

Kloning gen xilanase alkalotermofilik pada escherichia coli DH5 dan karakterisasi produk gennya = Cloning of alkalothermophilic xylanase genes in E-coli DH5 and characterization of the genes product

Shafa Noer, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20298782&lokasi=lokal>

Abstrak

Enzim merupakan biokatalis yang banyak dimanfaatkan dalam industri sebagai alternatif dari penggunaan bahan-bahan kimia yang mencemari lingkungan, salah satu diantaranya adalah enzim xilanase. Xilanase dalam industri dapat digunakan dalam proses pemutihan kertas, campuran pakan ternak, penjernihan sirup, produksi gula xilosa, dan sebagainya. Teknologi proses dalam industri umumnya dilakukan pada suhu dan pH yang tinggi, oleh karena itu dibutuhkan xilanase yang bersifat alkalotermofilik. Teknologi DNA rekombinan dilakukan agar enzim yang diproduksi mudah dimanipulasi dan dikembangkan untuk efisiensi. Laboratorium Teknologi Bioindustri, Pusat Laboratorium Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) yang berada di Puspiptek, Serpong, Jawa Barat telah mengisolasi isolat CMU dari Sumber Air Panas Cimanggu yang positif menghasilkan xilanase alkalotermofilik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan kloning gen penyandi enzim xilanase alkalotermofilik serta ekspresi enzim rekombinannya pada *Escherichia coli*. Hasil identifikasi daerah 16S rRNA secara parsial pada isolat ini menunjukkan bahwa isolat CMU berafiliasi pada *Bacillus halodurans*. Gen penyandi xilanase alkalotermofilik telah berhasil diamplifikasi dari genom isolat CMU dan dikloning ke dalam *E. coli* DH5 dengan menggunakan vektor pGEM-T Easy. Dari proses transformasi hasil ligasi vektor dan produk PCR menghasilkan 2 bakteri rekombinan, yang membawa gen xilanase yang mempunyai perbedaan sekuens, dinamakan Klon 2 dan Klon 3. Analisa aktivitas produk gen dari *E. coli* DH5 rekombinan Klon 2 dan Klon 3 menunjukkan bahwa bakteri rekombinan ini menghasilkan enzim xilanase yang alkalotermofilik dengan profil berbeda. Aktivitas enzim xilanase pada Klon 2 optimal pada pH 11 dan suhu 70°C (16,52 U/mg) sedangkan Klon 3 optimal pada pH 8 dan suhu 60°C (17,65 U/mg).

.....Enzyme known as a catalyst that has been widely used in industries as an alternative of chemicals process that polluted the environment. One of the important enzymes in industries is xylanase enzyme. Xylanase in industry can be used for bleaching process of pulp, rarefaction of syrup, producing of xylose sugar, mixed fodder, and so forth. Technology process in industry are generally conducted at high temperature and pH. Therefore, it requires a xylanase that has alkalothermophilic character. Recombinant DNA technology can make the gene product easily manipulated for efficiency. Center for Bio-industrial technology, The Agency for the Assessment and Application of Technology (BPPT) has isolated an isolate from Cimanggu Hot Spring that potentially produced an alkalothermophilic xylanase. The isolate designed as CMU.

The purpose of this study is to clone the encoding gene of alkalothermophilic xylanase and to express this gene in *Escherichia coli*. The region identification result of 16S rRNA of this isolate showed that the CMU isolate is closed relative to *Bacillus halodurans* species. The gene encoding for alkalothermophilic xylanase has been amplified from chromosomal DNA of CMU isolate and successfully cloned into *E. coli* DH5 using the pGEM-T Easy vector. The ligation and transformation produces two recombinant bacteria with different sequence, namely Clone- 2 and Clone- 3. Xylanase activity assay showed that both recombinant *E. coli* have

xylanase activity. The maximum activity of xylanase in clone-2 and clone-3 were reached at pH 11 and 700C (16.52 U/mg), and at pH 8 and 600C (17.65 U/mg), respectively.