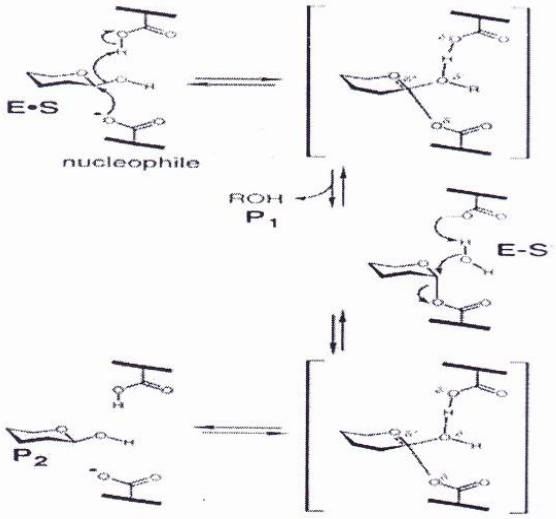
ISBN: 978-979-097-105-9

Dari gambar 5.2 terlihat bahwa aktivitas spesifik dari xilanase meningkat seiring dengan kenaikan temperatur sampai temperatur 39°C dengan aktivitas spesifik sebesar **34,48** Unit/mg protein, yang merupakan temperatur optimumnya. Diatas temperatur tersebut aktivitas spesifiknya menurun hingga pada 90°C aktivitas dari xilanase sangat kecil dan hampir mendekati nol.

Meningkatnya aktivitas xilanase seiring dengan kenaikan temperatur dikarenakan pada saat temperatur meningkat maka pergerakan dari molekul-molekul juga akan semakin meningkat. Pada reaksi enzimatis, jumlah produk yang terbentuk bergantung pada konsentrasi dari kompleks enzim substrat yang terbentuk. Ketika pergerakan dari molekul-molekul enzim dan substrat meningkat, maka kemungkinan tumbukan yang terjadi juga semakin besar sehingga kompleks enzim substrat yang terbentuk juga semakin besar dan produk yang terbentuk juga akan semakin banyak.

Pada reaksi enzimatis, tidak semua bagian enzim akan bereaksi dengan substrat dikarenakan ukuran enzim yang lebih besar daripada substrat. Bagian enzim yang berikatan dengan substrat dikenal sebagai sisi aktif. Sisi aktif dari xilanase yang berasal dari *Aspergillus niger* adalah residu asam amino glutamat, yaitu glu 170 dan glu 79 yang mempunyai gugus fungsi karboksilat (–COOH) dan akan ikut membentuk ikatan sementara dengan xilan, yang selanjutnya terjadi polarisasi dan terjadi regangan pada ikatan (ikatan 1,4-glikoksida) didalam molekul xilan sehingga ikatan tersebut mudah dipecah. Dari mekanisme reaksi hidrolisis xilan oleh xilanase pada gambar 5.3, gugus karboksilat dari residu katalitik xilanase dapat berfungsi sebagai nukleofil dan asam lemah (donor H^+). Nukleofil tersebut akan menyerang atom C pada posisi 1 yang bersifat parsial positif dan diikuti oleh penyerangan atom O dari gugus –OR kepada atom H gugus karboksilat dari asam glutamat sehingga terbentuk suatu intermediet xilan dengan residu katalitik xilanase yang diikuti dengan pelepasan ROH. Kemudian ion H^+ diserang oleh gugus $–COO^-$ dari asam lemah yang telah kehilangan sebuah atom H^+nya untuk membentuk kembali –COOH dan ion OH^- dari air menyerang atom C pada posisi 1 sehingga menyebabkan ikatan C–O (hasil penyerangan nukleofil).

Ketika temperatur dari suatu sistem meningkat, maka energi internal dari molekul-molekul dalam sistem juga akan meningkat. Sebagian dari panas yang ada akan diubah menjadi energi potensial. Apabila energi potensial tersebut sudah cukup besar, maka beberapa ikatan lemah (contohnya ikatan hidrogen) yang menyusun struktur tiga dimensi dari protein akan putus. Hal ini yang menyebabkan denaturasi protein sehingga sisi aktif dari enzim akan berubah konformasinya yang menyebabkan enzim menjadi inaktif.



Gambar 2. Mekanisme Reaksi Enzimatis Pengubahan Xilan menjadi Xilosa

Pada temperatur diatas temperatur optimum kenaikan temperatur menyebabkan penurunan dari aktivitas xilanase. Enzim merupakan suatu protein, sehingga pada temperatur tertentu akan bisa mengalami denaturasi. Diatas temperatur optimum, nilai E merupakan energi inaktivasi yang biasanya bernilai tinggi dikarenakan perubahan entropi positif yang besar yang dihasilkan dari *unfolding* molekul enzim selama proses denaturasi (Plummer, 1987).

Ketika temperatur dari suatu sistem meningkat, maka energi internal dari molekul-molekul dalam sistem juga akan meningkat. Sebagian dari panas yang ada akan diubah menjadi energi potensial. Apabila energi potensial tersebut sudah cukup besar, maka beberapa ikatan lemah (contohnya ikatan hidrogen) yang menyusun struktur tiga dimensi dari protein akan putus. Hal ini yang menyebabkan denaturasi protein sehingga sisi aktif dari enzim akan berubah konformasinya yang menyebabkan enzim menjadi inaktif.

Xilanase mempunyai struktur tersier yang terbentuk karena terjadinya pelipatan (*folding*) rantai α-helix, *β-sheet*, maupun *random coil* suatu polipeptida. Kenaikan temperatur dapat menyebabkan perubahan struktur α-helix menjadi *β-sheet* dikarenakan putusnya ikatan hidrogen yang berperan dalam penetapan struktur α-helix, diikuti dengan peregangan rantai polipeptida membentuk struktur berkelok-kelok yang kemudian menghasilkan konformasi lembaran (*sheet*) berlipat-lipat (Wirahadikusumah, 1989). Aktivitas enzim ditentukan oleh struktur 3 dimensi molekulnya sehingga berubahnya struktur 3 dimensi dari enzim