Maysita, Y. 2019, Identifikasi Residu-Residu Katalitik β-D-xilosidase dari Dictyoglomus thermophilum H-6-12 dengan Site-Directed Mutagenesis. Skripsi Ini Dibawah BimbinganProf. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. dan Ali Rohman, M.Si., Ph. D. Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.

`

ABSTRAK

β-D-xilosidase merupakan enzim xilanolitik yang berperan dalam proses degradasi rantai utama xilan menjadi xilosa. Enzim β-D-xilosidase bekerja memotong ikatan glikosidik β-1,4 pada ujung rantai xilan. Proses enzimatik β-D-xilosidase umumnya melibatkan dua residu glutamat yang berperan sebagai residu katatik nukleofilik dan residu katalitik asam-basa. β-D-xilosidase tersebar ke dalam glycosite hydrolase families (GH) 3, 39, 43, 52, dan 54. Pada penelitian ini dilakukan identifikasi residu katalik enzim β-D-Xilosidase termofilik dari Dictyoglomus thermophilum H-6-12 (Dt-Xyl1) dengan metode site-directed mutagenesis. Dt-Xyl1 ditemukan di dalam sub famili GH 39. Analisia bioinformatika untuk mengidentifikasi residu asam amino Dt-Xyl1 dilakukan dengan pencarian residu yang lestari melalui pensejajaran urutan asam amino struktur Dt-Xyl1 dengan beberapa urutan asam amino enzim β-D-xilosidase dari sub famili GH 39 yang telah diketahui sisi residu katalitiknya. Hasil analisis Dt-Xyl menunjukkan bahwa residu glutamat pada urutan ke-161 lestari dengan residu katalitik yang berperan sebagai asam/basa dan glutamat pada urutan ke-278 berperan sebagai nukelofilik. Konfirmasi residu katalitik Dt-Xyl dilakukan dengan site-directed mutagenis untuk mengubah residu glutamat (E) menjadi alanin (A) dan telah dihasilkan dua isolat mutan, yaitu E161A dan E278A. Enzim mutan diproduksi dalam sistem eksprsi Escherichia coli BL21 (DE3) dan dimurnikan. Perbandingan aktivitas spesifik enzim Dt-Xyl1 wild-type murni terhadap substrat pNP-X dengan enzim E161A dan E278A menunjukkan adanya penurunan yang sangat drastis.

Kata kunci : *Biomasa, Xilan, β*-D-Xilosidase, Residu Katalitik, Mutasi, Site-Directed Mutagenesis

Maysita, Y. 2019, Identification of Catalityc Residues β-D-Xilosidase from Dictyoglomus thermophilum H-6-12 with Site-Directed Mutagenesis. Thesis under guidance of Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. and Ali Rohman, M.Si., Ph. D. Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

β-D-xylosidase is an xylanolytic enzyme that plays a role in the degradation process of the xylan's main chain into xylose. The β-D-xylosidase enzyme works to cut the glycosidic β-1.4 bond at the end of the xylan chain. The enzymatic process of β-D-xylosidase generally involves two glutamate residues which act as nucleophilic and acid-base catalytic residues. β-D-xylosidase is spread into glycosite hydrolase families 3, 39, 43, 52, and 54. The purpose of this research is identification of thermophilic β-D-Xylosidase enzyme residues from Dictyoglomus thermophilum H-6-12 (Dt-Xyl1) with site-directed mutagenesis method. Dt-Xyl1 was found in the GH sub-family 39. Bioinformatics analysis to identify Dt-Xyl1 amino acid residues was carried out by searching for sustainable residues by aligning the amino acid sequence Dt-Xyl1 structure with several amino acid sequences of the β-D-xylosidase enzyme from the GH sub family 39 which have known catalytic residues. The results of Dt-Xyl analysis showed that Glutamate residues in the 161nd sequence were sustained with catalytic residues acting as acids / bases and Glutamate in the 278th order acting as nucelophilic. Dt-Xyl catalytic residues was confirmed by a site-directed mutagen to convert Glutamate (E) residues to Alanine (A) and two mutant isolates were produced, E161A and E278A. Mutant enzymes are produced in the Escherichia coli BL21 (DE3) expansion system and purified. The Comparison of pure wild-type Dt-Xyl1 enzyme specific activity to the pNP-X substrate with the enzymes E161A and E278A showed a drastic decrease.

Keyword : Biomasse, Xylan, *β*-D-Xylosidase, Catalytic Residues, Mutation, Site-Directed Mutagenesis.