

Analisis *In Silico* Struktur Enzim Endo-1,4-B-Glucanase Pada Bakteri *Ferroidobacterium Nodosum* dan *Bacillus Subtilis*

In Silico Analysis of Endo-1,4- β -Glucanase Enzyme Structure on *Ferroidobacterium nodosum* and *Bacillus subtilis*

Dea Aprillia Ningsih *, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: dea.17030244066@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Enzim endo-1,4- β -glucanase yang banyak ditemukan pada organisme hipertermofilik dan termofilik dapat menghidrolisis ikatan glikosidik- β -1,4 dalam selulosa menjadi glukosa dengan aktivitas degradasi yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui struktur protein dan similaritas enzim endo 1,4- β -glucanase bakteri *Ferroidobacterium nodosum* dan *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari sumber mata air panas dan fermentasi pakan ternak, berdasarkan urutan sekuen asam amino dan struktur tiga dimensi. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif menggunakan sekuen asam amino kedua enzim yang diperoleh dari situs *National Center of Biotechnology Information (NCBI)* melalui *data mining*, kemudian dianalisis similaritasnya dengan aplikasi *Clustal Omega* untuk menyejajarkan urutan protein yang berbeda serta memperoleh area lestari. Selanjutnya struktur tiga dimensi kedua enzim yang diperoleh dari *Template* pada *SWISS MODEL workspace* dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan similaritas enzim endo 1,4- β -glucanase pada kedua bakteri sebesar 21,72%. Empat motif yang ditemukan pada struktur tiga dimensi diduga mempengaruhi perubahan aktivitas katalitik, stabilitas dan pembentukan α -helix pada kedua struktur protein. Perbedaan struktur tiga dimensi enzim endo-1,4- β -glucanase pada kedua bakteri diduga mempengaruhi aktivitasnya sehingga diharapkan mampu memberikan kontribusi terhadap penelitian kedepannya terkait perbedaan aktivitas degradasi enzim dari organisme yang berbeda.

Kata kunci: bakteri;enzim endo-1,4- β -glucanase; *in silico*

Abstract. Endo 1,4- β -glucanase enzymes which are commonly found in hyperthermophilic and thermophilic organisms can hydrolyze 1-4-glycosidic bonds in cellulose into glucose with different degradation activities. This study aims to determine the protein structure and similarity of the endo 1,4- β -glucanase enzyme of bacteria *Ferroidobacterium nodosum* and *Bacillus subtilis* isolated from hot springs and fermented animal feed, based on amino acid sequences and three-dimensional structures. This study is a descriptive study using the amino acid sequences of the two enzymes obtained from NCBI (*National Center of Biotechnology Information*) website through data mining, then analyzed for similarity with the *Clustal Omega* application to align different protein sequences and obtain conserved areas. Furthermore, the three-dimensional structure of the two enzymes obtained from the *SWISS MODEL workspace* was analyzed descriptively. The result showed the similarity of the endo 1,4- β -glucanase enzyme in the two bacteria was 21,72%. The four motifs found in the three-dimensional structure are thought to affect changes in catalytic activity, stability and alpha-helix formation in both protein structures. The difference in the three-dimensional structure of the endo-1,4- β -glucanase enzyme in the two bacteria is thought to affect its activity so that it is expected to be able contribute to future research related to differences in enzyme degradation activity of different organisms.

Kata kunci: bacteria; the endo 1,4- β -glucanase enzyme; *in silico*

PENDAHULUAN

Biomassa merupakan bahan alam yang dapat diperoleh dari tanaman maupun hewan baik secara langsung maupun tidak langsung dan dimanfaatkan sebagai sumber energi dalam jumlah yang besar. *United Stated Departement of Agriculture (USDA)* mendefinisikan biomassa sebagai bahan terbarukan yang mencakup produk dan limbah pertanian, limbah hutan dan kayu, limbah hewan, limbah industri perkotaan, dan tanaman air (Chen, 2014).

Biomassa lignoselulosa merupakan sumber daya hayati terbarukan yang terbentuk secara alami melalui proses fotosintesis dan terdiri dari senyawa lignin, selulosa dan hemiselulosa (Howard *et al.*, 2003). Keberadaan lignoselulosa di alam sangat berlimpah dan seringkali dianggap sebagai limbah. Padahal, apabila diolah secara optimal dapat dijadikan sumber energi terbarukan yang menghasilkan produk bernilai seperti gula dari hasil fermentasi, produk *biofuel* dan sumber energi berupa bioetanol. Komponen lignoselulosa tidak mudah terdegradasi secara kimia maupun fisika. Namun, dapat diuraikan oleh aktivitas organisme melalui proses enzimatik (Hasibuan, 2009; Ulfa *et al.*, 2014).

Proses degradasi selulosa secara enzimatik dilakukan dengan bantuan mikroorganisme. Mikroorganisme penghasil enzim selulosa ini tersebar di berbagai jenis habitat yang beragam seperti pada rumen ruminansia, saluran pencernaan pada rayap, tanah, sumber air panas dan habitat laut yang memiliki salinitas tinggi (Polizeli *et al.*, 2005). Menurut penelitian Koike dan Kobayasi (2001), bakteri *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefacies* dan *Ruminococcus albus* yang diisolasi dari rumen ruminansia menghasilkan enzim yang efisien dalam mendegradasi selulosa dan melakukan selulolisis. Kamra (2005) menyatakan bahwa bakteri yang diisolasi dari rumen ruminansia, yaitu *R. flavefacies* dan *R. albus* memiliki aktivitas degradasi yang sama sebesar 59,8%, sedangkan *Bacillus fibrolyticus*, *Clostridium lochheadii* dan *Clostridium longisporum* masing-masing memiliki aktivitas degradasi sebesar 11,1%, 3,8% dan 1,3%.

Enzim selulolitik memiliki sejumlah peranan, antara lain berperan dalam berbagai industri untuk mendegradasi selulosa dan menghasilkan produk berupa *biofuel*, peningkatan kualitas dan mutu pakan ternak, pendegradasi limbah industri *pulp* dan kertas hingga biopolimer dan tekstil. Beberapa enzim yang merupakan kelompok enzim selulolitik antara lain selobiohidrolase (β -glukosidase), eksoglukanase dan β -glukanase (Murashima *et al.*, 2002).

Salah satu kelompok enzim β -glukanase yang mendegradasi selulosa secara efektif adalah enzim endo 1,4- β -glukanase. Menurut Kanoksilapatham *et al.* (2016), anggota genus *Fervidobacterium* yang ditemukan pada habitat mata air panas Taman Nasional Mae Fang, Thailand Utara dapat menghidrolisis selulosa melalui aktivitas enzim endo-1,4 β -glukanase dengan aktivitas degradasi sebesar 440 IU/ml. Penelitian lain yang dilakukan oleh Eunhye *et al.* (2017), menemukan bahwa *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari fermentasi pakan ternak memiliki aktivitas degradasi enzim endo-1,4- β -glukanase sebesar 0,04 IU/ml.

Bakteri *Fervidobacterium nodosum* dan *B. subtilis* merupakan bakteri yang diisolasi dari habitat yang berbeda dan memiliki sifat hipertermofilik dan termofilik dengan suhu pertumbuhan optimal berkisar antara 60-80°C. Kedua bakteri ini juga mampu memecah ikatan endo 1,4- β -glukanase pada selulosa menggunakan enzim endo 1,4- β -glukanase pada pH optimal sebesar 6,5. Meskipun demikian, sebagaimana yang telah dijelaskan pada penelitian sebelumnya bahwa meskipun kedua bakteri memiliki enzim endo 1,4- β -glukanase namun aktivitas degradasi antara enzim dari bakteri *F. nodosum* dan *B. subtilis* berbeda. Aktivitas degradasi dari bakteri *F. nodosum* lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas degradasi *B. subtilis* (Eunhye *et al.*, 2017; Kanoksilapatham *et al.*, 2016).

Sejauh ini enzim endo 1,4- β -glukanase sangatlah penting dalam proses pendegradasi selulosa. Akan tetapi, data terkait dengan perbandingan enzim endo 1,4- β -glukanase pada bakteri yang dikaitkan dengan similaritas sekuen dan struktur tiga dimensi enzim ini masih sangat terbatas. Untuk itu penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan tentang similaritas enzim endo 1,4- β -glukanase dari bakteri *F. nodosum* dan *B. subtilis* ditinjau dari similaritas sekuen dan struktur tiga dimensinya. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap penelitian lebih lanjut terkait perbedaan aktivitas degradasi enzim yang diperoleh dari organisme yang berbeda.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dimulai pada bulan Desember - Februari 2021 dengan mengamati secara langsung dan menganalisis struktur enzim endo 1,4- β -glukanase dari kedua bakteri uji secara *in silico*. Pengambilan dan analisis data dilaksanakan secara *online* dengan memanfaatkan data sekunder yang terdapat di sejumlah *database*. Sasaran penelitian ini adalah sekuen asam amino enzim endo-1,4- β -glukanase dari bakteri hipertermofilik *F. nodosum* RT17 B1 dan bakteri termofilik *B. subtilis* subsp. *subtilis* 168 yang diperoleh dari situs *genbank* serta struktur tiga dimensinya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah laptop serta aplikasi *Clustal Omega* yang digunakan untuk penyejajaran sekuen asam amino dan pencarian area *conserved* serta aplikasi *SWISS MODEL workspace* yang digunakan dalam analisis *template* struktur enzim endo-1,4- β -glukanase dari bakteri *F. nodosum* R17 B1 dan *B. subtilis* subsp. *subtilis* 168. Bahan yang digunakan

dalam penelitian ini antara lain sekuen asam amino enzim endo-1,4- β -glucanase *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 yang diperoleh dari database NCBI.

Langkah kerja meliputi empat tahapan. Tahap pertama yaitu *data mining* informasi genetik berupa sekuen asam amino enzim endo-1,4- β -glucanase dari bakteri *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 yang dilakukan dengan mengakses situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan menuliskan nama enzim 1,4- β -glucanase dan spesies bakteri yang akan dianalisis. Tahap kedua yaitu penyejajaran sekuen (*alignment sequencing*) asam amino enzim endo 1,4- β -glucanase dari bakteri *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 dengan menggunakan aplikasi *Clustal Omega* (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). Hasil *alignment* dari *Clustal Omega* kemudian disimpan dalam format PDF. Tahap ketiga yaitu penentuan motif dengan mencari residu asam amino yang *conserved* yang telah dianalisis melalui penyejajaran sekuen. Motif pada enzim endo 1,4- β -glucanase tersusun dari empat atau lebih residu yang memiliki area *conserved*. Tahap keempat yaitu pencarian model struktur tiga dimensi dari enzim endo-1,4- β -glucanase yang disimulasikan menggunakan *crystal* struktur dari sekuen asam amino pengkode gen selulosa dari *F. nodosum* RT17 B1 (PDB ID: 3RJY) dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 (PDB ID: 3PZV) dengan *template* yang digunakan dari *SWISS MODEL workspace* (Waterhouse *et al.*, 2018).

HASIL

Hasil penelitian berupa similaritas enzim endo 1,4- β -glucanase pada bakteri *F. nodosum* R17 B1 dengan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 yang ditentukan dengan menggunakan aplikasi *Clustal Omega*. Kedua bakteri ini sama-sama memiliki enzim endo 1,4- β -glucanase tetapi hanya memiliki indeks similaritas sebesar 21,72%. Selain itu, enzim endo 1,4- β -glucanase dari bakteri *F. nodosum* R17 B1 tersusun dari 320 residu asam amino dengan prediksi berat molekul sebesar 40,100 Da, sedangkan enzim dari bakteri *B. subtilis subsp. subtilis* 168 tersusun dari 508 residu asam amino dengan prediksi berat molekul sebesar 55,287 Da.

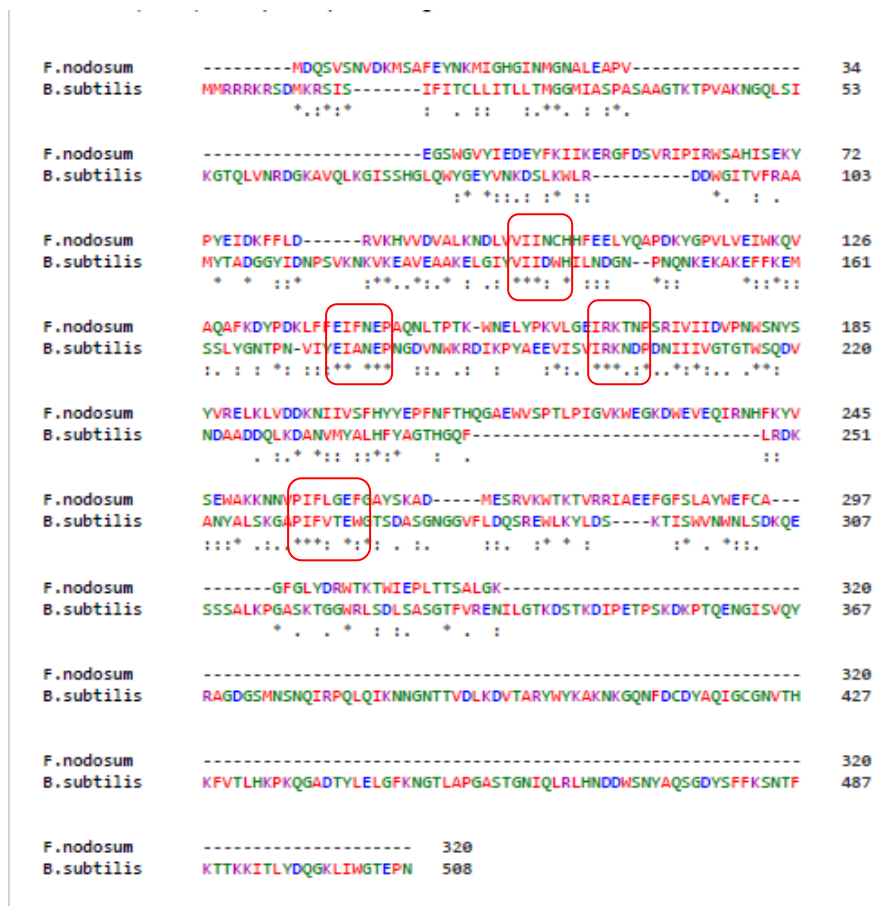
Hasil penyejajaran sekuen asam amino enzim endo 1,4- β -glucanase dari *F. nodosum* R17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 (Gambar 1) menunjukkan beberapa urutan residu asam amino pendek (motif) yang sama pada kedua enzim. Motif 1 yang ditemukan adalah VIIxxH, pada *F. nodosum* R17 B1 motif tersebut ditemukan pada valin urutan 98 (V₉₈), isoleusin urutan 99 (I₉₉), isoleusin urutan 100 (I₁₀₀), asparagin 101 (N₁₀₁), sistein 102 (C₁₀₂) dan histidin urutan 103 (H₁₀₃), sedangkan pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 motif tersebut ditemukan pada valin urutan 135 (V₁₃₅), isoleusin urutan 136 (I₁₃₆), isoleusin urutan 137 (I₁₃₇), asam aspartat 138 (D₁₃₈), triptofan 139 (W₁₃₉) dan histidin urutan 140 (H₁₄₀).

Motif 2 yang ditemukan adalah EIxNEP, pada *F. nodosum* R17 B1 motif tersebut ditemukan pada asam glutamat urutan 140 (E₁₄₀), isoleusin urutan 141 (I₁₄₁), fenilalanin urutan 142 (F₁₄₂), asparagin 143 (N₁₄₃), asam glutamat 144 (E₁₄₄) dan prolin urutan 145 (P₁₄₅), sedangkan pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 motif tersebut ditemukan pada asam glutamat urutan 160 (E₁₆₀), isoleusin urutan 161 (I₁₆₁), alanin urutan 162 (A₁₆₂), asparagin 163 (N₁₆₃), asam glutamat 164 (E₁₆₄) dan prolin urutan 165 (P₁₆₅).

Motif 3 yang ditemukan adalah IRKxxP, pada *F. nodosum* R17 B1 motif tersebut ditemukan pada isoleusin 165 (I₁₆₅), arginin urutan 166 (R₁₆₆), lisin urutan 167 (K₁₆₇), treonin 168 (T₁₆₈), asparagin 169 (N₁₆₉) dan prolin urutan 170 (P₁₇₀), sedangkan pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 motif tersebut ditemukan pada isoleusin 186 (I₁₈₆), arginin urutan 187 (R₁₈₇), lisin urutan 188 (K₁₈₈), asparagin 189 (N₁₈₉), asam aspartat 190 (D₁₉₀) dan prolin urutan 191 (P₁₉₁).

Motif 4 yang ditemukan adalah PIFxxExG, pada *F. nodosum* R17 B1 motif tersebut ditemukan pada prolin 255 (P₂₅₅), isoleusin urutan 256 (I₂₅₆), fenilalanin urutan 257 (F₂₅₇), leusin 258 (L₂₅₈), asparagin 259 (N₂₅₉), asam glutamat 260 (E₂₆₀), fenilalanin 261 (F₂₆₁) dan glisin urutan 262 (G₂₆₂), sedangkan pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 motif tersebut ditemukan pada prolin 261 (P₂₆₁), isoleusin urutan 262 (I₂₆₂), fenilalanin urutan 263 (F₂₆₃), valin 264 (V₂₆₄), treonin 265 (T₂₆₅), asam glutamat 266 (E₂₆₆), triptofan 267 (F₂₆₇) dan glisin urutan 268 (G₂₆₈). Motif - motif dalam sekuen protein enzim endo 1,4- β -glucanase pada kedua bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.

Simulasi struktur tiga dimensi pada kedua bakteri menggunakan *SWISS MODEL workspace* dengan estimasi kualitas model global (GMQE) pada bakteri *F. nodosum* RT17 B1 sebesar 0,93 menghasilkan kualitas model absolut (QMEAN) sebesar 0,50. Pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 memiliki GMQE sebesar 0,43 menghasilkan QMEAN sebesar 0,49.



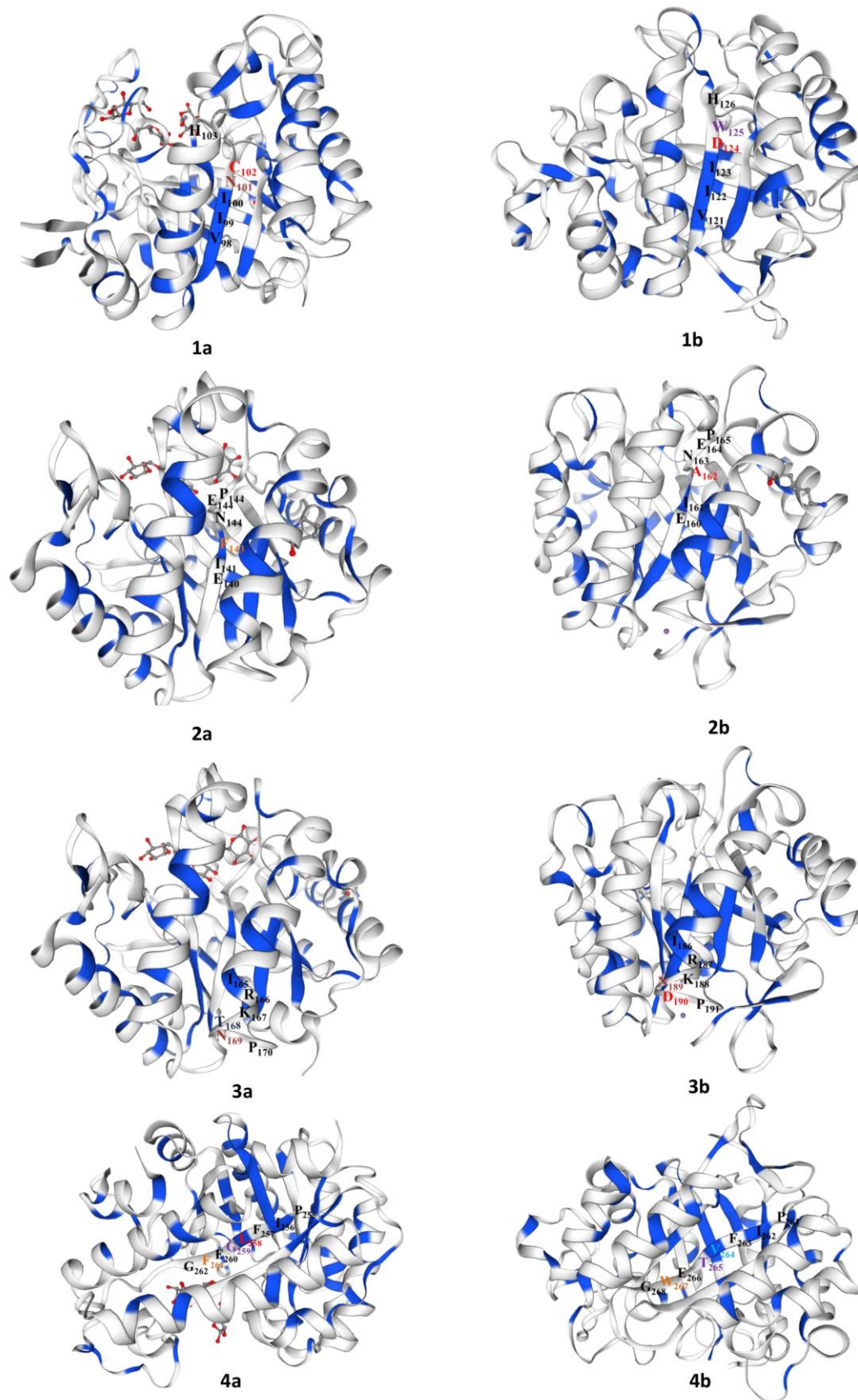
Gambar 1. Hasil penjejajaran sekuen asam amino enzim endo 1,4-β-glucanase bakteri *F. nodosum* R17 B1 dengan *B. subtilis subsp. subtilis* 168. Bagian yang ditandai pada kotak berwarna merah menunjukkan motif residu yang ditemukan pada kedua enzim tersebut, tanda (*) menunjukkan area *conserved* pada kedua residu, serta tanda (:) pada kedua residu tergolong dalam satu kelompok residu yang sama.

Struktur tiga dimensi enzim endo 1,4-β-glucanase dari *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 yang akan dibandingkan telah didaftarkan pada Protein Data Bank (PDB ID: 3RJY dan 3PZT). Motif kedua struktur tiga dimensi enzim endo 1,4-β-glucanase dari kedua bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim endo 1,4-β-glucanase (EC 3.2.1.4) disebut juga endoglucanase yang bertanggung jawab dalam memecah ikatan glikosidik. Analisis yang dilakukan menggunakan aplikasi Pfam menunjukkan bahwa keduanya memiliki satu domain penting untuk fungsi proses enzimatik yang diberi nama selulase (family Glikosida Hidrolase 5 (GH5)). Similaritas enzim endo 1,4-β-glucanase dari bakteri *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 yang dianalisis menggunakan aplikasi *Clustal Omega* termasuk dalam kategori rendah karena hanya sebesar 21,72% (<70%). Similaritas urutan asam amino kurang dari 70% menunjukkan bahwa enzim endo 1,4-β-glucanase pada kedua bakteri memiliki struktur dan aktivitas yang berbeda (Findlay and Brew, 1972).

Struktur tiga dimensi enzim endo 1,4-β-glucanase dari *F. nodosum* RT17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 diperoleh dari *template* pada *SWISS MODEL workspace* yang mana telah diketahui empat motif pada kedua bakteri uji.



Gambar 2. Perbandingan motif struktur enzim endo 1,4- β -glucanase dari bakteri *F. nodosum* RT17 B1 (a) dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 (b). (1a, 1b) motif VIIxxH, (2a, 2b) motif EIxNEP, (3a, 3b) motif IRKxxP, dan (4a, 4b) motif PIFxxExG. Asam amino alifatik ditandai dengan warna biru sedangkan asam amino aromatik, prolin dan dihidroksida ditandai dengan warna putih

Pada motif 1 (VIIxxH) dari *F. nodosum R17 B1* dan *B. subtilis subsp subtilis 168* ditemukan asam amino valin dan isoleusin, asam amino ini termasuk dalam golongan asam amino alifatik yang bersifat hidrofobik dan cenderung berkelompok sehingga menyebabkan struktur ini lebih stabil. Asam amino histidin merupakan golongan asam amino basa yang bermuatan positif serta merupakan asam amino esensial. Selain itu ditemukan dua asam amino yang berbeda pada motif 1 dari kedua bakteri, pada *F. nodosum R17 B1* yaitu asam amino asparagin (N) dan asam amino sistein (C), asparagin termasuk kedalam gugus amida dan sistein termasuk kedalam asam amino yang mengandung sulfur. Keduanya termasuk pada asam amino non esensial. Asam amino ini dapat diproduksi oleh tubuh manusia (Winarno, 2008). Pada bakteri *B. subtilis subsp. subtilis 168* kedua asam amino tersebut disubstitusi oleh asam amino asam aspartat (D) dan triptofan (W). Asam aspartat termasuk kedalam golongan asam amino dikarboksilat yang bersifat asam dengan muatan *negatif* dan bersifat hidrofobik. Asam aspartat merupakan donor proton, yang mana pada pH netral rantai samping terionisasi secara penuh (Murray *et al.*, 2009). Selain itu asam amino lain yang disubstitusi adalah triptofan (W) yang tergolong asam amino aromatik bersifat non polar dan netral. Golongan gugus aromatik berperan sebagai protein yang menyerap paling banyak sinar pada panjang gelombang 280 nm untuk menduga konsentrasi protein dalam aktivitas enzim (Murray *et al.*, 2009; Lehninger *et al.*, 2005). Terjadinya perbedaan konformasi pada kedua residu asam amino mempengaruhi aktivitas katalitik pada enzim endo 1,4- β -glucanase. Sistein yang bersifat hidrofobik berikatan dengan histidin membentuk jembatan disulfida. Struktur kimia alifatik dari sistein berikatan dengan rantai samping histidin bermuatan positif yang dapat memberikan bentuk struktur yang berbeda berupa *loop* dibandingkan dengan ikatan antara triptofan dan histidin yang berbentuk struktur linier. Struktur linier disebabkan karena adanya ikatan triptofan dan histidin yang membentuk ikatan hidrogen lemah dari tipe OH- π dan CH-O menggunakan elektron di dalam struktur cincinnya (Scheiner *et al.*, 2002).

Pada motif 2 (EIxNEP) dari *F. nodosum R17 B1* dan *B. subtilis subsp subtilis 168* ditemukan asam amino asam glutamat (E), isoleusin (I), asparagin (N) dan prolin (P). Asam glutamat merupakan asam amino yang bersifat asam dan hidrofobik. Asam glutamat berikatan dengan isoleusin yang juga bersifat hidrofobik sehingga ikatan keduanya stabil. Selain itu asparagin tergolong asam amino amida yang berikatan dengan asam glutamat dan prolin yang membentuk lipatan atau lekukan sehingga membentuk α -helix pada protein globular (Sanger *et al.*, 2008). Selain itu, ditemukan residu asam amino yang berbeda dari kedua bakteri. Pada *F. nodosum RT17 B1* terdapat asam amino fenilalanin (F) diantara isoleusin dan asparagin. Fenilalanin merupakan asam nonpolar, bersifat aromatik dan merupakan asam amino esensial yang bersifat netral. Pada *B. subtilis subsp. subtilis 168* disubstitusi asam amino alanin (A) yang merupakan asam amino non esensial yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh, bersifat netral dan alifatik pada pH mendekati 7 serta memiliki rantai cabang hidrokarbon (Rahayu *et al.*, 2014). Fenilalanin merupakan gugus asam amino aromatik dari alanin yang salah satu metil hidrognennya disubstitusi oleh gugus fenil. Cincin fenil yang dimiliki oleh fenilalanin berupa elektron π (ϕ) yang terbentuk dari sisi tumpang tindih orbital P berfungsi untuk menambah stabilitas struktur protein dari enzim endo 1,4- β -glucanase (Palumbo *et al.*, 2003). Pada ikatan fenilalanin yang berasal dari gugus aromatik dan asparagin yang bersifat polar dan bermuatan positif terbentuk struktur β -sheet linier. Berbeda dengan ikatan alanin yang bersifat hidrofobik dan asparagin yang membentuk struktur β -sheet berpilin. Perbedaan ini dikarenakan fenilalanin berasal dari gugus aromatik yang berikatan dengan asparagin tidak termasuk kedalam ikatan Van der Waals sehingga gaya tarik menarik antara kedua molekul lemah dikarenakan interaksi penumpukan cincin (Luscombe *et al.*, 2001).

Pada motif 3 (IRKxxP) pada kedua bakteri uji ditemukan dua asam amino yang berbeda. Pada *F. nodosum R17 B1* ditemukan asam amino isoleusin (I), arginin (R), lisin (K) dan prolin (P). Isoleusin merupakan asam amino esensial yang memiliki rantai samping hidrokarbon bercabang dan berperan dalam mengikat ligan dengan protein serta memainkan peran penting dalam stabilitas protein. Isoleusin berikatan dengan arginin membentuk lekukan α -helix karena arginin merupakan protein yang mengikat substrat terfosforilasi dan ditemukan pada pusat aktif protein (Rahayu *et al.*, 2014). Ikatan arginin dan lisin menghasilkan asam amino L-ornithin. Ornithin merupakan lisin dengan satu gugus metilen yang lebih sedikit di rantai samping. Selain itu ditemukan asam amino yang berbeda pada kedua bakteri. Pada *F. nodosum RT 17 B1* ditemukan asam amino treonin dan asparagin. Sedangkan pada *B. subtilis subsp subtilis 168* disubstitusi oleh asam amino asparagin (N) dan asam aspartat (D). Asparagin termasuk pada gugus amida bersifat non esensial yang disintesis dari asam

aspartat. Ikatan asparagin dan treonin pada *F. nodosum* R17 B1 membentuk ikatan α -helix karena rantai sampingnya mengandung donor ikatan hidrogen. Pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 asam amino tersebut disubstitusi oleh asparagin dan asam aspartat. Asparagin merupakan amida dari gugus asam aspartat yang tidak bermuatan dan mudah terhidrolisis. Keduanya berkorelasi sangat kuat sehingga membentuk α -heliks (Wan & Milner-White, 1999).

Pada motif 4 (PIFxxExG) dari kedua bakteri ditemukan asam amino yang berbeda. Pada *F. nodosum* RT17 B1 ditemukan asam amino leusin (L) dan glisin (G) yang merupakan asam amino alifatik. Leusin termasuk dalam non polar dan esensial sedangkan glisin termasuk kedalam asam amino esensial yang bersifat hidrofobik. Asam amino ketiga yaitu fenilalanin (F) merupakan asam amino esensial non polar yang berikatan dengan asam glutamat dan glisin yang bersifat hidrofobik sehingga ikatannya yang cenderung stabil. Sedangkan pada *B. subtilis subsp. subtilis* 168 asam amino tersebut disubstitusi oleh asam amino valin (V) dan treonin (T), keduanya termasuk kedalam asam amino alifatik (Sumarjo, 2009). Asam amino ketiga yaitu triptofan (W) merupakan asam amino aromatik esensial yang berikatan dengan glutamat dan glisin yang bersifat hidrofobik menyebabkan ikatan didalamnya stabil. Pada **Gambar 2**, motif 4 residu asam amino dari bakteri *F. nodosum* R17 B1 yaitu leusin, glisin, fenilalanin dan residu asam amino *B. subtilis* yaitu valin, treonin, triptofan menunjukkan struktur enzim yang sama-sama memiliki permukaan linier hidrofobik yang dibentuk oleh dua asam amino alifatik dan residu asam amino aromatik. Perbedaan asam amino ini secara langsung berkaitan dengan kemampuan pengikatan selulosa dari masing masing ikatan domain selulase dan aktivitas enzimatik terhadap selulosa (Takashima *et al.*, 2007).

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, didapatkan kesimpulan similaritas enzim endo 1,4- β -glucanase pada *F. nodosum* RT 17 B1 dan *B. subtilis subsp. subtilis* 168 dikategorikan rendah karena memiliki persentase sebesar 21,72%. Struktur tiga dimensi enzim endo 1,4- β -glucanase pada kedua bakteri uji menunjukkan bahwa keduanya termasuk dalam satu famili enzim yang sama yaitu selulase (GH 5). Pada motif 1 terjadinya perbedaan konformasi pada kedua residu asam amino mempengaruhi aktivitas katalitik pada enzim endo 1,4- β -glucanase, pada motif 2 terjadinya perbedaan konformasi asam amino kedua bakteri menambah stabilitas struktur protein dari enzim endo 1,4- β -glucanase, pada motif 3 terjadinya perbedaan konformasi pada kedua bakteri mengakibatkan kedua asam amino berkorelasi sangat kuat sehingga membentuk α -heliks pada struktur tiga dimensi dan motif 4 mengindikasikan bahwa perbedaan asam amino kedua bakteri secara langsung berkaitan dengan kemampuan pengikatan selulosa dari masing masing ikatan domain selulase dan aktivitas enzimatik terhadap selulosa. Keterkaitan antara struktur enzim dengan aktivitas enzim pada penelitian ini masih bersifat prediksi berdasarkan analisis *in silico*. Untuk penguatan terhadap hasil penelitian ini, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut seperti uji kinetika enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen H. 2014. Biotechnology of lignocellulose theory and practice. *Chemical Industry Press and Springer*, Cham.
- Eunhye P, Byeongwoo K, Teaksoon S, Byungwook C, Songkeun C, Cho JK, Ha KJ, Sungill L, Jakyeeom S. 2017. Isolation of Endo-1,4- β -D-glucanase Producing *Bacillus subtilis* sp. From Fermented Foods and Enhanced Enzyme Production by Developing the Mutant Strain. *Indian J. of Animal Research*; 51(4):785-790.
- Findlay JBC and Brew K. 1972. The complete amino acid sequence of human α -lactalbumin. *Eur. J. Biochem*; 27 :65-86.
- Hasibuan BE. 2009. Pupuk dan Pemupukan. Medan: Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Howard RL, Abotsi EJ, Van Rensburg EL, and Howard S. 2003. Lignocellulose Biotechnology: Issue of Bioconversion and Enzyme Production. *African J. of Biotech*; 2(12): 602-619.
- Kamra DN. 2005. Rumen Microbial Ecosystem. *Current Science*; 89 (1).
- Kanoksilapatham W, Pongsapakdee V, Keawram P. 2016. Isolation of *Thermatoga* spp. and *Ferroidobacterium* spp. and Characterization of 16S RNA Genes of Order Thermatogales: Unique Lineage of Hyperthermophiles Thriving in 3 Hot Springs in Thailand. *Silpakorn U Science and Tech. J.* ; 10 (1): 9-20.
- Koike S and Kobayashi Y. 2001. Development and Use of Competitive PCR Assays for The Rumen Cellulolytic Bacteria: *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* and *R. flavefaciens*. *Microbiol*; 2 (204): 361-6.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. 2005. Lehninger: Principles of biochemistry. New York: W.H. Freeman and Company.
- Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. 2001. Amino acid-base interactions: a three-dimensional analysis of protein-DNA interactions at an atomic level. *Nucleic Acids Res.*; 29: 2860-2874.

- Murashima K, Nishimura T, Nakamura Y, Koga J. 2002. Purification and Characterization of New Endo 1,4- β -D-glucanases From *Rhizopus oryzae*. *Enzyme and microbial tech.*; 3 (30): 319-326.
- Murray RK., Granner DK, Rodwell VW. 2009. Biokimia Harper Ed.27. Jakarta : EGC: 152-94.
- Palumbo DJ, Sullivan FR, Kobayashi YD. 2003. Molecular Characterization and Expression in *Escherichia coli* of Three β -1,3 Glucanase Genes from *Lysobacter enzymogenes* Strain N4-7. *Journal of Bacteriology*; 185 (15): 4362-4370.
- Polizeli M, Rizzatti A, Monti R, Terenzi H, Jorge JA, Amorim D. 2005. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 67: 577-591.
- Rahayu M, Pramonowibosow, Yulianto T. 2014. Profil Asam Amino Yang Terdistribusi Kedalam Kolom Air Laut Pada Ikan Kembung (*Ratreligger Kanagurta*) Sebagai Umpan (Skala Laboratorium). *Journal of Fisheries Resources Utilization and Biotechnology*; 3(3): 238-247.
- Sanger G, Damngilala LJ, Montolalu L, Dotulong V. 2008. Kimia Pangan. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
- Scheiner S, Karr T, Pattanayak J. 2002. Comparison of Various Types of Hydrogen Bonds Involving Aromatic Amino Acid. *J Am Chem Soc*; 124 (44): 13257-13264.
- Sumarjo D. 2009. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata 1 Fakultas Bioeksakta. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, 650 hlm.
- Takashima S, Nakamura A, Hidaka M, Masaki H and Uozumi T. 2007. Cloning, sequencing, and expression of the cellulase genes of *Humicola grisea* var. *thermoidea*. *J. Biotechnol*; 50: 137-147.
- Ulfa A, Khotimah S, Linda R. 2014. Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Protobiont*; 3 (2): 259-267.
- Wan WY., & Milner-White EJ. 1999. A Natural grouping of motifs with an aspartate or asparagine residue forming two hydrogen bonds to residues ahead in sequence: their occurrence at alpha-helical N termini and in other situations. *J Mol Biol*; 286 (5): 1633-1649.
- Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, Heer FT, de Beer TAP, Rempfer C, Bordoli L, Lepore R.S. 2018. T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*; 46(W1): W296-W303.
- Winarno F. 2008. Kimia Pangan Dan Gizi (Eds. Terbaru). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Available Online: 30 November 2021

Published: 31 Januari 2022

Authors:

Dea Aprillia Ningsih, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: dea.17030244066@mhs.unesa.ac.id

Lisa Lisdiana, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: lisalisdiana@unesa.ac.id

How to cite this article:

Ningsih DA, Lisdiana L. 2022. Analisis *In Silico* Struktur Enzim Endo-1,4-B-Glucanase Pada Bakteri *Ferroidobacterium Nodosum* dan *Bacillus Subtilis*. *LenteraBio*; 11(1): 153-160