

## ABSTRAK

### PEMURNIAN DAN KARAKTERISASI KINETIKA $\beta$ -XILOSIDASE (GbtXyl43A) DARI *Geobacillus thermoleovorans* IT-08 TIPE ALAMI DAN VARIAN D121N

GbtXyl43A adalah enzim  $\beta$ -xilosidase yang berasal dari *Geobacillus thermoleovorans* IT-08 yang dikelompokkan dalam keluarga GH43. Mutasi residu Asp121 menjadi Asn pada GbtXyl43A menyebabkan penurunan aktivitas enzim secara signifikan pada berbagai pH dan suhu. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakterisasi kinetika GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N yang meliputi  $V_{max}$ ,  $K_M$ ,  $k_{cat}$ , dan  $k_{cat}/K_M$ . Parameter-parameter tersebut mengindikasikan mekanisme katalitik dari enzim GbtXyl43A. Produksi enzim GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N dilakukan dalam sel inang *E. coli* BL21 star. GbtXyl43A tipe alami dimurnikan menggunakan kromatografi afinitas dengan resin Ni-NTA. Aktivitas enzim GbtXyl43A tipe alami murni adalah  $0,18 \text{ U mL}^{-1}$  dengan tingkat kemurnian sebesar 55,44 dan hasil SDS-PAGE menunjukkan GbtXyl43A tipe alami mempunyai massa molekul sebesar  $\sim 58 \text{ kDa}$ . GbtXyl43A varian D121N dimurnikan menggunakan kromatografi afinitas dan kromatografi penukar ion. Uji aktivitas GbtXyl43A varian D121N setelah dimurnikan adalah  $0,00084 \text{ U mL}^{-1}$  dengan tingkat kemurnian sebesar 2,407 dan hasil SDS-PAGE menunjukkan GbtXyl43A varian D121N mempunyai masa molekul sebesar  $\sim 58 \text{ kDa}$ . Nilai  $K_M$ ,  $V_{max}$ ,  $k_{cat}$  dan  $k_{cat}/K_M$  GbtXyl43A tipe alami masing masing  $2,845 \text{ mM}$ ;  $0,0033 \text{ mM menit}^{-1}$ ;  $1,969 \text{ menit}^{-1}$ ; dan  $0,6922 \text{ menit}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ . Nilai  $K_M$  dan  $V_{max}$  GbtXyl43A varian D121N masing-masing adalah  $4,565 \text{ mM}$  dan  $1,01 \times 10^{-4} \text{ mM menit}^{-1}$ .

**Kata Kunci:** *Geobacillus thermoleovorans* IT-08,  $\beta$ -D-xilosidase, GbtXyl43A, karakterisasi kinetika

**ABSTRACT****PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF  $\beta$ -XYLOSIDASE (GbtXyl43A) KINETIC FROM *Geobacillus thermoleovorans* IT-08 WILD TYPE AND VARIAN D121N**

GbtXyl43A is  $\beta$ -xylosidase from *Geobacillus thermoleovorans* IT-08, are grouped in a family GH43. Asp121 residues mutation into Asn in the GbtXyl43A cause significant decrease in enzyme activity at various pH and temperature. The aims of this study is to determine the kinetic characteristics GbtXyl43A wild type and variant D121N which includes  $V_{max}$ ,  $K_M$ ,  $k_{cat}$ , and  $k_{cat} / K_M$ . These parameters indicate the catalytic mechanism of enzymes GbtXyl43A. Enzyme production GbtXyl43A wild type and variant D121N done in the host cell *E. coli* BL21 star. The purification of GbtXyl43A wild type carried out using affinity chromatography with Ni-NTA resin. The pure enzyme activity of GbtXyl43A wild type was  $0.18 \text{ U mL}^{-1}$  with a purity level of 55.44 and the results of SDS-PAGE showed GbtXyl43A wild type has a molecular mass of  $\sim 58 \text{ kDa}$ . GbtXyl43A D121N variant was purified using affinity chromatography and ion exchange chromatography. D121N variant GbtXyl43A activity test after purified was  $0.00084 \text{ U mL}^{-1}$  with a purity level of 2,407 and SDS-PAGE results showed GbtXyl43A D121N variant has a molecular mass of  $\sim 58 \text{ kDa}$ . The value of  $K_M$ ,  $V_{max}$ ,  $k_{cat}$  and  $k_{cat} / K_M$  GbtXyl43A wild type respectively;  $2.845 \text{ mM}$ ,  $0.0033 \text{ mM min}^{-1}$ ;  $1,969 \text{ min}^{-1}$ ; and  $0.6922 \text{ min}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ .  $K_M$  and  $V_{max}$  values GbtXyl43A D121N variant of each was  $4.565 \text{ mM}$  and  $1.01 \times 10^{-4} \text{ mM min}^{-1}$ .

Keywords: *Geobacillus thermoleovorans* IT-08,  $\beta$ -D-xylosidase, GbtXyl43A, kinetic characteristic