

Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap Kestabilan Termal Enzim Xilanase *Aspergillus niger*

Nya Daniaty Malau*, Manogari Sianturi

Program Studi Pendidikan Fisika, FKIP, Universitas Kristen Indonesia
Jl. Mayjen Sutoyo No. 2 Jakarta Timur, 13630, Indonesia

*e-mail: malaunyadaniaty@gmail.com

Abstract

*Xylanase is one type of enzyme that has an important role in the field of industry. One way that can be done to improve the thermostability of an enzyme is by protein engineering . Mutation of these proteins can be done by studying the structure of proteins through molecular dynamics simulation approach. In this research, thermal stability analysis on the structure of *Aspergillus niger* Wild Type xylase (AnX) was performed. This study aims to study the thermal stability characteristic of *Aspergillus niger* xylanase enzyme through molecular dynamics simulation approach. Molecular dynamics simulations of AnX were performed using NAMD (Not Just Another Molecular Dynamic) software at a temperature of 300-500 K. This study focused on studying the thermal stability characteristic of the enzymes to obtain information on residues that are responsible for the characteristic. Selection of residues to be mutated, based on the results of Hydrophobic Interactions. Based on the analysis results, the design of mutant Xylanase enzyme that is more thermostable than the Wild Type Xylanase Enzyme, so it can provide suggestions a more stable Xylanase mutation design that can be implemented into wet experiments to genetically engineer the *Aspergillus niger* xylanase enzyme. Xylanase *Aspergillus niger* enzyme is unfolded at 500 K at 9.5 ns. The residues responsible for the thermal stability of Xylanase *Aspergillus niger* enzyme based on hydrophobic interaction analysis are Alanine at residue 60. This residue is in segment / chain 3. The best mutant that can increase thermal stability is indicated by the Alanin 60 residue replaced with Methionin. The mutant Alanin 60 residue that replaced with a methionine mutant obtained $\Delta\Delta G_{solv}$ value of -21.10345. Thus the Ala60Met mutant is the most stable mutant supposed to increase thermal stability of *Aspergillus niger* Xylanase Enzyme.*

Keywords : *enzyme, thermostability, mutation, molecular dynamics*

PENDAHULUAN

Dewasa ini permintaan penggunaan enzim dalam bidang industri telah meningkat pesat dan mendapat posisi penting dalam bidang industri (Falch, 1991). Enzim telah banyak dimanfaatkan baik di dalam industri pangan maupun nonpangan. Dalam industri pangan, enzim digunakan misalnya dalam industri roti, keju, dan daging. Sedangkan dalam industri

non-pangan, enzim digunakan misalnya dalam industri kertas dan deterjen. Enzim xilanase adalah salah satu jenis enzim yang banyak digunakan dalam industri, enzim ini dapat menghidrolisis xilan. (Marisa, 2013). Enzim xilanase banyak digunakan pada industri pra pemutihan (*pre-bleaching*) *pulp* kimia (Kirk dan Jeffries, 1996). Dalam proses pemutihan *pulp*, xilanase

bertindak sbagai fasilitator agar proses penghilangan kompleks lignin-karbohidrat (*lignin carbohydrate complex*) yang terbentuk saat proses *pulping* dipermudah sehingga enzim ini mudah bereaksi dengan bahan kimia pemutih dan meningkatkan ekstraksi lignin (Beg dkk., 2001). Xilanase yang digunakan dalam industri mampu menurunkan penggunaan senyawa klorin sampai sekitar 20-40% dan mampu meningkatkan kualitas kertas yang diperoleh (Dhillon dkk., 2000b; Beg dkk., 2001). Selain itu, menggunakan enzim xilanase pada proses pemutihan *pulp* akan mampu menekan biaya menjadi lebih rendah jika dibandingkan dengan proses delignifikasi oksigen, *extended cooking*, dan substitusi ozon, klorin dan hidrogen peroksida yang biayanya jauh lebih tinggi. Karakteristik xilanase yang cocok digunakan pada industri salah satunya pada proses pemutihan adalah tahan suhu tinggi yaitu sekitar (60-70°C), tahan pH alkali, berupa endoxilanase (Viikari dkk., 1994) dan bebas dari aktivitas selulase.

Pemakaian enzim xilanase di industri *pulp* dan kertas masih sangat minim hal ini dikarenakan ketidaktersediaan enzim xilanase komersial yang sesuai dengan permintaan industri dalam hal ini industri pemutihan kertas (tahan suhu tinggi), Sejauh ini proses produksi xilanase masih

menggunakan xilan murni sebagai induser akibatnya biaya produksi mahal, enzim bersifat eksotik (bukan anorganik), enzim yang disimpan terlalu lama tanpa menggunakan metode penyimpanan yang tepat menyebabkan menurunnya aktivitas enzim sehingga konsentrasi pemakaian akan selalu meningkat, dan kurangnya transfer teknologi pada penggunaan enzim di industri. Karakteristik xilanase yang ada dipasaran saat ini hanya memiliki suhu optimum kurang dari 50°C (Dhillon dkk., 2000a) olehkarena itu xilanase yang ada dipasaran tidak sesuai dengan permintaan industri, sehingga dilakukan berbagai upaya untuk meningkatkan kestabilan termal enzim tersebut. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan termostabilitas suatu enzim adalah dengan merekayasa enzim.

Kestabilan terhadap suhu adalah sifat protein yang banyak diamati belakangan ini. Hal itu dikarenakan sejak proses produksi, penyimpanan sampai kepada penggunaan, semua kondisi akan selalu dipengaruhi oleh panas. Stabilitas akan mempengaruhi struktur protein. Sehingga struktur protein (konformasi) akan mempengaruhi fungsinya. Interaksi hidrofobik, jembatan garam dan interaksi antara asam amino yang memiliki muatan seperti lisin, arginin, asam aspartat, asam glutamat serta asam

amino dari ikatan peptida adalah beberapa *force* penting yang menjaga struktur protein. Secara umum, menguatkan *force* tersebut, misalnya dengan merubah asam amino *hydrophilic* dalam lingkungan yang *hydrophobic*, akan menaikkan stabilitas protein tersebut.

Dalam penelitian ini akan dianalisis stabilitas termal enzim xilanase *Aspergillus niger Wild Type* (ANX) berdasarkan interaksi hidrofobiknya melalui pendekatan Simulasi Dinamika Molekuler (SDM).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah data eksperimen hasil *X-Ray Diffraction* berupa data koordinat enzim xilanase *Aspergillus niger* (Krengel dan Dijkstra, 1996) yang dapat diunduh di protein data bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/>) dengan kode PDB 1UKR (Berman *et al.* 2000).

Alat

Peralatan yang digunakan berupa perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras terdiri atas komputer dengan spesifikasi RAM 8 GB, *Quad Core Processor* (Intel CoreI7), *Graphic Card* NVIDIA Ge Force GTS 9400, 16 core GPU dan sistem operasi LINUX Ubuntu versi 14.04. Perangkat lunak yang digunakan

Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap

untuk proses simulasi adalah NAMD (*Not Just Another Molecular Dynamics Program*) versi 2.9 (Philips dkk., 2005) sedangkan untuk preparasi dan analisa hasil simulasi dilakukan menggunakan program VMD (*Visual Molecular Dynamics Program*) versi 1.9.1 (Humphrey dkk., 1996), untuk pengolahan data digunakan program CatDCD versi 4. VBA Ms. Excel 2010 digunakan untuk *smoothing* grafik, dan Gnuplot versi 2.6 digunakan untuk membuat grafik.

Rancangan Penelitian

1. Preparasi Sistem Simulasi

Struktur kristal enzim xilanase *Aspergillus niger* (kode PDB: 1UKR) (Krengel dan Dijkstra, 1996) yang digunakan pada simulasi didapat dari bank data Protein Data Bank (PDB) (<http://www.pdb.org/pdb/home/home.do>).

Penentuan struktur kristal 1UKR dilakukan dengan metode difraksi sinar-X dan memiliki resolusi 2.4 Å. Residu asam amino penyusun Xilanase adalah 181 residu. File PSF (*Protein Structure File*) adalah file berisikan informasi molekul secara spesifik yang dibutuhkan untuk menerapkan medan gaya tertentu ke dalam sistem molekul. Untuk membuat file ini NAMD menyediakan program *psfgen*.

Untuk lebih menyerupai lingkungan selular, protein dilarutkan dan dimasukkan

kedalam air. Protein itu dilarutkan dalam bentuk kotak dengan ukuran $100\text{\AA} \times 100\text{\AA} \times 100\text{\AA}$ yang berisi molekul air. Molekul air yang dipilih sebagai pelarut eksplisit (solvasi) pada sistem simulasi adalah model molekul air TIP3P dengan *metode periodic boundary condition* (PBC). Sistem ini dinetralkan dengan menambahkan ion (NaCl) pada konsentrasi fisiologis menggunakan VMD *solvate* dan *autoionize plugin*.

Dalam simulasi ini dibutuhkan file parameter medan gaya. Sebuah medan gaya adalah ekspresi matematis dari gaya potensial yang diperoleh dalam sistem. Sebuah file parameter medan gaya CHARMM berisi konstanta numerik yang diperlukan untuk mengevaluasi gaya dan energi, mengingat PSF sebuah file struktur dan atom koordinat. Parameter CHARMM dapat didownload dari website: [http : //www.charmm.org/](http://www.charmm.org/). Untuk menjalankan simulasi dinamika molekuler dibutuhkan *script*. *Script* simulasi adalah program untuk menjalankan simulasi NAMD seperti yang diinginkan. NAMD menjalankan file konfigurasi dengan menggunakan bahasa *scripting* Tcl.

2. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi ini dilakukan dengan empat tahapan menggunakan program NAMD dengan masukan awal file konfigurasi. File ini sebagai pengontrol sistem yang berisi parameter dalam menjalankan simulasi. File topologi yang digunakan adalah *par_all27_prot_na_lipid.inp*. Tahap pertama adalah minimisasi. Minimisasi bertujuan untuk meminimalkan energi pada molekul. Masukan awal adalah file struktur dan file psf hasil dari preparasi molekul. Kedua, pemanasan, masukan awal adalah hasil dari minimisasi. Pada awal simulasi sistem bersuhu 0 K, suhu akhir akan divariasikan menjadi 300K, 400 K, 450 K dan 500 K. Ketiga, ekuilibrasi, suhu sistem dijaga konstan dengan protokol Langevin. Kemudian tahap terakhir adalah *production run*. Pada tahap inilah simulasi dinamika molekul dijalankan. Molekul dibiarkan bebas bergerak dengan cara suhu sistem tidak dikontrol lagi. Tahap ini dilakukan selama 10 ns untuk suhu 300K, 400 K, 450 K dan suhu 500 K.

Keluaran dari tahap akhir simulasi dinamika molekul adalah file *dcd*. File ini divisualisasikan pada program VMD. Data yang diperoleh tersebut menghasilkan grafik yang dibutuhkan untuk analisis kestabilan termal protein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pada enzim atau protein termostabil dapat memberikan pengetahuan baru tentang faktor-faktor yang menentukan stabilitas termal enzim, maupun aplikasi praktis pada bidang industri. Pemahaman tentang faktor penentu stabilitas termal suatu protein atau enzim dapat dijadikan sebagai acuan untuk merencanakan protein serta menghindari kesalahan target mutasi yang dapat berakibat fatal terhadap kestabilan maupun aktivitas enzim.

Penelitian yang telah dilakukan terbagi atas tiga kelompok, meliputi simulasi kestabilan termal enzim xilanase *Aspergillus niger wild-type* yaitu simulasi yang dilakukan untuk menganalisis kestabilan termal enzim, pemilihan mutan enzim xilanase *Aspergillus niger* dan simulasi FEP untuk menganalisis perubahan energi bebas solvasi mutan yang terpilih.

1. Analisis Kestabilan Termal Enzim Xilanase *Aspergillus niger*

Analisis kestabilan termal Enzim *Aspergillus niger* dapat diamati dari proses *unfolding* adapun tujuan dilakukan analisa kestabilan termal pada enzim Xilanase adalah untuk mengetahui fleksibilitas enzim

Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap

dan perubahan struktur yang terjadi. Adapun parameter yang diamati untuk menganalisis kestabilan termal Enzim antara lain adalah RMSF (*Root-mean-square fluctuation*).

Root-mean-square fluctuation (RMSF) adalah akar kuadrat rata-rata fluktuasi koordinat atom terhadap struktur referensinya. RMSF merupakan analisis fleksibilitas residu asam amino penyusun protein yang dihitung berdasarkan persamaan berikut :

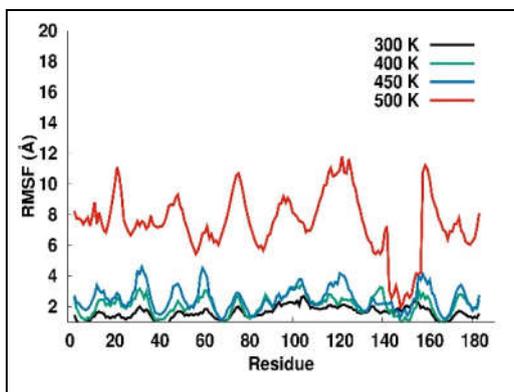
$$\text{RMSF} = \sqrt{[R_j - |R_j|]^2} \quad (1)$$

dimana R_j merupakan koordinat residu j dan $|R_j|$ merepresentasikan rata-rata posisi residu j . Analisis ini digunakan untuk mendapatkan informasi mengenai residu asam amino yang bersifat fleksibel dan yang bersifat kaku selama proses simulasi berlangsung.

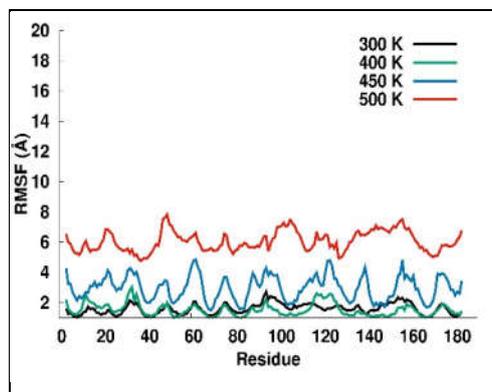
Untuk parameter RMSF dari gambar 1.a, 1.b, 1.c, dan 1.d terlihat bahwa simulasi pada temperatur 300 K, 400 K dan 450 K nilai RMSF tidak mengalami fluktuasi secara signifikan. Pola yang diperlihatkan juga cenderung sama pada ketiga variasi suhu. Ini menandakan bahwa protein masih cenderung stabil, walaupun ada beberapa puncak yang muncul yang menggambarkan

residu yang fleksibel, tetapi jumlahnya masih tergolong sedikit. Sedangkan pada temperatur 500 K nilai RMSF meningkat cukup signifikan dan pola nilainya juga sangat berbeda dibandingkan variasi suhu lainnya. Seiring meningkatnya temperatur,

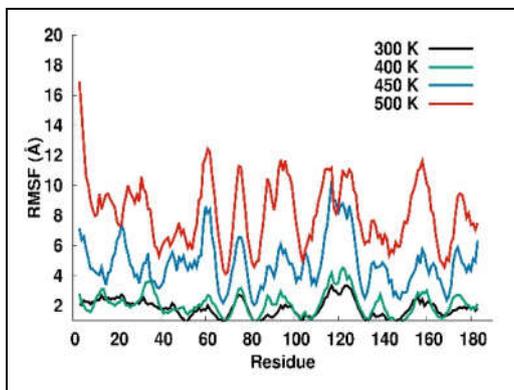
residu-residu yang semula rigid menjadi fleksibel, yang ditandai oleh banyaknya puncak yang muncul. Hal ini mengindikasikan bahwa telah terjadi proses *unfolding* pada protein.



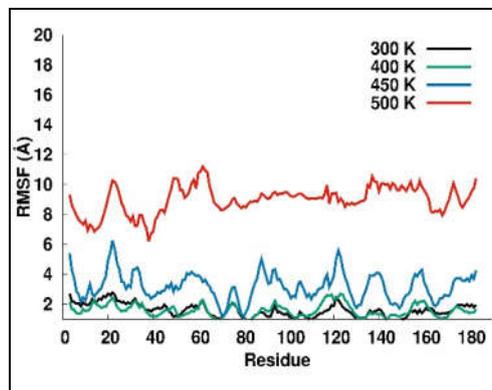
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1. Perubahan analisis parameter enzim pada temperatur 300 K, 400 K, 450 K dan 500 K masing-masing selama 10 ns (a). RMSF Segmen 1 (b). RMSF Segmen 2 (c). RMSF Segmen 3 (d). RMSF Segmen 4

Dari keempat segmen atau chain yang dianalisa, segmen 1 dan 3 memiliki pola yang unik dan fluktuasi yang signifikan, sehingga diduga residu – residu pada chain 1 dan 3 ini memiliki nilai fluktuasi yang tinggi, sehingga memiliki potensi untuk dimutasi, supaya mampu membuat residu menjadi rigid.

2. Pemilihan Mutan Enzim Xilanase

Aspergillus niger

Pemilihan residu-residu yang akan dimutasi untuk meningkatkan kestabilan enzim *Aspergillus niger* didasarkan pada analisis interaksi hidrofobik. Adapun interaksi hidrofobik dianggap mampu menentukan residu yang mana yang memiliki kontribusi signifikan untuk menstabilkan protein dalam hal ini enzim. Analisa tersebut hanya dilakukan pada suhu 500 K. Pada suhu ini protein sudah *unfolding*, sehingga mudah untuk mencari residu-residu penstabil protein.

Di antara sekian banyak faktor penentu stabilitas termal protein, interaksi hidrofobik juga dipertimbangkan sebagai faktor dominan penentu kestabilan protein (Mathews dan van Holde 1996). Hal ini didasari atas fenomena bahwa ketika protein melipat (*folded*) sebagian besar residu non polar (~80%) akan terkubur di

Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap

dalam interior protein, terlindungi dari pelarut sehingga menyebabkan suatu protein dapat mempertahankan integritasnya (Klapper 1971). Fenomena tersebut dikenal sebagai pengaruh hidrofobik (*hydrophobic effect*).

Dari hasil analisa RMSF yang diamati hanya pada RMSF segmen 1 dan RMSF segmen 3. Hal ini dikarenakan pada kedua segmen, nilai RMSF berfluktuasi sangat signifikan, sehingga diduga residu – residu pada chain 1 dan 3 ini memiliki nilai fluktuasi yang tinggi, sehingga memiliki potensi untuk dimutasi, supaya mampu membuat residu menjadi rigid. Pada segmen 1, diperoleh tiga residu yang fleksibel. Residu yang hidrofobik, yaitu Pro76 dan residu yang hidrofilik yaitu, Ser22 dan Thr122. Ketiga residu ini berada pada struktur sekunder *coil dan turn* sehingga tidak cocok untuk dilakukan mutasi.

Pada segmen 3, diperoleh lima residu yang fleksibel yaitu Ala60, Trp30, Gly158, Pro92 dan Tyr75. Residu yang hidrofobik, yaitu Ala60, Trp30, Tyr75 dan Pro92 sedangkan residu yang hidrofilik yaitu Gly158. Residu yang berada pada struktur sekunder *coil dan turn* adalah residu Gly158, Tyr75 dan Pro92 sehingga tidak cocok untuk dilakukan mutasi. Sedangkan residu Ala60

dan Trp30 berada pada struktur *beta-sheet* yang merupakan struktur yang memiliki kerusakan lebih besar dibanding *alpa-helix* pada saat *unfolding* terjadi.

Sehingga diduga residu ini adalah residu hidrofobik yang putus akibat meningkatnya temperatur yang diberikan pada protein tersebut. Kedua residu tersebut Ala60 dan Trp30 kemudian dimutasi dan diperoleh 6 variasi mutan yang diberikan yaitu Ala60Ile, Ala60Met, Ala60Val, Trp30Ile, Trp30Met dan Trp30Val. Variasi mutan ini diberikan untuk mempertahankan interaksi hidrofobiknya.

Untuk menganalisis efek mutasi terhadap stabilitas termal enzim secara kuantitatif, dilakukan perhitungan nilai perubahan energi bebas (G_{solv}) melalui pendekatan *free energy perturbation* (FEP). Jika perhitungan nilai

G_{solv} positif mengindikasikan bahwa mutan lebih tidak stabil dibandingkan *wild-type* nya dan sebaliknya jika perhitungan

G_{solv} negatif mengindikasikan bahwa mutan lebih stabil dibandingkan *wild-type* nya (Kollman 1993; Ghoufi et al.2004).

3. Analisis Perubahan Energi Bebas Solvasi

Keluaran simulasi FEP adalah nilai ΔG (Kcal/mol) untuk setiap nilai. Nilai

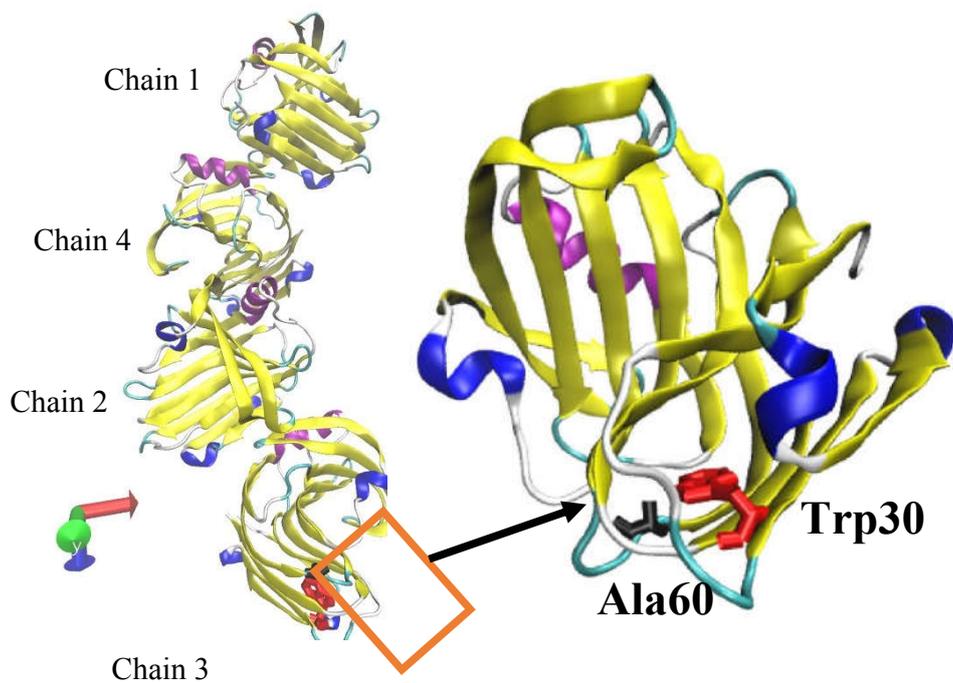
ΔG yang dihasilkan akan digunakan sebagai penentu apakah mutasi yang dilakukan mampu meningkatkan kestabilan atau malah menurunkannya. Nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ tersebut diperoleh dari selisih ΔG dari simulasi tanpa pelarut (*vacuo*) dan simulasi dengan pelarut (*aqua*) didefinisikan sebagai $\Delta\Delta G_{solv}$ (Kcal/mol) atau perubahan energi bebas solvasi. Nilai tersebut menyatakan jumlah energi yang dibutuhkan melakukan mutasi. Mutan yang memiliki nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ yang negatif artinya mutan tersebut mampu meningkatkan kestabilan dari protein yang disimulasikan dan sebaliknya jika bernilai positif, artinya mutan menurunkan kestabilan dari protein yang dimutasi. Simulasi FEP juga bisa menjadi tidak stabil, kondisi ini tidak merusak fungsi protein sehingga tidak disarankan dilakukan mutasi jika sistem menjadi *unstable*.

Dari tabel 1 memperlihatkan nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ pada semua calon mutan. Untuk mutan Ala60Ile, Ala60Met dan Ala60Val adalah mutan yang diperoleh berdasarkan analisis interaksi hidrofobik. Ketika dilakukan simulasi *Free Energy Perturbation* (FEP) maka sistem menjadi stabil. Ini dapat kita amati dari hasil total

energi yang dihasilkan yaitu semakin menuju negatif.

Tabel 1. Pemilihan Mutan dan Nilai Gsolv

Analisa Pemilihan Mutan	Residu yang akan dimutasi	Mutan	Gsolv (Kkal/mol)
Interaksi Hidrofobik	Ala 60	Ile	-14.6198
		Met	-21.10345
		Val	-11.605178
	Trp 30	Ile	Unstable
		Met	Unstable
		Val	Unstable



Gambar 2. Posisi calon mutan berdasarkan Ikatan Hidrofobik : Trp 30 (Merah) – Ala 60 (Hitam)

Jika energi semakin minimum maka sistem menjadi semakin stabil dari kondisi *wild-type* nya. Hal ini berarti mutasi yang dilakukan pada Ala60Ile, Ala60Met dan Ala60Val sangat berpengaruh pada peningkatan kestabilan termal protein Xilanase *Aspergillus niger*. Ketika dilakukan mutasi nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ pada Ala60Ile, yang dihasilkan negatif artinya sistem menjadi lebih stabil dari kondisi awalnya. Besarnya $\Delta\Delta G_{solv}$ yaitu sebesar -14.6198 sedangkan mutan Ala60Met memiliki nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ yang juga negatif yaitu sebesar -21.10345. Pada mutan Ala60Val juga memiliki nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ yang juga negatif yaitu sebesar -11.605178. Dari nilai $\Delta\Delta G_{solv}$ mutasi Ala60 diatas maka dapat disimpulkan bahwa ketiga mutan mampu meningkatkan kestabilan dari protein Xilanase *Aspergillus niger* hanya mutan terbaik adalah dihasilkan oleh mutan Ala60Met. Karena nilai mutan Ala60Met lebih negatif dibandingkan kedua mutan lainnya, sehingga dapat disimpulkan bahwa mutan Ala60Met menjadi mutan terbaik untuk mutasi residu Ala60. Ketiga mutasi diatas memang ditujukan untuk tetap mempertahankan interaksi hidrofobik. Hanya saja, residu Ala60 melalui preferensi konformasi (*Biological magnetic resonance data*)

yang terlampir (Lampiran 3) residu ini memiliki karakteristik *Weak former* dalam membentuk konformasi β -sheet dengan kemampuan sebesar 0.97, sedangkan residu 60Met memiliki kemampuan sebagai *Strong former* β -sheet sebesar 1.67 sehingga residu Metionin (60Met) lebih stabil jika dibandingkan dengan residu Alanin. Begitu juga untuk residu mutan 60Ile, residu ini memiliki kemampuan sebagai *Strong former* β -sheet sebesar 1.60 sehingga residu Isoleusin (60Ile) lebih stabil jika dibandingkan dengan residu Alanin. Untuk mutan 60Val juga sama, residu ini memiliki kemampuan sebagai *Strong former* β -sheet sebesar 1.65 sehingga residu Isoleusin (60Ile) lebih stabil jika dibandingkan dengan residu Alanin. Hanya saja jika dibandingkan ketiga mutan pengganti kemampuan sebagai *Strong former* β -sheet yang paling besar dimiliki oleh residu metionin (60Met) sehingga mutan Ala60Met adalah mutan terbaik untuk meningkatkan kestabilan protein Xilanase *Aspergillus niger* jika dianalisis dari ikatan hidrofobiknya.

Untuk mutan Trp30Ile, Trp30Met dan Trp30Val adalah mutan yang juga diperoleh berdasarkan analisis Ikatan Hidrofobik. Ketika dilakukan simulasi *Free Energy Perturbation* (FEP) maka sistem menjadi

tidak stabil. Hal ini berarti residu Triptofan (Trp30) tidak cocok untuk dimutasi. Karena menyebabkan sistem menjadi tidak stabil. Sehingga Hal ini berarti mutasi yang dilakukan pada Trp30Ile, Trp30Met dan Trp30Val tidak berpengaruh pada peningkatan kestabilan termal protein Xilanase *Aspergillus niger* dan tidak disarankan dilakukan mutasi karena menyebabkan protein menjadi rusak dan kehilangan fungsinya.

KESIMPULAN

Enzim Xilanase *Aspergillus niger* mengalami *unfolding* pada temperatur 500 K saat 9.5 ns. Residu-residu yang bertanggung jawab terhadap kestabilan termal enzim Xilanase *Aspergillus niger* berdasarkan analisa interaksi hidrofobik yaitu Alanin pada residu 60. Kedua residu ini berada pada segmen/ chain 3.

Pemilihan mutan enzim Xilanase *Aspergillus niger* yang didasarkan pada interaksi hidrofobik maka variasi mutan yang diperoleh yaitu Ala60Ile, Ala60Met, Ala60Val, Trp30Ile, Trp30Met dan Trp30Val. Variasi mutan ini diberikan untuk mempertahankan interaksi hidrofobiknya.

Dengan melakukan simulasi *free energy perturbation* (FEP) diperoleh mutan

Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap

terbaik dan yang paling mungkin dilakukan yaitu pada mutan residu Alanin 60 yang diganti dengan mutan Metionin. Mutan residu Alanin 60 yang diganti dengan mutan metionin memperoleh nilai ΔG_{solv} sebesar -21.10345. Sehingga Ala60Met adalah mutan yang paling stabil yang diduga mampu meningkatkan kestabilan termal Enzim Xilanase *Aspergillus niger*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan rasa syukur dan terimakasih yang tak terhingga kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena akhirnya penulis dapat merampungkan penelitian ini. Penulisan ini dapat terlaksana karena bantuan dana dari Universitas Kristen Indonesia; untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih. Ucapan terimakasih juga ingin penulis sampaikan kepada bapak Dekan dan Wakil dekan FKIP UKI, kepada Kaprodi Pendidikan Fisika dan kepada koordinator penelitian FKIP UKI serta teman sejawat dosen-dosen yang berhomebase di FKIP UKI. Terimakasih atas dukungan baik doa dan tenaga yang diberikan untuk membantu terselesaikannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Beg, Q. K., M. Kapoor, L. Mahajan, and G.S. Hoondal. 2001. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56, 326-338
- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*. 28: 235-242. Betz SF. 1993. Disulfide bonds and the stability of globular proteins. *Protein Science*. 2, 1551-1558.
- Dhillon, A., J. K. Gupta, and S. Khanna. 2000a. Enhanced production, purification and characterization of a novel cellulase-poor thermostable, alkalitolerant xylanase from *Bacillus circulans* AB 16. *Process Biochemistry*. 35, 849- 856
- Falch, E.A. 1991. Industrial Enzymes Developments in Production and Application. *Biotech Adv*. 9, 643-658
- Ghoufi A, Bonal C, Morel JP, Morel-Desrosiers N, Malfreyt P. 2004. Gibbs Free Energy Perturbation Calculations, An Application to the Binding of Alkylammonium Cations by Water-Soluble Calixarene. *J. Phys. Chem. B*. 108, 11744-11752.
- Humphrey W, Dalke A, Schulten K. 1996. VMD: visual molecular dynamics. *J. Mol. Graph*. 14(1), 27 – 38.
- Kirk, T. K., and T.W. Jeffries. 1996. Roles for microbial enzymes in pulp and paper processing, 1996 dalam Jeffries, T.W., Viikari, L. (ed). *Enzymes for Pulp and Paper Processing*. Washington. USA.
- Kollman P. 1993. Free energy calculations: Applications to chemical and biochemical phenomena. *Chem Rev*. 93, 2395-2417
- Krengel, U. and B.W. Dijkstra. 1996. Three-dimensional structure of Endo-1,4-beta-xylanase I from *Aspergillus niger*: molecular basis for its low pH optimum. *J.Mol.Biol*. 263, 70-78
- Marisa A. Lima. 2013. *Aspergillus niger* β -Glucosidase Has a Cellulase-like Tadpole Molecular Shape. *The Journal of Biological Chemistry*. 288, 32991-33005
- Mathews, CK, van Holde KE. 1996. *Biochemistry*. 2nd. The

Benjamin/Cummings Publishing
Company, Inc.

Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J,
Tajkhorshid E, Villa E, Chipot C,
Skeel RD, Kale L, Schulten K. 2005.
Scalable molecular dynamics with
NAMD. *J. Comput. Chem.*
26(16),1781-1802.

Viikari, L., A. Kantelinen, J. Sundquist,
and M. Linko. 1994. Xylanases in
bleaching: from an idea to the
industry. *FEMS Microbiology
Reviews.* 13, 335- 350