

Pengklonaran dan Ekspresi Gen Glucose Oxidase dari *Aspergillus niger* pada Vektor pYES2/CT dalam *Saccharomyces cerevisiae* INVSc1

Nina Hastuti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20252999&lokasi=lokal>

Abstrak

Enzim glucose oxidase (GOX) telah dikenal lama sebagai bahan baku biosensor glukosa. Enzim GOX mengkatalisis reaksi oksidasi dari -D-glucose menjadi D-glucono--lactone dan hidrogen peroksida (H₂O₂) dengan menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron. Klona gen GOX yang berasal dari *Aspergillus niger* di dalam vektor ekspresi *Saccharomyces cerevisiae* INVSc1 pYES2/CT telah berhasil di dapatkan pada penelitian sebelumnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengekspresikan gen GOX rekombinan di dalam *S. cerevisiae* INVSc1. Plasmid rekombinan pYES2/CT yang mengandung gen GOX berhasil ditransformasi ke dalam *S. cerevisiae* INVSc1 menggunakan metode LiAc. Protein total diekstraksi menggunakan berbagai variasi metode. Metode vortex dengan penambahan glass beads sebagai teknik ekstraksi yang optimal. Protein rekombinan diinduksi dengan konsentrasi inducer 2, 4 dan 8% galaktosa.

Hasil induksi ekspresi protein tidak terlihat secara jelas, walaupun kemungkinan besar protein rekombinan GOX terdapat pada fase supernatan. Berdasarkan uji menggunakan glucose assay dan analisis biosensor glukosa, protein rekombinan GOX induksi dengan 8% galaktosa selama 48 jam mempunyai aktivitas lebih tinggi dibandingkan GOX komersial. Pada masa datang, perbaikan perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil ekspresi protein GOX rekombinan yang optimal.

.....Glucose oxidase (GOX) enzyme has been applied as a raw material glucose biosensor. GOX enzyme catalyses the oxidation of -D-glucose into D-glucono--lactone and hydrogen peroxide (H₂O₂) using oxygen as an electron acceptor. Previously, GOX gene from *Aspergillus niger* was successfully cloned into *Saccharomyces cerevisiae* expression vector, pYES2/CT.

The purpose of this study was to express recombinant GOX gene in *S. cerevisiae* INVSc1. Recombinant plasmid pYES2/CT containing GOX gene was successfully transformed into *S. cerevisiae* INVSc1 using the LiAc method. Then the total proteins were extracted using various protocols with glass beads lyses method as the optimal extraction technique. The recombinant protein was induced by of 2, 4 and 8% galactose inducer.

However induced expression of this protein was not significantly observed, although it was shown that recombinant GOX protein was likely to be present in the supernatant phase. Based on glucose liquid assay and a preliminary glucose biosensor analysis, the recombinant GOX protein induced with 8% galactose for 48 hours had a higher activity than commercial GOX. In the future, further improvements need to be done to obtain optimal recombinant GOX protein expression.