



**IDENTIFIKASI DAN MODIFIKASI SISI KATALITIK  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp*  
ABDOMINAL RAYAP SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

Oleh  
**Laili Nafis**  
**151810301002**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKAN DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
JEMBER  
2019**



**IDENTIFIKASI DAN MODIFIKASI SISI KATALITIK  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp*  
ABDOMINAL RAYAP SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah  
satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Kimia (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh  
**Laili Nafis**  
**151810301002**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKAN DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS JEMBER  
JEMBER  
2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Tandi dan Ibunda Hasanah yang senantiasa memanjatkan doa, kasih sayang dan memberikan banyak hal untuk hidup saya sehingga saya bisa meraih semua ini.
2. Saudara tersayang Hosnol Hotima, S.Pd yang selalu memberikan doa dan dukungannya.
3. Keluarga besar yang senantiasa mendoakan dan memberi motivasi.
4. Pengasuh Mushollah Jawahirul Ulum Ramban Kulon Ahmad Ghazali, S.Pd., dan Abdul Qadir, S.Pd., atas doa, ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
5. Almamater tercinta TK Aisyiyah Bustanul Athfal 1 Ramban Kulon, SDN Ramban Kulon 1, SMPN 1 Cermee, SMAN 1 Prajekan serta dosen-dosen di Jurusan Kimia FMIPA UNEJ yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran.
6. Chrypton angkatan 2015 yang selama ini berjuang bersama, saling mendoakan dan berbagi kenangan yang tak terlupakan
7. Sahabat Evan Taufiqurrahman, A.Md., Novian Dika Wahyudi, S.S., Evan Agus Maulana, S.Si., Khonita Anjalsari, S.Si., Eka Safitri Lailatul Aini, S.Si., terima kasih untuk doa, waktu untuk memberikan motivasi dan saran.
8. Sahabat Ayu, Yayuk, Ani, Aisyah, Wildatun Munawaroh, Iqbal Dwi Cahyadi dan M. Toyib Abdy terima kasih atas doa, saran, waktu dan dukungannya selama ini.
9. Sahabat Aselole'Squad, MAMIK'squad dan KSR PMI unit Universitas Jember terima kasih atas doa dan motivasi selama ini.
10. Partner penelitian Sanada Aulia Fanany terima kasih atas doa, dukungan dan telah banyak membantu dalam penelitian saya.
11. Semua pihak yang telah berkontribusi, tetapi tidak dapat disebutkan satu persatu.

**MOTTO**

“Jangan meremehkan hal sekecil apapun,  
karena hal kecil tersebut bisa menjadi senjata untuk membunuhmu  
(Laili Nafis).”



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Laili Nafis

NIM : 151810301002

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Identifikasi dan Modifikasi Sisi Katalitik Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico*” adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Agustus 2019

Yang menyatakan

Laili Nafis

NIM 151810301002

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI DAN MODIFIKASI SISI KATALITIK  
ENDO- $\beta$ -1,4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp*  
ABDOMINAL RAYAP SECARA *IN SILICO***

Oleh

Laili Nafis  
NIM 151810301002

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Sudarko, Ph.D

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Identifikasi dan Modifikasi Sisi Katalitik Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico*” karya Laili Nafis telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Anggota I,

Drs. Sudarko, Ph.D.  
NIP: 196903121992031002

Dr. Anak Agung Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si.  
NIP. 197012251997022001

Anggota II,

Anggota III,

I Nyoman Adi Winata, S.Si., M.Si.  
NIP. 197105011998021002

Drs. Zulfikar, Ph.D.  
NIP. 196310121987021001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Sujito, Ph.D.  
NIP. 196102041987111001

## RINGKASAN

**Identifikasi dan Modifikasi Sisi Katalitik Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico***; Laili Nafis, 151810301002; 2019: 53 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase (EC.3.2.1.8) biasa disebut xilanase adalah enzim yang menghidrolisis xilan dan menghasilkan xilooligosakarida, xilobiosa dan xilosa. Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yang digunakan adalah Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap. Enzim ini memiliki aktivitas spesifik sebesar 6,93 U.mg<sup>-1</sup>, pH optimum 5 dan suhu optimum 40 °C. Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap ini memiliki 642 bp urutan nukleotida. Enzim tersebut belum memiliki urutan protein dan stuktur dimensi. Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap mampu menghidrolisis xilan yang berasal dari limbah singkong, kopi, kedelai dan ampas tahu. Waktu yang dibutuhkan untuk menghidrolisis xilan tersebut 15-20 jam. Efisiensi waktu dapat ditingkatkan dengan melakukan modifikasi sisi katalatik pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap. Modifikasi sisi katalitik dapat dilakukan dengan rekayasa genetika atau *in silico*. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan mengidentifikasi residu katalitiknya kemudian dilakukan modifikasi sisi katalitik.

Penelitian ini dilakukan dengan pemodelan struktur tiga dimensi menggunakan *SWISS-MODEL*. Identifikasi residu katalitik dan modifikasi sisi katalitik menggunakan *metode docking* dengan menggunakan *AutodockVina*. Ligan yang digunakan adalah xilopentosa yang diperoleh dari data Protein Data Bank. Hasil yang diperoleh berupa data energi bebas dan prediksi interaksi antara enzim dan ligan. Hasil interaksi tersebut divisualisasi menggunakan *PyMOL*. . Modifikasi dilakukan berdasarkan sifat asam dan basa dari asam amino menggunakan program *YASARA view*. Aplikasi lain yang digunakan pada penelitian ini adalah *MGL Tools 1.5.6* yang dilengkapi dengan *AutodockTools 1.5.6*.



## PRAKATA

Segala puji syukur dipanjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Identifikasi dan Modifikasi Sisi Katalitik Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico*” dapat terselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan pendidikan program sarjana strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini banyak mendapatkan bantuan moril maupun materil dari berbagai pihak, sehingga ucapan terima kasih disampaikan dengan tulus kepada:

1. Drs. Sujito, Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
2. Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
3. Drs. Sudarko, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Anak Agung Istri Ratna Dewi, S.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang serta doa dan membimbing dengan penuh kesabaran dalam penulisan skripsi ini;
4. I Nyoman Adi winata, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji I dan Drs. Zulfikar, Ph.D., selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktunya guna menguji serta memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menjadi mahasiswa;
6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA UNEJ yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan;
7. Teknisi-teknisi laboratorium Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

Segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun diharapkan dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kimia.

Jember, 17 Agustus 2019

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Batasan Masalah.....</b>	<b>4</b>
<b>1.5 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Protein.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Enzim.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3 Enzim Endo-<math>\beta</math>-1,4-D-Xilanase.....</b>	<b>11</b>
<b>2.4 Xilan.....</b>	<b>12</b>
<b>2.5 Endo-<math>\beta</math>-1,4-D-Xilanase dari <i>Bacillus subtilis</i> (strain 168) (1XXN) ...</b>	<b>13</b>
<b>2.6 Kinetika Pengikatan Protein-Ligan.....</b>	<b>14</b>

2.7	<b>Energi Bebas Gibbs</b> .....	15
2.8	<b>Protein Data Bank (PDB)</b> .....	16
2.9	<b><i>Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)</i></b> .....	17
2.10	<b><i>ExPASy Translate Tool</i></b> .....	17
2.11	<b><i>SWISS-MODEL</i></b> .....	18
2.12	<b><i>YASARA (Yet Another Scientific Artificial Reality Application)</i></b> .....	19
2.13	<b><i>Molecular Docking</i></b> .....	19
2.14	<b><i>AutodockVina</i></b> .....	20
2.15	<b><i>PyMOL</i></b> .....	20
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....		22
3.1	<b>Tempat Dan Waktu Penelitian</b> .....	22
3.2	<b>Alat Penelitian</b> .....	22
3.3	<b>Diagram Alir Penelitian</b> .....	23
3.4	<b>Prosedur Kerja Penelitian</b> .....	24
3.4.1	Proses Identifikasi Residu Katalitik .....	24
3.4.2	Proses Modifikasi Sisi Katalitik .....	24
3.4.3	Proses <i>Docking</i> Menggunakan <i>Autodock Vina</i> .....	25
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....		27
4.1	<b>Identifikasi Residu Katalitik</b> .....	27
4.1.1	Persiapan Struktur Makromolekul Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal <i>Bacillus Sp</i> Abdominal Rayap.....	27
4.1.2	Persiapan Struktur Ligan Xilopentosa .....	30
4.1.3	Persiapan Parameter <i>Grid</i> .....	30
4.1.4	Analisis Hasil <i>Docking</i> .....	31
4.2	<b>Modifikasi Sisi Katalitik</b> .....	34
4.2.1	Persiapan Struktur Makromolekul Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal <i>Bacillus Sp</i> Abdominal Rayap.....	34
4.2.2	Analisis Hasil <i>Docking</i> .....	37
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....		46
5.1	<b>Kesimpulan</b> .....	46
5.2	<b>Saran</b> .....	46

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 47  
**LAMPIRAN** ..... **Error! Bookmark not defined.**



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Dua Puluh Jenis Asam Amino .....	5
2.2 Asam Amino yang membentuk interaksi,polar, hidropobik .....	14
2.3 Hasil Energi Bebas .....	14
4.1 Koordinat <i>GridBox</i> .....	31
4.2 Hasil <i>Docking</i> dan Visualisasi .....	32
4.3 Sisi Katalitik .....	35
4.4 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat nonpolar .....	37
4.5 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat nonpolar.....	38
4.6 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat polar .....	40
4.7 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat polar .....	41
4.8 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat asam .....	42
4.9 Hasil <i>Docking</i> modifikasi sisi katalitik gugus R bersifat basa .....	43
4.10 Hasil <i>Docking</i> dan Visualisasi sisi katalitik N35 .....	44

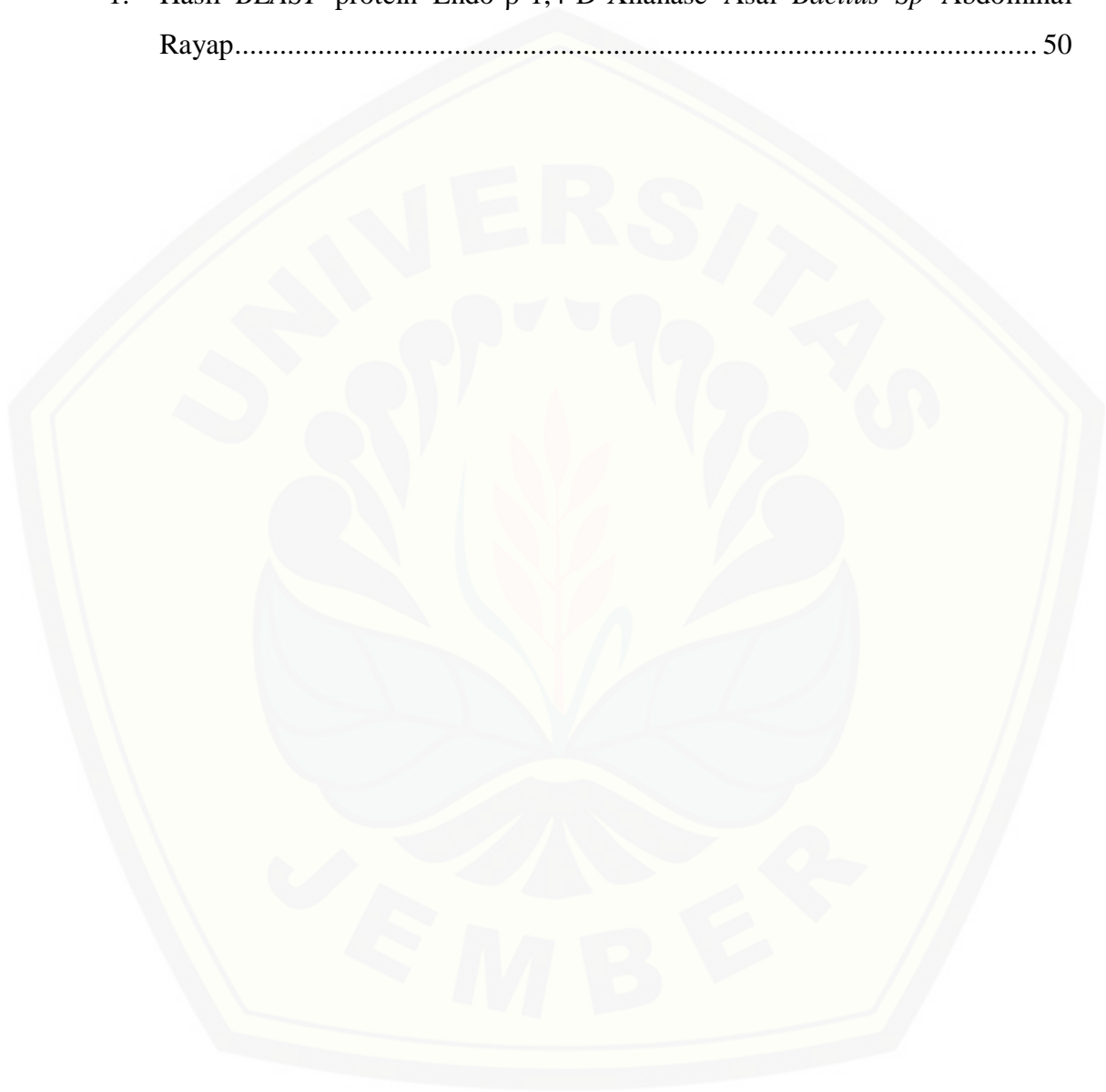
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Asam Amino dengan Gugus (R) Non polar .....	6
2.2 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar .....	7
2.3 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar Muatan Negatif (asam .....	7
2.4 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar Muatan Positif (Basa) .....	8
2.5 Diagram Energi Aktivasi Reaksi $A \rightarrow B$ .....	10
2.6 Xilosa .....	12
2.7 Struktur Tiga Dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase.....	13
2.8 Langkah-Langkah Pemodelan Homologi.....	18
4.1 Urutan Nukleotida Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase .....	27
4.2 Urutan Protein Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase .....	28
4.3 Hasil <i>BLAST</i> protein Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase .....	29
4.4 Hasil Pemodelan Stuktur Tiga Dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase .....	29
4.5 Gambar 4.5 Xilopentosa.....	30
4.6 Hasil Visualisai percobaan 1 .....	32
4.7 Hasil Visualisai percobaan 2 .....	32
4.6 Hasil Visualisai percobaan 3 .....	33
4.9 Sisi Katalitik .....	35
4.10 Hasil Visualisai sisi katalitik N35 percobaan 1 .....	44
4.11 Hasil Visualisai sisi katalitik N35 percobaan 2 .....	44
4.12 Hasil Visualisai sisi katalitik N35 percobaan 3 .....	45

**DAFTAR LAMPIRAN**

Halaman

1. Hasil *BLAST* protein Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap..... 50





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan protein yang disusun dari beberapa monomer asam amino. Enzim berfungsi sebagai katalis yang mempercepat reaksi dengan menurunkan energi aktivasi. Enzim merupakan katalis yang mempercepat reaksi kimia tanpa mengubah kesetimbangannya (Mäntsälä dan Niemi, 2009). Reaksi pengikatan substrat dengan enzim terjadi pada sisi katalitik atau sisi aktif pada enzim (Dawn dan B. Marks, 2000). Sisi aktif tersebut akan berikatan dengan substrat membentuk kompleks protein-ligan. Sisi aktif tersebut berperan penting dalam aktivitas enzim (Mathur dkk., 2017).

Aktivitas enzim juga dipengaruhi beberapa faktor yaitu pH, suhu dan faktor lain. Faktor tersebut mempengaruhi struktur tiga dimensi dan reaktivitas enzim. Struktur tiga dimensi enzim berubah, maka akan mempengaruhi aktivitas enzim. Reaktivitas enzim ditentukan oleh sifat asam atau basa dari enzim atau substrat. Gugus fungsi pada sisi aktif enzim yang mempengaruhi reaktivitas enzim. Gugus fungsi itu harus aktif untuk mengikat substrat atau salah satu unsur yang ada pada substrat. Faktor yang paling berperan dalam reaktivitas adalah pH (Martoharsono, 1998).

Sisi aktif pada enzim juga berpengaruh terhadap stabilitas kompleks. Stabilitas kompleks dapat dilihat dari interaksi antar molekul berdasarkan perubahan energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) (Mathur dkk., 2017). Interaksi antar molekul dipengaruhi oleh ikatan hidrogen antara protein dan ligan. Selain itu faktor yang mempengaruhi pengikatan protein dan ligan yaitu interaksi elektrostatis, hidrofobik, dan Van Der Waals dan faktor-faktor sterik (Tjahjono dan Fadhillah, 2012). Energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) adalah jumlah energi pada reaksi kimia yang digunakan untuk melakukan kerja. Interaksi ikatan antara protein dan ligan dikatakan stabil, jika nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) negatif (Dawn dan B. Marks, 2000).

Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase (EC.3.2.1.8) biasa disebut xilanase adalah enzim yang menghidrolisis xilan dan menghasilkan xilooligosakarida, xilobiosa dan xilosa (Sharma dan Kumar, 2013). Xilan adalah salah satu komponen utama

hemiselulosa yang ditemukan di dinding sel tanaman. Xilan merupakan komponen terbanyak setelah polisakarida dan selulosa (Subramaniyan dan Prema, 2002). Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase (EC. 3.2.1.8) merupakan endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase dari famili GH 11 (disebut famili G). Famili GH 11 memiliki dua asam glutamat yang berfungsi sebagai residu katalitik (<http://www.cazy.org/GH11.html>).

Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap yang digunakan pada penelitian ini berasal dari isolat yang telah diisolasi, dimurnikan, dan dikarakterisasi. Klon gen Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap dalam plasmid pET30a. Hasil klon menghasilkan 642 bp gen penyandi dan diketahui urutan nukleotida. Enzim ini belum memiliki struktur tiga dimensi dan urutan protein. Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap memiliki aktivitas spesifik sebesar 6,93 U.mg<sup>-1</sup>. Enzim ini memiliki pH optimum 5 dan suhu optimum 40 °C (Ratnadewi dkk., 2007). Enzim ini juga mampu menghidrolisis xilan yang berasal dari, limbah singkong, kopi, kedelai dan ampas tahu. Produk xilooligosakarida yang dihasilkan dari proses hidrolisis Endo- $\beta$ -1,4-D-xilanase yaitu X2,X3 dan X4. Waktu yang dibutuhkan untuk menghidrolisis xilan cukup lama sekitar 15-20 jam (Ratnadewi dkk., 2016).

Berdasarkan penelitian Ratnadewi dkk (2016) tersebut untuk meningkatkan efisiensi waktu dapat dilakukan modifikasi sisi katalitik pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap. Modifikasi sisi katalitik dapat dilakukan dengan rekayasa genetika atau *in silico*. Alternatif untuk penelitian modifikasi sisi katalitik terlebih dahulu dilakukan secara *in silico*. Penelitian secara *in silico* dilakukan menggunakan metode *docking*. Mathur dkk (2017) telah melakukan penelitian secara *in silico* menggunakan metode *docking*. Enzim yang digunakan Endo-1,4-Beta Xilanase dan ligan xilopentosa. Program untuk *docking* yang digunakan *GLIDE*. Hasil *docking* yang diperoleh berupa data energi bebas (KJ/mol) dan posisi interaksi antara substrat dengan enzim.

Penelitian ini dilakukan dengan pemodelan struktur tiga dimensi menggunakan *SWISS-MODEL*. *SWISS-MODEL* merupakan aplikasi berbasis web yang menghasilkan pemodelan struktur tiga dimensi. Pemodelan struktur tiga dimensi menggunakan *SWISS-MODEL* memerlukan *template* (Bordoli dkk.,

2009). *Template* yang digunakan pada penelitian ini memiliki kode PDB 1XXN. Hasil pemodelan struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap, kemudian diidentifikasi residu katalitiknya dan dimodifikasi sisi katalitiknya.

Identifikasi residu katalitik dan modifikasi sisi katalitik menggunakan *metode docking* dengan menggunakan *AutodockVina*. Ligan yang digunakan adalah xilopentosa yang diperoleh dari data Protein Data Bank. Hasil *docking* divisualisasikan menggunakan *PyMOL*. Modifikasi sisi katalitik dilakukan disekitar residu katalitik menggunakan program *YASARA view*. Modifikasi tersebut berdasarkan sifat asam dan basa dari asam amino. Aplikasi lain yang digunakan pada penelitian ini adalah *MGL Tools 1.5.6* yang dilengkapi dengan *AutodockTools 1.5.6*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berikut ini rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

- 1.2.1 Residu katalitik apa yang berperan dalam interaksi substrat (xilopentosa) pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap ?
- 1.2.2 Sisi katalitik apa yang dimodifikasi pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap untuk menghasilkan energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) yang lebih rendah ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berikut ini tujuan dari penelitian ini adalah :

- 1.3.1 Untuk mengetahui residu katalitik yang berperan dalam interaksi substrat (xilopentosa) pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap.
- 1.3.2 Untuk mengetahui sisi katalitik yang dimodifikasi pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap untuk menghasilkan energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) yang lebih rendah.

#### 1.4 Batasan Masalah

Berikut ini batasan masalah dari penelitian ini adalah :

- 1.4.1 *Trasnlate* protein (<https://web.expasy.org/translate/>) menggunakan *ExpASy translate tool*.
- 1.4.2 Pemodelan struktur Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap menggunakan (<https://www.swissmodel.expasy.org/>) *SWISS-MODEL*.
- 1.4.3 *Template* dengan kode PDB 1XXN diperoleh dari data Protein Data Bank (<http://www.rscb.org/pdb/>) dan disimpan dalam format \*.pdb.
- 1.4.4 Struktur ligan (xilopentosa) diperoleh dari data Protein Data Bank (<http://www.rscb.org/pdb/>) dan disimpan dalam format \*.pdb.
- 1.4.5 Modifikasi struktur dilakukan pada 34 sisi katalitik (Tabel 4.3).
- 1.4.6 Sisi katalitik diganti menjadi arginin, histidin, lisin, asam aspartat dan asam glutamat.
- 1.4.7 Modifikasi struktur dilakukan sekitar daerah residu katalitik sampai diperoleh hasil energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) lebih rendah.
- 1.4.8 *Software* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *AutodockVina*, *MGL Tools 1.5.6* yang dilengkapi dengan *AutodockTools 1.5.6.*, *YASARA view* dan *PyMOL*.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai interaksi substrat dengan enzim. Mengetahui Residu katalitik yang berperan dalam interaksi dengan substrat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk memilih residu yang dapat dimodifikasi untuk meningkatkan kinerja enzim secara *experiment*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Protein

Protein merupakan makromolekul yang paling banyak terkandung di sel dan semua bagian sel makhluk hidup. Protein ada dalam berbagai macam jenis dan berbeda, mulai dari ukuran peptida, polimer dan berat molekul yang dapat ditemukan dalam sel. Protein tersusun dari asam amino yang berbeda, dimana asam amino yang dikenal ada dua puluh jenis asam amino (Lehninger, 1993). Berikut ini tabel dua puluh jenis asam amino :

Tabel 2.1 Dua Puluh Jenis Asam Amino

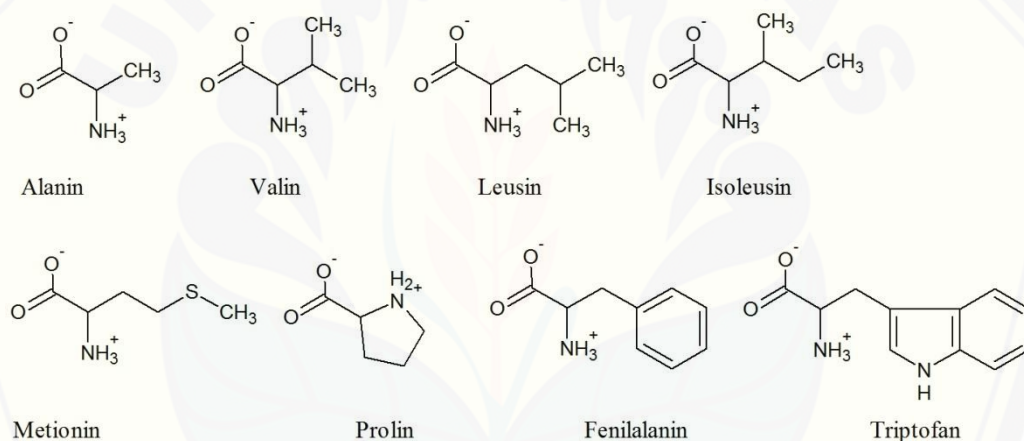
Asam Amino	Singkatan Tiga Huruf	Simbol Satu Huruf
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asam Aspartat	Asp	D
Sistein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Asam Glutamat	Glu	E
Glisin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleusin	Lie	I
Leusin	Leu	L
Lisin	Lys	K
Metionin	Met	M
Fenilalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Treonin	Thr	T
Triptofan	Trp	W
Tirosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

(Sumber : Stryer, 2000).

Struktur asam amino tersusun dari atom C yang mengikat gugus amina ( $\text{NH}_2$ ), gugus karboksil ( $\text{COOH}$ ), atom hidrogen (H) dan gugus (R) sisa atau rantai samping (Page, 1989). Gugus R asam amino memberikan peran penting pada sifat kelarutan, ionisasi dan struktur tiga dimensinya (Amstrong, 1995). Berdasarkan gugus (R) rantai samping asam amino diklasifikasikan menjadi empat jenis yaitu sebagai berikut :

### 1. Asam Amino dengan Gugus (R) Nonpolar

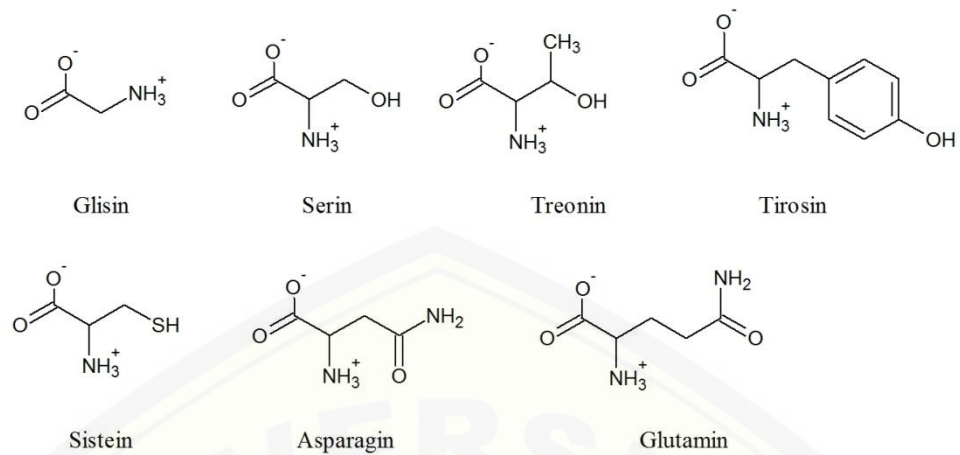
Asam amino yang memiliki gugus (R) rantai samping yang bersifat nonpolar ada delapan yaitu Alanin, Valin, Leusin, Isoleusin, Prolin, Metionin, Fenilalanin dan Triptofan. Rantai samping pada asam amino menunjukkan bahwa memiliki keelektronegatifan yang hampir sama sehingga distribusi elektronnya merata sehingga bersifat nonpolar. Senyawa nonpolar tidak larut (hidrofobik) dalam air dan senyawa polar lainnya. Alanin merupakan asam amino dengan rantai samping metil menunjukkan bahwa distribusi elektronnya merata sehingga bersifat nonpolar. Alanin merupakan hidrofobik terkecil dari delapan asam amino karena rantai samping metil yang kecil.



Gambar 2.1 Asam Amino dengan Gugus (R) Non polar  
(Sumber :Amstrong, 1995)

### 2. Asam Amino dengan Gugus (R) Polar

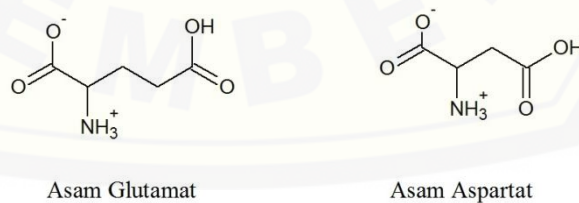
Asam amino yang memiliki gugus (R) rantai samping yang bersifat polar ada tujuh yaitu Glisin, Serin, Treonin, Tirosin, Sistein, Asparagin dan Glutamin. Rantai samping pada asam amino menunjukkan bahwa memiliki keelektronegatifan yang berbeda sehingga distribusi elektronnya tidak merata sehingga bersifat polar. Senyawa polar larut (hidrofilik) dalam air dan pelarut lain. Asam amino serin pada rantai samping terdapat gugus OH yang menunjukkan keelektronegatifan berbeda antara atom O dan H sehingga menyebabkan distribusi elektron tidak merata. Gugus OH tersebut yang menyebabkan sifat polar dari rantai samping asam amino serin.



Gambar 2.2 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar  
(Sumber : Amstrong, 1995).

### 3. Asam Amino Dengan Gugus (R) Polar Muatan Negatif (Asam)

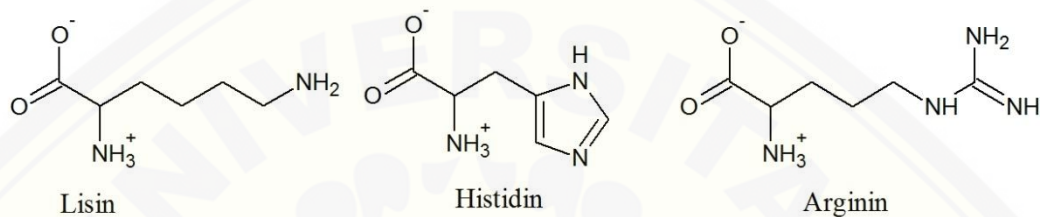
Asam amino yang memiliki gugus (R) rantai samping yang bersifat polar bermuatan negatif (asam) yaitu asam Glutamat dan asam Aspartat. Asam Glutamat dan asam Aspartat memiliki dua gugus karboksil yang terionisasi penuh (bermuatan negatif) pada pH fisiologis. Ionisasi ini menyebabkan sifat polaritas pada rantai sampingnya. Asam aspartat (HA) jika gugus  $\alpha$ -COOH-nya terdisosiasi menjadi  $\text{COO}^-$  disebut aspartat ( $\text{A}^-$ ) begitu juga dengan asam glutamat menjadi glutamat. Keduanya disebut dengan asam amino dengan rantai samping bersifat asam karena akan memberikan proton ( $\text{H}^+$ ) jika dimasukkan dalam larutan.



Gambar 2.3 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar Muatan Negatif (asam)  
(Sumber : Amstrong, 1995).

#### 4. Asam Amino dengan Gugus (R) Polar Muatan Positif (Basa)

Asam amino yang memiliki gugus (R) rantai samping yang bersifat polar bermuatan positif (basa) yaitu Lysin, Histidin dan Arginin. Arginin merupakan salah satu asam amino yang memiliki rantai samping pada pH fisiologis bermuatan positif. Muatan ber-ion diberikan melalui protonasi dari guanidin dari arginin, sehingga menyebabkan rantai samping bersifat basa.



Gambar 2.4 Asam Amino dengan Gugus (R) Polar Muatan Positif (Basa)  
(Sumber : Armstrong, 1995)

Asam amino saling berikatan sehingga membentuk struktur protein. Ikatan tersebut bermacam-macam berdasarkan struktur protein yang dibentuk. Protein memiliki beberapa struktur yaitu sebagai berikut :

1. Struktur primer merupakan ikatan peptida yang terjadi antara asam amino satu dengan asam amino yang lain. Ikatan yang terbentuk adalah ikatan kovalen, sehingga membutuhkan energi yang besar untuk memutuskan ikatan peptida tersebut (Page, 1989).
2. Struktur sekunder dibentuk oleh ikatan hidrogen pada asam-asam amino penyusun protein yang membentuk pola sesuai dengan orientasi ikatan hidrogennya. Struktur sekunder terdapat dua jenis yaitu *alfa-heliks* dan *beta-sheet* dan mempengaruhi struktur protein secara keseluruhan (Page, 1989).
3. Struktur tersier terbentuk karena adanya pelipatan atau pelekukan suatu polipeptida menghasilkan molekul globular. Struktur tersier terbentuk dari interaksi gugus-gugus R dari asam amino (Page, 1989).
4. Struktur kuartener terbentuk dari lebih dari satu rantai polipeptida. Gabungan dari rantai polipeptida disebut subunit. Struktur kuartener



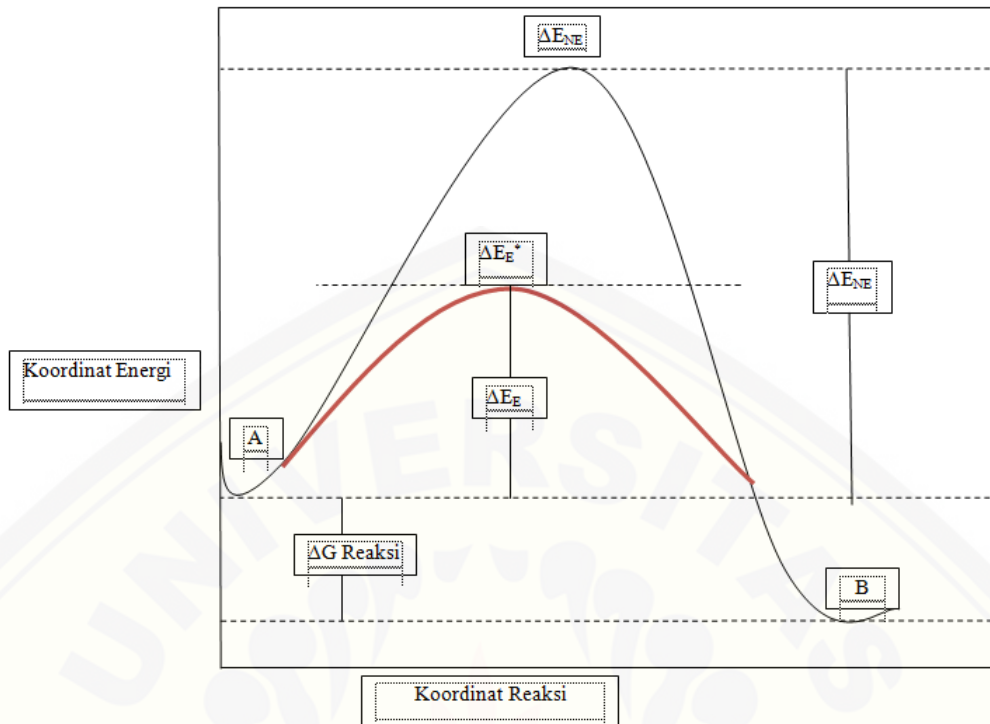
terbentuk dari subunit yang sama ataupun yang berbeda. ikatan yang terjadi pada struktur kuartener adalah ikatan nonkovalen, sehingga mudah untuk diputuskan (Page, 1989).

## 2.2 Enzim

Protein memiliki peran dalam proses biologis yaitu sebagai katalis enzimatik. Reaksi kimia dalam sistem biologis kebanyakan di katalis oleh makromolekul yang disebut enzim. Enzim merupakan salah satu jenis protein. Katalisis enzimatik berlangsung pada situs aktif yang ada pada enzim (Lehninger, 1993). Sisi aktif pada enzim dapat melakukan fungsi pengarahan, pengikatan dan katalisis yang tidak dimiliki oleh protein yang lain. Sisi aktif enzim umumnya berbentuk celah yang tersusun dari asam amino-asam amino rantai polipeptida pada enzim (Martoharsono, 1998). Residu katalitik yang akan berinteraksi langsung dengan substrat. Interaksi antara enzim dan substrat terjadi, jika residu katalitik memiliki ruang yang tepat dan dapat berinteraksi dengan substrat. Apabila substrat memiliki bentuk yang lain, maka enzim dan substrat tidak dapat berinteraksi. Hal tersebut menunjukkan bahwa enzim memiliki sifat spesifik terhadap suatu substrat (Poedjiadi, 1994).

Interaksi antara substrat dengan enzim pada celah situs aktif akan membentuk kompleks enzim-substrat. Kompleks ini merupakan kompleks yang aktif, bersifat sementara dan akan terurai lagi, jika reaksi yang diinginkan telah terjadi (Poedjiadi, 1994). Kompleks enzim-substrat merupakan keadaan transisi, dimana memiliki tingkat energi yang tinggi. Enzim mempercepat reaksi dengan cara membuat jalur baru yang menyebabkan energi pada keadaan transisi lebih rendah, sehingga keadaan transisi tersebut mudah dicapai (Stryer, 2000).

Energi bebas adalah fungsi termodinamika sangat penting untuk menentukan berlangsungnya suatu reaksi dan untuk memahami reaksi katalisis (Stryer, 2000). Secara termodinamika, enzim mempercepat reaksi dengan menurunkan energi aktivasinya (Gambar 2.5).



Gambar 2.5 Diagram Energi Aktivasi Reaksi  $A \rightarrow B$   
(Sumber : Girindra, 1990).

Diagram diatas menunjukkan A adalah substrat, B adalah produk.  $\Delta E_{NE}^*$  menunjukkan kompleks aktivasi dalam reaksi tanpa enzim.  $\Delta E_{E}^*$  adalah kompleks aktivasi dalam reaksi menggunakan katalisator yaitu ezim.  $\Delta E_{NE}$  adalah energi aktivasi dalam reaksi tanpa enzim.  $\Delta E_E$  adalah energi aktivasi dalam reaksi menggunakan enzim.  $\Delta G$  adalah perbedaan energi bebas antara  $A \rightarrow B$  (Girindra, 1990).

Enzim dapat meningkatkan laju reaksi paling sedikit  $10^6$  kali (Stryer, 2000). Laju reaksi enzimatik dapat berubah dengan penambahan konsenstrasi substrat, enzim dan inhibitor. Selain itu pengaruh suhu dan pH mempengaruhi laju reaksi enzimatik. Kenaikan suhu dapat menaikkan kecepatan reaksi dua kali, karena pada suhu yang tinggi akan menyebabkan tumbukan antara reaktan sering terjadi, sehingga menyebabkan energi menjadi lebih besar. Kenaikan suhu akan banyak molekul yang memiliki energi yang cukup untuk mengatasi energi aktivasi dari reaksi. Reaksi enzimatik dengan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan denaturasi protein enzim, sehingga dapat merusak kemampuannya

untuk mengkatalisis reaksi. Enzim sebagai katalis efektif memiliki rentangan suhu tertentu (Schumm, 1993).

pH juga mempengaruhi kerja enzim, perubahan pH yang kecil dapat mengubah muatan substrat, produk atau asam-asam amino tertentu pada enzim. Keadaan ini dapat menyebabkan denaturasi protein enzim, sehingga merusak kemampuan enzim untuk melakukan reaksi antara enzim dan substrat dan dapat mencegah pemisahan produk dan enzim. Oleh karena itu setiap enzim memiliki keadaan suhu efektif yang disebut suhu optimum enzim (Schumm, 1993).

### 2.3 Enzim Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase

Xilanase merupakan enzim xilanolitik yang biasanya dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, fungi dan beberapa dapat dihasilkan oleh tumbuhan dan hewan (Subramaniam dan Prema, 2002). Xilanase memiliki berat molekul antara 15.000-30.000 Dalton. Xilanase aktif pada pH 9, suhu 5 °C dan lebih stabil pada pH normal dan suhu 60 °C. Xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis hemiselulosa yaitu xilan dan xilooligosakarida. Xilanase diklasifikasikan berdasarkan substrat yang dihidrolisis yaitu  $\beta$ -xilosidase, eksoxilanase, dan endoxilanase.  $\beta$ -xilosidase menghidrolisis xilooligosakarida menjadi xilosa. Eksoxilanase menghidrolisis xilan menjadi xilosa sebagai produk utama. Endoxilanase menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida, xilobiosa dan xilosa (Richana, 2002).

Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase (EC.3.2.1.8) merupakan enzim yang mampu menghidrolisis xilan pada bagian dalam dari tulang punggung heteroxilan. Hasil hidrolisis berdasarkan bentuk awal substrat. Substrat xilan akan dihidrolisis menghasilkan produk utama yaitu xilooligosakarida. Xilooligosakarida dihidrolisis akan menghasilkan turunannya seperti xilotrosa, xilobiosa dan xilosa (Sunna dan Antranikian, 2008). Reaksi hidrolisis Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase terjadi pada pada situs aktif. Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase memiliki situs aktif yang terdiri dari situs aktif yang pengikatan dengan substrat dan sisi katalitik. Situs aktif pengikatan dengan substrat biasa disebut residu katalitik. Residu katalitik pada Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase adalah dua molekul asam glutamat (Jeffries, 2011).

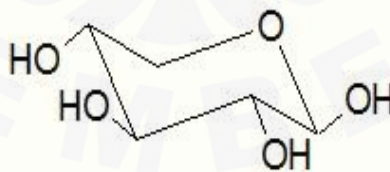
Asam glutamat merupakan asam amino yang memiliki gugus R yang bersifat polar bermuatan negatif (Amstrong, 1995).

Xilanase dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Xilanase dapat digunakan untuk menghilangkan hemiselulosa pada proses *bleach-ing* pembuatan kertas. Xilanase digunakan untuk campuran makan ayam *boiler*, yang berdampak pada berat yang dicapai dan efisiensi konversi makanan. Xilanase digunakan untuk menjernihkan jus, ekstraksi kopi, minyak nabati dan pati. Salah satu hasil hidrolisis xilanase yaitu xilosa banyak dikonsumsi oleh penderita diabetes. Gula xilosa di Malaysia banyak digunakan untuk campuran pasta gigi, karena dapat berfungsi memperkuat gusi (Richana, 2002).

#### 2.4 Xilan

Xilan merupakan salah satu komponen utama pada hemiselulosa yang terdapat di dinding tumbuhan. Istilah Hemiselulosa mengacu pada tanaman yang memiliki polisakarida yang berkaitan erat hubungannya dengan selulosa dan glukosa. Sel tumbuhan terutama pada dinding sel mengandung selulosa, xilan dan lignin. Xilan, terkandung dalam semua tanaman 30% dari bahan dinding sel tanaman tahunan, 15 hingga 30% kayu keras dan 7 hingga 10% kayu lunak (Subramanian dan Prema, 2002).

Xilan merupakan heteropolisakarida yang disusun dari beberapa monomer xilosa. Berikut ini struktur dari xilosa :



Gambar 2.6 Xilosa  
(Sumber : Carvalho dkk., 2013)

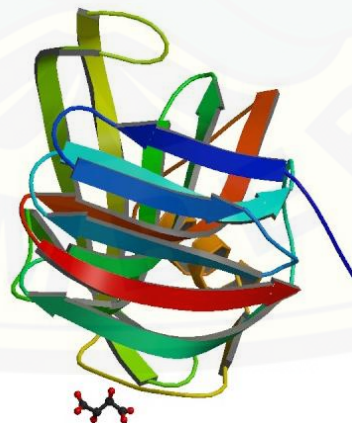
XOS adalah xilooligosakarida yang mengandung dua hingga sepuluh molekul xilosa yang dihubungkan oleh ikatan  $\beta$ -1,4. Xilobiosa (X2) merupakan xilooligosakarida yang mengandung dua molekul xilosa. Xilotriosa (X3) merupakan xilooligosakarida yang mengandung tiga molekul xilosa. Xilotetrosa (X4) merupakan xilooligosakarida yang mengandung empat molekul xilosa.

Xilopentosa (X5) merupakan xiloolgosakarida yang mengandung lima molekul xilosa (Carvalho dkk., 2013).

### 2.5 Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168) (1XXN)

Struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168) yang memiliki kode PDB 1XXN. Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168) kemiripan urutan protein dengan Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap sebesar 99% (<https://blast.ncbi.nlm.nih.>). Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168) digunakan sebagai *template* dalam pemodelan struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap. Struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168) memiliki residu katalitik Glu78 dan Glu 172. Situs aktif yang menunjukkan jaringan ikatan hidrogen yang dibentuk oleh Tyr69, Glu78, Tyr80, Glu172 (Murakami dkk., 2005). Berikut ini struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168).

Nama enzim	: Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase
Organisme	: <i>Bacillus subtilis</i> (strain 168)
Kode PDB	: 1XXN



Gambar 2.7 Struktur Tiga Dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dari *Bacillus subtilis* (strain 168)  
(Sumber : Protein Data Bank)

Mathur dkk (2017) telah melakukan penelitian secara *in silico* menggunakan metode *docking*. Penelitian tersebut menggunakan program *docking* *GLIDE*. Ligan (substrat) yang digunakan pada penelitian tersebut adalah xilopentosa. Makromolekul (enzim atau reseptor) yang digunakan adalah Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase yang digunakan dari berbagai bakteri. Struktur tiga dimensi yang digunakan diperoleh dari Protein Data Bank. Penelitian tersebut menggunakan berbagai macam struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dengan kode PDB yang berbeda. Salah satu yang digunakan adalah struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase dengan kode PDB 1XXN. Hasil *docking* yang diperoleh berupa data energi bebas (KJ/mol) dan posisi pengikatan substrat dengan enzim.

Tabel 2.2 Asam amino yang membentuk interaksi polar dan interaksi hidropobik atau Van der Waals

<b>Struktur</b>	<b>Asam Amino membentuk interaksi Polar</b>	<b>Asam Amino membentuk interaksi hidropobik atau Van der Waals</b>
1XXN	Pro-116, Tyr-65, Asn-63, Gln-175, Arg-112	Val-37, Glu-78, Asn35, Trp-9, Thr-110, Thr-91, Tyr-88, Tyr-174, Asp11, Tyr-69, Trp-71

(Sumber : Mathur dkk., 2017)

Tabel 2.3 Hasil energi bebas

<b>Reseptor</b>	<b>Organisme</b>	<b>Ligan</b>	<b>Interaksi Polar</b>	<b>Interaksi hidropobik atau Van der Waals</b>	<b>Energy (kJ/Mol)</b>
1XXN	<i>Bacillus Subtilis</i>	Xilo pentosa	7	11	-11105,028

(Sumber : Mathur dkk., 2017)

## 2.6 Kinetika Pengikatan Protein-Ligan

Kinetika mengikat protein-ligan menggambarkan proses yang mendasari hubungan antara protein dan ligan, terutama fokus pada sisi dimana protein dan

ligan saling berikatan satu sama lain. Pengikatan protein dan ligan dimisalkan protein (P) dan ligan (L) dengan affinitas timbal balik direaksikan dalam sebuah larutan dapat ditulis sebagai berikut :



dimana PL menunjukkan kompleks protein-ligan.  $K_1$  dan  $K_2$  adalah konstanta laju kinetik yang menjelaskan bahwa reaksi berlangsung secara bolak-balik . Nilai dari  $K_1$  dan  $K_2$  masing masing  $M^{-1}.s^{-1}$  dan  $s^{-1}$ . Pada keadaan setimbang reaksi pembentukan  $P + L \rightarrow PL$  seimbang dengan reaksi penguraian  $PL \rightarrow P + L$  dapat ditulis sebagai berikut :

$$K_1[P][L] = K_2[PL] \quad (2)$$

dimana tanda kurung merupakan konsentrasi kesetimbangan dari molekuler. Nilai pengikatan  $K_b$  konstan (dalam satuan  $M^{-1}$ ) dapat ditulis dalam persamaan sebagai berikut :

$$K_b = \frac{K_1}{K_2} = \frac{[PL]}{[P][L]} = \frac{1}{K_d} \quad (3)$$

dimana  $K_d$  (dalam satuan M) disebut konstanta disosiasi. Oleh karena itu cepat atau lambatnya laju pengikatan dipengaruhi oleh tingkat disosiasi dan affinitas (Du dkk., 2016).

## 2.7 Energi Bebas Gibbs

Sistem protein-ligan-pelarut adalah sistem termodinamika yang tersusun dari zat terlarut (yaitu, molekul protein dan ligan) dan pelarut (yaitu, air cair dan ion penyangga). Sistem tersebut, ada interaksi yang sangat kompleks dan pertukaran panas di antara zat-zat ini. Zat-zat ini memiliki hubungan proses perpindahan panas terkait dengan berbagai perubahan energi ditentukan oleh hukum termodinamika. Energi bebas Gibbs, merupakan potensi termodinamika yang mengukur kapasitas sistem termodinamika untuk melakukan kerja maksimum atau reversibel pada suhu konstan dan tekanan (isothermal, isobarik) (Du dkk., 2016).

Proses spontan dalam analoginya, pengikatan protein-ligan hanya terjadi ketika perubahan energi bebas Gibbs dari sistem negatif, ketika sistem mencapai keadaan kesetimbangan pada tekanan dan suhu konstan. Standar energi bebas yang mengikat mengacu pada perubahan energi bebas yang diukur di bawah kondisi tekanan 1 atm, suhu 298 K, dan reaktan yang efektif (protein dan ligan) konsentrasi 1 M, terkait dengan konstanta mengikat  $K_b$  oleh hubungan Gibbs:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b \quad (4)$$

di mana R adalah konstanta gas universal ( $1,987 \text{ cal.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ ) dan T adalah suhu dalam derajat Kelvin. Persamaan (1) membuatnya jelas bahwa semakin tinggi konstanta pengikatan  $K_b$ , semakin negatif energi bebas standar mengikat, menentukan sifat termodinamika kompleks, yaitu stabilitas kompleks dan mengikat afinitas antara protein dan ligan (Du dkk., 2016).

Energi bebas yang mengikat ( $\Delta G$ ) setiap saat selama suatu asosiasi (tidak harus dalam keadaan standart) dapat ditulis sebagai berikut:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q \quad (5)$$

dimana Q adalah hasil bagi reaksi, yang mana dapat diartikan perbandingan konsentrasi dari kompleks protein-ligan untuk hasil dari konsentrasi dari protein bebas dan ligan bebas dalam waktu tertentu. Ketika  $Q = K_b$ , dan  $\Delta G = 0$ .  $\Delta G$  juga dapat diurai menjadi kontribusi enthalpi dan entropi dengan yang persamaan berikut :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (6)$$

di mana  $\Delta H$  dan  $\Delta S$  adalah perubahan entalpi dan entropi dari sistem pada pengikatan ligan, dan T adalah suhu dalam Kelvin (Du dkk., 2016).

## 2.8 Protein Data Bank (PDB)

Fungsi fisiologis suatu makromolekul kompleks dapat diketahui dengan mengidentifikasi struktur tiga dimensi. Penentuan struktur tiga dimensi dikembangkan untuk dipelajari sifat yang berbeda dari makromolekul seperti berat molekul, luas permukaan, komposisi kimia dan lain-lain. *Electron microscopy* (EM) dapat diterapkan untuk mempelajari kompleks besar, tetapi hanya dapat menampilkan gambar dengan resolusi yang rendah. Struktur di



Protein Data Bank (PDB) diperoleh dengan menggunakan teknik NMR. Namun, metode ini memiliki keterbatasan ukuran benda yang diteliti dan hampir tidak ada yang berukuran besar. Hasil struktur tiga dimensi PDB diperoleh lebih banyak menggunakan difraksi sinar-X pada makromolekul bentuk kristal (Berman dkk., 2000).

Protein Data Bank (PDB) merupakan salah satu arsip data struktur makromolekul biologis tiga dimensi (protein, DNA, RNA). PDB dikelola oleh Organisasi Protein Data Bank di seluruh dunia yang saat ini mencakup tiga pendirian pusat data regional, yang terletak di AS, Jepang dan Eropa. Situs web RCSB PDB memberikan beberapa informasi untuk permintaan struktur, penelusuran, analisis, dan molekuler visualisasi. Pengguna dapat melakukan pencarian sederhana menggunakan pencarian bar menu teratas termasuk PDB ID, nama, urutan dan ligan. Hal tersebut dapat membantu jika pencahariannya sulit ditemukan (Rose dkk., 2017).

### **2.9 *Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)***

*Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)* adalah program komputer yang digunakan sebagai pencarian kesamaan yang dapat digunakan melalui web. Pencaharian kesamaan dapat digolongkan beberapa tipe yaitu membandingkan semua kombinasi nukleotida atau protein dengan nukleotida atau protein pada data base. *BLAST* dapat memberikan informai tentang kesamaan dan perbedaan dari protein dan nukleotida yang kita miliki. Urutan nukleotida atau protein yang kita miliki akan dibandingkan dengan hasil dari program tersebut (McGinnis dan Madden, 2004).

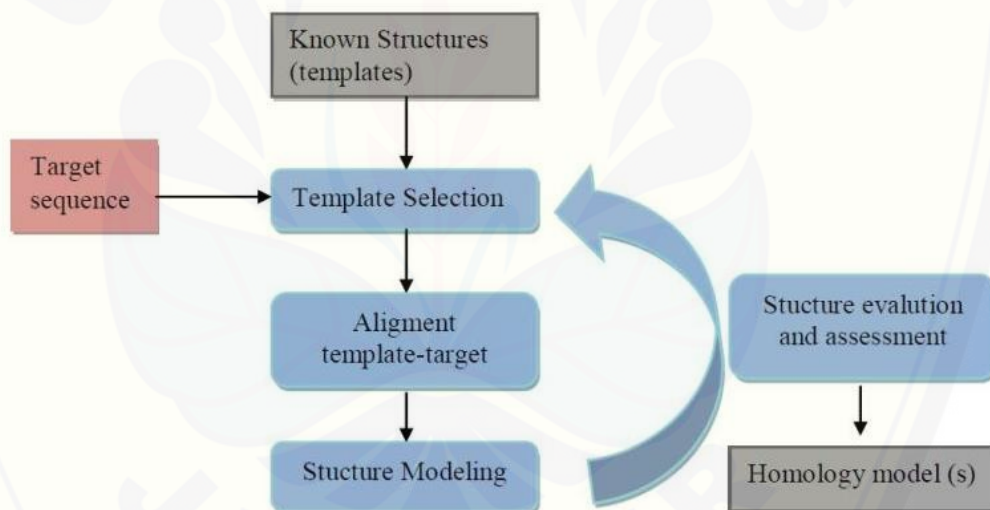
### **2.10 *ExpASy Translate Tool***

*ExpASy* (<http://www.expasy.org>) merupakan program yang memiliki reputasi sebagai salah satu sumber bioinformatika utama untuk proteomik. Program ini telah berkembang, menjadi portal yang diperluas dan integratif yang mengakses banyak sumber daya ilmiah, basis data dan alat perangkat lunak di berbagai bidang ilmu kehidupan. *ExpASy Translate Tool* merupakan salah satu

bagian dari server *ExpPASy*. *ExpPASy Translate Tool* adalah aplikasi web yang didedikasikan untuk transformasi DNA atau sekuens RNA menjadi sekuens protein untuk analisis lebih lanjut (Artimo dkk., 2012).

### 2.11 SWISS-MODEL

Pemodelan homologi bertujuan untuk membuat model stuktur tiga dimensi protein dengan menggunakan struktur yang sudah diketahui struktur tiga dimensinya berdasarkan penelitian (template). Pemodelan homologi merupakan metode komputasi yang akurat dalam menghasilkan model struktur tiga dimensi dan banyak digunakan dalam aplikasi biologi. *SWISS-MODEL* merupakan program pemodelan homologi yang berbasis web (Bordoli dkk., 2009). Berikut ini langkah pemodelan homologi dengan menggunakan *SWISS-MODEL* :



Gambar 2.8 Langkah-Langkah Pemodelan Homologi  
(Sumber : Bordoli dkk., 2009)

Pemodelan protein tergantung pada hubungan antara protein target dan *template*. pemilihan *template* yang sesuai bisa menggunakan pencarian homologi (*BLAST*). Hasil dari pencarian homologi bisa dipilih menjadi *template* berdasarkan kesamaan urutan *template*, kualitas struktur hasil eksperimen atau keberadaan ligan dan lain-lain (Bordoli dkk., 2009).

### 2.12 *YASARA (Yet Another Scientific Artificial Reality Application)*

*YASARA* adalah program molekul grafis, modeling dan simulasi struktur tiga dimensi yang berisi analisis protein dan asam nukleat. *Plugin FoldX* untuk *YASARA* adalah paket perangkat lunak untuk mengakses dan menjalankan perintah *FoldX* di *YASARA*. *FoldX* adalah program perangkat lunak pemodelan molekul dan desain protein yang menghitung perbedaan energi yang mendekati nilai eksperimen. *FoldX* dapat meminimalkan struktur Protein Data Bank (PDB), mengubah satu atau lebih residu menjadi residu baru, melakukan analisis stabilitas protein, analisis energi interaksi protein-protein dan lain-lain. *FoldX* banyak digunakan untuk memprediksi efek mutasi pada stabilitas protein atau untuk memprediksi efek pada ikatan protein-protein. *YASARA* dan *plugin FoldX* tersedia untuk *Linux*, *MacOSX* dan *Windows* (Slack, 2008).

### 2.13 *Molecular Docking*

*Molecular docking* adalah percobaan komputasi yang berusaha memprediksi pengikatan makromolekul non kovalen atau makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien, dimulai dengan struktur yang tidak terikat, struktur yang diperoleh dari simulasi MD, atau pemodelan homologi, dan lain-lain. Tujuannya adalah untuk memprediksi konformasi yang terikat dan afinitas yang mengikat. Prediksi pengikatan molekul kecil ke protein lebih mudah dan praktis digunakan untuk layar virtual untuk kepentingan analisis obat (Trott dan Olson, 2010).

*Molecular docking* merupakan suatu prosedur komputasional untuk memprediksi ikatan nonkovalen dari makromolekul (reseptor/protein target) dan molekul kecil (ligan) secara efisien. Tujuan dari *docking* adalah untuk memprediksi konformasi ikatan dan afinitas ikatan berdasarkan energi ikatan. Prediksi ikatan antara molekul kecil dan protein dianggap penting untuk perkembangan senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas biologis untuk dijadikan senyawa penuntun bagi perkembangan obat selanjutnya (Trott dan Olson, 2010).

*Docking* berfungsi untuk memprediksi orientasi ikatan dari molekul kecil kandidat obat pada protein target untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul kecil. *Docking* memainkan peranan penting dalam desain obat. Molekular docking membantu dalam mempelajari interaksi obat/ligan atau reseptor/protein dengan mengidentifikasi kesesuaian sisi aktif protein, dengan menghasilkan geometri terbaik dari kompleks ligan-protein dan menghitung energi interaksi untuk ligan-ligan berbeda untuk mendesain ligan-ligan yang lebih efektif (Mukesh dan Rakesh, 2011).

#### 2.14 *AutodockVina*

*AutodockVina* adalah salah satu perangkat lunak yang biasa digunakan untuk penemuan obat, *molecular docking* dan *virtual screening*. *AutodockVina* mempunyai kemampuan tingkat kerja tinggi, tingkat akurasi tinggi dan penggunaannya yang sangat mudah. Perangkat ini digunakan dengan bantuan *AutodockTools*. Penggunaan *AutodockTools* digunakan untuk membuat *file* yang dibutuhkan untuk *docking*. Langkah –langkah yang dilakukan menggunakan *Autodock Tools* adalah sebagai berikut :

1. Persiapan protein atau makromolekul (kaku atau fleksibel)
2. Menentukan situs aktif (*grid*)
3. Persiapan ligan

(Sandeep dkk., 2011).

*GridBox* merupakan kotak kisi yang digunakan untuk menentukan ruang dimana simulasi *docking* akan berjalan. Ukuran jarak pada kisi dibuat sedemikian rupa sehingga kotak-kotak dapat memuat sisi aktif protein (Frimayanti dkk., 2018). Nilai standar jarak antar titik kisi adalah 0,375 amstrong. Nilai jarak antar titik kisi 1 amstrong digunakan saat membutuhkan volume kotak kisi yang lebih besar (Huey dan Morris, 2005).

#### 2.15 *PyMOL*

*PyMOL* merupakan salah satu program yang digunakan secara luas dalam biologi struktural. *PyMOL* sering digunakan untuk visualisasi molekular

kristalografi, simulasi dinamika molekul dan pemodelan protein dalam perangkat lunak. *PyMOL* memberikan hasil yang bagus pada kontrol tampilan gambar (Mooers, 2016).



### BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium komputer Unit Pelaksana Teknis Teknologi Informasi (UPT-TI) Universitas Jember pada bulan April 2019 sampai Juni 2019.

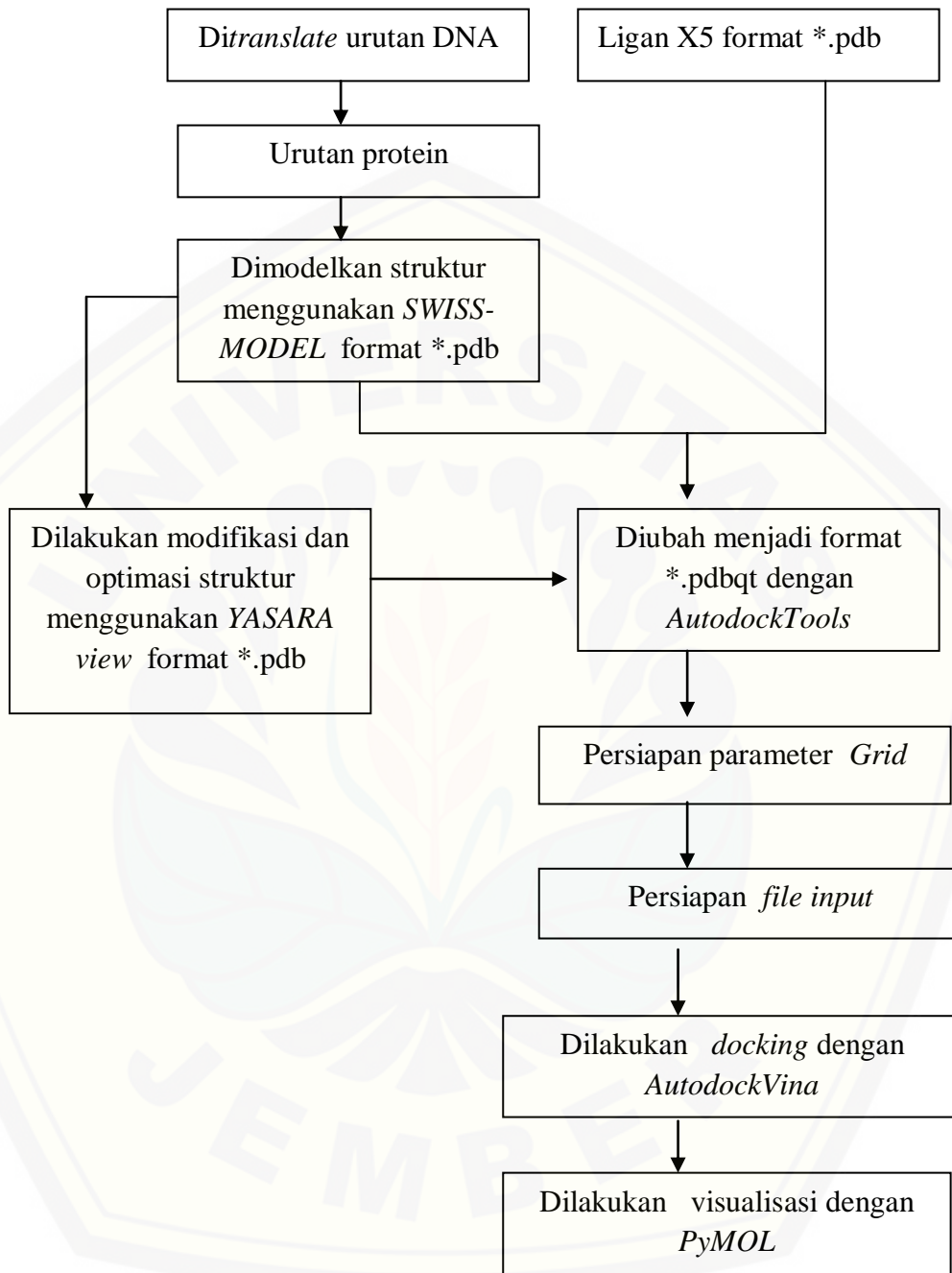
#### 3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain :

Komputer dengan sistem operasi windows dan dilengkapi dengan program aplikasi :

- *MGL Tools* 1.5.6 yang dilengkapi dengan *AutodockTools* 1.5.6.
- *AutodockVina*
- *YASARA view*
- *PyMOL*

### 3.3 Diagram Alir Penelitian



### 3.4 Prosedur Kerja Penelitian

#### 3.4.1 Proses Identifikasi Residu Katalitik

##### A. Persiapan Struktur Makromolekul

Makromolekul di persiapan menggunakan *SWISS-MODEL* langkah langkah yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Dilakukan *translate* urutan nukleotida Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase *Basillus Sp* Asal Abdominal rayap dalam bentuk urutan protein dengan menggunakan *swiss-prot* (<https://web.expasy.org/translate/>)
2. Dilakukan pemodelan stuktur dengan menggunakan *SWISS-MODEL*
3. Diunduh *file model* dalam bentuk format \*.pdb digunakan untuk *docking*.

##### B. Persiapan Struktur Ligan

Struktur ligan yaitu xilopentosa di unduh dari PDB dengan format \*.pdb (<http://www.rcsb.org/pdb/>)

#### 3.4.2 Proses Modifikasi Sisi Katalitik

##### A. Persiapan Struktur Makromolekul

Struktur makromolekul Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase hasil pemodelan dengan *SWISS-MODEL* dimodifikasi atau mutasi daerah sekitar residu katalitik menggunakan *YASARA view*. Langkah-langkah yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Buka *file*
2. Dilakukan modifikasi struktur menggunakan *FoldX*. Modifikasi struktur dilakukan disekitar daerah residu katalitik. Sisi katalitik atau asam amino yang dimodifikasi berjumlah 34. Asam amino dengan gugus R bersifat nonpolar 15. Asam amino dengan gugus R bersifat polar 17. Asam amino dengan gugus R bersifat asam berjumlah 1. Asam amino dengan gugus R bersifat basa berjumlah 1. Asam amino pengganti yaitu asam amino dengan gugus R bersifat asam dan basa. Asam amino dengan gugus R bersifat asam yaitu asam aspartat dan asam glutamat. Asam amino dengan gugus R bersifat basa yaitu asam arginin, histidin dan lisin. Hal ini dilakukan untuk melihat energi



bebas yang lebih rendah. Penggantian sisi katalik menjadi asam amino dengan gugus R bersifat asam disebabkan Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap memiliki pH 5 (asam mendekati netral). Penggantian sisi katalik menjadi asam amino dengan gugus R bersifat basa untuk mengetahui hasil perbandingan energi bebas yang lebih dihasilkan oleh penggantian asam amino dengan gugus R bersifat asam.

3. Dilakukan optimasi struktur
4. *File* disimpan dalam format \*.pdb digunakan untuk *docking*.

#### B. Persiapan Struktur Ligan

Struktur ligan yaitu xilopentosa di unduh dari PDB dengan format \*.pdb (<http://www.rcsb.org/pdb/>)

### 3.4.3 Proses *Docking* Menggunakan *Autodock Vina*

#### A. Persiapan Ligan

Ligan dipersiapkan mengubah format.pdb menjadi format \*.pdbqt menggunakan program *AutodockTools*.

#### B. Persiapan Makromolekul

Makromolekul dipersiapkan mengubah format.pdb menjadi format \*.pdbqt menggunakan program *AutodockTools*.

#### C. Persiapan Parameter *Grid*

- Parameter *grid* dibuat menggunakan *AutodockTools*.
- Parameter *grid* diatur sesuai dengan ukuran sisi aktif protein
- Pengaturan parameter *grid* dengan cara menyesuaikan *Center x,y,z*, *Size x,y,z* dan *Spacing (Amstrong)* yang tersedia di *AutodockTools*. Penempatan untuk *Center x,y,z*, dan *Size x,y,z* berdasarkan residu katalitik yang diketahui. Residu katalitik yang sudah diketahui menunjukkan jaringan ikatan hidrogen yang dibentuk oleh Tyr69, Glu78, Tyr80, Glu172 (Murakami dkk., 2005). Residu katalitik tersebut menjadi acuan dalam penentuan parameter *grid*.

#### D. Persiapan *File Input*

*File Input* berisikan informasi mengenai *receptor*, *ligand*, *center x,y,z*, *size x,y,z*, *output*, *log* dan *exhaustiveness*. *File Input* disimpan dalam format \*.txt dan digunakan untuk *docking*.

E. Proses *Docking* dengan *AutodockVina*

*Docking* dengan *AutodockVina* dilakukan dengan menulis *script* pada *command* sebagai berikut :

```
"\Program Files\The Scripps Research Institute\Vina\Vina.Exe -Config  
conf.t.txt [Enter]
```

F. Analisis Hasil *Docking*

Hasil *Docking* dengan *AutodockVina* dianalisis dengan program *PyMOL*. Analisis dilakukan untuk mengetahui posisi asam amino yang berikatan dengan ligan.

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hasil pemodelan struktur tiga dimensi Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap memiliki residu katalitik Thr3, Tyr5, Asn20, Tyr69 dan energi bebas -8,1 kcal/mol.
2. Modifikasi sisi katalitik Endo- $\beta$ -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal Rayap yaitu pada 34 asam amino. Asam amino tersebut 15 asam amino gugus R bersifat nonpolar, 17 asam amino gugus R bersifat polar, satu asam amino gugus R bersifat asam dan basa. Hasil energi bebas paling rendah diperoleh -9,1, -9,2 dan -9,2 kcal/mol pada asam amino gugus R bersifat polar N35 (Asparagin) yang diganti menjadi Asam Aspartat.

### 5.2 Saran

Saran penelitian ini adalah untuk mengetahui kebenaran hasil *docking* bisa dilakukan modifikasi secara *experiment*. Modifikasi dilakukan pada asam amino N35 diganti Asam Aspartat. *Docking* dengan pengulangan yang lebih banyak lagi sebelum dilakukan secara *experiment*. Modifikasi secara *experiment* tidak disarankan pada asam amino pada Tyr5, Gln7, Thr44, Tyr69, Arg73 Arg112, Trp164, Tyr166, Tyr 174.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amstrong, F. . 1995. *Biochemistry*. Jakarta: EGC.
- Annie Deborah Harris dan C. Ramalingam. 2010. Xylanases and its application in food industry: a review. *Journal of Experimental Sciences*. 1(7):01–11.
- Artimo, P., dkk. 2012. ExPASy: sib bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Research*. 40(W1):597–603.
- Berman, dkk. 2000. The protein data bank helen. *Nucleic Acids Research*. 28(1):235–242.
- Bordoli, L., dkk. 2009. Protein structure homology modeling using swiss-model workspace. *Nature Protocols*. 4(1):1–13.
- Cabello, C. M., dkk. 2010. Improving accuracy and efficiency of blind protein-ligand docking by focusing on predicted binding sites. 46(2):220–231.
- Carvalho, dkk. 2013. Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Research International*. 51(1):75–85.
- Dawn dan A. D. M. C. M. S. B. Marks. 2000. *Koleksi Buku Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta: Erlangga.
- Du, X., dkk. 2016. Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods. *International Journal of Molecular Sciences*. 17(2):1–34.
- Friesner RA, dkk. 2004. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry*. 47(7):1739–1749.
- Frimayanti, N., E. dkk. 2018. Study of molecular docking of chalcone analogue compound as inhibitors for liver cancer cells hepg2. *Computer Engineering and Applications Journal*. 7(2):147–158.
- Girindra, A. 1990. *Biokimia I Tahun 1990*. Jakarta: Gramedia.
- Glycogenomics. 2019. CAZy Carbohydrate-Active EnZymes. <http://www.cazy.org/GH11.html>.
- Huey, R. dan G. M. Morris. 2005. Using autodock 4 with adt: a tutorial. *Unknown*. 1–16.
- Jeffries, T. W. 2011. Biochemistry and genetics of microbial iron assimilation. *Biotechnology for Solving Agricultural Problems*. 195–206.
- Lehninger. 1993. *Principles of Biochemistry*. Edisi 4. Jakarta: Erlangga.

- Mäntsälä, P. dan J. Niemi. 2009. ENZYMES: the biological catalysts of life. *PHYSIOLOGY AND MAINTENANCE. II*
- Martoharsono, S. 1998. *Biokimia Jilid 1*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Mathur, N., dkk. 2017. Structural comparison, docking and substrate interaction study of modeled endo-1, 4-beta xylanase enzyme of bacillus brevis. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 74:337–343.
- McGinnis, S. dan T. L. Madden. 2004. BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Research*. 32(WEB SERVER ISS.):20–25.
- Mooers, B. H. M. 2016. Simplifying and enhancing the use of pymol with horizontal scripts. *Protein Science*. (November):1873–1882.
- Mukesh, B. dan K. Rakesh. 2011. MOLECULAR docking : a review bachwani mukesh \*, kumar rakesh. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2(6):1746–1751.
- Murakami, M. T., dkk. 2005. Correlation of temperature induced conformation change with optimum catalytic activity in the recombinant g/11 xylanase a from bacillus subtilis strain 168 (1a1). *FEBS Letters*. 579(28):6505–6510.
- Page, D. s. 1989. *Principles Of Biological Chemistry*. Jakarta: Erlangga.
- Poedjiadi, A. 1994. *DASAR-DASAR BIOKIMIA*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Ratnadewi, A. A. I., dkk. 2016. OPTIMASI konsentrasi substrat xilan ampas tahu dengan endo-  $\beta$  -1,4-d-xylanase untuk memproduksi xilooligosakarida. *Journal Kimia Riset*. 1(2):73–80.
- Ratnadewi, A. A. I., dkk. 2007. Produksi dan karakterisasi enzim  $\beta$  -endoxylanase dari bakteri sistem intestinal rayap ( production and characterization of enzyme  $\beta$  -endoxylanase from bacteria of termite-intestinal system ). *Jurnal ILMU DASAR*. 8(2):110–117.
- Richana. 2002. Produksi dan prospek enzim xilanase dalam pengembangan bioindustri di indonesia. *Buletin AgroBio*. 5(1):29–36.
- Rose, P. W., dkk. 2017. The rcsb protein data bank: integrative view of protein, gene and 3d structural information. *Nucleic Acids Research*. 45(D1):D271–D281.
- Sandeep, dkk. 2011. AUDocker le: a gui for virtual screening with autodock vina. *BMC Research Notes*. 4(Figure 3):3–6.
- Schumm, D. E. 1993. *Essentials Of Biochemistry*. Jakarta: Binarupa Aksara.

- Sharma, M. dan A. Kumar. 2013. Xylanases: an overview meeta. *British Biotechnology Journal*. 3(1):1–28.
- Slack, A. 2008. User manual. *Fire Risk Management*. (JULY):22–23.
- Stryer, L. 2000. *Biochemistry Volume 1*. Edisi 4. Jakarta: EGC.
- Subramaniyan, S. dan and P. Prema. 2002. Biotechnology of microbial xylanases: enzymology, molecular biology, and application. *Critical Reviews in Biotechnology*. 22(1):33–64.
- Sunna, A. dan G. Antranikian. 2008. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. *Critical Reviews in Biotechnology*. 17(1):39–67.
- Tjahjono, H. dan Q. Fadhilah. 2012. Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas senyawa turunan 3-haloasilaminobenzoilurea sebagai inhibitor pembentukan mikrotubulus validasi model statistik dilakukan untuk mendapatkan. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. XXXVII(3):76–82.
- Trott, O. dan A. Olson. 2010. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. *Journal of Computational Chemistry*. 31(2):455–461.

1. Hasil *BLAST* protein Endo- $\beta$ -1,4-D-Xylanase Asal *Bacillus Sp* Abdominal RayapDescriptions

Sequences producing significant alignments:

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
MULTISPECIES: endo-1,4-beta-xylanase A [Bacillales]	419	419	99%	8e-148	98.59%	<a href="#">WP_003231377.1</a>
RecName: Full=Endo-1,4-beta-xylanase; Short=Xylanase; AltName: Full=1,4-beta-D-xylan xylanohydrolase; Flags: Precursor [Bacillus circulans]	418	418	99%	2e-147	98.12%	<a href="#">P09850.1</a>
MULTISPECIES: endo-1,4-beta-xylanase A [Bacillus]	418	418	99%	2e-147	98.12%	<a href="#">WP_015251938.1</a>
1,4-beta-xylanase [Bacillus subtilis subsp. spizizenii]	417	417	99%	3e-147	97.65%	<a href="#">AXC53161.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	417	417	99%	4e-147	98.12%	<a href="#">WP_069837548.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	417	417	99%	5e-147	97.65%	<a href="#">ATJ03482.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	417	417	99%	6e-147	98.12%	<a href="#">CAA84276.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sp. FMQ74]	417	417	99%	6e-147	97.65%	<a href="#">WP_071577895.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase A [Bacillus subtilis]	417	417	99%	6e-147	97.65%	<a href="#">WP_015714073.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	416	416	99%	7e-147	97.65%	<a href="#">ANC94865.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase [Bacillus amyloliquefaciens]	416	416	99%	8e-147	97.65%	<a href="#">AAZ17388.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	416	416	99%	9e-147	97.65%	<a href="#">WP_095843753.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	416	416	99%	9e-147	97.65%	<a href="#">WP_072175274.1</a>
xylanase [Bacillus tequilensis]	416	416	99%	1e-146	97.65%	<a href="#">AHN14743.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	416	416	99%	1e-146	97.65%	<a href="#">WP_038829967.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase A [Bacillus subtilis]	416	416	99%	2e-146	97.18%	<a href="#">WP_014477026.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sp. JS]	414	414	99%	4e-146	97.18%	<a href="#">WP_014664226.1</a>
endo-1,4-xylanase [Bacillus subtilis]	414	414	99%	7e-146	97.18%	<a href="#">AAM08359.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	413	413	99%	1e-145	96.71%	<a href="#">WP_069149704.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase [Bacillus licheniformis]	412	412	99%	6e-145	96.71%	<a href="#">AAZ17387.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	411	411	99%	9e-145	96.24%	<a href="#">WP_103032172.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	411	411	99%	1e-144	96.24%	<a href="#">WP_069839327.1</a>
beta-xylanase [Bacillus megaterium]	410	410	99%	3e-144	95.77%	<a href="#">ACT21830.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	409	409	99%	6e-144	95.77%	<a href="#">WP_040082946.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	409	409	99%	8e-144	95.77%	<a href="#">WP_071582028.1</a>
endo-1,4-xylanase [Bacillus circulans]	408	408	99%	1e-143	96.24%	<a href="#">AAM08360.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus tequilensis]	407	407	99%	2e-143	95.31%	<a href="#">WP_024715418.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	407	407	99%	2e-143	95.77%	<a href="#">WP_014114032.1</a>
xylanase A [Bacillus subtilis]	407	407	99%	3e-143	94.37%	<a href="#">AEG21039.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sp. TE3]	407	407	99%	4e-143	95.31%	<a href="#">WP_129505474.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	406	406	99%	8e-143	95.31%	<a href="#">WP_060398779.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis group]	406	406	99%	1e-142	94.37%	<a href="#">WP_075747623.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	405	405	99%	2e-142	95.31%	<a href="#">WP_003241809.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	405	405	99%	2e-142	93.90%	<a href="#">WP_064815008.1</a>
beta 1,4-endoxylanase [Bacillus sp. J12]	405	405	99%	2e-142	95.28%	<a href="#">AOV81586.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	405	405	99%	3e-142	94.84%	<a href="#">WP_087993973.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	404	404	99%	3e-142	96.24%	<a href="#">WP_087614580.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus atrophaeus]	405	405	99%	3e-142	94.37%	<a href="#">WP_061670172.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase [Paenibacillus macerans]	404	404	99%	5e-142	94.37%	<a href="#">AAZ17386.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus atrophaeus]	404	404	99%	9e-142	93.90%	<a href="#">WP_063638434.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis]	403	403	99%	1e-141	94.84%	

Digital Repository Universitas Jember

xylanase [Bacillus subtilis]	403	403	99%	1e-141	94.84%	<a href="#">WP_019258628.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase [Bacillus velezensis FZB42]	403	403	99%	1e-141	93.90%	<a href="#">ABA64459.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	403	403	99%	2e-141	93.90%	<a href="#">AJD80562.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus siamensis]	402	402	99%	2e-141	93.90%	<a href="#">WP_038460158.1</a>
						<a href="#">WP_045926365.1</a>





Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	402	402	99%	3e-141	93.90%	<a href="#">WP_003151206.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	401	401	99%	6e-141	93.43%	<a href="#">WP_105991901.1</a>
xylanase [Bacillus sp. YJ6]	401	401	99%	6e-141	94.37%	<a href="#">ACR47980.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	401	401	99%	7e-141	93.90%	<a href="#">WP_039074156.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	401	401	99%	7e-141	93.43%	<a href="#">WP_007407578.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	401	401	99%	8e-141	93.43%	<a href="#">WP_016937663.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus velezensis]	401	401	99%	1e-140	93.43%	<a href="#">WP_044802922.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	401	401	99%	1e-140	93.90%	<a href="#">WP_100274562.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	400	400	99%	1e-140	93.43%	<a href="#">WP_007614337.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus velezensis]	400	400	99%	2e-140	92.96%	<a href="#">WP_094296216.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	400	400	99%	2e-140	93.90%	<a href="#">WP_046132775.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus velezensis]	400	400	99%	2e-140	92.96%	<a href="#">WP_070082505.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	400	400	99%	3e-140	92.96%	<a href="#">WP_060964069.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	399	399	99%	3e-140	92.96%	<a href="#">WP_026586004.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	399	399	99%	4e-140	92.96%	<a href="#">WP_014419087.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	399	399	96%	4e-140	97.09%	<a href="#">AFV73208.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus vallismortis]	399	399	99%	4e-140	93.43%	<a href="#">WP_010330575.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	399	399	99%	5e-140	92.96%	<a href="#">WP_101670468.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	399	399	99%	5e-140	92.96%	<a href="#">WP_020956463.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	399	399	99%	6e-140	92.49%	<a href="#">WP_109567268.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	399	399	99%	8e-140	92.96%	<a href="#">WP_061861617.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens group]	398	398	99%	1e-139	92.96%	<a href="#">WP_012118650.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus atrophaeus]	398	398	99%	1e-139	92.96%	<a href="#">WP_106044323.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	398	398	99%	1e-139	92.49%	<a href="#">WP_105954339.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	398	398	99%	2e-139	92.49%	<a href="#">WP_101863413.1</a>
beta-1,4-endoxylanase [uncultured bacterium]	397	397	99%	2e-139	92.96%	<a href="#">ABI94366.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus velezensis]	397	397	99%	2e-139	92.49%	<a href="#">WP_060562443.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	397	397	99%	3e-139	93.43%	<a href="#">AIK67331.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	397	397	99%	3e-139	92.02%	<a href="#">WP_024121549.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	397	397	98%	3e-139	95.24%	<a href="#">WP_079287848.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sp. MBGLi97]	397	397	99%	4e-139	92.49%	<a href="#">WP_103750315.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus atrophaeus]	395	395	99%	1e-138	92.02%	<a href="#">WP_061573087.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	395	395	99%	2e-138	91.55%	<a href="#">WP_059293828.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sonorensis]	395	395	99%	2e-138	92.49%	<a href="#">WP_006638797.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus glycinifermentans]	395	395	99%	3e-138	92.49%	<a href="#">WP_048406131.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus paralicheniformis]	395	395	99%	3e-138	92.02%	<a href="#">WP_065643236.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus haynesii]	394	394	99%	4e-138	92.02%	<a href="#">WP_043926362.1</a>

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus glycinifermentans]	394	394	99%	5e-138	92.02%	<a href="#">WP_048356553.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus swezeyi]	394	394	99%	6e-138	92.02%	<a href="#">WP_076761275.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus]	393	393	99%	1e-137	91.55%	<a href="#">WP_095713905.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus halotolerans]	392	392	99%	2e-137	91.08%	<a href="#">WP_059335705.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis group]	392	392	99%	2e-137	91.55%	<a href="#">WP_020450272.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus paralicheniformis]	392	392	99%	3e-137	91.08%	<a href="#">WP_035337139.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	392	392	99%	5e-137	93.90%	<a href="#">WP_065521238.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus paralicheniformis]	391	391	99%	7e-137	91.08%	<a href="#">WP_105979264.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus sp. 7586-K]	390	390	99%	1e-136	92.96%	<a href="#">WP_095303318.1</a>
xylanase [Bacillus licheniformis]	390	390	99%	1e-136	91.08%	<a href="#">ATJ03483.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus mojavensis]	390	390	99%	1e-136	90.61%	<a href="#">WP_010334513.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	389	389	99%	3e-136	93.43%	<a href="#">WP_045505991.1</a>
MULTISPECIES: glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus subtilis group]	389	389	99%	4e-136	93.43%	<a href="#">WP_014470371.1</a>
endo-1,4-beta-xylanase [Bacillus velezensis]	388	388	94%	1e-135	96.06%	<a href="#">QCC30342.1</a>
xylanase [Bacillus subtilis]	387	387	96%	2e-135	93.69%	<a href="#">AGO63356.1</a>
endo-beta-1,3-xylanase [Bacillus subtilis]	387	387	91%	2e-135	98.47%	<a href="#">BAP15751.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	386	386	99%	9e-135	92.49%	<a href="#">WP_065981539.1</a>
glycoside hydrolase family 11 protein [Bacillus amyloliquefaciens]	385	385	99%	1e-134	92.49%	<a href="#">WP_115997433.1</a>