

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Dua isolat bakteri pendegradasi inulin telah ditemukan dari sumber air panas di Solok Sumatra Barat, yaitu isolat UBCT-007 yang diidentifikasi sebagai *Bacillus licheniformis*, sedangkan isolat UBCT-030 sebagai *Bacillus subtilis*.

Aktivitas enzim ekstraseluler *Bacillus licheniformis* UBCT-007 paling baik pada suhu 60°C dan pH 4,5. Enzim pendegradasi inulin merusak bentuk granula inulin. Enzim pendegradasi inulin bertipe aksi *exo-* dan diperkirakan mempunyai massa molekul 57,2 kDa.

Pada *B. licheniformis* UBCT-007 telah ditemukan dua gen *exolevanase* yaitu ukuran 2034 pb dan 2058 pb. Gen tersebut diperoleh dengan empat kali PCR. PCR pertama dan kedua menggunakan primer degeneratif yang dirancang pada domain lestari enzim pendegradasi inulin. Amplikon PCR pertama dan kedua menghasilkan berturut-turut fragmen gen pendegradasi inulin berukuran 398 pb dan 539 pb. Daerah hulu dan hilir fragmen gen 539 pb ditemukan dengan PCR menggunakan primer spesifik yang dirancang pada gen *levanase* strain berbeda dari *Bacillus subtilis*.

Deduksi urutan lengkap gen *exolevanase* ukuran 2034 pb dan 2058 pb *B. licheniformis* UBCT-007 menghasilkan protein yang dinamakan BlcM sepanjang 677 residu asam amino dan BlcA sepanjang 685 residu asam amino. Peptida sinyal putatif pada BlcM adalah 24 residu asam amino, sedangkan pada BlcA adalah 32 residu asam amino. Perbedaan kedua protein ini terletak pada 8 residu asam amino pertama pada BlcM. Perbedaan selanjutnya adalah pada protein BlcM, residu asam amino His67, dan Ser159, sedangkan pada BlcA adalah Asp75, dan Asn167.

Model struktur tersier BlcM dan BlcA terdiri atas 2 domain yaitu domain β -*propeller* pada domain N terminal (Domain 1) dan domain β -*sandwich* pada domain C terminal (Domain 2). Domain N pada BlcM terdapat residu katalitik Asp49, dan Glu223 berturut-turut terletak pada *blade* 1, dan *blade* 3, sedangkan pada BlcA terdapat residu katalitik Asp57, dan Glu231. Domain C terminal pada BlcM dan BlcA melipat membentuk β -*sandwich* yang terdiri dari dua β -*sheet*. Masing-masing β -*sheet* pada BlcM dan BlcA terdiri dari 5 dan 6 β -*strand* antiparalel.

5.2 Saran

Beberapa alur penelitian baru dapat dibangun berdasarkan hasil penelitian ini. Gen exolevanase yang ditemukan pada *B. licheniformis* UBCT-007 dikloning pada vektor ekspresi dan diekspresikan dalam bakteri atau ragi. Sampai saat ini belum ditemui data struktur kristal exolevanase pada basis data PDB. Oleh sebab itu, alur penelitian selanjutnya adalah memurnikan exolevanase yang diekspresikan dan menentukan struktur kristalnya. Melalui struktur ini dapat dilakukan kajian untuk memperoleh informasi tentang peranan residu asam amino penyusun exolevanase sehingga aktivitas exolevanase dapat ditingkatkan yang akhirnya nanti dapat diaplikasikan pada industri produksi fruktosa dari inulin.

Berdasarkan uji biokimianya, *B. licheniformis* UBCT-007 dapat menghidrolisis molekul besar seperti pati, gelatin dan kasein. Hal ini berarti isolat ini juga mengekspresikan enzim ekstraselular amilase, gelatinase dan kaseinase. Ketiga enzim ini penting dalam industri pangan. Oleh sebab itu penelitian lanjut yang dapat dilakukan adalah melakukan karakterisasi biokimia masing-masing enzim dan melakukan isolasi gen yang mengkode enzim tersebut. Alur penelitian lanjut yang dapat dilakukan adalah ekspresi setiap gen tersebut dan melakukan pemurnian masing-masing enzim. Pada setiap enzim murni ditentukan kembali karakteristik biokimianya.

