

REKOMBINASI PLASMID pWYH257-*cbhA* DAN TRANSFORMASI PLASMID REKOMBINAN SECARA *HEAT SHOCK* DAN ELEKTROPORASI

Oleh:
Joseph Chohansandhika
16/396937/BI/09695

INTISARI

Penggunaan selulosa sebagai bahan baku produksi bioetanol memerlukan jalur enzimatis untuk mengurai selulosa. Jalur enzimatis memerlukan biaya yang cukup tinggi sehingga dibutuhkan alternatif berupa penyisipan gen selulase untuk menghasilkan *strain* yang memiliki aktivitas selulolitik. Penelitian ini bertujuan untuk mengamplifikasi dan menyisipkan gen *cbhA* dari *Aspergillus niger* pada vektor ekspresi *yeast* (pWYH257) serta membandingkan efektivitas metode transformasi secara *heat shock* dan elektroporasi. RNA total dari *Aspergillus niger* diisolasi sebagai *template* untuk memperoleh cDNA dengan RT-PCR. Amplifikasi gen *cbhA* melalui PCR menggunakan primer spesifik dan divisualisasi dengan elektroforesis. Gen *cbhA* sebagai *insert* dan pWYH257 sebagai vektor dipotong menggunakan enzim restriksi *PstI* dan *SpeI*. *Insert* dan vektor diligasi dengan *T4 DNA ligase*. Plasmid rekombinan ditransformasi ke sel kompeten *E. coli* DH10B dengan metode *heat shock* dan elektroporasi. *Colony PCR* dilakukan untuk memeriksa keberadaan *cbhA* dalam transforman. Pada penelitian ini, gen *cbhA* yang diamplifikasi berukuran 1.514 bp, dan berhasil disisipkan ke dalam dua sel transforman. Transformasi menggunakan metode elektroporasi lebih efektif dibandingkan dengan *heat shock*.

Kata kunci: *Aspergillus niger*, *cbhA*, elektroporasi, *heat shock*, pWYH257

PLASMID RECOMBINATION OF pWYH257-*cbhA* AND RECOMBINANT PLASMID TRANSFORMATION USING HEAT SHOCK AND ELECTROPORATION

By:
Joseph Chohansandhika
16/396937/BI/09695

ABSTRACT

Utilization of cellulose as a raw material for bioethanol production requires an enzymatic pathway to break down cellulose. The enzymatic pathway requires high enough cost therefore an alternative is needed in the form of cellulase gene insertion to produce strains with cellulolytic activity. This study aims to amplify and insert the *cbhA* gene from *Aspergillus niger* in the yeast expression vector (pWYH257) and compare the effectiveness of transformation method by heat shock and electroporation. Total RNA from *Aspergillus niger* was isolated as a template for obtaining cDNA by RT-PCR. Amplification of the *cbhA* gene through PCR used specific primers and visualized by electrophoresis. *cbhA* gene as insert and pWYH257 as vector were cut using the *PstI* and *SpeI* restriction enzymes. Insert and vector were ligated with T4 DNA ligase. Recombinant plasmid was transformed into *E. coli* DH10B competent cells by heat shock and electroporation methods. Colony PCR was performed to determine *cbhA* existence inside transformant. In this research, the size of amplified *cbhA* gene was 1514 bp, and successfully cloned into two transformant cells. Transformation using electroporation method is more effective than heat shock.

Keywords : *Aspergillus niger*, *cbhA*, electroporation, heat shock, pWYH257