

Umam, M. Khotibul, 2019, Konstruksi Plasmid Rekombinan yang Mengemban Gen Penyandi β -1,3-glukanase (pPICZ α A-MKAFGlu1) dan Ekspresinya di *Pichia pastoris* KM71H. Skripsi di bawah bimbingan Prof. Dr. Afaf Baktir, M.S., Apt. and Ali Rohman, M.Si., Ph.D., Department Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

β -1,3-glukanase adalah enzim yang memiliki peran penting dalam bidang kesehatan terutama sebagai anti biofilm. Gen *MKAFGlu1* adalah gen penyandi β -1,3-glukanase yang diperoleh dari eksplorasi metagenomik kelenjar pencernaan *Achatina fulica*. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan konstruksi plasmid pPICZ α A-MKAFGlu1 dan mengekspresikan enzim MKAFGlu1 di *Pichia pastoris* KM71H. Gen *MKAFGlu1* diisolasi dan diamplifikasi dari plasmid pTriplEx2-MKAFGlu1 dengan menggunakan metode PCR. Propagasi plasmid rekombinan pPICZ α A-MKAFGlu1 dilakukan di dalam *E. coli* TOP10, dan selanjutnya ditransformasikan ke dalam *P. pastoris* KM71H. Transforman diekspresikan secara ekstraseluler dengan induksi metanol setiap 24 jam sekali hingga jam ke-144. Enzim dipanen setiap 24 jam untuk menguji tingkat ekspresinya. Uji aktivitas β -1,3-glukanase dilakukan dengan metode uji gula pereduksi menggunakan reagen DNS. Amplifikasi gen *MKAFGlu1* dengan PCR menghasilkan pita dengan ukuran 737 bp yang merupakan ukuran gen *MKAFGlu1*. Transformasi plasmid yang diisolasi dari *E. coli* TOP10 rekombinan (pPICZ α A-MKAFGlu1) ke dalam *P. pastoris* KM71H menghasilkan tiga koloni positif yang membawa pPICZ α A-MKAFGlu1. Aktivitas β -1,3-glukanase terus meningkat, dengan aktivitas tertinggi 2,2 U / mL pada jam ke-120. Oleh karena itu, dari penelitian ini waktu panen terbaik untuk ekspresi enzim β -1,3-glukanase yang diinduksi metanol adalah pada jam ke-120, dengan aktivitas 2,2 U / mL.

Kata kunci: Ekspresi, β -1,3-glukanase rekombinan, Pichia pastoris, induksi metanol, gen MKAFGlu1