

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SKRIPSI
PRODUKSI, PURIFIKASI SATU TAHAP, DAN
KARAKTERISASI ENZIM LIPASE REKOMBINAN DARI
Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip



AYU YANUARDANI

PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
2022

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

SKRIPSI
PRODUKSI, PURIFIKASI SATU TAHAP, DAN
KARAKTERISASI ENZIM LIPASE REKOMBINAN DARI
Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip



AYU YANUARDANI

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

2022

SKRIPSI PRODUKSI, PURIFIKASI SATU... AYU YANUARDANI

IR - PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**PRODUKSI, PURIFIKASI SATU TAHAP, DAN
KARAKTERISASI ENZIM LIPASE REKOMBINAN DARI
Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip**

SKRIPSI

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

Oleh

Ayu Yanuardani
081911533011

Disetujui oleh:

Pembimbing I,



Dr. Sri Sumarsih, M.Si.

NIP. 196001101988102001

Pembimbing II,



Drs. Sofijan Hadi, M.Kes.

NIP. 196507141992031001

SKRIPSI

PRODUKSI, PURIFIKASI SATU...

AYU YANUARDANI

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Produksi, Purifikasi Satu Tahap, dan Karakterisasi Enzim
Lipase Rekombinan dari *Escherichia coli* BL21 (DE3)-
pET28b-SmLip
Penyusun : Ayu Yanuardani
NIM : 081911533011
Pembimbing I : Dr. Sri Sumarsih, M.Si.
Pembimbing II : Drs. Sofijan Hadi, M.Kes.
Tanggal Sidang : 7 Februari 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Sri Sumarsih, M.Si.

Drs. Sofijan Hadi, M.Kes.

NIP. 196001101988102001

NIP. 196507141992031001

Mengetahui,

Ketua Departemen Kimia

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

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

NIP. 198307022009121005

ii

SKRIPSI

PRODUKSI, PURIFIKASI SATU...

AYU YANUARDANI

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ayu Yanuardani
NIM : 081911533011
Program studi : Kimia
Fakultas : Fakultas Sains dan Teknologi
Jenjang : Sarjana (S-1)

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

PRODUKSI, PURIFIKASI SATU TAHAP, DAN KARAKTERISASI ENZIM LIPASE REKOMBINAN DARI *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 23 Februari 2023



Yanuardani
NIM.081911 533011

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

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas kelimpahan rahmat-Nya penulis mampu menyelesaikan naskah skripsi yang berjudul “Produksi, Purifikasi Satu Tahap, dan Karakterisasi Enzim Lipase Rekombinan dari *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip*”.

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

1. Ibu Dr. Sri Sumarsih, M.Si. selaku dosen pembimbing I dan Bapak Drs. Sofijan Hadi, M.Kes. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan ilmu, bimbingan, pengarahan, dan nasihat dalam penyusunan naskah skripsi.
2. Bapak Dr. rer. nat. Ganden Supriyanto, M.Sc. selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi dan restu dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak Mochamad Zakki Fahmi S.Si, M.Si., Ph.D. selaku Ketua Departemen Studi Kimia dan Bapak/Ibu dosen kimia yang telah memberikan waktu dan restu kepada semua mahasiswa.
4. Bapak dan ibu penulis yang telah memberikan dukungan do’a dan materi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
5. Teman-teman angkatan 2019 yang telah bekerja bersama dan saling membantu.

Tulisan ini masih belum sempurna sehingga kritik dan saran untuk penulisan naskah skripsi ini sangat diharapkan.

Surabaya, 30 Januari 2023

Ayu Yanuardani

Yanuardani, Ayu, 2022, Produksi, Purifikasi Satu Tahap, dan Karakterisasi Enzim Lipase Rekombinan dari *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip*, skripsi ini dibawah bimbingan Dr. Sri Sumarsih, M.Si. dan Drs. Sofijan Hadi, M.Kes., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan produksi, purifikasi satu tahap, dan karakterisasi enzim lipase rekombinan dari *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip*. Enzim lipase rekombinan diproduksi dalam media produksi Luria Bertani (LB) cair dan penambahan induser *Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside* (IPTG). Ekstrak kasar enzim lipase rekombinan dimurnikan dengan metode purifikasi satu tahap menggunakan kit purifikasi *his-tagged protein*. Aktivitas enzim lipase rekombinan ditentukan menggunakan substrat p-nitrofenilpalmitat (p-NPP) dan karakterisasi enzim meliputi analisis *Sodium Dodesil Sulfat Polyacrylamide Gel* (SDS PAGE), pengujian pH dan suhu optimum. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim lipase rekombinan dapat dimurnikan menggunakan kit purifikasi *his-tagged protein* menghasilkan aktivitas enzim sebesar 35,09 U/mL. Analisis SDS PAGE enzim yang telah dimurnikan diperoleh pita target dengan berat molekul 64 KDa. Karakter enzim lipase rekombinan bekerja optimum pada pH 7 dan suhu 37°C.

Kata kunci: Enzim lipase rekombinan, kit purifikasi *his-tagged protein*, IPTG, *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip*

Yanuardani, Ayu, 2022, Production, One Step Purification, and Characterization of Recombinant Lipase Enzyme from *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip, this final project is under guidance of Dr. Sri Sumarsih, M.Si. dan Drs. Sofijan Hadi, M.Kes., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRACT

This study aims to carry out production, one-step purification, and characterization of recombinant lipase from *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip. Recombinant lipase enzymes were produced in liquid Luria Bertani (LB) production medium and the addition of inducer Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG). The crude extract of the recombinant lipase enzyme was purified by a one-step purification method using a his-tagged protein purification kit. The activity of the recombinant lipase enzyme was determined using p-nitrophenylpalmitate (p-NPP) substrate and the enzyme characterization included analysis of Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel (SDS PAGE), testing the optimum pH and temperature. The results showed that the recombinant lipase enzyme could be purified using a his-tagged protein purification kit resulting in an enzyme activity of 35.09 U/mL. SDS PAGE analysis of the purified enzyme obtained a target band with a molecular weight of 64 KDa. The character of the recombinant lipase enzyme works optimally at pH 7 and a temperature of 37°C.

Keywords: Recombinant lipase enzyme, his-tagged protein purification kit, IPTG, *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip

DAFTAR ISI

SKRIPSI.....	i
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Enzim Lipase.....	4
2.2. Bakteri Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip.....	7
2.3. Faktor yang Memengaruhi Produksi Enzim	8
2.4. Elektroforesis Protein.....	10

2.5. Purifikasi enzim menggunakan poly-Histidine tag.....	12
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
3.1. Tempat dan Waktu penelitian	16
3.2. Bahan dan Alat Penelitian.....	16
3.2.1. Bahan penelitian.....	16
3.2.2. Alat penelitian	16
3.3. Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1. Diagram alir penelitian.....	17
3.3.2. Pembuatan media	18
3.3.3. Peremajaan Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip.....	18
3.3.4. Pembuatan inokulum Escherichia coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip	19
3.3.5. Produksi enzim lipase rekombinan	19
3.3.6. Purifikasi enzim lipase rekombinan dengan kit purifikasi his-tagged protein	19
3.3.7. Pembuatan kurva standar p-nitrofenol (p-NP)	21
3.3.8. Uji aktivitas enzim lipase rekombinan.....	21
3.3.9. Penentuan kadar protein.....	21
3.3.10. Pengujian pH optimum	22
3.3.11. Pengujian suhu optimum.....	22
3.3.12. Analisis SDS-PAGE	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Peremajaan bakteri E. coli BL21 (DE3)-pET28b-SmLip	24
4.2. Produksi enzim lipase rekombinan	25
4.3. Purifikasi enzim lipase menggunakan kit purifikasi his-tagged protein	26
4.3.1. Aktivitas enzim lipase rekombinan.....	28
4.3.2. Kadar Protein	29

4.3.3. Analisis SDS PAGE enzim lipase rekombinan.....	31
4.5. Karakterisasi enzim lipase rekombinan	32
4.5.1. pH optimum	32
4.5.2. Suhu optimum	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN.....	40

DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
Tabel 4.1.	Aktivitas enzim lipase rekombinan	32
Tabel 4.2.	Kadar protein enzim lipase rekombinan	33
Tabel 4.3.	Aktivitas spesifik enzim lipase rekombinan	34

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1	Stuktur lipase LipA dari <i>Serratia marcescens</i>	6
Gambar 2.2	Reaksi-Reaksi Enzim lipase	7
Gambar 2.3	Koloni <i>Escherichia coli</i>	9
Gambar 2.4	Peta plasmid rekombinan pET-28b-lip	11
Gambar 2.5	Struktur <i>Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside</i> (IPTG)	13
Gambar 2.6	Alat Elektroforesis SDS-PAGE	15
Gambar 2.7	Struktur Asam nitrilotriasetat	19
Gambar 2.8	Interaksi senyawa kompleks Ni-NTA dengan protein	20
Gambar 3.1	Diagram alir penelitian	22
Gambar 4.1	Hasil peremajaan bakteri <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)-pET28b- <i>SmLip</i>	31
Gambar 4.2	Inokulum <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3)-pET28b- <i>SmLip</i>	28
Gambar 4.3	A. Suspensi sel; B. Ekstrak kasar enzim lipase rekombinan	29
Gambar 4.4	Reaksi enzim lipase dengan substrat <i>p</i> -NPP	32
Gambar 4.5	Hasil elektroforesis SDS PAGE. A. pita elektroforesis <i>flowthrough</i> , B. pita elektroforesis ekstrak kasar enzim lipase, C. pita elektroforesis enzim lipase setelah pemurnian	35
Gambar 4.6	Kurva aktivasi enzim lipase rekombinan terhadap variasi pH	37
Gambar 4.7	Kurva aktivasi enzim lipase rekombinan terhadap variasi suhu	38

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul
Lampiran 1	Pembuatan Larutan
Lampiran 2	Pengujian Aktivitas Enzim Lipase
Lampiran 3	Pengujian Kadar Protein Enzim Lipase
Lampiran 4	Perhitungan aktivitas spesifik enzim lipase
Lampiran 5	Pengujian pH optimum
Lampiran 6	Pengujian suhu optimum