

Desain Primer, Isolasi, dan Amplifikasi Gen blue laccase (POXA1b) dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kummer, 1871) = Primer Design, Isolation, and Amplification of the blue laccase (POXA1b) Gene from White Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kummer, 1871)

Adinda Rizki Putri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920528843&lokasi=lokal>

Abstrak

Pleurotus ostreatus atau jamur tiram putih merupakan salah satu jamur tiram konsumsi dengan kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan, salah satunya adalah kandungan enzim lakase yang berpotensi sebagai senyawa agen antikanker. Enzim lakase memiliki tingkat aktivitas yang tinggi dalam menghambat proliferasi sel kanker. Salah satu gen yang dapat mengkode enzim lakase pada *P. ostreatus* adalah gen POXA1b. Gen POXA1b dipilih karena memiliki tingkat ekspresi gen paling tinggi pada tiga fase hidup (miselia, primordia, dan tubuh buah). Saat ini belum pernah dilakukan desain primer, isolasi, dan optimasi primer dalam amplifikasi gen POXA1b dari *P. ostreatus* yang dibudidayakan di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mendesain tiga pasang primer secara *in silico*, mengisolasi gen POXA1b dari tubuh buah *P. ostreatus* dan amplifikasi gen POXA1b dari *P. ostreatus* yang dibuktikan dengan analisis hasil sekuensing. Penelitian ini diawali dengan desain primer gen POXA1b yang dilakukan dengan bantuan laman NCBI, PrimerBLAST, dan perangkat lunak Snapgene, kemudian persiapan sampel dan isolasi DNA dari tubuh buah *P. ostreatus*. Hasil isolasi DNA diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan spektrofotometer. Tahapan amplifikasi gen target dilakukan dengan teknik PCR. Hasil amplifikasi PCR divisualisasikan dengan elektroforesis gel agarosa lalu dilakukan analisis data. Konsentrasi isolat DNA dari tubuh buah *P. ostreatus* yang dihasilkan senilai 10,5—40,5 ng/nL dengan kemurnian senilai 1,694—2,189. Amplifikasi gen POXA1b dengan pasangan primer *poxa1b-3F-A* dan *poxa1b-3R-A* pada suhu annealing 59°C dan 60°C menghasilkan ampikon 244 bp. Berdasarkan hasil tersebut, desain primer, isolasi, dan optimasi primer pada amplifikasi gen POXA1b dari *P. ostreatus* hasil budidaya di Indonesia berhasil dilakukan dengan persentase homologi terhadap gen POXA1b dari *P. ostreatus* sebesar 100%.

.....*Pleurotus ostreatus* or white oyster mushroom is an edible oyster mushroom containing nutrients and bioactive compounds that are beneficial to health, one of them is the laccase enzyme content which has the potential as an anti-cancer agent. Laccase enzyme has a high level of activity in inhibiting the proliferation of cancer cells. One of the genes that encode the laccase enzyme in *P. ostreatus* is the POXA1b gene. The POXA1b gene was chosen because it has the highest gene expression in three life phases (mycelia, primordia, and fruit body) compared to other phenol oxidase genes. Currently, there has never been primer design, isolation, and primer optimization in the amplification of the POXA1b gene from *P. ostreatus* cultivated in Indonesia. Therefore, this study aims to design three pairs of primers *in silico*, isolate the POXA1b gene from fruiting bodies of *P. ostreatus*, and amplify the POXA1b gene from *P. ostreatus* as proven by analysis of the sequencing results. This study began with the design of POXA1b gene primers which was carried out with the NCBI website, PrimerBLAST, and Snapgene software, then sample preparation of *P. ostreatus* samples and DNA isolation from *P. ostreatus* fruiting body. The results of DNA isolation were measured for concentration and purity with a spectrophotometer. The stages of target gene

amplification were carried out by PCR technique. The results of amplification were visualized by agarose gel electrophoresis and then data analysis was performed. The concentration of the DNA isolates from *P. ostreatus* fruiting bodies produced an average range of 10,5—40,5 ng/nL with a purity value of 1,694—2,189. The POXA1b gene amplification with primer pairs *poxa1b-3F-A* dan *poxa1b-3R-A* at annealing temperature of 59°C dan 60°C produced amplicons in the range of 200—300 base pairs. Based on the results, primer design, isolation, and the primer optimization of the amplification of the POXA1b gene from the *P. ostreatus* cultivated in Indonesia were successfully with a homology percentage to the POXA1b gene from *P. ostreatus* of 100%.