

ABSTRAK**Sub-kloning dan Uji Aktivitas Domain Katalitik Enzim β -D-Xilosidase (CM-GbtXyl43B) asal *Geobacillus thermoleovorans* IT-08**

GbtXyl43B merupakan enzim β -D-xilosidase kelompok GH43 yang memiliki dua domain yaitu domain pengikat substrat (CBM) dan domain katalitik (*Catalytic module* / CM). Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi tentang peran dari *Carbohydrate binding module* (CBM) terhadap aktivitas katalitik dari enzim β -D-xilosidase GbtXyl43B. Telah dilakukan proses sub-kloning terhadap *Catalytic Module* dari GbtXyl43B ke dalam sel inang *E.coli* TOP10 menggunakan plasmid pET-30a(+). Proses amplifikasi gen penyandi *catalytic module* GbtXyl43B dilakukan dengan menggunakan PCR. Amplikon diperoleh pada suhu *annealing* 53°C; 53,7°C; 55,3°C; 56,1°C; dan 57°C. Ekspresi protein dari CM-GbtXyl43B yang terdapat dalam plasmid pET-30a rekombinan (pET-CMxyl43B) dilakukan dalam sel inang *E.coli* BL21(DE3). Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa CM-GbtXyl43B mempunyai massa molekul relatif sebesar ~58 kDa, sedangkan aktivitas katalitiknya terhadap substrat *oat spelt xylan* menurun 2,5 kali, pada substrat *beechwood xylan* menurun 3 kali. Pada substrat *pNPX*, CM-GbtXyl43B tidak memiliki aktivitas katalitik jika dibandingkan dengan aktivitasnya pada β -xilosidase GbtXyl43B (CBM + CM).

Kata kunci: *Geobacillus thermoleovorans* IT-08, β -D-xilosidase, *Carbohydrate binding module*, aktivitas katalitik, subkloning

ABSTRACT**Sub-cloning and Activity Assay of Catalytic Domain
of Enzyme β -D-Xylosidase (CM-GbtXyl43B) from *Geobacillus
thermoleovorans* IT-08**

GbtXyl43B is a β -D-xylosidase enzyme belongs to GH43 which has two modules, which are substrate binding domain (Carbohydrate binding module / CBM) and catalytic domain (Catalytic module / CM). This study aims to inform about the role of carbohydrate binding module (CBM) to the catalytic activity of the enzyme β -D-xylosidase GbtXyl43B. Catalytic Module of GbtXyl43B was subcloned into *E.coli* TOP10 with plasmid pET-30a(+). The process of amplification of the gene encoding the catalytic module GbtXyl43B was done using PCR. Amplicons obtained at annealing temperature 53°C; 53,7°C; 55,3°C; 56,1°C; and 57°C. While the protein expression of CM-GbtXyl43B contained in the recombinant plasmid pET-30a (pET-CMxyl43B) performed in a host cell *E.coli* BL21(DE3), the SDS-PAGE showed relative molecular mass of CM-GbtXyl43B are ~58 kDa, while the catalytic activity against oat spelt xylan decreased 2,5 times, on beechwood xylan decreased 3 times. In pNPX substrate, CM-GbtXyl43B have not catalytic activity compared with the β -xylosidase GbtXyl43B (CBM+CM) activity.

Keywords: *Geobacillus thermoleovorans* IT-08, β -D-xylosidase, Carbohydrate binding module, catalytic activity, subcloning