

**TRANSFORMASI, EKSPRESI GEN PENYANDI
 β -XILOSIDASE ASAL *Thermoanaerobacterium xylanolyticum*
LX-11 PADA *Escherichia coli* BL21 (DE3), DAN
KARAKTERISASI BIOKIMIANYA**

SKRIPSI



MUHAMAD FAQIH

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

2022

**TRANSFORMASI, EKSPRESI GEN PENYANDI
 β -XILOSIDASE ASAL *Thermoanaerobacterium xylanolyticum*
LX-11 PADA *Escherichia coli* BL21 (DE3), DAN
KARAKTERISASI BIOKIMIANYA**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Sains Bidang Kimia
pada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Muhamad Faqih
NIM 081811533044

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,


Ali Rohman, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 196808071994031003


Prof. Dr. Ni Nyoman Tri
Puspaningsih, M.Si.,
NIP. 196306151987012001

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Transformasi, Ekspresi Gen Penyandi β -Xilosidase
Asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11
pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan Karakterisasi
Biokimianya

Penyusun : Muhamad Faqih
NIM : 081811533044

Pembimbing I : Ali Rohman, S.Si., M.Si. Ph.D
Pembimbing II : Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si.
Tanggal Sidang : 22 Juli 2022

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,


Ali Rohman, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 196808071994031003


Prof. Dr. Ni Nyoman Tri
Puspaningsih, M.Si.,
NIP. 196306151987012001

Mengetahui,

Ketua Departemen Kimia

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas-Airlangga



Mochamad Zakki Fahmi, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 198307022009121005

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Airlangga, diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Airlangga.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “Transformasi, Ekspresi Gen Penyandi β -Xilosidase Asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* Lx-11 pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan Karakterisasi Biokimianya”. Naskah skripsi ini ditulis dalam rangka memenuhi persyaratan pengajuan skripsi yang merupakan salah satu kewajiban menjadi sarjana sains dalam bidang kimia di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan bimbingan serta motivasi, khususnya kepada:

1. Bapak Ali Rohman, S.Si., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Harsasi Setyawati S.Si., M.Si. selaku dosen wali yang telah mengarahkan dan membimbing saya selama kuliah.
4. Bapak Mochammad Zakki Fahmi, M.Si., Ph.D sebagai Ketua Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga yang telah membantu kelancaran penyelesaian skripsi ini.
5. Ibu saya Halimah Tusa'diah yang selalu memberikan dukungan penuh bagi saya dan doanya yang selalu memberkati saya. Kakak saya Muhammad Farhan yang membuat saya termotivasi untuk selalu berjuang. Ayah saya Alm. Mubasir yang saya sayangi.
6. Teman-teman kimia Angkatan 2018 H18RID yang menjadi keluarga saya di dunia perkuliahan.
7. Sahabat-sahabat saya Ilham Puji Dewanto, Muhammad Akbar Rizky, Dhimas Nurwijaya, Murthadda Mutahhari, dan Mikhail Naufal yang selalu menemani hari-hari saya, baik suka maupun duka.
8. Teman-teman seperjuangan skripsi biokimia tercinta Nabila Nur Shadi, Mikhail Naufal, Risa Yunita, dan Chumaira Ifada yang saling tolong menolong

dan membantu satu sama lain agar skripsi bisa diselesaikan tepat pada waktunya

9. Keluarga PHP2D saya Mikhail Naufal, Muhammad Fuad Izzatulfikri, Muhammad Fajar Falasthiunus Pradipta, Abdufattah Yurianta, Kamailiyah Ulfa, Ningsih Putri Herman, Halfie Zalqiyah Gusti Puspitasari, Tya Wahyun Kurniawati, dan Muhammad Rizaldi Bin Nur Yasin.
10. Tim PIMNAS RE, PI, dan K saya Muhammad Fahroji, Kamailiyah Ulfa, Izza Nur Ilmiyah, Widyah Puspitasari, Firman Hidayat, Abdufattah Yurianta, Mikhail Naufal, Muhammad Akbar Rizky, Trisna Nurya Majid, Raden Estiawan, dan Muhammad Anang Jazuli
11. Keluarga kontingen PIMNAS 34 Universitas Airlangga.

Penulis menyadari bahwa naskah skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran agar dapat membantu kesempurnaan naskah skripsi ini.

Surabaya, Juli 2022

Muhamad Faqih

Faqih, Muhamad, 2022, Transformasi, Ekspresi Gen Penyandi β -Xilosidase Asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan Karakterisasi Biokimianya, skripsi ini dibawah bimbingan Ali Rohman, S.Si., M.Si., Ph.D dan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Enzim β -xilosidase merupakan biokatalis berperan dalam penguraian xilan, salah satu penyusun biomassa lignoselulosa. Kebutuhan akan biokatalis yang dapat bekerja pada kondisi ekstrem sangat diperlukan dalam industri pengolahan biomassa lignoselulosa. Penelitian yang dilakukan adalah transformasi, ekspresi gen penyandi β -xilosidase asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 (Txy-Xyl) pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan karakterisasi aktivitas optimum dan stabilitas pH dan suhu. Gen penyandi Txy-Xyl dalam plasmid pET-15b ditransformasikan ke dalam *E. coli* BL21 (DE3) dengan metode kejutan panas. Txy-Xyl diekspresikan, kemudian dimurnikan dengan kromatografi afinitas Ni^{2+} . Karakterisasi kondisi optimum dan stabilitas pH dan suhu Txy-Xyl dilakukan dengan uji aktivitas terhadap substrat *p*-nitrofenil- β -D-xilopiranosida. Txy-Xyl berhasil ditransformasikan ke dalam *E. coli* BL21 (DE3) dan diekspresikan. Txy-Xyl murni diperoleh ditandai dengan munculnya pita SDS-PAGE pada ukuran sekitar 58 kDa. Txy-Xyl menunjukkan aktivitas optimum pada pH 5,5 dan suhu 65°C. Txy-Xyl stabil pada suhu 55°C dengan pH 6,5 selama 120 menit dan pada pH 3-9 suhu 4°C selama 18 jam. Berdasarkan hasil tersebut, maka transformasi, ekspresi gen penyandi β -xilosidase asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 (Txy-Xyl) pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan karakterisasi aktivitas optimum dan stabilitas pH dan suhu telah berhasil dilakukan.

Kata kunci: *β -xilosidase, *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11, Enzim termofil, Aktivitas optimum, Stabilitas*

Faqih, Muhamad, 2022, Transformation, Expression of The Gene Encoding β -Xylosidase From *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 in *Escherichia coli* BL21 (DE3), and Its Biochemical Characterization, this final project is under guidance of Ali Rohman, S.Si., M.Si., Ph.D and Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

The β -xylosidase enzyme is a biocatalyst that plays a role in the decomposition of xylan, one of the constituents of lignocellulosic biomass. The need for a biocatalyst that can work in extreme conditions is very necessary for the lignocellulosic biomass processing industry. The research carried out was transformation, and expression of the gene encoding β -xylosidase from *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 (Txy-Xyl) in *Escherichia coli* BL21 (DE3), and characterization of optimum conditions and stability of pH and temperature. The gene encoding Txy-Xyl in the pET-15b plasmid was transformed into *E. coli* BL21 (DE3) by heat shock method. Txy-Xyl was expressed, then purified by Ni^{2+} affinity chromatography. Characterization of the optimum conditions and stability of pH and temperature of Txy-Xyl was performed by testing the activity on *p*-nitrophenyl- β -D-xylopiranoside as substrate. Txy-Xyl was successfully transformed into *E. coli* BL21 (DE3) and expressed. The pure Txy-Xyl obtained was characterized by the appearance of the SDS-PAGE band at a size of about 58 kDa. Txy-Xyl showed optimum activity at pH 5.5 and temperature 65°C. Txy-Xyl is stable at 55°C with pH 6.5 for 120 minutes and at pH 3-9 at 4°C for 18 hours.

Keywords: *β -xylosidase, Thermoanaerobacterium xylanolyticum LX-11, Stability, Optimum activity, Thermophilic Enzyme*

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Muhamad Faqih
NIM : 081811533044
Program Studi : S1 Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Jenjang : Sarjana (S1)

Menyatakan bahwa tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

“Transformasi, Ekspresi Gen Penyandi β -Xilosidase Asal *Thermoanaerobacterium xylanolyticum* LX-11 pada *Escherichia coli* BL21 (DE3), dan Karakterisasi Biokimianya”

Apabila suatu saat nanti terbukti melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang ditetapkan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 03 Juli 2022



Muhamad Faqih

NIM. 081811533044

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3).....	4
2.2. Xilan.....	5
2.3. Enzim Xilanolitik	7
2.4. Txy-Xyl	8
2.5. SDS-PAGE.....	10
2.6. Kromatografi Afinitas	11
2.4. Pengaruh Suhu dan pH terhadap Aktivitas Enzim	12
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
3.1. Tempat dan Waktu penelitian	15
3.2. Sampel Penelitian.....	15
3.3. Bahan dan Alat Penelitian	15
3.4. Diagram alir penelitian.....	16
3.5. Prosedur Penelitian.....	17

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1. Transformasi dan Ekspresi Txy-Xyl.....	22
4.2. Penentuan pH dan Suhu Optimum Txy-Xyl	27
4.3. Penentuan Stabilitas pH dan Suhu Txy-Xyl.....	31
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1. Kesimpulan	36
5.2. Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Variasi Struktur xilan beserta Sumber di Alam	6
2.2	Taksonomi Bakteri <i>Thermoanaerobacterium xylanolyticum</i> LX-11	9
4.1	Perbandingan Analisis ProtParam dan Karakteristik Suhu Txy-Xyl, serta Beberapa β -Xilosidase dari Berbagai Macam Mikroorganisme Lainnya	35

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Struktur Xilan	5
2.2	Enzim Xilanolitik dalam Penguraian Xilan	8
2.3	Kurva Pengaruh Suhu terhadap Enzim	13
2.4	Kurva Pengaruh pH terhadap Enzim	14
4.1	Peta Plasmid	22
4.2	Hasil Transformasi pET-15b-Txy-Xyl dalam <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)	23
4.3	Hasil Analisis SDS-PAGE Ekspresi Txy-Xyl	24
4.4	Struktur Imidazol dan Histidin	25
4.5	Spektra Hasil Pemurnian Kromatografi Afinitas Ni^{2+}	26
4.6	Hasil Analisis SDS-PAGE Pemurnian Txy-Xyl	27
4.7	Reaksi Hidrolisis Substrat pNP-X oleh Txy-Xyl	28
4.8	Kurva pH Optimum Txy-Xyl	29
4.9	Kurva Suhu Optimum Txy-Xyl	30
4.10	Kurva Stabilitas pH Txy-Xyl	31
4.11	Ilustrasi Proses <i>Unfolding</i> dan <i>Refolding</i> Protein	32
4.12	Kurva Stabilitas Suhu dari Txy-Xyl	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
1	Pembuatan Media dan Reagensia
2	Sekuens Asam Amino Txy-Xyl dan Analisis Protparam
3	Kurva Standar <i>p</i> -Nitrofenol
4	Uji Aktivitas Txy-Xyl terhadap Substrat <i>p</i> NP-X
5	pH Optimum Aktivitas Txy-Xyl
6	Suhu Optimum Aktivitas Txy-Xyl
7	Stabilitas pH Txy-Xyl
8	Stabilitas Suhu Txy-Xyl