

TRANSFORMASI PLASMID REKOMBINAN PEMBAWA GEN *PhaB* PADA *Escherichia coli* BL21

Bagas Alfian Dwiaryanda
20/454737/BI/10432

Dosen Pembimbing: Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.

INTISARI

Polyhydroxybutyrate (PHB) merupakan biopolimer bagian dari anggota *Polyhydroxyalkanoates* (PHA) yang secara umum diproduksi melalui jalur biosintesis mikrobial. Produksi PHB untuk keperluan industri masih belum ekonomis dibandingkan polimer petroleum. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan strain penghasil PHB melalui transformasi salah satu gen pengkode jalur biosintesis PHB yaitu gen *PhaB* pada *Escherichia coli* BL21. Pada penelitian ini dilakukan transformasi plasmid pUC57-*PhaB* pembawa gen *PhaB* pengkode *Acetoacetyl-CoA-reductase* yang merupakan salah satu katalis dalam jalur biosintesis PHB ke dalam *E. coli* BL21 menggunakan metode *electroporation*. Keberhasilan transformasi kemudian diuji dengan pertumbuhan pada medium dengan *ampicillin*, *colony* PCR, Sanger sekuensing serta dengan melihat pola pemotongan DNA dengan enzim restriksi *SalI* dan *SbfI*. *E. coli* BL21 berhasil menjadi sel inang transformasi plasmid rekombinan pUC57-*PhaB* terkonfirmasi melalui tumbuhnya transforman pada media LB *ampicillin*. Gen *PhaB* berhasil teramplifikasi pada 30 koloni tunggal saat dilakukan *colony* PCR, hasil sekuensing salah satu koloni tunggal menunjukkan identity sebesar 99,85% dengan *query coverage* 100% terhadap sekuens referensi gen *PhaB* (KP681583) sebagai kontrol positif, dan *whole sequence* gen *PhaB* sebesar 752 bp teramati sebagai pita tunggal dari hasil pemotongan enzim restriksi pada plasmid pUC57-*PhaB*.

Kata Kunci: *PhaB*, *polyhydroxybutyrate*, transformasi genetik, *E. coli* BL21

TRANSFORMATION OF RECOMBINANT PLASMID CARRYING *PhaB* GENE INTO *Escherichia coli* BL21

Bagas Alfian Dwiaryanda
20/454736/BI/10431

Supervisor: Ganies Riza Aristya, S.Si., M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

Polyhydroxybutyrate (PHB) is a biopolymer part of the Polyhydroxyalkanoates (PHA) group which is generally produced through microbial biosynthesis. PHB production for industrial purposes is still not economical compared to petroleum polymers. This research aims to develop a PHB-producing strain through transformation of one of the genes encoding the PHB biosynthesis pathway, namely the *PhaB* gene in *Escherichia coli* BL21. In this study, transformation of the pUC57-*PhaB* plasmid carrying the *PhaB* gene encoding Acetoacetyl-CoA-reductase, which is one of the catalysts in the PHB biosynthesis pathway, was carried out into *E. coli* BL21 using the electroporation method. The success of the transformation was then tested by grow in medium with ampicillin, colony PCR, Sanger sequencing and by looking at the DNA cutting pattern with the restriction enzymes *SalI* and *SbfI*. *E. coli* BL21 was successful in becoming a host cell for transformation of the pUC57-*PhaB* recombinant plasmid, confirmed by the growth of the transformant on ampicillin LB medium. The *PhaB* gene was successfully amplified in 30 single colonies when colony PCR was carried out, the results of sequencing one of the single colonies showed an identity of 99.85% with a query coverage of 100% against the *PhaB* gene reference sequence (KP681583) as a positive control, and the whole *PhaB* gene sequence was 752 bp was observed as a single band from the restriction enzyme cut on the pUC57-*PhaB* plasmid.

Keywords: *PhaB*, polyhydroxybutyrate, genetic transformation, *E. coli* BL21