

Arimurti, Aisyah P., 2019. Optimalisasi Amplifikasi PCR untuk Isolasi Gen Fusi *cbm-lcc2* dari pET30a Rekombinan. Skripsi dibawah bimbingan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri P, M.Si dan Dr. Sri Sumarsih, M.Si., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

ABSTRAK

Lakase merupakan enzim yang mengkatalis degradasi lignin dengan cara oksidasi. *Carbohydrate Binding Module* (CBM) merupakan komponen penting dalam sisi aktif enzim yang dapat meningkatkan aktivitas enzim. Gen *cbm-lcc2* telah terinsersi pada plasmid pET30a dan diekspresikan *Escherichia coli* BL21. Namun, masih diperlukan optimalisasi untuk ekspresinya. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan isolasi dan amplifikasi gen *cbm-lcc2* dari pET30a dalam *Escherichia coli* TOP10 sebagai langkah awal proses subkloning. DNA *template* yang digunakan pada penelitian ini adalah pET30a-*cbm-lcc2*. Metode isolasi meliputi metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR), pemurnian dan sekuensing. Proses PCR dilakukan menggunakan enzim *Taq* Polimerase dan *Pfu* Polimerase. PCR dilakukan sebanyak 30-35 siklus pada kondisi denaturasi 95°C, *annealing* 53-63°C dan *extension* 72°C. Amplikon PCR dianalisis dengan metode sekuensing untuk mengetahui bahwa gen *cbm-lcc2* yang akan diklon ke dalam pET32a telah terisolasi dan memiliki tingkat homologi 99% gen *cbm-lcc2* dari pET30a.

Kata kunci: Lakase, Carbohydrate Binding Module, Polymerase Reaction Chain, DNA polimerase

Arimurti, Aisyah P. 2019. Optimalization of Isolation of Gene Fusion *cbm-lcc2* with PCR from pET30a Recombinant. This essay under the guidance of Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si and Dr. Sri Sumarsih, M.Si. Chemistry Department. Faculty of Science and Technology Airlangga University, Surabaya

ABSTRACT

Laccase is a biocatalyst that act for degradation of lignin. The lignin degradation is done by oxidation process. *Carbohydrate Binding Module* (CBM) is an important component on enzyme's active site which can increase enzyme activity. *Cbm-lcc2* gene have been inserted at pET30a plasmid and expressed in *Escherichia coli* BL21. Meanwhile, the optimalization of expression should be done. This research aims to optimalize the isolation and amplification of *cbm-lcc2* gene from pET30a plasmid in *Escherichia coli* TOP10 as a prior step to subclon the gene. The DNA of pET30a-*cbm-lcc2* acts as the DNA template. The methods are *Polymerase Chain Reaction* (PCR), purification and sequencing. PCR process is performed using *Taq* Polimerase and *Pfu* Polimerase. Isolation process with PCR is done in 30-35 cycles with denaturation condition in 95°C, annealing 53-63°C also extension in 72°C. The amplicon is purified and analyzed by sequencing to ensure that *cbm-lcc2* gene have been isolated and have 99% homology level with *cbm-lcc2* from pET30a.

Keyword: Laccase, Carbohydrate Binding Module, Polymerase Reaction Chain, DNA polymerase