

HUBUNGAN POLA MIGRASI ISOZIM LDH DAN AKTIVITASNYA TERHADAP TINGKAT PROLIFIKASI DOMBA

Nur Rohmat¹, Mas Yedi Sumaryadi², dan Prayitno²

¹Program Pascasarjana UNSOED Purwokerto

²Fakultas Peternakan UNSOED Purwokerto

Abstract. Tiga puluh enam induk domba ekor tipis digunakan dalam percobaan ini untuk menentukan pola migrasi isozim LDH dan aktivitas enzim laktat dehidrogenase yang akan digunakan dalam menduga tingkat prolififikasi induk domba. Domba percobaan diseleksi berdasarkan paritas 2 atau lebih dan jumlah cempe sekelahiran, kemudian dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Kelompok I, II, dan III masing-masing mewakili tingkat prolififikasi rendah, sedang, dan tinggi. Semua domba percobaan diambil sampel darahnya sebanyak 10 ml dari vena jugularis untuk dibuat serum yang akan digunakan untuk menganalisis pola migrasi isozim LDH dengan gel elektroforesis dan aktivitas enzim LDH. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pola migrasi isozim LDH maupun aktivitasnya berbeda sangat nyata ($P < 0.01$) antar tingkat prolififikasi, serta keduanya memiliki hubungan yang erat dengan koefisien korelasi = - 0.675. Hasil analisis diskriminan menunjukkan bahwa proporsi kebenaran pendugaan tingkat prolififikasi induk domba ekor tipis berdasarkan aktivitas dan rataan pola migrasi isozim LDH mencapai 83,033 sampai 100 persen. Disimpulkan bahwa pola migrasi isozim LDH memiliki hubungan yang erat dengan aktivitasnya, dan keduanya dapat digunakan untuk menduga tingkat prolififikasi induk domba ekor tipis.

Kata Kunci : Migrasi, Isoim, Laktat dehidrogenase(LDH), Domba

PENDAHULUAN

Domba ekor tipis pada umumnya bersifat prolifik dengan jumlah cempe sekelahiran satu sampai empat ekor per induk. Menurut Bradford et al.(1991); dan Elsen et al. (1991), sifat prolififikasi ternak domba dipengaruhi oleh gen tunggal FecJF (Fecundity Java) yang bekerja secara aditif. Kehadiran gen FecJ pada populasi domba di Indonesia menyebabkan variasi dalam jumlah cempe yang dilahirkan (Elsen et al.,1991; Adjisoedarmo et al.,1997). Namun untuk mengidentifikasi gen prolififikasi pada domba tersebut masih perlu dikaji secara mendalam melalui pendekatan fisiologis, dan biologi molekuler untuk mempercepat proses seleksi.

Proses seleksi merupakan suatu upaya peningkatan mutu genetik ternak sesuai dengan karakteristik yang dikehendaki, yang pada akhirnya akan menghasilkan bibit unggul. Bibit pada dasarnya adalah sekelompok tetua terpilih (jantan/betina) yang akan digunakan untuk tetua pada generasi yang akan datang, sehingga nilai tengah populasi generasi yang akan datang lebih tinggi dari nilai tengah populasi generasi tetua asal bibit terpilih. Bibit ditinjau dari aspek genetis memiliki keunggulan genetis, yang selanjutnya akan diwariskan ke generasi yang akan datang. (Adjisoedarmo et al., 1995 dan Adjisoedarmo et al., 1996).

Menurut Adjisoedarmo et al. (1994, 1995, dan 1996), menciptakan bibit unggul domba lokal menggunakan seleksi dapat dilakukan dengan pendekatan genetika kuantitatif. Selanjutnya dilaporkan dari hasil penelitian tersebut diperoleh sepuluh induk yang memiliki jumlah berat sapih cempe per induk di atas 15 kg, dan minimal beranak tiga kali dalam dua tahun, dengan jumlah cempe yang dilahirkan selalu kembar. Di samping itu, dari sepuluh induk tersebut juga telah diperoleh tiga ekor cempe yang dijadikan induk dan juga beranak kembar.

Sejalan dengan perkembangan ilmu dan teknologi di bidang biokimia, dan biologi molekuler, teknik pemisahan dalam analisis biologis seperti teknik ekstraksi, khromatografi, spektrofotometri dan elektroforesis dapat digunakan dalam pengkajian dan penelitian

terhadap gen, termasuk di dalamnya gen untuk karakteristik tingkat prolifikasi domba ekor tipis.

Menurut Adjisoedarmo et al. (1997), kriteria yang dapat digunakan untuk memilih bibit dan calon bibit adalah jumlah cembe sapihan per induk per kelahiran (JCSI) dan jumlah berat cembe sapihan per induk per kelahiran (JBCSI). Ditinjau dari aspek reproduksi, keragaman jumlah cembe yang dilahirkan oleh induk sangat erat kaitannya dengan laju ovulasi (Bradford et al., 1986) yang dipengaruhi oleh hormon FSH-LH (McDonald, 1980). Modulasi kedua hormon tersebut ternyata mampu meningkatkan jumlah folikel yang berovulasi pada ternak domba (Sumaryadi dan Haryati, 2000; Sumaryadi et al., 2000). FSH-LH merupakan hormon glikoprotein yang disintesis seperti umumnya protein, yaitu hasil ekspresi lokus gen melalui proses transkripsi dan translasi DNA yang melibatkan reaksi enzimatik. Keadaan ini dimungkinkan bahwa keragaman laju ovulasi berkaitan dengan tipe alel yang memodulasi hormon dari hasil ekspresi sekelompok gen yang terdapat pada rantai DNA (Sumaryadi et al., 2001).

Laktat dehidrogenase (LDH) merupakan isozim yang dapat digunakan untuk menguji keragaman genetik (Sofro, 1993). Isozim ini berperan dalam mengkatalisis substrat yang akan digunakan sebagai prazat pembentukan hormon glikoprotein. Konsentrasi enzim ini sangat penting mengingat proses deglikosilasi (pelepasan karbohidrat) dari hormon glikoprotein menyebabkan penurunan konsentrasi hormon (Swedlow et al., 1996).

Penelitian ini menggunakan teknik gel elektroforesis untuk mengetahui pola migrasi isozim LDH, sedangkan aktivitasnya diukur dengan menggunakan metode spektrofotometri. Pola migrasi isozim LDH dan aktivitasnya diukur dari individu domba ekor tipis dengan tingkat prolifikasi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara pola migrasi isozim LDH dan aktivitasnya dalam upaya menduga Tingkat prolifikasi domba ekor tipis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat terhadap kajian-kajian penelitian lanjutan untuk memperoleh salah satu indikator penciri keragaman tingkat prolifikasi domba ekor tipis.

MATERI DAN METODE

Ternak dan Protokol Percobaan

Penelitian ini menggunakan 36 domba ekor tipis yang telah diseleksi berdasarkan paritas dan jumlah anak yang dilahirkan menurut recording yang cukup baik di Kelompok Tani "Amanat" Bukateja, Purbalingga dan Kelompok Tani "Menda Rahayu" Klampok, Banjarnagara. Tingkat prolifikasi ternak domba ditentukan berdasarkan catatan jumlah cembe sekelahiran (JCS) dan pernah beranak 2 kali atau lebih.

Domba percobaan dikelompokkan berdasarkan rata-rata jumlah cembe sekelahiran atau tingkat prolifikasinya menjadi tiga kelompok, yaitu :

- a. Kelompok I prolifikasi rendah ($FecJ^+FecJ^+$) adalah domba-domba yang memiliki rata-rata jumlah cembe sekelahiran satu sampai sama dengan satu setengah,
- b. Kelompok II prolifikasi sedang ($FecJ^FecJ^+$) adalah domba-domba yang memiliki rata-rata jumlah cembe sekelahiran lebih besar dari satu setengah sampai sama dengan dua,
- c. Kelompok III prolifikasi tinggi ($FecJ^FecJ^F$) adalah domba-domba yang memiliki rata-rata jumlah cembe sekelahiran lebih besar dari dua.

Setiap kelompok diulang tidak sama (unequal), untuk kelompok I, II, dan III masing-masing 12, 17, dan 7 ekor. Semua domba percobaan diambil sampel darahnya sebanyak 10 ml dari vena jugularis. Sampel darah yang diperoleh didiamkan sampai menjendal kemudian disentrifugasi pada 2500 rpm selama 30 menit. Serum yang diperoleh ditampung dalam tabung upendrof, kemudian disimpan pada suhu -20°C . Untuk mengidentifikasi pola protein isozim serum dipisahkan dengan poliakrilamid gel elektroforesis menurut metode Deutcher (1990). Bahan yang digunakan untuk elektroforesis terdiri dari stok akrilamid dan bis akrilamid untuk gel pemisah (resolving gel) 8 % dan gel penggertak (stacking gel) 3 %, bufer Tris 1,5 M, larutan amonium persulfat 10% TEMED, serta KIT untuk analisis isozim LDH dan KE. Tahapan yang dilakukan dimulai dengan pembuatan bahan analisis kimia, pembuatan gel elektroforesis, penetasan spot sampel serum darah, proses pemisahan protein, pewarnaan, dan pencucian.

Peubah yang diamati adalah 1) pola migrasi isozim laktat dehidrogenase pada gel akrilamida 8%, dengan menggunakan teknik elektroforesis, dan 2) aktivitas enzim laktat dehidrogenase yang diukur berdasarkan kemampuan mengubah piruvat menjadi laktat, yang ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri.

ANALISIS STATISTIK

Bentuk dan keamatan hubungan serta kontribusi antar peubah dapat dilihat dengan melakukan analisis regresi dan korelasi sederhana (Steel dan Torrie, 1991). Analisis Diskriminan digunakan untuk mengetahui proporsi kebenaran pendugaan jumlah cempe berdasarkan pola migrasi isozim LDH (A) dan aktivitas isozim LDH (B) dengan menggunakan metode Sudjana (1992). Data yang terkoleksi dianalisis menggunakan Program SPSS Versi 10.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil elektroforesis dengan menggunakan gel poliakrilamida 8% menunjukkan adanya keragaman kemampuan gerak (pola migrasi) isozim LDH dari anoda ke katoda, dan dapat diamati juga adanya keragaman jumlah maupun pita yang terbentuk. Pola migrasi terjauh dari anoda ke arah katoda memberikan gambaran genotip untuk lokus isozim LDH pada semua domba ekor tipis percobaan adalah LDH^{AC}, dengan variasi alel pada prolifik rendah LDH^A dan LDH^C, dan pada prolifik sedang adalah LDH^A, LDH^C, LDH^{A1}, LDH^{C1}, dan LDH^{C2}.

Rataan pola migrasi isozim LDH pada prolifik rendah, sedang, dan tinggi masing-masing adalah $15,412 \pm 3,896$; $16,010 \pm 3,780$; dan $21,857 \pm 5,002$ milimeter. Pola migrasi isozim LDH meningkat sangat nyata ($P < 0.01$) dengan peningkatan tingkat proliferasi induk domba ekor tipis. Ini berarti bahwa makin tinggi pola migrasi isozim LDH, makin tinggi tingkat proliferasi induk domba ekor tipis.

Kemampuan migrasi isozim LDH ini berkaitan erat dengan berat molekul protein penyusun isozim LDH. Hasil percobaan ini sesuai dengan Lehninger *et al.* (1993), yang menyatakan bahwa antara individu satu dengan yang lainnya memiliki gen-gen pengkode isozim LDH yang berbeda, sehingga menimbulkan keragaman dalam komposisi asam amino penyusunnya. Komposisi asam amino penyusun suatu protein (termasuk isozim) sangat ditentukan oleh urutan basa nitrogen dalam DNA (gen). Kondisi demikian memungkinkan isozim LDH mempunyai muatan listrik dan berat molekul yang berbeda di antara individu satu dengan yang lainnya. Bila protein penyusun isozim LDH dipisahkan dengan teknik gel elektroforesis akan memiliki kemampuan migrasi yang kemungkinannya dapat beragam. Hasil penelitian ini memberikan gambaran bahwa keragaman kemampuan migrasi terjadi antar individu, dan antar kelompok proliferasi induk domba ekor tipis.

Pengukuran aktivitas isozim LDH yang dilakukan dengan menggunakan teknik spektrofotometri menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas enzim LDH untuk tingkat prolifikasi rendah, sedang, dan tinggi masing-masing adalah $1,392 \pm 0,132$; $1,072 \pm 0,093$; dan $0,749 \pm 0,111$ $\mu\text{mol}/\text{menit}/\text{liter}$. Aktivitas enzim LDH menurun sangat nyata ($P < 0,01$) dengan meningkatnya tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis. Ini berarti bahwa makin rendah aktivitas enzim LDH, makin tinggi tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis. besarnya penurunan aktivitas isozim LDH dari tingkat prolifikasi rendah ke sedang dan dari tingkat prolifikasi sedang ke tinggi masing-masing mencapai 22,09 persen, dan 30,13 persen.

Isozim LDH merupakan salah satu isozim yang berperan dalam mengkatalisis substrat menjadi prezat pembentuk hormon-hormon reproduksi, yaitu dalam proses pemecahan piruvat menjadi asam laktat dalam lintasan glikolisis sampai terbentuk ATP dalam siklus Krebs. Menurut Rodwell dan Kennelly (2001), piruvat merupakan produk akhir glikolisis yang mengalami lintas katabolik berlainan tergantung pada organisme dan keadaan metaboliknya. Peran isozim LDH adalah pada lintasan piruvat jalur kedua, yaitu dalam mengkatalisis reaksi piruvat menjadi laktat pada jaringan yang berlangsung secara anaerob.

Individu-individu dalam kelompok domba ekor tipis prolifik tinggi diduga memiliki proses metabolisme glukosa yang lebih sempurna guna memenuhi kebutuhan tubuh terhadap energi dan prezat untuk produksi hormon FSH-LH yang berperan dalam laju ovulasi. Oleh karena itu, senyawa antara piruvat lebih banyak digunakan sebagai prekursor pada lintasan siklus krebs, sedangkan jalur piruvat menjadi laktat menjadi berkurang, akibatnya aktivitas enzim LDH yang berperan dalam mengkatalisis reaksi tersebut juga rendah. Kondisi yang berbeda terjadi pada individu-individu dalam kelompok domba ekor tipis prolifik rendah yang memiliki aktivitas enzim LDH lebih tinggi. Hal ini sejalan dengan pendapat Bradford *et al.* (1986), dan McDonald (1980), yang menyatakan bahwa ditinjau dari aspek reproduksi, keragaman jumlah cempe yang dilahirkan oleh induk sangat erat kaitannya dengan laju ovulasi, yang dipengaruhi oleh hormon FSH-LH. Menurut Sumaryadi dan Haryati (2000); Sumaryadi *et al.* (2000), modulasi kedua hormon tersebut ternyata mampu meningkatkan jumlah folikel yang berovulasi pada ternak domba. FSH-LH merupakan hormon glikoprotein yang disintesis seperti umumnya protein, yaitu hasil ekspresi lokus gen melalui proses transkripsi dan translasi DNA yang melibatkan reaksi enzimatik. Selanjutnya dinyatakan oleh Sumaryadi *et al.* (2001), keadaan ini dimungkinkan bahwa keragaman laju ovulasi berkaitan dengan tipe alel yang memodulasi hormon dari hasil ekspresi sekelompok gen yang terdapat pada rantai DNA. Swedlow *et al.*, (1996), menyatakan bahwa aktivitas isozim LDH sangat penting mengingat proses deglikosilasi (pelepasan karbohidrat) dari hormon glikoprotein menyebabkan penurunan aktivitas hormon. Semakin tinggi laju ovulasi dan jumlah cempe yang dilahirkan, semakin meningkatkan kebutuhan substrat untuk produksi hormon FSH-LH yang secara tidak langsung dipengaruhi oleh aktivitas enzim LDH. Hal ini ditunjukkan bahwa induk domba prolifik tinggi mempunyai aktivitas enzim LDH yang rendah, sehingga piruvat tidak banyak dirubah menjadi laktat.

Hasil analisis regresi linier diperoleh hubungan antara aktivitas isozim LDH (X) dengan pola migrasi isozim LDH (Y) bersifat linier, yaitu garis menurun mengikuti persamaan $Y = 25,926 - 7,47 X$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,675 dan koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,456. Hal ini berarti bahwa pola migrasi isozim LDH pada tiga tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis memiliki keeratan hubungan yang tinggi dengan aktivitas enzim LDH, yaitu 45,6 persen pola migrasi LDH dipengaruhi oleh aktivitasnya, sedangkan 54,4 persen dipengaruhi oleh faktor lain.

Hasil analisis diskriminan pendugaan tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis berdasarkan aktivitas enzim LDH ternyata memberikan tingkat kebenaran pendugaan yang berkisar antara 94,1 sampai 100 persen, seperti disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kebenaran Pendugaan Berdasarkan Aktivitas Enzim LDH terhadap Tingkat Prolifikasi Induk Domba Ekor Tipis

Tingkat Prolifikasi	Tingkat Kebenaran Pendugaan (%)
Rendah	100,000
Sedang	94,100
Tinggi	100,000
Rata-rata	98,033

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pendugaan terhadap tingkat prolifikasi rendah, sedang, dan tinggi berdasarkan aktivitas enzim LDH masing-masing mempunyai proporsi kebenaran pendugaan sebesar 100; 94,1; dan 100 persen. Pendugaan terhadap tingkat prolifikasi rendah (D₁), sedang (D₂), dan tinggi (D₃) berdasarkan aktivitas enzim LDH, masing-masing mengikuti persamaan fungsi diskriminan $D_1 = - 79,915 + 113,248 X$, $D_2 = - 47,464 + 87,186 X$, dan $D_3 = - 24,468 + 60,951 X$.

Hasil analisis diskriminan pendugaan tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis berdasarkan rata-rata pola migrasi isozim LDH ternyata memberikan tingkat kebenaran pendugaan yang berkisar antara 66,7 sampai 100 persen, seperti disajikan dalam Tabel 2.

Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pendugaan terhadap tingkat prolifikasi rendah, sedang, dan tinggi berdasarkan rata-rata pola migrasi isozim LDH masing-masing mempunyai proporsi kebenaran pendugaan sebesar 66,7; 82,4; dan 100 persen. Pendugaan terhadap tingkat prolifikasi rendah (D₁), sedang (D₂), dan tinggi (D₃) berdasarkan rata-rata pola migrasi isozim LDH tersebut diperoleh dengan mengikuti persamaan fungsi diskriminan $D_1 = - 38,821 + 4,807 X$, $D_2 = - 45,881 + 5,258 X$, dan $D_3 = - 74,800 + 6,695 X$.

Tabel 2. Kebenaran Pendugaan Berdasarkan Rataan Pola Migrasi Isozim LDH terhadap Tingkat Prolifikasi Induk Domba Ekor Tipis

Tingkat Prolifikasi	Tingkat Kebenaran Pendugaan (%)
Rendah	66,700
Sedang	82,400
Tinggi	100,000
Rata-rata	83,033

KESIMPULAN

Pola migrasi isozim LDH meningkat dengan meningkatnya tingkat prolifikasi domba, sedangkan aktivitas enzim LDH menurun dengan meningkatnya tingkat prolifikasi domba. Pola migrasi isozim LDH memiliki hubungan yang erat dengan aktivitasnya, dan keduanya dapat digunakan untuk menduga tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis.

Proporsi kebenaran pendugaan tingkat prolifikasi induk domba ekor tipis berdasarkan aktivitas isozim LDH berkisar antara 94,1 sampai 100 persen. Sedangkan proporsi

kebenaran pendugaan tingkat prolififikasi induk domba ekor tipis berdasarkan rata-rata pola migrasi isozim LDH berkisar antara 66,7 persen sampai 100 persen.

Seleksi terhadap tingkat prolififikasi ternak domba dapat dilakukan berdasarkan pola migrasi isozim LDH dan aktivitasnya, namun penelitian lanjutan diperlukan melalui indikator penciri (marker genetic) antibody spesifik isozim LDH.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dan Proyek Riset Unggulan atas penyediaan sumber dana, serta Ketua Kelompok Amanat dan Mendo Rahayu, serta kepada Bapak Sutarmo dan Musalam atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

- Adjisoedarmo, S., B. Purnomo, A.T. Ari Sudewo, E. A. Marmono dan Suparwi., 1994. Menciptakan Bibit Unggul Domba Lokal Menggunakan Seleksi. Laporan Akhir Penelitian. HB II/1. DP3M Dirjen Pentil
- Adjisoedarmo, S., B. Purnomo, A.T. Ari Sudewo, E. A. Marmono dan Agus Setya, 1995. Menciptakan Bibit Unggul Domba Lokal Menggunakan Seleksi (Lanjutan). Laporan Akhir Penelitian. HB II/2. DP3M Dirjen Pentil
- Adjisoedarmo, S., B. Purnomo, A.T. Ari Sudewo, E. Agus Marmono dan Agus Setya., 1996. Menciptakan Bibit Unggul Domba Lokal Menggunakan Seleksi (Lanjutan). Laporan Akhir Penelitian. HB II/3. DP3M Dirjen Pentil
- Adjisoedarmo, S., B. Purnomo, E.A. Marmono, A.T. Ari Sudewo dan S.A. Santosa, 1997. Menciptakan Bibit Domba Lokal Berkualitas Unggul Melalui Seleksi. Laporan Penelitian HB II/4. Fakultas Peternakan Unsoed. Purwokerto.
- Bradford, G.E. I. Inounu, L.C. Iniguez, B. Tiesnamurti and D.L. Thomas, 1991. The Prolificacy Gene of Javanese Sheep. In: J.M. Elsen, L. Bodin and J. Thimonier (Ed). Major Gene for Reproduction in Sheep. Proc. 2nd Int. Workshop, Toulouse, France, July 16-18, 1990. pp:67-74.
- Bradford, G.E., J.F. Quirke, P. Sitorus, I. Inounu, B. Tiesnamurti, F.L. Bell, I.C. Fletcher and D.T. Torell. 1986. Reproduction in Javanese Sheep: Evidence for Gene with Large Effect on Avulation Rate and Litter Size. J. Anim. Sci. 63: 418-431.
- Bradford, G.E., 1985. Selection for litter size. In: Genetics of Reproduction in Sheep. R.B. Land and D.W. Robinson Ed. Butterworth, London. Pp. 3-18.
- Deutcher. M.P. 1990. Guide to Protein Purification. Methods In Enzymology. Academic Press INC. San Diego, New York.
- Elsen, J.M., L. Bodin and J. Thimonier, 1991. Major Gene for Reproduction Sheep. INRA Paris.
- Lehninger, A.L., D.L. Nelson and M.M. Cox, 1993. Principles of Biochemistry. 2nd Edition. Worth Publishers, New York.
- McDonald, L.E., 1980. Veterinary Endocrinology and Reproduction 3rd Edition. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Singer. M. and P. Bug. 1991. Gene and Genoms. A Changigng Perspectip. University Science Books. California.
- Sofro. A. S. M. 1993. Keragaman Genetik. PAU-Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sumaryadi, M. Y. dan Haryati, 2000. Efek Penyuntikan PMSG terhadap konsentrasi progesteron kaitannya dengan Pertumbuhan Kelenjar Uterus Domba pada Fase Luteal

Siklus Berahi. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Puslibangnak Bogor.

Sumaryadi, M. Y., Prayitno, DD. Purwnatini dan A. Susanto, 2000. Analisis Keragaman Lokus Isozim sebagai Marker Genetic Domba Prolifik dan Responnya terhadap Induksi hormon PMSG. Laporan Penelitian QUE project Program Studi Produksi Ternak, Fakultas Peternakan Unsoed

Swedlow, J.R., R.L. Matteri and H. Parkoff, 1996. Deglycosylation of Gonadotropine with an Endoglycosidase. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 18: 432-437.