



**MODIFIKASI ENDO- β -1.4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp* ABDOMINAL
RAYAP SECARA *IN SILICO* UNTUK MENINGKATKAN AKTIVITAS
ENZIM**

SKRIPSI

Oleh :
Sanada Aulia Fanani
151810301041

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**MODIFIKASI ENDO- β -1.4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp* ABDOMINAL
RAYAP SECARA *IN SILICO* UNTUK MENINGKATKAN AKTIVITAS
ENZIM**

SKRIPSI

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

Oleh

**Sanada Aulia Fanani
151810301041**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

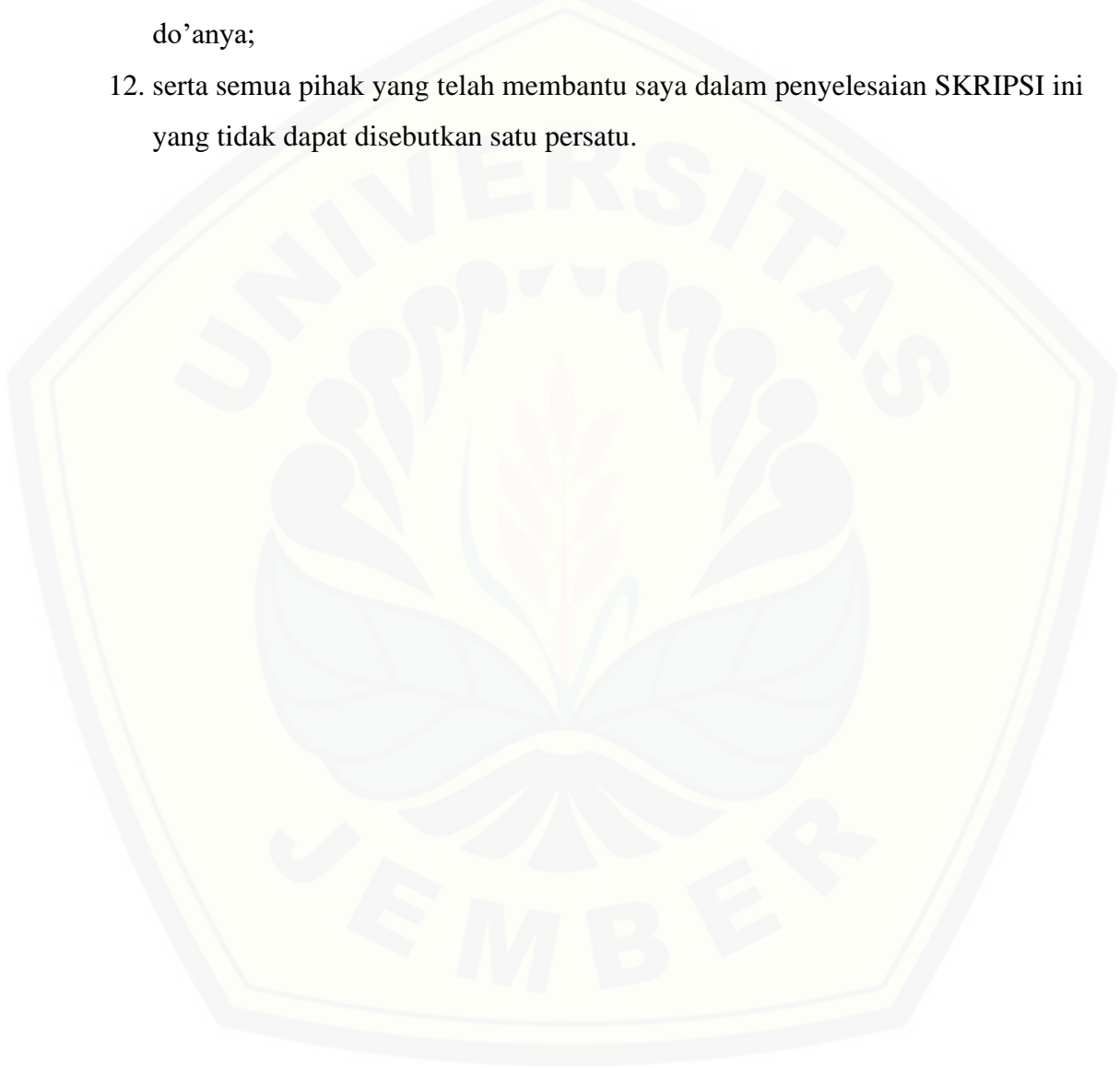
PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda tercinta Fatimah dan Ayahanda Sumanan. Terimakasih banyak saya ucapkan atas segala do'a, semangat, bimbingan, nasehat, pengorbanan dan kasih sayang yang sampai saat ini tidak pernah berhenti tercurah sampai saya mampu menyelesaikan ini;
2. Saudara sekandung saya Cecelia Tsania Fanani, Sandi Tsalsa Fanani, dan Almera Nayyara Fanani yang senantiasa memberikan dukungan, semangat dan do'a;
3. Almamater MIM 02 Sedayulawas, SMPM 13 Paciran, MA Al-ishlah Sendang Agung, serta Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Jember.
4. Drs. Sudarko, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. A. A. Istri Ratnadewi selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang, dan do'a dalam membimbing penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini;
5. Teman-teman Kimia Angkatan 2015 yang selalu meberikan do'a serta dukungan selama masa studi sampai pada tahap ini.
6. Sahabat satu tim penelitian Lili Nafis. Terimakasih atas bantuan, kerjasama, perhatian, dan semangat yang selalu diberikan dalam perjalan penyelesaian penelitian ini;
7. Sahabat sejati saya Taqrub Iyyaka. Selalu memberikan do'a, semangat, motivator, dan selalu menemani dalam suka maupun duka semoga Allah selalu melindungi;
8. Sahabat saya Daniyah Nurhasanah, Lia Indah Wardiyani, Retno Anggraini, Riza Umami, Desi Agrifiani, Suci Aulia Rahmawati, Sovia Masfuri W. S., Suci Hidayatur Rohmah dan Ani Sofiyana yang telah memberikan do'a, perhatian, dukungan, bantuan serta saran selama ini;
9. Tim pejuang Biokimia Mochammad Syehfu Aref Ghozali, Ayu Prastiyani, Nasrul Amaliyatun Naja, Ratna K. Dewi, Indras Dwi Anggita dan Rosita Dwi

Rahmawati Sofiyana yang telah memberikan do'a, perhatian, dukungan, bantuan serta saran selama ini;

10. Keluarga besar Chrypthon 2015, terimakasih atas segala dukungan dan bantuan yang ikhlas yang kalian berikan semoga dibalas oleh Allah;
11. Teman-teman kos Eyang yang telah memeberikan kenyamanan, dukungan serta do'anya;
12. serta semua pihak yang telah membantu saya dalam penyelesaian SKRIPSI ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.



MOTTO

“Learn from yesterday, live today, hopefully for tomorrow. The important thing is not to stop questioning”)*

“Belajarlh dari hari kemarin, jalani hari ini, berharaplah untuk hari esok. Yang terpenting adalah jangan berhenti untuk bertanya”

*) *Albert Einstein.*

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sanada Aulia Fanani

NIM : 151810301041

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Modifikasi Endo- β -1.4-D-xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico* Untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan substansi yang sudah saya sebutkan sebelumnya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Januari 2020

Yang Menyatakan,

Sanada Aulia Fanani

NIM 151810301041

SKRIPSI

**MODIFIKASI ENDO- β -1,4-D-XILANASE ASAL *Bacillus sp* ABDOMINAL
RAYAP SECARA *IN SILICO* UNTUK MENINGKATKAN AKTIVITAS
ENZIM**

Oleh:

Sanada Aulia Fanani

151810301041

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Sudarko, Ph.D

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Modifikasi Endo- β -1.4-D-xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico* Untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim” Karya Sanada Aulia Fanani 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. A.A. Istri Ratnadewi, S.Si., M.Si
NIP. 197012251997022001

Anggota II,

Anggota III,

drh. Wuryanti Handayani, M.Si
NIP. 196008221985032002

Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si
NIP. 197107031997021001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc., Ph.D.
NIP.195910091986021001

RINGKASAN

Modifikasi Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico* Untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim; Sanada Aulia Fanani, 151810301041; 2020: 47 halaman; Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Endo- β -1.4-xilanase adalah enzim yang mampu menghidrolisis xilan. Endo- β -1.4-xilanase banyak ditemukan dalam jamur dan bakteri, salah satunya yaitu pada *Bacillus sp* abdominal rayap. Endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap mampu menghidrolisis xilan yang terkandung dalam limbah agroindustri pada ampas dan kulit singkong dan menghasilkan produk berupa xilosa, xilotriosa (X3), xilotetraosa (X4) dan xilopentosa (X5). Hidrolisis xilan yang dilakukan oleh endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap membutuhkan waktu sebesar 16 jam untuk ampas singkong dan 20 jam untuk kulit singkong. Penelitian ini akan mengurangi waktu hidrolisis dengan cara memodifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap secara *in silico*.

Penelitian ini dilakukan dengan pemodelan struktur 3D endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap terlebih dahulu menggunakan *SWISS MODEL*. Endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap dimodifikasi tunggal dengan cara mengganti asam amino pada daerah *thumb* menjadi alanin, glisin, triptofan dan tirosin. Hasil pemodelan dan modifikasi tunggal endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap didocking dengan xilopentosa menggunakan AutodockVina dan divisualisasi menggunakan PyMOL.

Hasil docking menunjukkan bahwa endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap memiliki energi bebas sebesar -8.0 Kcal/mol dengan posisi xilopentosa berinteraksi di sekitar kantong dan daerah *finger*. Hasil docking modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap menunjukkan adanya penurunan energi bebas yaitu pada modifikasi R112A. Modifikasi R112A menghasilkan energi bebas sebesar -9.1 Kcal/mol dengan posisi xilopentosa berinteraksi disekitar kantong dan dapat masuk secara maksimal ke dalam kantong.

PRAKATA

Alhamdulillah atas segala rahmat dan karunia Allah SWT, sehingga penulis mampu menyelesaikan dengan baik skripsi yang berjudul “Modifikasi Endo- β -1.4-D-xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap Secara *In Silico* Untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Achmad Syaifullah, M.Sc., 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. A. A. Istri Ratnadewi selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, kasih sayang, dan do'a dalam membimbing penulis menyelesaikan penulisan skripsi ini;
4. drh. Wuryanti Handayani, M.Si., selaku Dosen Penguji Utama dan Dr. Bambang Piluharto, S.Si., M.Si selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna menguji dan memberi kritis serta saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Drs. Siswoyo, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan motivasinya;
6. Bapak dan ibu dosen serta staf Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember yang telah memberikan segenap ilmu dan pengalaman selama di Kimia;
7. Teknisi-teknisi laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Jember memperlancar proses terselesaikannya skripsi ini;

Segala bentuk kritik dan saran yang bersifat membangun diharapkan dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang kimia.

Jember, 15 Januari 2020

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	vi
HALAMAN RINGKASAN	vii
HALAMAN PRAKATA	viii
DAFTAR ISI	x
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Batasan Masalah	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Asam Amino	4
2.2 Enzim	7
2.3 Endo Xilanase	8
2.4 Xilan	9
2.5 Pemodelan Struktur Protein	10
2.6 Swiss Model	10
2.7 FoldX	11
2.8 Molecular Docking	12
2.9 AutodockVina	13
2.10 PyMol	14
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	15
3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian	15
3.2 Alat Penelitian	15
3.3 Diagram Alir Penelitian	16

3.4 Prosedur Kerja Penelitian	19
3.4.1 Validasi AutodockVina	19
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Pemodelan Struktur Endo-β-1.4-D-Xilanase	23
4.2 Validasi AutodockVina	25
4.3 Prediksi Sisi Katalitik Endo-β-1.4-D-Xilanase	27
4.4. Efek Modifikasi Endo-β-1.4-D-Xilanase	29
BAB 5. PENUTUP	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur Asam amino 4

Gambar 2. 2 Grafik energi bebas tanpa katalis dan menggunakan katalis..... 7

Gambar 2. 3 Pemotongan xilan oleh beberapa enzim..... 8

Gambar 2. 4 Struktur 3 dimensi endo-1,4- β -xilanase pada famili GH 5, GH 8, GH 10 dan GH 11 9

Gambar 4. 1 Visualisasi struktur 3 dimensi model endo xilanase. 24

Gambar 4. 2 Visualisasi posisi Glu78 dan Glu172. 25

Gambar 4. 3 Visualisasi hasil docking 1XXN dengan asam tartarat 27

Gambar 4. 4 Visualisasi interaksi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus* sp Abdominal rayap dengan xilopentosa..... 28

Gambar 4. 5 Model kompleks xilopentosa dengan endo xilanase 29

Gambar 4. 6 Visualisasi hasil docking modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase pada R112A dengan xilopentosa 32

Gambar 4. 7 Struktur modifikasi endo- β -1.4-xilanase pada R112A digabungkan dengan struktur endo- β -1.4-xilanase wild type dalam bentuk mesh..... 32

Gambar 4. 8 Struktur modifikasi endo- β -1.4-xilanase pada T111G digabungkan dengan struktur endo- β -1.4-xilanase wild type dalam bentuk mesh..... 34

Gambar 4. 9 Visualisasi hasil docking modifikasi endo- β -1.4-xilanase pada R112Y 36

Gambar 4. 10 Struktur modifikasi endo- β -1.4-xilanase pada R112Y digabungkan dengan struktur endo- β -1.4-xilanase wild type dalam bentuk mesh..... 37

Gambar 4. 11 Visualisasi hasil docking modifikasi endo- β -1.4-xilanase pada G120W 39

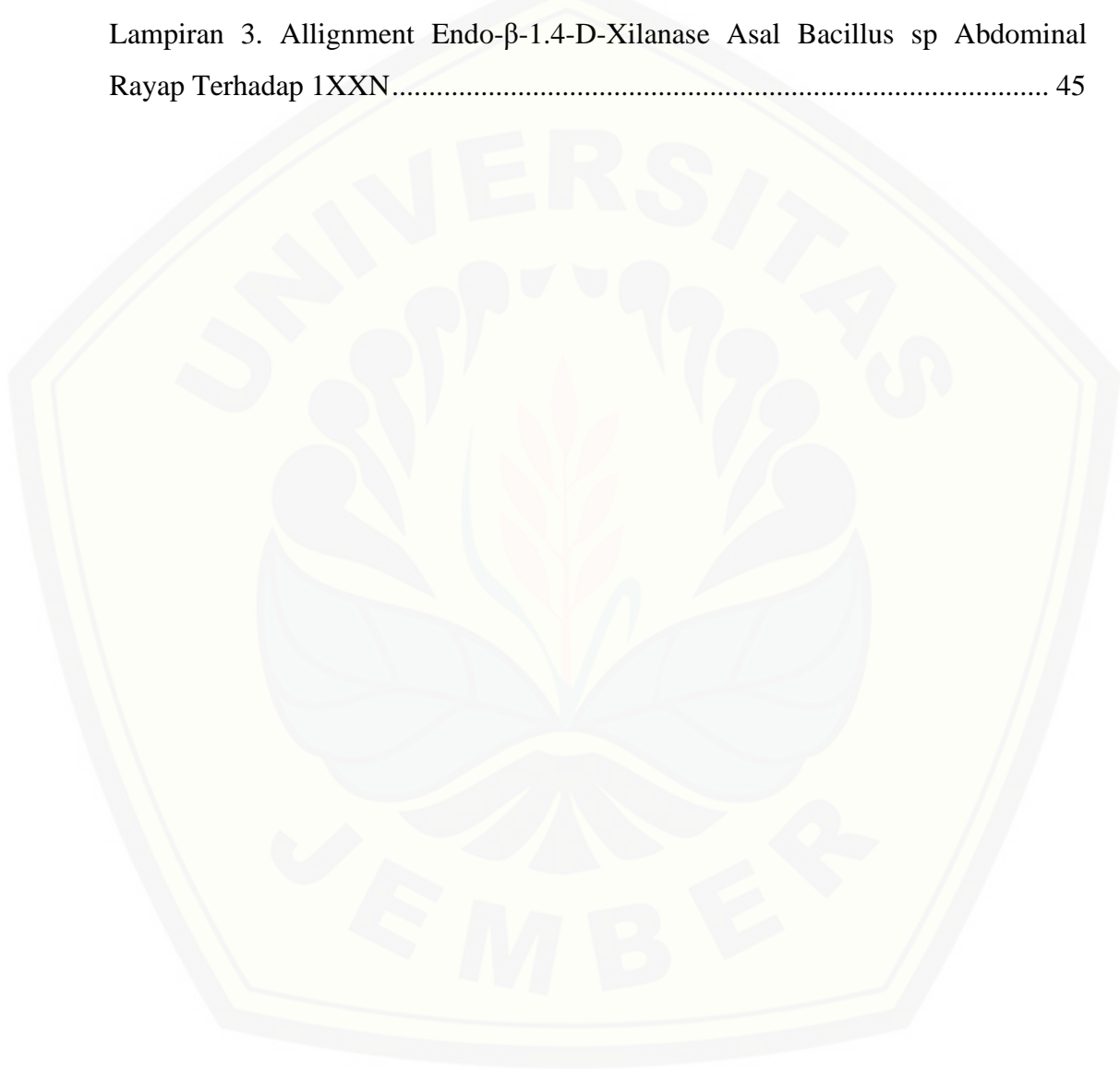
Gambar 4. 12 Visualisasi xilopentosa dengan endo- β -1.4-xilanase 39

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kode genteik asam amino	5
Tabel 2. 2 Klasifikasi asam amino	6
Tabel 4. 1 Hasil docking	26
Tabel 4. 2 Hasil docking endo- β -1.4-D-xilanase dengan xilopentosa	28
Tabel 4. 3 Hasil docking modifikasi tunggal endo- β -1.4-D-xilanase menjadi alanin	31
Tabel 4. 4 Hasil docking modifikasi tunggal endo- β -1.4-D-xilanase menjadi glisin	33
Tabel 4. 5 Hasil docking modifikasi tunggal endo- β -1.4-D-xilanase menjadi tirosin	35
Tabel 4.6 Hasil docking modifikasi tunggal endo- β -1.4-D-xilanase menjadi triptofan	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Urutan Asam Amino Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal Bacillus sp Abdominal Rayap.....	45
Lampiran 2. Blast Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal Bacillus sp Abdominal Rayap	45
Lampiran 3. Allignment Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal Bacillus sp Abdominal Rayap Terhadap 1XXN.....	45



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim adalah protein yang memiliki sifat spesifik dalam mengikat substrat. Sifat spesifik ini disebabkan oleh adanya sisi aktif enzim. Sisi aktif enzim terdiri dari beberapa asam amino, dimana asam amino ini memiliki peran sebagai residu katalitik dan sisi katalitik. Residu katalitik merupakan asam amino yang bertugas dalam memutuskan ikatan atau membentuk ikatan pada substrat saat mekanisme terjadi. Sedangkan sisi katalitik merupakan asam amino yang berada di sekitar residu katalitik dan memiliki peran dalam mengenali substrat serta menahan posisi substrat saat mekanisme reaksi berjalan. Enzim juga memiliki fungsi sebagai katalis yang mampu meningkatkan kecepatan suatu reaksi dengan menurunkan energi aktivasi. Penurunan energi aktivasi disebabkan oleh adanya pembentukan kompleks enzim-substrat (ES) yang memiliki energi bebas lebih rendah dari pada energi bebas reaktan dan produk (Stryer, 2000). Energi bebas merupakan energi yang diperlukan selama reaksi (Smallman dan Bishop, 1995).

Endo- β -1,4-xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis xilan. Xilan adalah substrat spesifik endo- β -1,4-xilanase yang banyak ditemukan di dinding sel tanaman (Joseleau *et al.*, 1992). Endo- β -1,4-xilanase dapat menghidrolisis xilan dengan cara memutuskan ikatan 1,4- β -xilosidik. Karena kemampuannya dalam menghidrolisi xilan, endo- β -1,4-xilanase dimasukkan ke dalam kelas *Glycoside Hydrolises* (GH). *Glycoside Hydrolises* adalah kelompok enzim yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis ikatan glikosidik antara dua atau lebih karbohidrat. Endo- β -1,4-xilanase banyak ditemukan dalam jamur dan bakteri (Collins dkk., 2005), salah satunya yaitu bakteri *Bacillus sp* dalam abdominal rayap.

Endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap mampu menghidrolisis xilan yang terkandung dalam limbah agroindustri pada ampas dan kulit singkong. Endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap menghidrolisis xilan untuk menghasilkan produk berupa xilosa, xilotriosa (X3), dan xilotetraosa (X4) dan xilopentosa (X5) (Ratnadewi dkk., 2015). Hidrolisis xilan

oleh endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap membutuhkan waktu yang cukup lama yaitu 16 jam untuk ampas singkong dan 20 jam untuk kulit singkong (Ratnadewi dkk., 2015).

Waktu hidrolisis xilan yang cukup lama yaitu 16 dan 20 jam menunjukkan bahwa endo- β -1,4-D-xylanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap masih memiliki aktivitas yang cukup rendah. Aktifitas enzim yang cukup rendah dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, aktivator dan inhibitor. Akan tetapi terdapat faktor penting yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim yaitu struktur enzim dalam pembentukan kompleks enzim-substrat. Pada pembentukan kompleks enzim-substrat, substrat akan berinteraksi pada daerah sisi aktif enzim. Menurut Wipf dkk (2015), jika sisi aktif enzim bersifat fleksibel maka sisi aktif enzim dapat menyesuaikan bentuk dari substrat sehingga substrat dapat berinteraksi dan membentuk kompleks enzim-substrat. Akan tetapi, jika sisi aktif enzim memiliki fleksibilitas yang terbatas maka dimungkinkan terdapat efek sterik yang mempengaruhi dalam pembentukan kompleks enzim-substrat, dimana pada prinsipnya substrat akan menempati posisi dengan halangan sterik yang paling rendah.

Peningkatan aktivitas endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap dapat dilakukan terlebih dahulu dengan cara modifikasi enzim secara *in silico*. Penelitian mengenai modifikasi endo- β -1,4-xilanase secara *in silico* pernah dilakukan sebelumnya. Beliën dkk (2009), melakukan modifikasi endo- β -1,4-xilanase asal *Bacillus subtilis* secara *in silico* untuk meningkatkan kestabilan enzim pada kondisi asam. Mutasi endo- β -1,4-xilanase asal *Bacillus subtilis* dilakukan dengan mengganti tiga sampai lima residu dan diukur stabilitasnya menggunakan WHAT IF pK_a calculation package. Penelitian ini akan meningkatkan aktivitas endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dengan cara modifikasi secara *in silico*. Modifikasi akan dilakukan pada asam amino yang berada di daerah *thumb*. Menurut Murakami dkk (2005), posisi daerah *thumb* mempengaruhi akses masuk substrat ke dalam sisi aktif endo xylanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168), dimana pada daerah *thumb* memiliki struktur yang bersifat fleksibel.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan permasalahan diatas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh modifikasi endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap pada daerah *thumb* terhadap energi bebas ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh modifikasi endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap pada daerah *thumb* terhadap energi bebas.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah memberikan informasi untuk penelitian mutasi endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal rayap secara rekayasa genetika.

1.5 Batasan Masalah

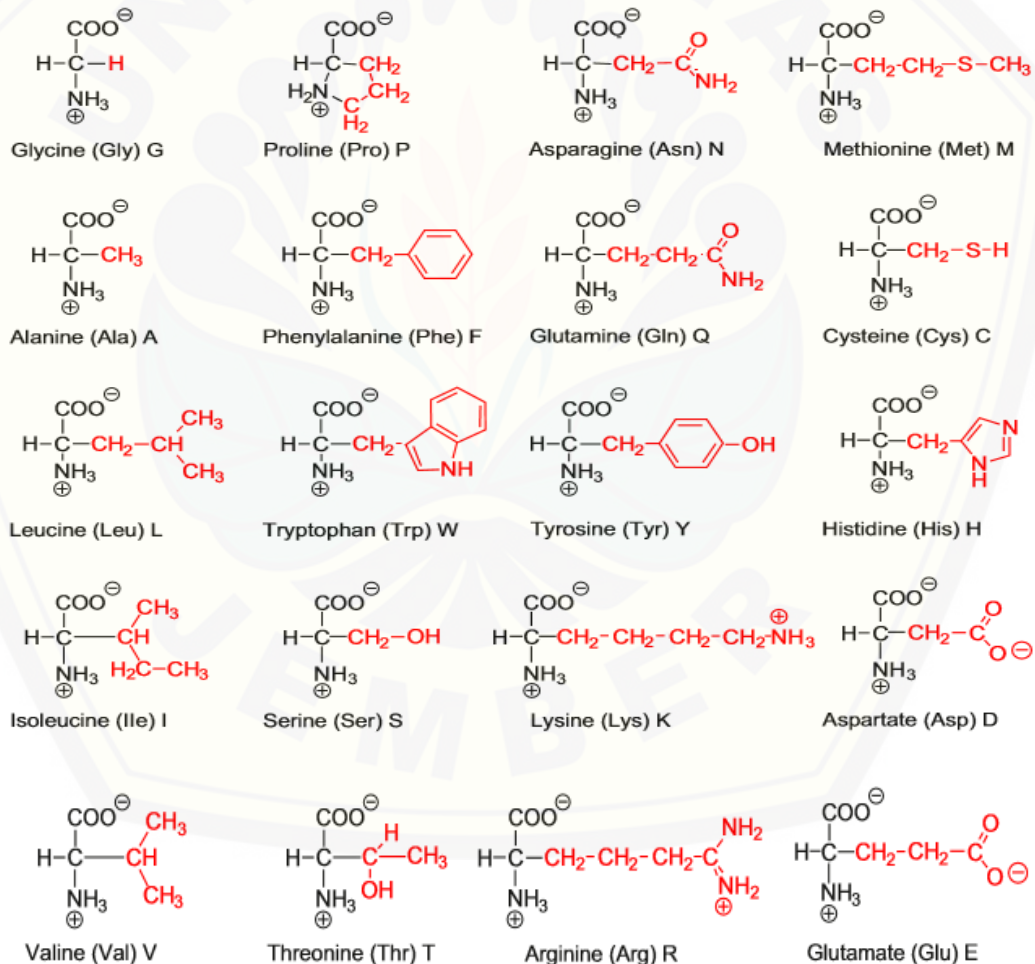
Batasan masalah untuk menghindari adanya penyimpangan atau pelebaran pokok masalah agar penelitian ini lebih efisien dan juga mempermudah pembahasan pada penelitian ini. Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ligan yang digunakan yaitu xilopentosa
2. Pemodelan struktur endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap menggunakan SWISS-MODEL
3. Residu yang dimutasi yaitu residu yang berada di daerah *thumb*
4. Aplikasi yang digunakan yaitu AutodockVina, FoldX, PyMOL dan MGLTools

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Amino

Asam amino merupakan senyawa organik dengan gugus karboksilat, gugus amino, atom hidrogen dan rantai samping (gugus R) yang terikat pada atom karbon. Asam amino akan berikatan satu dengan yang lain melalui ikatan peptida untuk membentuk protein. Asam amino penyusun protein terdiri dari 20 macam yaitu glisin, prolin, asparagin, metionin, alanin, fenilalanin, glutamin, sistein, leusin, triptofan, tirosin, histidin, isoleusin, serin, lisin, aspartat, valin, tereonin, arginin dan glutamat (Daniel, 2010).



Gambar 2. 1 Struktur Asam amino (Daniel, 2010).

Asam amino disusun oleh tiga nukleotida basa yang dikombinasikan. Tiga nukleotida penyusun asam amino disebut dengan kode genetik (Stryer, 2000).

Adapun kode genetik penyusun asam amino adalah sebagai berikut :

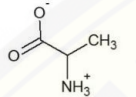
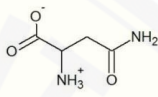
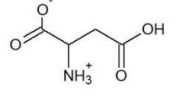
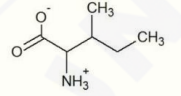
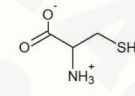
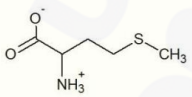
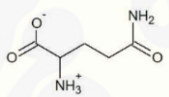
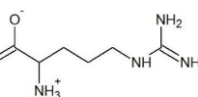
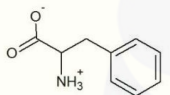
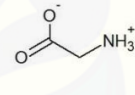
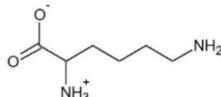
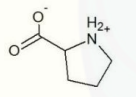
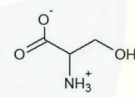
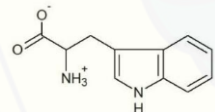
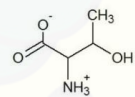
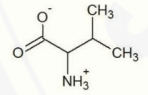
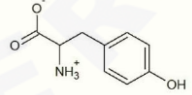
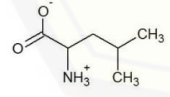
Tabel 2. 1 Kode genetik asam amino

Asam amino	Kode genetik
Alanin	GCA, GCC, GCG, GCU
Arginin	CGA, CGC, CGG, CGU, AGA, AGG
Asparagin	AAC, AAU
Aspartat	GAC, GAU
Sistein	UGC, UGU
Glutamat	GAA, GAG
Glutamin	CAA, CAG
Glisin	GGA, GGC, GGG, GGU
Histidin	CAC, CAU
Isoleusin	AUA, AUC, AUU
Leusin	UUA, UUG, CUA, CUC, CUG, CUU
Lisin	AAA, AAG
Meteonin	AUG
Fenilalanin	UUC, UUU
Prolin	CCA, CCC, CCG, CCU
Serin	UCA, UCC, UCG, UCU, AGC, AGU
Treonin	ACA, ACC, ACG, ACU
Triptofan	UGG
Tirosin	UAC, UAU
Valin	GUA, GUC, GUG, GUU

(Sumber : Daniel, 2010).

Asam amino memiliki rantai samping yang bervariasi dalam struktur, ukuran, muatan dan kelarutan dalam air. Rantai samping mempengaruhi sifat dari asam amino (Lehninger, 1982). Berdasarkan sifat rantai sampingnya, asam amino diklasifikasikan menjadi 4 jenis yaitu polar, non polar, asam dan basa yang dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2Klasifikasi asam amino

Sifat Asam Amino	Asam Amino	Gambar	Sifat Asam Amino	Asam Amino	Gambar	Sifat Asam Amino	Asam Amino	Gambar
Non polar	Alanin (Ala, A)		Polar	Asparagin (Asn, N)		Asam	Aspartat (Asp, D)	
	Isoleusin (Ile, I)			Sistein (Cys, C)			Basa	Glutamat (Glu, E)
	Metionin (Met, M)		Glutamin (Gln, Q)		Histidin (His, H)			
	Fenilalanin (Phe, F)		Glisin (Gly, G)		Lisin (Lys, K)			
	Prolin (Pro, P)		Serin (Ser, S)					
	Triptofan (Trp, W)		Treonin (Thr, T)					
	Valin (Val, V)		Tirosin (Tyr, Y)					
	Leusin (Leu, L)							

(sumber : Pamela dkk., 2005).

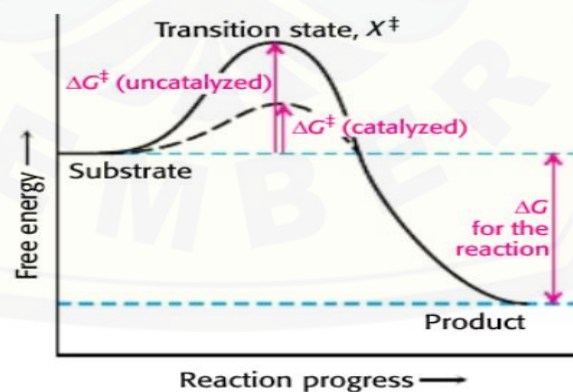
2.2 Enzim

Enzim merupakan protein yang digunakan sebagai biokatalis dengan meningkatkan kecepatan reaksi tanpa mengubah kesetimbangan reaksi. Enzim bekerja dengan mengikat substrat dan membentuk intermediet (kompleks enzim-substrat) untuk menghasilkan produk.



Reaksi pembentukan kompleks enzim-substrat (ES) terjadi pada saat keadaan transisi dan berlangsung relatif cepat. Kompleks enzim-substrat yang terbentuk akan terurai menjadi produk dan enzim bebas. Reaksi ini berlangsung cukup lebih lambat dibandingkan dengan reaksi pembentukan kompleks enzim-substrat (Lehninger, 1982).

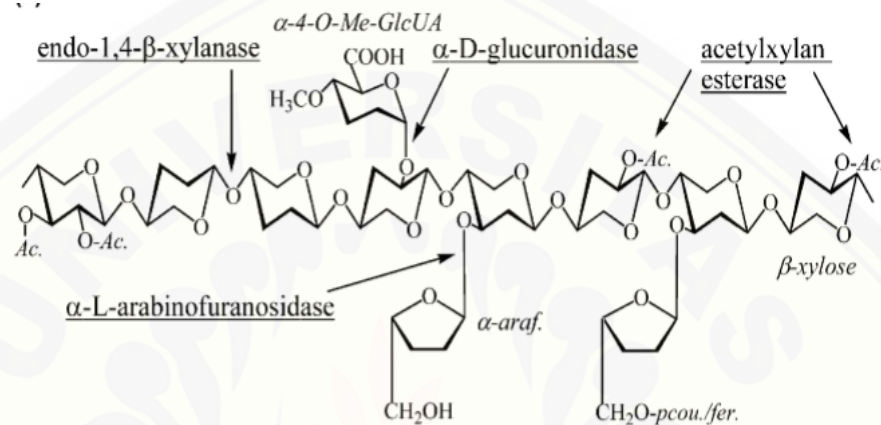
Enzim mampu meningkatkan kecepatan reaksi dengan menurunkan energi aktivasi. Penurunan energi aktivasi terjadi pada saat keadaan transisi (membentuk kompleks enzim-substrat). Pada keadaan transisi, reaksi yang berjalan menggunakan enzim menghasilkan energi bebas yang lebih rendah dibandingkan dengan energi bebas pada reaksi yang berjalan tanpa enzim (Gambar 2.2). energi bebas dapat bernilai positif dan negatif. Energi bebas yang bernilai negatif menunjukkan bahwa reaksi berjalan spontan. Energi bebas yang bernilai positif menunjukkan bahwa reaksi berjalan tidak spontan (Stryer, 2000).



Gambar 2. 2 Grafik energi bebas tanpa katalis dan menggunakan katalis (Lubert Stryer, 2000).

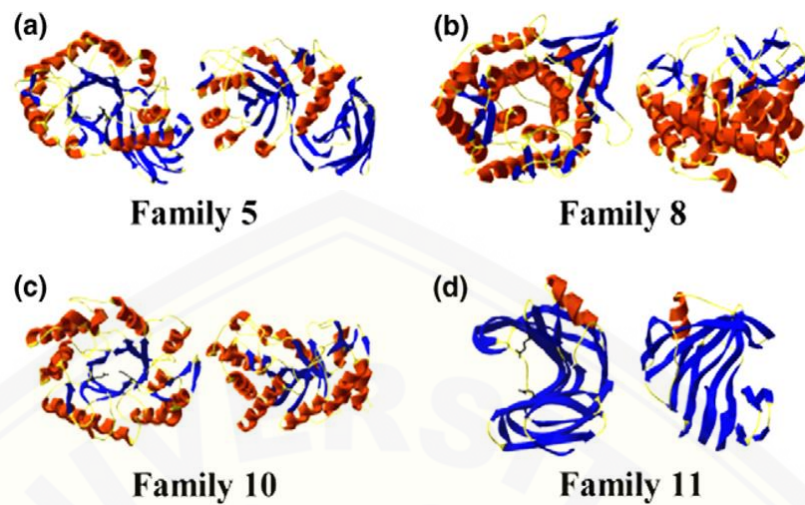
2.3 Endo Xilanase

Endo-1,4- β -xilanase (EC.3.2.1) adalah salah satu enzim yang berfungsi sebagai biokatalis untuk menghidrolisis xilan. Endo-1,4- β -xilanase mampu menghidrolisis xilan dengan memutuskan ikatan 1,4- β -D-xilosidik pada xilan (Gambar 2.2). Hasil hidrolisis xilan yang dilakukan oleh endo-1,4- β -xilanase berupa xilosa yang merupakan monomer dari xilan (prade, 1996).



Gambar 2. 3 Pemotongan xilan oleh beberapa enzim (Collins dkk., 2005).

Kemampuan endo-1,4- β -xilanase dalam menghidrolisis xilan menjadikan endo-1,4- β -xilanase dimasukkan ke dalam kelas *Glycoside Hydrolises* (GH). *Glycoside hydrolises* merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis ikatan glikosidik antara dua atau lebih karbohidrat. *Glycoside hydrolises* terdiri dari 162 famili, dimana endo-1,4- β -xilanase dimasukkan ke dalam famili GH 5, GH 8, GH 10, GH 11. Pengkalisifikasian endo-1,4- β -xilanase ke dalam 4 famili tersebut didasarkan pada struktur endo-1,4- β -xilanase yang dihasilkan oleh mikroba satu dengan mikroba yang lainnya (Gambar 2.4).



Gambar 2. 4 Struktur 3 dimensi endo-1,4-β-xilanase pada famili GH 5, GH 8, GH 10 dan GH 11 (Collins dkk., 2005).

Endo-1,4-β-xilanase yang diklasifikasikan ke dalam famili GH 5, GH 10 dan GH 11 memiliki kemiripan residu katalitik yaitu dua molekul asam glutamat yang berfungsi sebagai katalis basa dan katalis nukleofil. Endo-1,4-β-xilanase yang diklasifikasikan ke dalam famili 8 memiliki residu katalitik asam glutamat yang berfungsi sebagai katalis basa dan asam aspartat yang berfungsi sebagai katalis nukleofil (Collins dkk., 2005).

2.4 Xilan

Xilan adalah salah satu komponen hemiselulosa yang dapat dihidrolisis menjadi xilosa oleh enzim endo xilanase, β-xilosidase, α-arabinofuranosidase, α-glucuronidase, acetylxylyl esterase, ferulic acid esterase and p-coumaric acid esterase (Li dkk., 2014). Xilan banyak ditemukan pada dinding sel dengan kandungan xilan dalam dinding sel mencapai 30-35% dari berat kering tanaman (Joseleau dkk., 1992). Xilan akan bergabung dengan polisakarida yang lain melalui ikatan kovalen dan non-kovalen untuk membentuk dinding sel tanaman (Collins dkk., 2005). Xilan termasuk heteropolimer yang tersusun dari monomer berupa D-xilosa dengan tulang punggung berupa xilosa yang terhubung satu sama lain membentuk ikatan 1,4-β-D-xilosidik (Beg dkk., 2001). Xilan yang dihidrolisis oleh

enzim endo-1,4- β -xilanase akan menghasilkan xilooligosakarida dan xilobiosa (Prade, 1996).

2.5 Pemodelan Struktur Protein

Pemodelan struktur protein adalah suatu metode untuk memprediksi struktur protein dalam bentuk 3D (tiga dimensi) menggunakan algoritma komputasi. Pemodelan struktur 3D protein didasari atas pendekatan *homology modelling* (Illegard dkk., 2009). Pemodelan yang didasari atas pendekatan *homology modelling* dilakukan dengan menggunakan struktur dari protein lain sebagai *template*/cetakan. Protein yang digunakan sebagai *template* harus memiliki struktur 3D yang telah disimpan dalam PDB dan urutan asam aminonya memiliki kemiripan dengan urutan asam amino protein target. Semakin banyak kemiripan urutan asam amino pada protein *template* dengan protein target, maka akan semakin akurat struktur dari protein target yang diprediksi (Fiser, 2010).

Dalam pemodelan struktur 3D dapat dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Menganalisis urutan asam amino dari protein target
2. Mengidentifikasi *template*
3. Memilih *template* yang akan digunakan
4. *Alignment template* dengan protein target
5. Membuat model struktur protein target menggunakan *template*
6. Menganalisis kualitas struktur protein target yang telah dimodelkan (Jabeen dkk., 2018).

2.6 Swiss Model

Swiss model adalah suatu program yang digunakan untuk memodelkan struktur protein ke dalam bentuk 3 dimensi. *Swiss model* tersedia dalam bentuk web yang dapat diakses melalui <http://swissmodel.expasy.org/>. Dalam memodelkan struktur, *swiss model* menggunakan metode *homology modelling*. *Homology modelling* merupakan salah satu metode pemodelan yang menggunakan *template*/cetakan (protein yang memiliki kemiripan urutan asam amino dengan protein target dan

telah memiliki struktur yang disimpan dalam PDB) sebagai contoh untuk memodelkan protein target.

Pemodelan struktur protein menggunakan *swiss model* dimulai dengan memasukkan data berupa urutan asam amino protein target. Data berupa urutan asam amino ini akan diidentifikasi dan digunakan untuk mencari *template*. *Template* yang didapatkan akan ditampilkan sehingga pengguna dapat memilih *template* yang akan digunakan untuk pemodelan. Output yang dihasilkan dari pemodelan struktur menggunakan *swiss model* yaitu berupa struktur protein target dalam bentuk 3 dimensi, informasi mengenai *template* dan juga penjajaran urutan asam amino antara protein target dengan *template*. Output yang dihasilkan dapat didownload dan disimpan dalam komputer (Biasini dkk., 2014).

2.7 FoldX

FoldX adalah program yang digunakan untuk menghitung energi bebas dari suatu makro molekul (protein) berdasarkan struktur 3 dimensinya. Program foldX juga telah dikembangkan agar dapat digunakan untuk memutasi satu atau lebih residu dan dilihat kestabilan strukturnya setelah dimutasi (Schymkowitz dkk., 2005). Pada umumnya foldX dijalankan melalui *command line*. Akan tetapi untuk memaksimalkan kegunaan dari foldX dan memudahkan pengguna dalam menganalisis hasil mutasi struktur, maka foldX dapat disambungkan ke program berbasis GUI (*Graphical Unit Interface*) yaitu yasara view. Dalam Yasara view, FoldX dapat di akses melalui jendela menu pada Yasara view yaitu pada menu '*analyze*' (Van Durme dkk., 2011).

FoldX menyediakan beberapa menu yang dapat digunakan, yaitu

a. *Fix and Free Residues*

Dalam FoldX terdapat beberapa perintah seperti *repair PDB* yang digunakan untuk menghitung energi minimum dan *build model* yang digunakan untuk memutasi dan memodelkan strukturnya, dimana kedua perintah tersebut secara *default* akan mengoptimasi struktur dengan cara mengatur ulang letak dari residu. Menu *fix dan residu* ini memiliki 2 opsi yang akan membantu pengguna dalam mempertahankan dan memperbaiki residu yaitu *fix residue* dan *free residue*. Opsi

fix residue digunakan untuk mempertahankan letak residu yang dipilih selama perintah *repair* PDB atau *build model* berlangsung. Sedangkan opsi *free residue* memiliki fungsi untuk memperbaiki residu dengan mengizinkan residu agar dapat bergerak bebas selama *repair* PDB atau *build model* berlangsung.

b. Repair Object

Repair object berfungsi untuk mengoptimasi struktur dengan cara mengatur ulang rantai samping untuk mendapatkan energi bebas yang paling rendah.

c. Stability Object

Stability object digunakan untuk menghitung energi bebas (ΔG). Energi bebas yang dihasilkan akan ditampilkan dengan satuan Kcal/mol

d. Mutate Residue

Mutate residue digunakan untuk mengganti suatu residu dengan residu yang baru. Dalam menu *mutate residue* terdapat beberapa opsi menu yaitu *residue selection menu* untuk memilih residu yang akan dimutasi, *residue selection menu* untuk memilih residu yang baru, *checkbox* dan *option menu*. Dalam *Checkbox* terdapat beberapa pilihan seperti *repair* PDB, *calculate stability change* dan *calculate interaction energy change*. Sedangkan *option menu* terdapat beberapa menu pilihan seperti *move neighbours*, *zoom to mutation*, *show disrupted and new hydrogen bond*, *show Vdw clashes in WT and mutant*, *pH*, *temperature*, *number of runs*, *ionic strength* dan *van der waals design*.

e. Multiple Mutate Residue

Multiple mutate residue digunakan untuk memutasi dua atau lebih residu. Menu *multiple mutate residue* ini memiliki kemiripan dengan menu *mutate residue*. Akan tetapi dalam pemilihan residu yang baru, menu *multiple mutate residue* menggunakan kode huruf dari asam amino (Van Durme dkk., 2011)

2.8 Molecular Docking

Molecular docking adalah prosedur komputasi yang digunakan untuk memprediksi konformasi ikatan antara makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien. *Molecular docking* dimulai dari struktur reseptor yang tidak terikat dengan ligan, dimana struktur reseptor yang digunakan diperoleh dari

simulasi *Molecular Dynamic* ataupun pemodelan secara homologi (Trott dan Olson, 2009). Struktur reseptor yang tidak terikat dengan ligan akan dihitung secara *molecular docking* menggunakan algoritma untuk diprediksi konformasi ikatannya. Hasil perhitungan menggunakan algoritma yaitu berupa konformasi ikatan dengan energi yang minimum. *Molecular docking* juga menggunakan nilai fungsi untuk menentukan peringkat dari hasil perhitungan algoritma. Nilai fungsi akan ditampilkan dalam bentuk energi bebas (Kcal/mol) dan peringkat konformasi ikatan (Pagadala, 2017).

Molecular docking memiliki peran penting dalam memprediksi dan menghitung orientasi ligan ketika berikatan dengan reseptor. Ikatan ligan dengan reseptor dipengaruhi oleh beberapa interaksi seperti gaya coulomb, ikatan hidrogen, ikatan van der waal, dan elektrostatik. Semua interaksi tersebut akan dihitung dengan cara pendekatan menggunakan *docking*. Hasil perhitungan semua interaksi yang mempengaruhi ikatan ligan dengan reseptor akan ditampilkan dalam bentuk energi potensial ikatan (Alberg dan Schreiber, 1993).

2.9 AutodockVina

AutodockVina adalah salah satu program *molecular docking*. Program AutodockVina dirancang agar dapat digunakan pada struktur yang memiliki format PDBQT. Dengan rancangan tersebut menjadikan AutodockVina mudah digunakan dengan program-program lainnya yang dikembangkan oleh Autodock seperti program AutodockTools yang mampu membantu dalam menyiapkan file struktur dan menentukan parameter grid. Dalam AutodockVina tidak ada batasan maksimum untuk ukuran parameter grid, jumlah atom dan jumlah ikatan yang dapat diputar (Trott dan Olson, 2009).

AutodockVina dapat dijalankan dengan bantuan AutodockTools dan terminal. Terminal ini berisikan perintah yang digunakan untuk memanggil program AutodockVina sehingga dapat melakukan *molecular docking*. Untuk melakukan *molecular docking*, AutodockVina membutuhkan 3 file yang harus dipersiapkan terlebih dahulu yaitu struktur protein dalam format PDBQT, struktur ligan dalam format PDBQT dan parameter grid (Sandep dkk., 2011). File yang telah disiapkan

nantinya akan dihitung secara otomatis oleh AutodockVina, dimana hasil perhitungannya berupa data yang berisikan prediksi konformasi ikatan dan energi bebas (Kcal/mol) (Trott dan Olson, 2009).

2.10 PyMol

PyMol merupakan platform gratis yang mengusung system operasi berbasis GUI (*Graphical User Interface*). PyMOL memiliki beberapa kegunaan, salah satunya yaitu untuk memvisualisasikan struktur molekul dalam bentuk 3D. Dalam memvisualisasi struktur molekul, PyMOL dapat menampilkan struktur molekul dalam bentuk *line*, *stick*, *cylinder*, *sphere*, *surface*, *ball-and-stick*, *backbone ribbon* dan *cartoon ribbon*. PyMOL juga mendukung dalam pemilihan atom secara spesifik. Atom spesifik yang dipilih akan divisualisaikan secara langsung oleh PyMol pada jendela program dengan visualisasi berupa titik berwarna di sekitar atom spesifik. Dengan visualisasi berupa titik berwarna pada sekitar atom spesifik tersebut dapat memberikan kemudahan bagi pengguna untuk meverivikasi atom spesifik (Warren, 2002).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium komputer Unit Pelaksanaan Teknis Teknologi Informasi (UPT-TI) Universitas Jember pada bulan Juli 2019 sampai dengan November 2019.

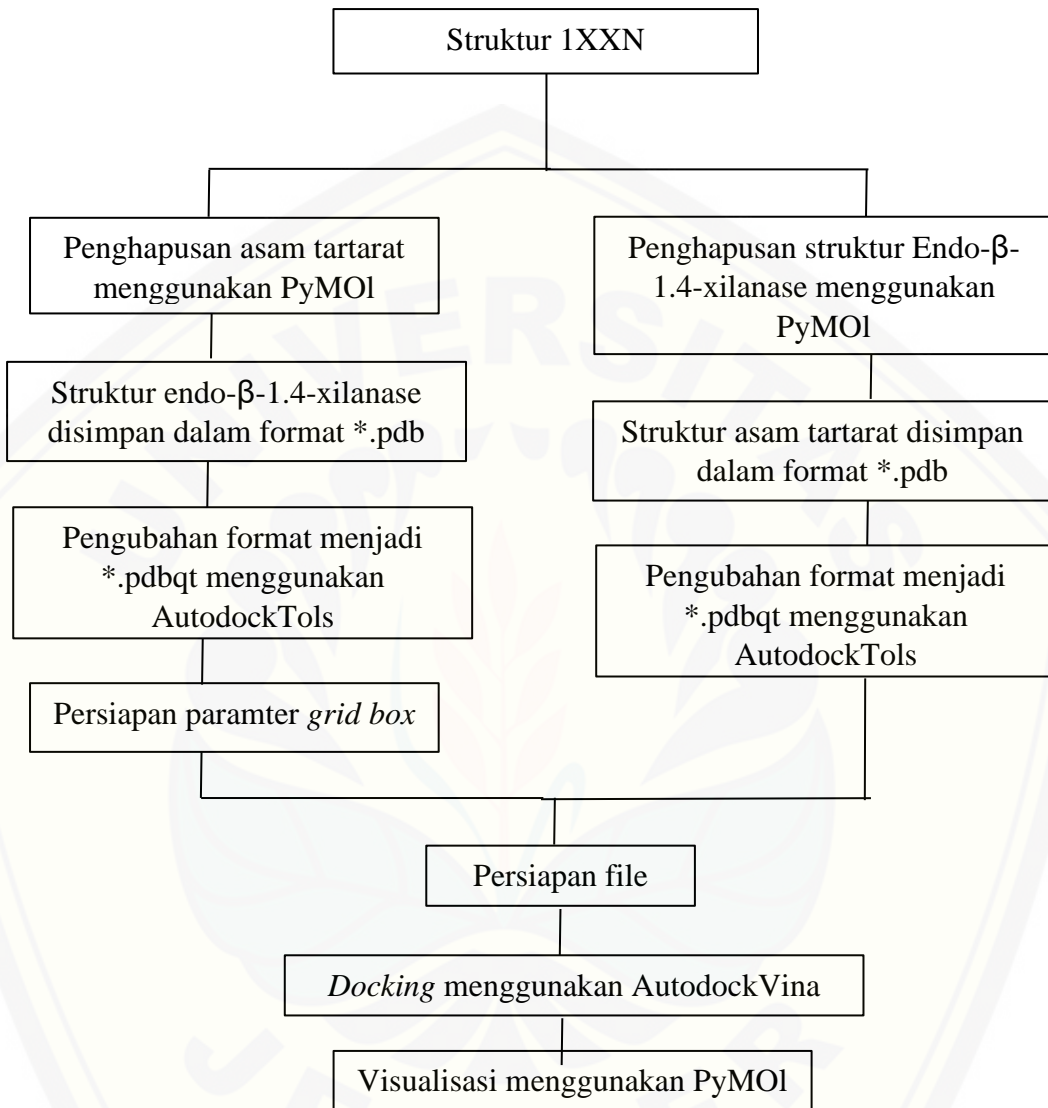
3.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu komputer dengan spesifikasi:

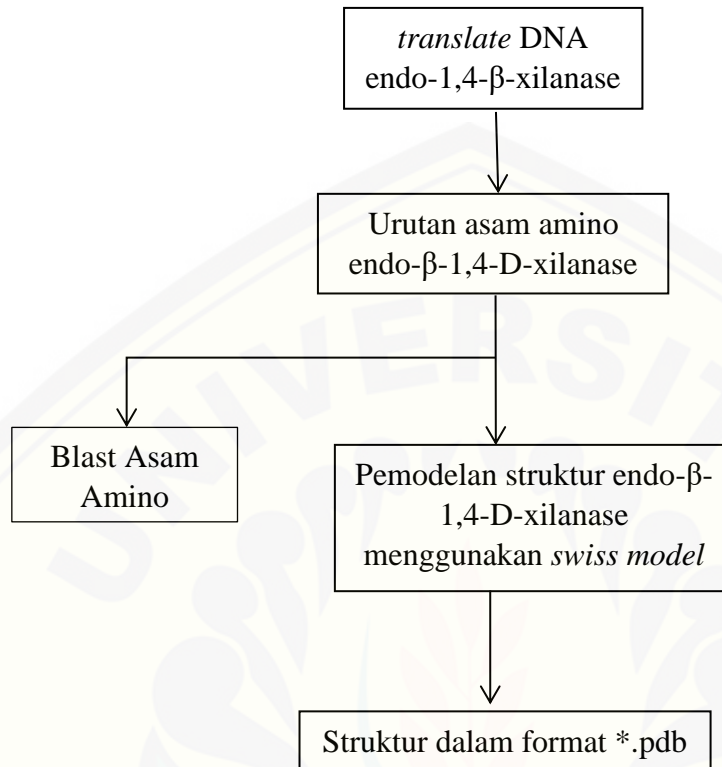
- a. Processor : Intel® Core™ i7-8750H CPU @ 2.20GHz
- b. sistem operasi : Windows 10 dan Ubuntu 18.04
- c. Memori : 8 Gb
- d. Dilengkapi program aplikasi:
 - AutodockTools yang digunakan untuk mengubah format *.pdb dan membuat *grid box*
 - PyMOL-2.3.2_1 yang digunakan untuk visualisasi hasil *docking*
 - Autodock_Vina_1_1_2 yang digunakan untuk *docking*
 - FoldX5 yang digunakan untuk optimasi struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap

3.3 Diagram Alir Penelitian

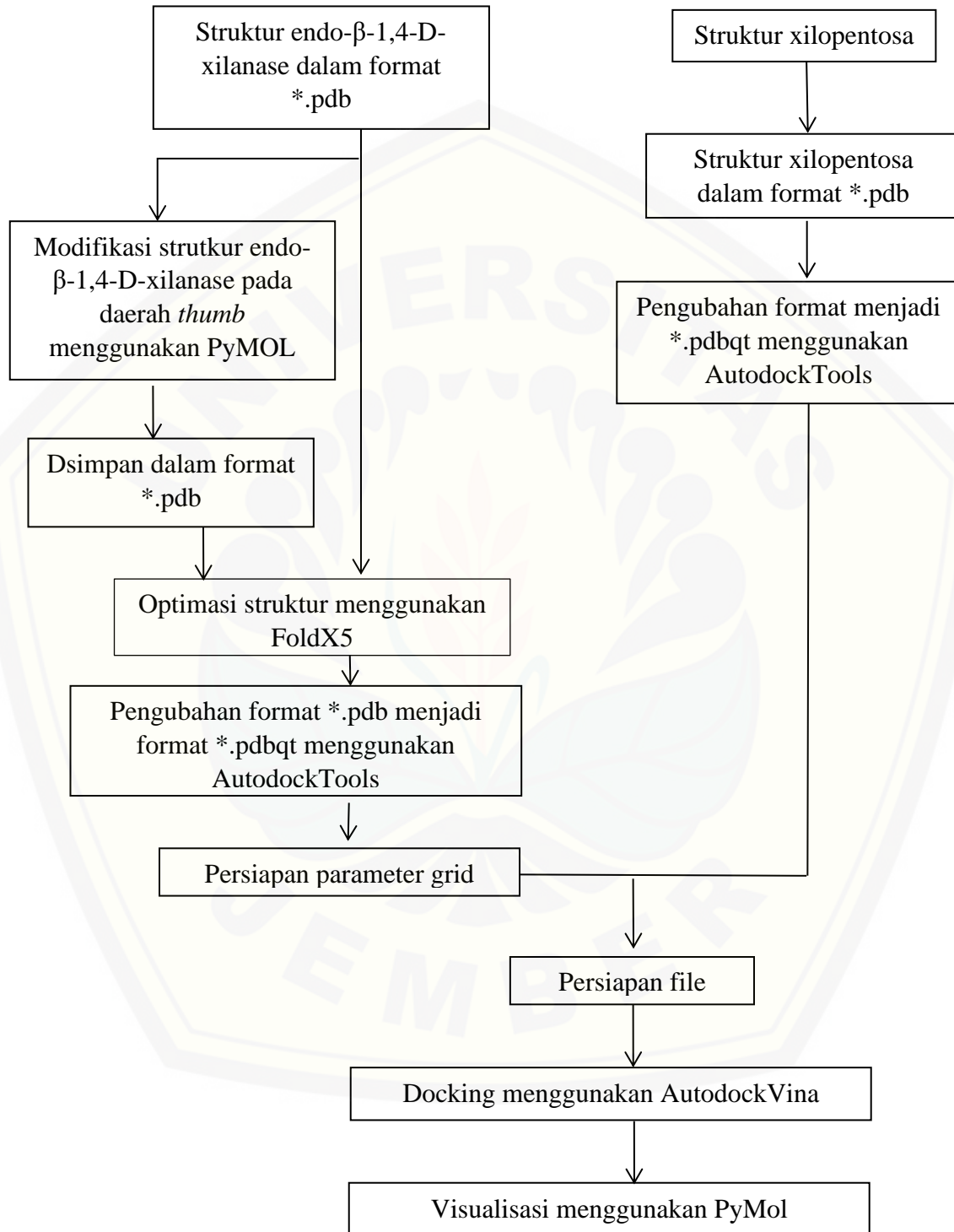
3.3.1 Validasi AutodockVina



3.3.2 Pemodelan Struktur Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap



3.3.3 Modifikasi dan Prediksi Sisi Katalitik Endo- β -1,4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap



3.4 Prosedur Kerja Penelitian

3.4.1 Validasi AutodockVina

a. Persiapan Struktur Endo- β -1.4-Xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168)

Struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) diunduh dalam PDB dengan PDB ID yaitu 1XXN. Dalam 1XXN terdapat molekul asam tartarat yang berinteraksi dengan endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168). Oleh karena itu struktur asam tartarat dihapus menggunakan PyMOL dan struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) disimpan dalam format *.pdb. Untuk dapat digunakan dalam program AuodockVina, struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) diubah format nya menjadi *.pdbqt dan ditambahkan hidrogen polar menggunakan AutodockTools.

b. Persiapan Struktur Asam Tartarat

Struktur asam tartarat diambil dari 1XXN yang telah dihapus struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168)-nya menggunakan PyMOL dan disimpan dalam format *.pdb. Struktur asam tartarat yang didapatkan diubah format-nya menjadi *.pdbqt menggunakan AutodockTool

c. Penentuan Parameter *Grid Box*

Penentuan parameter *grid box* dilakukan dengan menggunakan AutodockTools. Tahapan-tahapan dalam penentuan grid adalah sebagai berikut:

1. Buka struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) dengan format *.pdbqt
2. Pilih *grid box*
3. Atur *size grid box*, *ceneter grid box* dan *spacing*
4. Simpan parameter *grid box* dalam format *.txt

d. Persiapan File

File yang perlu disiapkan sebelum menjalankan AutodockVina yaitu

1. File struktur endo- β -1.4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) dengan format *.pdbqt
2. File struktur xilopentosa dengan format *.pdbqt
3. File conf.txt, dimana file conf.txt berisikan informasi mengenai *receptor*, *ligand*, *center xyz*, *size xyz*, *output*, *log* dan *exhaustiveness*

e. *Docking* Endo- β -1,4-xilanase Asal *Bacillus subtilis* (Strain 168) Dengan Asam Tartarat

Validasi program dilakukan dengan menginteraksikan endo- β -1,4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) dan asam tartarat menggunakan AutodockVina. AutodockVina dapat dijalankan melalui terminal dengan menuliskan perintah

“vina.exe –config conf.txt”

Hasil *docking* menggunakan AutodockVina yaitu berupa *output* dan log.

d. Visualisasi Hasil *Docking*

Visualisasi hasil *docking* dilakukan dengan menggunakan program PyMol. Visualisasi hasil *docking* berupa Gambaran interaksi antara endo- β -1,4-xilanase asal *Bacillus subtilis* (strain 168) dan asam tartarat dalam bentuk 3D (tiga dimensi).

3.4.2 Pemodelan Struktur Endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp*

Abdominal Rayap

Urutan DNA endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap diterjemahkan ke dalam asam amino menggunakan *translate tool* yang diakses pada (<https://web.expasy.org/translate/>). Hasil terjemahan yang didapatkan yaitu berupa urutan asam amino endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap. Urutan asam amino ini akan di *blast* menggunakan *blast protein* yang dapat diakses pada (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/sss/ncbiblast/>) untuk mengetahui kemiripan urutan asam amino endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap dengan endo xilanase yang berasal dari bakteri lain. Urutan asam amino endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap yang didapatkan akan digunakan sebagai input untuk pemodelan struktur dalam *Swiss Model*. Hasil pemodelan yang didapatkan disimpan dalam format *.pdb

3.4.3 Prediksi Residu Katalitik dan Modifikasi Endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap

- a. Persiapan Struktur Endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal Rayap *Wild Type*

Struktur endo- β -1,4-D-xilanase asal *Bacillus sp* abdominal rayap yang tersimpan dalam format *.pdb diubah format-nya menjadi *.pdbqt menggunakan AutodockTools untuk digunakan input dalam menjalankan *docking*.

- b. Persiapan Ligan Xilopentosa

Struktur xilopentosa diunduh di www.rscb.org dengan ID Ligan yaitu X5S dan disimpan dalam format *.pdb. Struktur xilopentosa yang tersimpan dalam format *.pdb diubah formatnya menjadi *.pdbqt menggunakan AutodockTools untuk digunakan input dalam AutodockVina.

- c. Modifikasi Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Dalam Abdominal Rayap

Modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dilakukan dengan menggunakan program PyMOL. Tahapan-tahapan modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap menggunakan PyMOL adalah sebagai berikut :

1. Buka struktur endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap pada PyMOL
2. Pilih menu Wizard > Mutagenesis> protein
3. Pilih asam amino yang akan dimodifikasi
4. Pilih menu *NO Mutation* > pilih asam amino baru
5. Pilih *Apply* > *Done*
6. Simpan dalam format *.pdb

Hasil modifikasi struktur endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap akan dioptimasi menggunakan program FoldX. Program FoldX dapat dijalankan melalui terminal dengan menuliskan perintah:

```
“FoldX --command=RepairPDB --pdb=file.pdb”
```

Hasil struktur modifikasi yang telah teroptimasi diubah format-nya menjadi *.pdbqt menggunakan AutodockTools

d. Penentuan Parameter *Grid Box*

Penentuan parameter *grid box* dilakukan dengan menggunakan AutodockTools. Tahapan-tahapan dalam penentuan *grid* adalah sebagai berikut:

1. Buka struktur endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dengan format *.pdbqt
2. Pilih *grid box*
3. Atur *size grid box*, *center grid box* dan *spacing*
4. Simpan parameter *grid box* dalam format *.txt

e. Persiapan File

File yang perlu disiapkan sebelum menjalankan AutodockVina yaitu

1. File struktur endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dengan format *.pdbqt
2. File struktur xilopentosa dengan format *.pdbqt
3. File conf.txt, dimana file conf.txt berisikan informasi mengenai *receptor*, *ligand*, *center xyz*, *size xyz*, *output*, *log* dan *exhaustiveness*

f. *Docking* Endo- β -1.4-D-xilanase Asal *Bacillus sp* Dalam Abdominal Rayap Dengan Xilopentosa

Prediksi interaksi antara endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dengan xilopentosa dilakukan menggunakan AutodockVina. AutodockVina dapat dijalankan melalui terminal dengan menuliskan perintah

“vina.exe –config conf.txt”

Hasil *docking* menggunakan AutodockVina yaitu berupa *output* dan *log*.

e. Visualisasi Hasil *Docking*

Visualisasi hasil *docking* dilakukan dengan menggunakan program PyMol. Visualisasi hasil *docking* berupa Gambaran interaksi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* dalam abdominal rayap dengan xilopentosa dalam bentuk 3D (tiga dimensi).

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap pada daerah *thumb* menyebabkan perubahan energi bebas gibbs, dimana energi bebas gibbs yang dihasilkan dapat menjadi lebih rendah ataupun tinggi. Energi bebas gibbs paling rendah yaitu pada modifikasi Arg112 menjadi Ala112 sebesar -9.1 Kcal/mol. Modifikasi endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap juga menyebabkan perubahan posisi substrat dalam berinteraksi. Pada modifikasi Arg112 menjadi Ala112, posisi substrat menjadi lebih masuk kedalam kantong.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui residu katalitik dari endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap lebih baik dilakukan secara eksperimen. Untuk mempercepat aktivitas endo- β -1.4-D-xilanase asal *Bacillus sp* Abdominal rayap dapat dilakukan dengan cara mutasi pada Arg112 menjadi Ala112.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberg, D.G., dan S.L. Schreiber. 1993. Structure based design of a cyclophilin calcineurin bridging ligand. *Science*. 262:248-250.
- Alvarez, C. A., Anna, dan J. Vilarassa. 2017. The performance of several docking programs at reproducing protein-macrolide-like crystal structure. *Molecules*
- Beg, Q. K., M. Kapoor, L. Mahajan, dan G. S. Hoondal. 2001. Xylanases and their industrial applications: a review. *Microbial Xylanases and Their Industrial Applications: A Review Received*: 56(1):326–338.
- Beliën, T., I. J. Joye, J. A. Delcour, dan C. M. Courtin. 2009. Computational design based molecular engineering of the glycosyl hydrolase family. subtilis xyna endoxylanase improves its acid stability. *Protein Engineering, Design and Selection*. 22(10):587–596.
- Biasini, M., S. Bienert, A. Waterhouse, K. Arnold, G. Studer, T. Schmidt, F. Kiefer, T. G. Cassarino, M. Bertoni, L. Bordoli, dan T. Schwede. 2014. SWISS-model: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic Acids Research*. 42(W1):252–258.
- Collins, T., C. Gerday, dan G. Feller. 2005. Effects of fermented plant juice and fruit juice on growth and yield of tomato for sustainable practices. *FEMS Microbiology Letters*. 29:3–23.
- Daniel L. Purich. 2010. *Enzyme Kinetics: Catalysis And Control*. USA: Elsevier.
- Estell, D. A., T. P. Graycar, J. V Miller, dan D. B. Powers. 1986. Ef on enzyme-probing srki and hyd substrte it eatin by protineninern. (June)

- Illergård, K., Ardell, D.H., Elofsson, A. 2009. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics 77: 499–508.
- Jabeen, A., A. Mohamedali, dan S. Ranganathan. 2018. Protocol for protein structure modelling. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. (September 2017):252–272.
- Joseleau JP, Comtat J, Ruel K. 1992. Chemical structure of xylans and their interactions in the plant cell walls. *Elsevier*
- Krieger, E. dan G. Vriend. 2014. YASARA view - molecular graphics for all devices - from smartphones to workstations. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 30(20):2981–2982.
- Lehninger, A. L. 1982. *Principle Of Biochemistry*. New York: Worth Publishers. Terjemahan Oleh Maggi Thenawijaya. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 1.23 Jakarta: Erlangga.
- Li, J., X. Wei, C. Tang, J. Wang, M. Zhao, Q. Pang, dan M. Wu. 2014. Directed modification of the aspergillus usamii β -mannanase to improve its substrate affinity by in silico design and site-directed mutagenesis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 41(4):693–700.
- Mathur, Nidhi., G. K. Goswami, dan A. N. Pathak. 2017. Structural comparison, docking and substrate interaction studt of modelled endo-1.4-beta xylanase enzyme of bacillus brevis. *Journal of Molecular and Modelling*.
- Miao, S., L. Ziser, R. Aebersold dan S.G. Withers. 1994. Identification of glutamic acid 78 as the active site nucleophile in bacillus subtilis xylanase using electrospray tandem mass spectrometry. *Biochemistry*. 33:7027-7032

- Murakami, M. T., R. K. Arni, D. S. Vieira, L. Degrève, R. Ruller, dan R. J. Ward. 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.
- Pagadala, N. S., K. Syed, dan J. Tuszynski. 2017. Software for molecular docking: a review. *Biophysical Reviews*. 9(2):91–102.
- Pamela C. Champe, Richard A. Harvey, dan Denise R. Ferrier. 2005. *Biochemistry*. 3th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Prade, R. A. 1996. Xylanases: from biology to biotechnology. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 13(1):101–132.
- Ratnadewi, A. A. I., E. Sulistyarningsih, dan A. B. Santoso. 2015. Produksi prebiotik xilooligosakarida dari pemanfaatan limbah agroindustri singkong : ampas dan kulit singkong melalui proses hidrolisis endo- β -1,4-d-xilanase. (November).
- Sandeep, G., K. P. Nagasree, M. Hanisha, dan M. M. K. Kumar. 2011. AUDocker gui for virtual screening with autodock vina. *BMC Research Notes*. 4(Figure 3):3–6.
- Schymkowitz, J., J. Borg, F. Stricher, R. Nys, F. Rousseau, dan L. Serrano. 2005. The foldx web server: an online force field. *Nucleic Acids Research*. 33(SUPPL. 2):382–388.
- Smallman R.E, dan Bishop R.J. 1995. *Modern Physical Metallurgy And Material Engineering*. 6th ed. New York: Reed Educational and Profesional Publishing Ltd. Terjemahan Oleh Sriati Djaprie. 2000. *Metalurgi Fisik Modern Dan Rekayasa Material*. Jakarta: Erlangga.

- Stryer, Lubert. 1995. *Biochemistry*. Fourth Edition. New York: Freeman and Company. Terjemahan oleh Mohamad Sadikin dkk. 1996. *Biokimia*. Volume 1. Edisi Keempat. Jakarta: EGC.
- Trott, O. dan A. J. Olson. 2009. Transition metal dimers as potential molecular magnets. *Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient24 Optimization, and Multithreading OLEG*. 31(13):455–461.
- Van Durme, J., J. Delgado, F. Stricher, L. Serrano, J. Schymkowitz, dan F. Rousseau. 2011. A graphical interface for the foldx forcefield. *Bioinformatics*. 27(12):1711–1712.
- Wakarchuk, W. W., R.L. Campbell, W. L. Sung, J. Davoodi, dan M. Yaguchi. 1994. Mutational and crystallographic analyses of the active site residues of bacillus circulans xylanase. *Protein Science*. 3:467-575.
- Wipf, P., E. M. Skoda, dan A. Mann. 2015. *Conformational Restriction and Steric Hindrance in Medicinal Chemistry*. Dalam *The Practice of Medicinal Chemistry: Fourth Edition*

LAMPIRAN

Lampiran 1. Urutan Asam Amino Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap

MFKFKKNFLVGLSAALMSISLFSATVSAASTDYWQNWTDGGGIVNAVNGSGG
 NYSVNWSNTGNFAVGKGWTTGSPFRTINYNAGVWAPNGNGYLTLYGWTRSPLIEY
 YVVDSWGTYRPTGTYKGTVKSDGGTYDIYTTTRYNAPSIDGDRTTFTQYWSVRQS
 KRPTGSNATITFSNHVNAWKSHGMNLGSNWAYQVMATEGYQSGGSSNVTW

Lampiran 2. Blast Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap

Enzim	Organisme	Panjang	Kemiripan
Endo-1,4-beta-xylanase A	Bacillus subtilis (strain 168)	213	98.6 %
Endo-1,4-beta-xylanase	Bacillus circulans	213	98.1 %
Endo-1,4-beta-xylanase	Geobacillus stearothermophilus	210	79.6 %
Endo-1,4-beta-xylanase Xyn11E	Paenibacillus barcinonensis	210	76.5 %
endo-1,4-beta-xylanase A	Aspergillus terreus	231	65.6 %
Endo-1,4-beta-xylanase B	Streptomyces sp.	340	65.0 %
endo-1,4-beta-xylanase A	Neosartorya fischeri	228	63.9 %
Endo-1,4-beta-xylanase xynf11a	Neosartorya fumigata	228	62.8 %
endo-1,4-beta-xylanase A	Aspergillus clavatus	229	61.7 %

Lampiran 3. Allignment Endo- β -1.4-D-Xilanase Asal *Bacillus sp* Abdominal Rayap Terhadap 1XXN

Endo MFKFKKNFLVGLSAALMSISLFSATVSAASTDYWQNWTDGGGIVNAVNGSGGNYSVNWSN 60
 1XXN -----ASTDYWQNWTDGGGIVNAVNGSGGNYSVNWSN 60

Endo TGNFAVGKGWTTGSPFRTINYNAGVWAPNGNGYLTLYGWTRSPLIEYYVVDSWGTYRPTG 120
 1XXN TGNFVVGKGWTTGSPFRTINYNAGVWAPNGNGYLTLYGWTRSPLIEYYVVDSWGTYRPTG 120

Endo TYKGTVKSDGGTYDIYTTTRYNAPSIDGDRTTFTQYWSVRQSKRPTGSNATITFSNHVNA 180
 1XXN TYKGTVKSDGGTYDIYTTTRYNAPSIDGDRTTFTQYWSVRQSKRPTGSNATITFSNHVNA 180

Endo WKSHGMNLGSNWAYQVMATEGYQSGSSNVTW 213

1XXN WKSHGMNLGSNWAYQVMATEGYQSGSSNVTW 213

