

EKSPRESI ENZIM ALFA AMILASE TERMOSTABIL DARI *Brevibacillus* sp. DENGAN SEL INANG *Escherichia coli* BL21(DE3)

INTISARI

Oleh:

LEON BHAGAWANTA CAHYONO

16/400530/TP/11743

Enzim alfa amilase merupakan salah satu enzim yang memiliki aplikasi luas dalam industri pangan, salah satunya likuifikasi pati untuk memproduksi gula sederhana. Dalam proses likuifikasi pada suhu tinggi (90-100°C) dibutuhkan enzim yang bersifat termostabil. Salah satu sumber enzim termostabil yaitu bakteri termofilik *Brevibacillus* sp. yang berasal dari kawah Sikidang Dieng. Penelitian sebelumnya telah berhasil untuk melakukan kloning gen penyandi alfa amilase termostabil dari bakteri *Brevibacillus* sp. Penelitian ini bertujuan untuk mengekspresikan plasmid rekombinan pET-SUMO Amy A25 menggunakan *Escherichia coli* (*E. coli*) BL21(DE3) untuk memproduksi enzim alfa amilase termostabil. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah transformasi plasmid rekombinan berisi gen penyandi alfa amilase termostabil ke dalam sel kompeten *E. coli* BL21(DE3). Setelahnya, dilakukan analisis transforman dengan metode koloni PCR dan *sequencing* untuk mengetahui sekuens dari fragmen DNA dan orientasinya. Selanjutnya koloni *E. coli* BL21(DE3) positif yang mengandung insert pET-SUMO Amy A25 dilakukan optimasi ekspresi pada suhu 18°C dan 37°C dengan variasi waktu. Hasil optimasi kemudian dianalisis dengan menggunakan metode Sodium Dodecyl Sulfate-Polycarylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). Suhu optimum dari enzim alfa amilase termostabil dapat diketahui dengan melakukan uji aktivitas amilase dengan metode Dinitrosalisilat (DNS) pada berbagai suhu. Hasil dari penelitian ini adalah bahwa plasmid rekombinan pET-SUMO Amy A25 dapat diekspresikan dengan *E. coli* BL21(DE3) untuk memproduksi enzim alfa amilase termostabil. Enzim alfa amilase termostabil tersebut memiliki suhu optimum yaitu 70°C.

Kata kunci: enzim alfa amilase termostabil, plasmid rekombinan pET-SUMO Amy A25, *E. coli* BL21(DE3), ekspresi enzim

THERMOSTABLE ALPHA AMYLASE ENZYME EXPRESSION FROM *Brevibacillus* sp. USING *Escherichia coli* BL21(DE3) HOST

ABSTRACT

By

LEON BHAGAWANTA CAHYONO

16/400530/TP/11743

Alpha amylase is the enzyme that has wide application in food industry, such as for starch liquefaction to produce monosaccharides. Starch liquefaction process with high temperature (90-100°C) needs thermostable enzyme. One of the sources for thermostable enzyme is thermophilic bacteria *Brevibacillus* sp. from Sikidang crate, Dieng. Previous research has successfully cloned thermostable alpha amylase gene. This research was conducted to express recombinant plasmid pET-SUMO Amy A25 using *Escherichia coli* (*E. coli*) BL21(DE3) host for producing thermostable alpha amylase enzyme. The steps for the research were transformation of recombinant plasmid containing thermostable alpha amylase gene into the competent cell *E. coli* BL21(DE3). After that, transformant analysis were done with colony PCR method and sequencing was performed to know the DNA fragment sequence and its orientation. Next, the positive *E. coli* BL21(DE3) colony that have pET-SUMO Amy A25 insert expression optimization with 18°C and 37°C temperature with time variation. Crude protein extract was then analyzed using Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE) method. Thermostable alpha amylase enzyme optimum temperature can be determined by testing its amylase activity by the dinitrosalicylate (DNS) method at various temperature. The result of the research is that recombinant plasmid pET-SUMO Amy A25 can be expressed using *E. coli* BL21(DE3) for producing the thermostable alpha amylase enzyme. The thermostable alpha amylase enzyme has an optimum temperature of 70°C.

Keyword: thermostable alpha amylase enzyme, recombinant plasmid pET-SUMO Amy A25, *E. coli* BL21(DE3), enzyme expression