

Putri, Kartika., 2019, Transformasi Gen Penyandi *Chimeric Laccase* di *Saccharomyces cerevisiae* BJ1824. Skripsi dibawah bimbingan Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. dan Dr. Sri Sumarsih, M. Si., Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Biobleaching merupakan proses degradasi lignin pada pulp dan kertas yang bersifat ramah lingkungan, salah satunya seperti enzim *chimeric* lakase. Lakase merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan sisi fenol dari polimer lignin. Pada penelitian ini digunakan gen *lcc2* dari *Pleurotus salmoneostramineus* yang dimodifikasi dengan CBM-GbtXyl43B yang diisolasi dari *Geobacillus thermoleovorans* IT-08. CBM (*Carbohydrate Binding Module*) memiliki kemampuan untuk memediasi antara enzim dengan substrat agar pengikatannya lebih lama sehingga aktivitas katalitik enzim menjadi lebih optimal. Penelitian ini dimulai dengan identifikasi gen melalui PCR koloni dengan gen insert berukuran 2058 bp dan dilakukan restriksi secara *single digest* dengan hasil pita ukuran 8012 bp yang diduga sebagai pYHM1- (*cbm-lcc2*), linier. Gen ini selanjut tersebut ditransformasikan pada *Saccharomyces cerevisiae* BJ1824 (*MATa, ura3, leu3, his3, trip1, pep4-3*) dengan metode *Lithium Acetate* dengan menggunakan media seleksi YNBD-U. Transforman yang tumbuh selanjutnya diekspresikan pada media produksi YNBG-U (*Yeast Nitrogen Base Galactose – Uracil*) dan YPG (*Yeast Peptone Galactose*). Sumber karbon yang digunakan ialah galaktosa karena pada plasmid pYHM1 digunakan promotor GAL1. Pada analisis SDS-PAGE, protein *chimeric laccase* berhasil terekspresikan dengan ukuran 80 kDa pada bagian ekstraseluler dan *associated cell*.

Kata kunci : *chimeric lakase, Fusi gen, Transformasi LiAc, Ekspresi*

Putri, Kartika., 2019, Transformation of *Chimeric Laccase Gene in Saccharomyces cerevisiae* BJ1824. Thesis under of guidance of Prof. Dr. Ni Nyoman Tri Puspaningsih, M.Si. and Dr. Sri Sumarsih, M. Si., Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

Bioleaching is an environmentally process of degrade the pulp and paper's lignin. Laccase is an enzyme which has an ability to react with the phenol side of the lignin polymer. In this study, the *lcc2* gene from *Pleurotus salmoneostramineus* was modified with CBM-GbtXyl43B isolated from *Geobacillus thermoleovorans* IT-08. CBM (Carbohydrate Binding Module) has an ability to mediate between enzymes and substrates, so the binding which is formed is longer and the catalytic activity of the enzyme becomes more optimal. This study began with the identification of genes through colony PCR with an insert gene measuring 2058 bp and performed a single digest restriction with the 8012 bp band size as pYHM1- (*cbm-lcc2*), linear. The DNA was transformed into *Saccharomyces cerevisiae* BJ1824 (*MATa*, *ura3*, *leu3*, *his3*, *trip1*, *pep4-3*) using the Lithium Acetate method using YNBD-U selection media. The transformant which is growth is expressed on the production media of YNBG-U (Yeast Nitrogen Base Galactose - Uracil) and YPG (Yeast Peptone Galactose). The carbon source used is galactose because the PYHM1 plasmid promoter *GAL1* is used. In the SDS-PAGE analysis, the chimeric laccase protein was successfully expressed with a size of 80 kDa in the extracellular part and associated cell.

Keyword : chimeric laccase, Gen Fusion, Transformation LiAc, Expression.