

**KARAKTERISASI ENZIM L-AI DARI BAKTERI
ARTHROBACTER PSYCHROLACTOPHILUS UNTUK PRODUKSI
*D-TAGATOSE***

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia**



**STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

**David Herawan
19106030035**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

2024

HALAMAN JUDUL

**KARAKTERISASI ENZIM L-AI DARI BAKTERI
ARTHROBACTER PSYCHROLACTOPHILUS UNTUK PRODUKSI
*D-TAGATOSE***

**Skripsi
Untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai derajat Sarjana Kimia**



Oleh:
David Herawan
19106030035

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Dosen Pembimbing:
Atika Yahdiyani Ikhsani, M.Sc.

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2024**



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-857/Un.02/DST/PP.00.9/06/2024

Tugas Akhir dengan judul : Karakterisasi Enzim L-AI dari Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* untuk Produksi D-tagatose

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : DAVID HERAWAN
Nomor Induk Mahasiswa : 19106030035
Telah diujikan pada : Jumat, 31 Mei 2024
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Atika Yahdiyani Ikhsani, M.Sc.
SIGNED

Valid ID: 665fc67950ae0



Penguji I

Fina Amreta Laksmi
SIGNED

Valid ID: 665fdb9fd3210



Penguji II

Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si
SIGNED

Valid ID: 665e8f5340f14



Yogyakarta, 31 Mei 2024

UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 665feebcc89dd

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : David Herawan
NIM : 19106030035
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Karakterisasi Enzim L-AI dari Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* untuk Produksi *D-tagatose*” merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjana di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 5 Juni 2024



David Herawan
NIM. 19106030035

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA



NOTA DINAS KONSULTASI

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : David Herawan
NIM : 19106030035
Judul Skripsi : Karakterisasi Enzim L-AI dari Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* untuk Produksi D-tagatose

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terimakasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 4 Juni 2024
Konsultan

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

Dr.rer.medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech
NIP. 19760830 200312 2 001

HALAMAN MOTO

Tidak ada yang berani tanpa takut, tetapi mereka yang berani mengatasi ketakutannya lah yang akan berhasil.



HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini kami dedikasikan untuk almamater
Program Studi Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta



STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Rabbul ‘alamin yang telah memberi kesempatan dan kekuatan sehingga skripsi yang berjudul “*Karakterisasi Enzim L-AI dari Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* untuk Produksi D-tagatose*” ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan mencapai derajat Sarjana Kimia.

Penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dorongan, semangat, dan ide-ide kreatif sehingga tahap demi tahap penyusunan skripsi ini telah selesai. Ucapan terima kasih tersebut secara khusus disampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Phil. Al Makin S.Ag., M.A. selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Ibu Prof. Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Ibu Dr. Imelda Fajriati, M.Si. selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
4. Ibu Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan pengarahan selama studi.
5. Ibu Atika Yahdiyani Ikhsani, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang secara ikhlas dan sabar telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan, dan memotivasi penyusun dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
6. Ibu Fina Amreta Laksmi, Ph.D. selaku Pembimbing di Laboratorium Genomik BRIN yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing penelitian di laboratorium.
7. Seluruh Dosen dan Staf Karyawan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
8. Keluarga tercinta Bapak Denny SL, Ibu Euis, Nenek Nyai, Kakak Derry, dan Adek Dinda yang senantiasa memberikan dukungan dan doa.
9. Teman-teman Kimia Angkatan 2019 UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
10. Teman-teman di Laboratorium Genomik BRIN, Kak Isa, Kak Rudi, Kak Vivid, Ranis, Faiz, dan Bila yang telah membantu kegiatan di Laboratorium.
11. Sahabat Dea Arrum dan Alfian Isnan yang telah memberi motivasi dan dukungan.
12. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu atas bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.

Demi kesempurnaan skripsi ini, kritik dan saran sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan secara umum dan kimia secara khusus.

Yogyakarta, 5 Juni 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	II
HALAMAN PENGESAHAN.....	III
HALAMAN PERNYATAAN	IV
NOTA DINAS KONSULTASI	V
HALAMAN MOTO	VI
HALAMAN PERSEMBAHAN	VII
KATA PENGANTAR	VIII
DAFTAR ISI.....	IX
DAFTAR TABEL.....	X
DAFTAR GAMBAR.....	XI
DAFTAR LAMPIRAN.....	XII
ABSTRAK.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. LATAR BELAKANG MASALAH	1
B. BATASAN MASALAH.....	4
C. RUMUSAN MASALAH	6
D. TUJUAN PENELITIAN	6
E. MANFAAT PENELITIAN	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	8
A. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
B. LANDASAN TEORI	10
a. <i>D-tagatose</i>	10
b. <i>Produksi D-tagatose secara Enzimatis</i>	12
c. <i>Enzim L-AI</i>	13
d. <i>Arthrobacter psychrolactophilus</i>	14
e. <i>Pengaruh Ion Logam</i>	15
f. <i>Spesifisitas Substrat</i>	16
g. <i>Parameter Kinetik</i>	17
C. KERANGKA BERFIKIR DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	19
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN	22
B. ALAT DAN BAHAN PENELITIAN	22
C. PROSEDUR KERJA PENELITIAN	24
D. TEKNIK ANALISIS DATA	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. PENGARUH ION LOGAM	32
B. SPESIFISITAS SUBSTRAT.....	37
C. PARAMETER KINETIK.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
A. KESIMPULAN.....	44
B. SARAN.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1. Alat-alat yang digunakan pada penelitian.....	22
Tabel 3. 2. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian.....	23
Tabel 3. 3. Komposisi dari Campuran Larutan Pewarna	27
Tabel 3. 4. Komposisi Larutan Reaksi Uji Aktivitas Enzim Ap L-AI.....	27
Tabel 3. 5. Perhitungan Penentuan Aktivitas Enzim Ap L-AI.....	28



DAFTAR GAMBAR

Gambar 4. 1. Pengaruh Berbagai Ion Logam terhadap Aktivitas Enzim L-AI	33
Gambar 4. 2. Pengaruh Konsentrasi Mn^{2+} terhadap Aktivitas Enzim L-AI	36
Gambar 4. 3. Spesifisitas Substrat Enzim L-AI.....	38
Gambar 4. 4. Plot Michaelis-Menten ApL-AI dengan Subtrat <i>D-galactose</i>	41
Gambar 4. 5. Plot Michaelis-Menten Ap L-AI dengan Substrat <i>L-arabinose</i> .	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat yang Digunakan pada Penelitian	50
Lampiran 2. Bahan yang Digunakan pada Penelitian	54
Lampiran 3. Data Absorbansi Spektrofotometer UV-Vis.....	57
Lampiran 4. Perhitungan Aktivitas Spesifik Enzim Ap L-AI.....	67
Lampiran 5. Kurva Standar <i>D-tagatose</i> dan <i>L-ribulose</i>	75
Lampiran 6. Tabel Hasil Uji Statistik SPSS	76



ABSTRAK

Karakterisasi Enzim L-AI dari Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus*
untuk Produksi D-tagatose

Oleh:
David Herawan
19106030035

Pembimbing: Atika Yahdiyani Ikhsani, M.Sc.

L-arabinose isomerase (L-AI) dari *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap L-AI) telah dikarakterisasi. Ap L-AI dapat mengkatalisis isomerisasi *D-galactose* menjadi gula langka *D-tagatose*, dengan kestabilan yang baik terhadap suhu dan pH ekstrim. Efisiensi katalitik (k_{cat}/K_m) dan K_m dengan substrat *D-galactose* berturut-turut adalah $0,32 \text{ mM}^{-1} \text{ min}^{-1}$ dan $51,43 \text{ mM}$, sedangkan dengan substrat *L-arabinose* adalah $0,64 \text{ mM}^{-1} \text{ min}^{-1}$ dan $23,41 \text{ mM}$. Enzim ini menunjukkan aktivitas tertinggi dengan penambahan $0,250 \text{ mM}$ ion logam Mn^{2+} . Hasil penelitian ini dapat menjadi dasar bagi industri untuk mencapai produksi *D-tagatose* yang efisien, serta bermanfaat sebagai dasar untuk peneliti yang akan melakukan rekayasa protein untuk meningkatkan kualitas enzim Ap L-AI.

Kata Kunci: L-AI, *D-tagatose*, *Arthrobacter psychrolactophilus*

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

ABSTRACT

Characterization of L-AI Enzyme from *Arthrobacter psychrolactophilus*
for D-tagatose Production

By:
David Herawan
19106030035

Supervisor: Atika Yahdiyani Ikhsani, M.Sc.

L-arabinose isomerase (L-AI) from *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap L-AI) has been characterized. Ap L-AI can catalyze the isomerization of D-galactose into the rare sugar D-tagatose, exhibiting good stability under extreme temperatures and pH conditions. The catalytic efficiency (k_{cat}/K_m) and K_m values for D-galactose were $0.32 \text{ mM}^{-1} \text{ min}^{-1}$ and 51.43 mM, respectively, while for L-arabinose, they were $0.64 \text{ mM}^{-1} \text{ min}^{-1}$ and 23.41 mM, respectively. The enzyme showed its highest activity in the presence of 0.250 mM Mn^{2+} ions. The findings of this research can serve as a foundation for the industry to achieve efficient production of D-tagatose and prove valuable for researchers exploring protein engineering to enhance the qualities of Ap L-AI enzyme.

Keywords: L-AI, D-tagatose, *Arthrobacter psychrolactophilus*

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

D-tagatose adalah sebuah monosakarida yang strukturnya sangat mirip dengan fruktosa, namun memiliki efek metabolik yang berbeda. Meskipun strukturnya mirip dengan fruktosa, *D-tagatose* tidak sepenuhnya diserap oleh usus, sehingga efeknya terhadap tingkat gula darah jauh lebih rendah dibandingkan dengan gula biasa (Guerrero-Wyss et al., 2018). Selain itu, *D-tagatose* memiliki berbagai manfaat kesehatan yang potensial. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *D-tagatose* dapat berfungsi sebagai prebiotik yang membantu pertumbuhan bakteri sehat pada usus (S. Roy et al., 2018). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa *D-tagatose* tidak akan menyebabkan peningkatan kadar gula darah yang signifikan, sehingga bisa menjadi salah satu pilihan gula alternatif yang aman bagi penderita diabetes (Ahmed et al., 2022). Kalori *D-tagatose* lebih rendah dibandingkan dengan gula dapur (sukrosa). Kalori dari *D-tagatose* adalah 1.5 kalori, sedangkan kalori dari sukrosa adalah 4 kalori. Hal ini menjadikan *D-tagatose* gula yang dapat dikonsumsi seseorang yang mengidap obesitas karena setengah kalori lebih sedikit gula dapur (sukrosa) (Patra et al., 2017).

Meskipun demikian, produksi *D-tagatose* masih memiliki banyak hambatan. Kebanyakan produksi *D-tagatose* pada saat ini masih dilakukan melalui reaksi kimiawi yang menimbulkan banyak limbah berbahaya yang tentunya tidak baik untuk lingkungan. Selain itu, yield produk dari produksi *D-tagatose* secara kimiawi lebih rendah dibandingkan dengan produksi *D-tagatose* secara enzimatik

(S. Roy et al., 2018). Untuk mengatasi tantangan tersebut, beberapa penelitian telah dilakukan untuk mempelajari proses produksi *D-tagatose* dengan bantuan enzim L-AI (*L-arabinose isomerase*) dengan *D-galactose* sebagai substrat. Metode produksi seperti ini dapat mengurangi limbah kimia berbahaya yang ditimbulkan dan memiliki yield *D-tagatose* yang lebih tinggi karena selektivitas reaksi dari enzim L-AI terhadap substratnya (S. Roy et al., 2018).

Produksi *D-tagatose* secara enzimatik juga memiliki tantangannya sendiri. Pada skala industri, proses isomerisasi *D-galactose* menjadi *D-tagatose* oleh enzim L-AI membutuhkan kondisi pada suhu tinggi dan suasana asam yang dapat merusak enzim dan dapat berakibat pada penurunan aktivitas enzim seiring waktu. Pusat Riset Mikrobiologi Terapan BRIN telah berhasil mengekspresi enzim L-AI dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* melalui kloning dan ekspresi di sistem ekspresi *E.coli* BL21. Beberapa karakteristik enzim Ap L-AI seperti suhu optimum, pH optimum, stabilitas suhu, dan stabilitas pH telah diketahui. Suhu dan pH optimum enzim Ap L-AI yaitu pada suhu 60°C dan pH 7,5. Selain itu, enzim Ap L-AI memiliki stabilitas yang baik terhadap suhu tinggi dan pH yang cukup ekstrim (Nirwantono et al., 2024). Karakteristik tersebut menjadikan enzim Ap L-AI sebagai kandidat enzim yang baik untuk produksi skala industri, akan tetapi beberapa karakteristik lainnya yang meliputi pengaruh ion logam, spesifisitas substrat, dan parameter kinetik belum diketahui.

Penambahan ion logam pada reaksi enzimatik dapat mempengaruhi aktivitas enzim secara signifikan yang dapat bersifat simulasif ataupun inhibitif tergantung pada jenis ion logam dan konsentrasinya. Ion logam dapat berinteraksi dengan

enzim melalui berbagai mekanisme, termasuk pembentukan kompleks dengan substrat atau dengan enzim itu sendiri yang dapat mengubah konformasi enzim sehingga dapat mempengaruhi afinitasnya terhadap substrat. Konsentrasi ion logam yang tepat juga sangat penting untuk mengoptimalkan aktivitas enzim. Pada konsentrasi yang rendah, ion logam mungkin tidak cukup untuk mengaktifkan enzim secara efektif, sementara pada konsentrasi yang terlalu tinggi ion logam dapat menyebabkan penghambatan kompetitif yang dapat menghalangi pengikatan substrat pada sisi aktif enzim ataupun dapat menyebabkan penghambatan nonkompetitif yang dapat mempengaruhi konformasi enzim sehingga menjadi tidak stabil. Hal ini menunjukkan bahwa karakteristik pengaruh ion logam dan konsentrasinya merupakan salah satu karakteristik enzim Ap L-AI yang penting untuk diketahui agar dapat memaksimalkan enzim Ap L-AI untuk kebutuhan industri.

Selain itu, dengan melakukan karakterisasi spesifisitas substrat dan parameter kinetik, dapat diketahui afinitas enzim Ap L-AI terhadap substrat dan efisiensi enzim tersebut untuk produksi *D-tagatose*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat enzim L-AI dari bakteri *Lactobacillus parabuchneri* yang dapat mengkatalisis isomerisasi dari substrat *D-glucose* dan *D-mannose* (Yuan et al., 2021), sedangkan enzim L-AI dari bakteri *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* tidak dapat mengkatalisis isomerisasi substrat *D-glucose* dan *D-mannose* (Hung et al., 2014). Maka dari itu, perlu dilakukan identifikasi spesifisitas substrat selain terhadap substrat alaminya *L-arabinose* dan substrat untuk produksi *D-tagatose* yaitu *D-galactose*. Parameter kinetik (k_{cat}/K_m) enzim L-AI dari

berbagai bakteri yang berbeda juga dilaporkan memiliki perbedaan yang cukup signifikan. Pengetahuan tentang parameter kinetik enzim Ap L-AI terhadap substrat alaminya *L-arabinose* dan substrat untuk produksi *D-tagatose* yaitu *D-galactose* penting untuk diketahui untuk menentukan efisiensi dari enzim tersebut.

Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi biokimia enzim L-AI dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* yang meliputi pengaruh penambahan ion logam Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} serta pengaruh konsentrasi ion logam optimumnya, spesifisitas substrat terhadap substrat *D-galactose*, *L-arabinose*, *D-glucose*, *D-mannose*, dan *D-fructose*, dan parameter kinetik yang meliputi nilai K_m , k_{cat} , dan k_{cat}/K_m . Hal ini perlu dilakukan karena informasi karakteristik tersebut penting untuk diketahui bagi industri dan para peneliti yang akan melakukan rekayasa protein untuk mengembangkan karakteristik enzim tersebut.

B. Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Enzim L-AI yang diidentifikasi karakteristiknya merupakan enzim L-AI yang diproduksi oleh Pusat Riset Mikrobiologi Terapan BRIN yang merupakan hasil kloning dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* yang diekspresikan pada sistem ekspresi bakteri *E. coli* BL21.
2. Identifikasi pengaruh ion logam terhadap aktivitas enzim Ap L-AI dilakukan terhadap ion logam Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} .

3. Identifikasi spesifistas substrat enzim Ap L-AI dilakukan dengan substrat *D-galactose*, *L-arabinose*, *D-glucose*, *D-mannose*, dan *D-fructose*.



C. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh aktivitas enzim Ap L-AI terhadap ion logam Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} dan konsentrasinya terhadap ion logam optimum?
2. Bagaimana spesifisitas substrat enzim Ap L-AI terhadap substrat *D-galactose*, *L-arabinose*, *D-glucose*, *D-mannose*, dan *D-fructose*?
3. Bagaimana karakteristik parameter kinetik enzim Ap L-AI yang meliputi k_{cat}/K_m , k_{cat} , K_m , dan V_{max} terhadap substrat alaminya *L-arabinose* dan substrat untuk produksi *D-tagatose* yaitu *D-galactose*?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi karakteristik pengaruh ion logam Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} dan konsentrasi ion logam optimum terhadap aktivitas enzim Ap L-AI.
2. Mengidentifikasi spesifisitas substrat enzim Ap L-AI terhadap substrat *D-galactose*, *L-arabinose*, *D-glucose*, *D-mannose*, dan *D-fructose*.
3. Mengidentifikasi karakteristik parameter kinetik enzim Ap L-AI dengan substrat *D-galactose* dan *L-arabinose*.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik enzim L-AI dari bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus* terhadap berbagai jenis ion logam dan konsentrasi ion logam optimumnya, spesifisitas substrat terhadap berbagai substrat, serta karakteristik parameter kinetiknya. Hal tersebut penting sebagai dasar bagi industri dan keperluan rekayasa protein untuk mengembangkan karakteristik enzim tersebut.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan ion logam Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , dan Cu^{2+} memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim Ap L-AI. Ion logam yang bertindak sebagai aktivator yang paling optimum untuk enzim Ap L-AI adalah ion logam Mn^{2+} sedangkan ion logam yang bertindak sebagai inhibitor untuk enzim Ap L-AI adalah ion logam Zn^{2+} dan Cu^{2+} . Ion logam Mn^{2+} dapat meningkatkan aktivitas enzim Ap L-AI sampai dengan 687,84%. Konsentrasi ion logam Mn^{2+} yang paling optimum untuk enzim Ap L-AI adalah 0.25 mM.
2. Enzim Ap L-AI memiliki afinitas terhadap substrat *L-arabinose* dan substrat *D-galactose*. Aktivitas enzim Ap L-AI terhadap substrat *D-galactose* yaitu sebesar 93%. Enzim Ap L-AI tidak dapat mengkatalisis isomerisasi substrat *D-glucose*, *D-mannose*, dan *D-fructose*.
3. Nilai K_m , k_{cat} , dan k_{cat}/K_m dari Ap L-AI dengan substrat *D-galactose* berturut-turut sebesar 51,43 mM; 16,40 min^{-1} ; dan 0,32 $mM^{-1} min^{-1}$. Sementara K_m , k_{cat} , dan k_{cat}/K_m dari Ap L-AI dengan substrat *L-arabinose* berturut-turut sebesar 23,41 mM; 15 min^{-1} ; dan 0,64 $mM^{-1} min^{-1}$.

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran dari penelitian ini untuk penelitian selanjutnya yaitu dapat dilakukan eksplorasi dengan berbagai pendekatan, seperti rekayasa protein dengan mengganti salah satu asam amino penyusun enzim untuk meningkatkan nilai k_{cat}/K_m agar produksi *D-tagatose* dengan enzim L-AI dapat lebih efisien.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A., Khan, T. A., Ramdath, D. D., Kendall, C. W. C., Sievenpiper, J. L., Ahmed, A., Khan, T. A., Kendall, C. W. C., & Sievenpiper, J. L. (2021). *Rare sugars and their health effects in humans: a systematic review and narrative synthesis of the evidence from human trials*. *80(2)*, 255–270. <https://doi.org/10.17605/OSF.IO/FW43D>
- Bisswanger, H. (2011). *Practical Enzymology*. Wiley-VCH.
- Campbell, M. K., & Farrell, S. O. (2009). *Biochemistry (Sixth Edition)*.
- Cheng, L., Mu, W., Zhang, T., & Jiang, B. (2010). An L-arabinose isomerase from *Acidothermus cellulolyticus* ATCC 43068: Cloning, expression, purification, and characterization. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *86(4)*, 1089–1097. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2322-z>
- Choi, J. M., Lee, Y. J., Cao, T. P., Shin, S. M., Park, M. K., Lee, H. S., Di Luccio, E., Kim, S. B., Lee, S. J., Lee, S. J., Lee, S. H., & Lee, D. W. (2016). Structure of the thermophilic l-Arabinose isomerase from *Geobacillus kaustophilus* reveals metal-mediated intersubunit interactions for activity and thermostability. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *596*, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.033>
- Du, M., Zhao, D., Cheng, S., Sun, D., Chen, M., Gao, Z., & Zhang, C. (2019). Towards efficient enzymatic conversion of d-galactose to d-tagatose: purification and characterization of l-arabinose isomerase from *Lactobacillus brevis*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, *42(1)*, 107–116. <https://doi.org/10.1007/s00449-018-2018-9>
- Fan, C., Liu, K., Zhang, T., Zhou, L., Xue, D., Jiang, B., & Mu, W. (2014). Biochemical characterization of a thermostable l-arabinose isomerase from a thermoacidophilic bacterium, *Alicyclobacillus hesperidum* URH17-3-68. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *102*, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.02.001>
- Guerrero-Wyss, M., Durán Agüero, S., & Angarita Dávila, L. (2018). D-Tagatose Is a Promising Sweetener to Control Glycaemia: A New Functional Food. In *BioMed Research International* (Vol. 2018). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2018/8718053>
- Guo, Z., Long, L., & Ding, S. (2020). Characterization of an L-Arabinose Isomerase from *Bacillus velezensis* and Its Application for L-Ribulose and L-Ribose Biosynthesis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *192(3)*, 935–951. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03380-0>
- Hung, X. G., Tseng, W. C., Liu, S. M., Tzou, W. S., & Fang, T. Y. (2014). Characterization of a thermophilic l-arabinose isomerase from *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* NTOU1. *Biochemical Engineering Journal*, *83*, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.04.026>
- Jayamuthunagai, J., Gautam, P., Srisowmeya, G., & Chakravarthy, M. (2017). Biocatalytic production of D-tagatose: A potential rare sugar with versatile applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57(16)*, 3430–3437. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1126550>
- Jayaraman, A. B., Kandasamy, T., Venkataraman, D., & S., M. (2021). Rational design of *Shewanella* sp. L-arabinose isomerase for D-galactose isomerase activity under mesophilic conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, *147*. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109796>
- Kim, B. J., Hong, S. H., Shin, K. C., Jo, Y. S., & Oh, D. K. (2014). Characterization of a F280N variant of l-arabinose isomerase from *Geobacillus thermodenitrificans*

- identified as a d-galactose isomerase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(22), 9271–9281. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5827-z>
- Kim, J. H., Prabhu, P., Jeya, M., Tiwari, M. K., Moon, H. J., Singh, R. K., & Lee, J. K. (2010). Characterization of an L-arabinose isomerase from *Bacillus subtilis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6), 1839–1847. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2210-6>
- Laksmi, F. A., Nirwantono, R., Nuryana, I., & Agustriana, E. (2022). Expression and characterization of thermostable D-allulose 3-epimerase from *Arthrobacter psychrolactophilus* (Ap DAEase) with potential catalytic activity for bioconversion of D-allulose from D-fructose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 214, 426–438. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.117>
- Li, Y., Zhu, Y., Liu, A., & Sun, Y. (2011). Identification and characterization of a novel L-arabinose isomerase from *Anoxybacillus flavithermus* useful in D-tagatose production. *Extremophiles*, 15(3), 441–450. <https://doi.org/10.1007/s00792-011-0375-2>
- Lopata, A., Jójárt, B., Surányi, É. V., Takács, E., Bezúr, L., Leveles, I., Bendes, Á., Viskolcz, B., Vértessy, B. G., & Tóth, J. (2019). Beyond chelation: EDTA tightly binds taq DNA polymerase, MutT and dUTPase and directly inhibits dNTPase activity. *Biomolecules*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/biom9100621>
- Manzo, R. M., Antunes, A. S. L. M., de Sousa Mendes, J., Hissa, D. C., Gonçalves, L. R. B., & Mammarella, E. J. (2019). Biochemical Characterization of Heat-Tolerant Recombinant l-Arabinose Isomerase from *Enterococcus faecium* DBFIQ E36 Strain with Feasible Applications in d-Tagatose Production. *Molecular Biotechnology*, 61(6), 385–399. <https://doi.org/10.1007/s12033-019-00161-x>
- Mayumi, S., Kuboniwa, M., Sakanaka, A., Hashino, E., Ishikawa, A., Ijima, Y., & Amano, A. (2021). Potential of Prebiotic D-Tagatose for Prevention of Oral Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.767944>
- Mei, W., Wang, L., Zang, Y., Zheng, Z., & Ouyang, J. (2016). Characterization of an L-arabinose isomerase from *Bacillus coagulans* NL01 and its application for D-tagatose production. *BMC Biotechnology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12896-016-0286-5>
- Men, Y., Zhu, Y., Zhang, L., Kang, Z., Izumori, K., Sun, Y., & Ma, Y. (2014). Enzymatic conversion of d-galactose to d-tagatose: Cloning, overexpression and characterization of l-arabinose isomerase from *Pediococcus pentosaceus* PC-5. *Microbiological Research*, 169(2–3), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.001>
- Nirwantono, R., Laksmi, F. A., Nuryana, I., Firdausa, S., Herawan, D., Giyandini, R., & Hidayat, A. A. (2024). Exploring an L-arabinose isomerase from cryophile bacteria *Arthrobacter psychrolactophilus* B7 for D-tagatose production. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127781>
- Patra, F., Patel, A., & Shah, N. (2017). Microbial Production of Low-Calorie Sugars. In *Microbial Production of Food Ingredients and Additives* (pp. 259–290). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811520-6.00009-x>
- Rai, S. K., Kumar Narnoliya, L., Sangwan, R. S., & Yadav, S. K. (2018). *Supplementary Data Self-assembled Hybrid Nanoflowers of Manganese Phosphate and L-Arabinose Isomerase: A Stable and Recyclable Nanobiocatalyst for Equilibrium Level Conversion of D-Galactose to D-Tagatose*.
- Rhimi, M., Ilhammami, R., Bajic, G., Boudebbouze, S., Maguin, E., Haser, R., & Aghajari, N. (2010). The acid tolerant l-arabinose isomerase from the food grade *Lactobacillus sakei* 23K is an attractive d-tagatose producer. *Bioresource Technology*, 101(23), 9171–9177. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.07.036>

- Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., & Sarlak, Z. (2015). Combined effects of replacement of sucrose with d-tagatose and addition of different probiotic strains on quality characteristics of chocolate milk. *Dairy Science and Technology*, 95(2), 115–133. <https://doi.org/10.1007/s13594-014-0189-y>
- Roy, P., & Kumar, A. (2020). Arthrobacter. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi* (pp. 3–11). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00001-0>
- Roy, S., Chikkerur, J., Roy, S. C., Dhali, A., Kolte, A. P., Sridhar, M., & Samanta, A. K. (2018). Tagatose as a Potential Nutraceutical: Production, Properties, Biological Roles, and Applications. In *Journal of Food Science* (Vol. 83, Issue 11, pp. 2699–2709). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14358>
- Shehata, H. M., Abd El-Ghany, M. N., Hamdi, S. A., Abomughaid, M. M., Ghaleb, K. I., Kamel, Z., & Farahat, M. G. (2023). Characterization of a Metallic-Ions-Independent L-Arabinose Isomerase from Endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* for Production of D-Tagatose as a Functional Sweetener. *Fermentation*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/fermentation9080749>
- Shin, K. C., Seo, M. J., Kim, S. J., Kim, Y. S., & Park, C. S. (2022). Characterization of L-Arabinose Isomerase from *Klebsiella pneumoniae* and Its Application in the Production of D-Tagatose from D-Galactose. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/app12094696>
- Staudigl, P., Haltrich, D., & Peterbauer, C. K. (2014). L-arabinose isomerase and d-xylose isomerase from *Lactobacillus reuteri*: Characterization, coexpression in the food grade host *Lactobacillus plantarum*, and application in the conversion of d-galactose and d-glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(7), 1617–1624. <https://doi.org/10.1021/jf404785m>
- Wanarska, M., & Kur, J. (2012). A method for the production of D-tagatose using a recombinant *Pichia pastoris* strain secreting β -D-galactosidase from *Arthrobacter chlorophenolicus* and a recombinant L-arabinose isomerase from *Arthrobacter* sp. 22c. <http://www.microbialcellfactories.com/content/11/1/113>
- Wu, H., Huang, J., Deng, Y., Zhang, W., & Mu, W. (2020). Production of L-ribose from L-arabinose by co-expression of L-arabinose isomerase and D-lyxose isomerase in *Escherichia coli*. *Enzyme and Microbial Technology*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.109443>
- Xu, Z., Li, S., Feng, X., Liang, J., & Xu, H. (2014). L-Arabinose isomerase and its use for biotechnological production of rare sugars. In *Applied Microbiology and Biotechnology* (Vol. 98, Issue 21, pp. 8869–8878). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6073-0>
- Xu, Z., Qing, Y., Li, S., Feng, X., Xu, H., & Ouyang, P. (2011). A novel l-arabinose isomerase from *Lactobacillus fermentum* CGMCC2921 for d-tagatose production: Gene cloning, purification and characterization. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 70(1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.01.010>
- Yuan, J., Ravikumar, Y., Zhang, G., Yun, J., Zhang, Y., Zayed, H. M., & Qi, X. (2021). L-arabinose isomerase from *Lactobacillus parabuchneri* and its whole cell biocatalytic application in D-tagatose biosynthesis from D-galactose. *Food Bioscience*, 41. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101034>
- Zhang, G., An, Y., Parvez, A., Zayed, H. M., Yun, J., & Qi, X. (2020). Exploring a Highly D-Galactose Specific L-Arabinose Isomerase From *Bifidobacterium adolescentis* for D-Tagatose Production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00377>

- Zhang, Y., Fan, Y., Hu, H., Yang, H., Luo, X., Li, Z., Zhou, H., Ma, W., Song, Y., & Zhang, T. (2017). D-tagatose production by *Lactococcus lactis* NZ9000 cells harboring *Lactobacillus plantarum* L-arabinose isomerase. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(2), 288–294. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.2.34>
- (2019) عبد الرزاق الصوفي, م. USE OF IMMOBILIZED L-ARABINOSE ISOMERASE FOR PRODDUCTION OF TAGATOSE. *Iraq Journal of Market Research and Consumer Protection*, 11(2), 122–131. [https://doi.org/10.28936/jmracp11.2.2019.\(13\)](https://doi.org/10.28936/jmracp11.2.2019.(13))

