lund university
- Habibi, soraya. (2011, 05). JUVENILE HORMONE (JH) SEBAGAI PENDUKUNG DAN PENGONTROL KEHIDUPAN INSEKTA. Diakses dari <http://www.pdf-archive.com/2011/12/05/13-soraya-habibi/13-soraya-habibi.pdf>
- Harnawan, Y.S. 2012. Entomologi: *Pertumbuhan dan perkembangan serangga*. (file.upi.edu/Direktori/FPMIPA/JUR._PEND._BIOLOGI/196512271991031-SUHARA/Ch.6_FISIOLOGI_SERANGGA.pdf). [10 Oktober 2013].
- Murray R.K., Darly, K. G. M.D, Peter, A., Victor W. R. 2003. *BIOKIMIA (Harper)* (Edisi Terjemahan: Dr. Andy Hartanto) Edisi 25. Jakarta: Penerbit Kedokteran EGC
- Prasetyawati, S. 2012. *Komposisi Protein Kokon Cricula trifenestrata Helf. dan Kadar Protein, Air, Abu, Flavonoid, Tanin daun Jambu Mete*. Yogyakarta: UIN Sunan Kalijaga
- Prihananto. 2004. *Fortifikasi Pangan sebagai Upaya Penanggulangan Anemia Gizi Besi*. Bogor: IPB

Sulistyo Dwi Kartining Putro, Umie Lestari, Betty Lukiati. *Perkembangan Konsentrasi Hormon Pertumbuhan untuk Metamorfosis Ulat Sutera (Bombyx Mori L.)*

- Ramazan.URANLI., Ebru Goncu, Osman PARLAK. 2009. *Investigation of the influence of the juvenile hormone analogue fenocycarb on major hemolymph proteins of the silkworm Bombyx mori during the last larva instar.* Departement of Biologi, Faculty of Science, Ege University, 35100 Bornova, Izmir-TURKEY. Turk.J Zool. 2011; 35(2): 223-236. Doi: 10.3906/zoo-0902-24.
- Veda, K., Nagai,I., and Horikomi, M. 1997. *Silkworm Rearing* New Hampshire: Science Publisher Inc.
- Zhang, sai., Yunmin Xu., Ling.Jia., Xiang, Zhonghuai., Niingia he. 2011. *Proteomic Analysis of Larval Midgut from the Silkworm (Bombyx mori L.)*.Vol. 10.1155/2011/876064.
- Zurovec,Michael., Changsong Yang., Dalibor Kodrik., Frantisek sehnal. 1997. *Identification of a Novel Type of Silk Protein and Regulation of Its Expression.* Entomological Institute, Academy of Sciences, and the Faculty of Biological Science, University of Shouth Bohemia. Vol.273, No. 25, Issue of June 19, pp. 15423-15428. 1998.