

Ani Tri Kumalawati, 2005. Penentuan Aktivitas Enzim-enzim Xilanolitik Rekombinan dari *E. coli* DH-5 α (pTP510) pada Berbagai Lokasi Enzim. Skripsi dibawah bimbingan Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si dan Dra. Sri Sumarsih, M.Si. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu optimum produksi dan lokasi sekresi enzim xilanolitik rekombinan dari *E. coli* DH-5 α (pTP510). Penentuan waktu optimum produksi enzim xilanolitik rekombinan dari *E. coli* DH-5 α rekombinan dilakukan dengan membuat kurva pertumbuhan yaitu dengan cara menginkubasi kultur bakteri *E. coli* DH-5 α rekombinan dalam alat penggoyang pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam. Setiap interval waktu 4 jam kultur bakteri diambil secara aseptik dan diukur *optical density*-nya pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV 1700 Pharma. Sel bakteri dilisis untuk mendapatkan enzim intraseluler dan ditentukan aktivitasnya menggunakan metode DNS. Penentuan lokasi sekresi enzim xilanolitik rekombinan dilakukan dengan mengisolasi enzim pada waktu optimum produksi. Lokasi yang ditentukan adalah lapisan ekstraseluler, intraseluler dan periplasmik dari *E. coli* DH-5 α rekombinan. Aktivitas enzim xilanolitik rekombinan pada berbagai lokasi ditentukan dengan menguji enzim terhadap substrat turunan *p*-nitrofenol yaitu *p*-nitrofenil- β -D-xilopiranosida dan *p*-nitrofenil- α -L-arabinofuranosida. Satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang diperlukan untuk membentuk 1 μ mol produk per satuan waktu. Dari hasil penelitian diketahui bahwa waktu optimum produksi enzim xilanolitik rekombinan dari *E. coli* DH-5 α rekombinan adalah 24 jam dengan aktivitas enzim xilanolitik tertinggi yaitu 0,1486 Unit/mL. Pada penentuan lokasi sekresi enzim, lokasi intraseluler menunjukkan aktivitas enzim xilanolitik rekombinan tertinggi dalam *E. coli* DH-5 α rekombinan dengan aktivitas enzim xilosidase rekombinan tertinggi adalah 0,1256 Unit/mL dan aktivitas enzim arabinofuranosidase rekombinan tertinggi adalah 0,8080 Unit/mL.

Kata kunci : enzim xilanolitik rekombinan, aktivitas enzim, kurva pertumbuhan, lokasi enzim, *E. coli* DH-5 α rekombinan.

Ani Tri Kumalawati, 2005. Determination of Activity of Enzyme of Recombination Xylanolytic from *E. coli* DH-5 α (pTP510) at Various Enzyme Location. Final project under guidance Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si and Dra. Sri Sumarsih, M.Si. Chemical Majors, Mathematics and Science Faculty, Airlangga University.

ABSTRACT

The aim of research are to determine the optimum production time of recombinant xylanolytic enzymes with the highest activity and the secretion location of recombinant xylanolytic enzymes from *E. coli* DH-5 α (pTP510). The determination of optimum production time of the recombinant xylanolytic enzymes from recombinant *E. coli* DH-5 α was done by making growth curve by incubating bacterium culture of recombinant *E. coli* DH-5 α in shaker at 37°C with the speed 150 rpm during 24 hours. Every 4 hours interval time, bacterium culture was taken aseptically and the optical density was measured at λ 600 nm use the spectrophotometer of Shimadzu UV 1700 Pharma. Cell are lysed to get the intracellular enzyme and its activity determined use the DNS method. Determination of the secretion location of recombinant xylanolytic enzymes were done by isolation the enzyme at optimum production time. The location was determined from extracellular, intracellular and periplasmic space of recombinant *E. coli* DH-5 α . Activity of recombinant xylanolytic enzyme at various location determined with testing enzyme to generation of *p*-nitrophenol substrate there are *p*-nitrophenyl- β -D-xylopiranoside and *p*-nitrophenyl- α -L-arabinofuranoside. One unit of enzyme activity is one μ mole product per minute The result showed that the optimum production time of recombinant xylanolytic enzymes from recombinant *E. coli* DH-5 α is 24 hours with highest xylanolytic enzymes activity was 0.1486 Unit/ mL . Determination of the enzyme secretion indicated that the intracellular location showed that the highest recombinant xylanolytic enzymes activity in recombinant *E. coli* DH-5 α with the highest recombinant xylosidase enzymes activity was 0.1256 Unit/ mL and the highest recombinant arabinofuranosidase enzymes activity was 0.8080 Unit/ mL .

Keyword : recombinant xylanolytic enzymes, enzyme activity, growth curve, enzyme location, recombinant E. coli DH-5 α .