

MUTASI TERARAH Q516H DAN L480M GEN PENGKODE GLUKOSA OKSIDASE UNTUK REKONSTRUKSI PLASMID REKOMBINAN pPICZ α B-*GOX-Xho*

ANGGUN LARASSATI



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini, saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Mutasi Terarah Q516H dan L480M Gen Pengkode Glukosa Oksidase Plasmid Rekombinan pPICZαB-*GOX-Xho*” adalah karya saya yang disusun berdasarkan arahan dosen pembimbing dan belum pernah diajukan dalam bentuk apa pun pada perguruan tinggi mana pun. Seluruh sumber informasi yang digunakan, baik yang berasal dari karya terpublikasi maupun yang belum diterbitkan, telah dicantumkan di dalam teks serta dimasukkan dalam Daftar Pustaka pada bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari skripsi saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2026

Anggun Larassati
G8401221026

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

ANGGUN LARASSATI. Mutasi Terarah Q516H dan L480M Gen Pengkode Glukosa Oksidase untuk Rekonstruksi Plasmid Rekombinan pPICZαB-GOX-Xho. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI dan POPI ASRI KURNIATIN.

Glukosa oksidase merupakan enzim flavoprotein asal *Aspergillus niger* yang mengkatalisis oksidasi β-D-glukosa dengan spesifitas tinggi. Penelitian ini bertujuan melakukan rekonstruksi plasmid rekombinan pPICZαB-GOX-Xho dengan mutasi titik Q516H dan L480M. Metode yang digunakan meliputi perancangan sepasang primer mutagenik secara *in silico*, isolasi plasmid pPICZαB-GOX-Xho, PCR *site-directed mutagenesis*, serta transformasi plasmid produk PCR ke dalam sel kompeten *E. coli* DH5α melalui metode kejut panas. Hasil penelitian menunjukkan isolasi plasmid menghasilkan konsentrasi DNA sebesar 133,035 ng/μL dengan rasio kemurnian $A_{260/280}$ 1,86. Situs mutasi menggunakan primer spesifik Q516H dan L480M dengan posisi *mismatch* pada bagian tengah. Keberhasilan transformasi plasmid pPICZαB-GOX-Xho Q516H dibuktikan oleh tumbuhnya koloni pada media selektif mengandung zeocin 25 μg/mL, dengan hasil isolasi plasmid transforman sebesar 31,277 ng/μL dan pita tunggal pada elektroforesis gel agarosa. Transformasi pPICZαB-GOX-Xho Q516H/L480M belum berhasil menumbuhkan koloni yang diharapkan akibat rendahnya efisiensi PCR dan penurunan viabilitas sel kompeten.

Kata kunci: glukosa oksidase, L480M, pPICZαB-GOX-Xho, Q516H, *site-directed mutagenesis*

ABSTRACT

ANGGUN LARASSATI. Site-Directed Mutagenesis of Q516H and L480M Glucose Oxidase-Coding Gene for the Reconstruction of Recombinant Plasmid pPICZαB-GOX-Xho. Supervised by LAKSMI AMBARSARI and POPI ASRI KURNIATIN.

Glucose oxidase is a flavoprotein enzyme from *Aspergillus niger* that catalyzes the oxidation of β-D-glucose with high specificity. This study aimed to reconstruct the pPICZαB-GOX-Xho with point mutations Q516H dan L480M. The methods used included the *in silico* design of a pair of mutagenic primers, isolation of the pPICZαB-GOX-Xho plasmid, PCR *site-directed mutagenesis*, and transformation of the PCR products plasmids into *E. coli* DH5α competent cells via the heat shock method. The results of study showed that plasmid isolation yielded a DNA concentration of 133.035 ng/μL with an $A_{260/280}$ 1,86. The mutation sites were introduced using specific primers Q516H and L480M with a mismatch in the middle. The success of plasmid transformation pPICZαB-GOX-Xho Q516H plasmid was confirmed by the growth of colonies on selective medium containing 25 μg/mL zeocin, with a plasmid yield of 31.277 ng/μL and a single on agarose gel electrophoresis. Transformation of the pPICZαB-GOX-Xho Q516H/L480M plasmid did not result in the expected colony growth due to low PCR efficiency and reduced competent cell viability.

Keywords: glucose oxidase, L480M, pPICZαB-GOX-Xho, Q516H, *site-directed mutagenesis*



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**MUTASI TERARAH Q516H DAN L480M GEN PENGKODE
GLUKOSA OKSIDASE UNTUK REKONSTRUKSI
PLASMID REKOMBINAN pPICZ α B-*GOX-Xho***

ANGGUN LARASSATI

Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

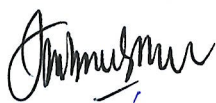
- 1 Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
- 2 Dr. dr. Husnawati, S.Ked., M.Si.

Judul Skripsi : Mutasi Terarah Q516H dan L480M Gen Pengkode Glukosa Oksidase untuk Rekonstruksi Plasmid Rekombinan pPICZaB-GOX-Xho

Nama : Anggun Larassati
NIM : G8401221026

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S.
NIP. 196011181994032001




Pembimbing 2:
Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si.
NIP. 197610012006042001

Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP. 197709152005012002




Tanggal Ujian:
09 Juli 2026

Tanggal Lulus:

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “Mutasi Terarah Q516H dan L480M Gen Pengkode Glukosa Oksidase untuk Rekonstruksi Plasmid Rekombinan pPICZ α B-*GOX-Xho*”, disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University.

Penulis ini menyadari bahwa selesainya skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Karenanya, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari. MS. selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si. selaku dosen pembimbing kedua. Terima kasih penulis sampaikan atas bimbingan, kesabaran, dan keluasan ilmu yang telah diberikan, bukan sekedar tuntutan akademik, melainkan inspirasi berharga bagi penulis dalam memahami kompleksitas biomolekuler hingga skripsi ini dapat diselesaikan. Terima kasih kepada Ketua Departemen Biokimia IPB University Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si., dan seluruh pembimbing akademik, penguji seminar hasil, dan penguji sidang komprehensif. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Departemen Biokimia yang telah membantu dalam penyediaan fasilitas dan bimbingan teknis selama pelaksanaan penelitian ini.

Keluarga tercinta, Terima kasih tak terhingga kepada Sri Widianingsih, S.Sos., ibu penulis, wanita tangguh dengan kasih sayang, doa, dan keringatnya, hingga penulis berada di titik ini. Teristimewa untuk Alm. Tito Riswana, ayah penulis, kasih sayang dan nilai-nilai yang telah diajarkan senantiasa menjadi lentera penguat di setiap langkah perjuangan penulis. Dan saudara penulis, Ayu Pratiwi, S.Psi. atas dukungan yang menjadi kekuatan tambahan bagi penulis dalam menyelesaikan studi ini.

Sahabat penulis, terima kasih penulis ucapkan kepada sahabat penulis (Nandya, Ayu, Zahra), Muhammad Luthfi Hanafi Putera, teman dekat penulis (Damar, Devi, Ghifaari, Zufar, Kei, Ali, Fino, Punjul, Syifa, Kevin), sahabat sekolah penulis (Rifa, Najmi, Aulia), Tim GOX *mutan* (Intan, Maudy), Teman-teman KKN penulis, dan sahabat penulis lainnya yang tidak bisa disebutkan satu-persatu, atas waktu, kehadiran, tawa, dan telinga yang selalu sedia mendengar keluh kesah penulis di luar hiruk pikuk laboratorium dan telah memberikan dukungan moral, serta meyakinkan penulis bahwa setiap tantangan penyusunan skripsi ini pasti dapat dilewati. Biokimia 59, Rubisco, terima kasih atas kebersamaan, perjuangan, dan tawa selama masa perkuliahan. Orang-orang baik, terima kasih kepada setiap pribadi yang telah hadir, mendoakan, dan mendukung penulis dalam perjalanan studi ini.

Bogor, Juli 2026

Anggun Larassati



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	x
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Hipotesis	2
1.5 Ruang Lingkup	2
1.6 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Glukosa Oksidase	3
2.2 Plasmid pPICZαB-GOX-Xho	4
2.3 Residu H516 dan M480 pada Gen Glukosa Oksidase (GOX)	5
2.4 Rekayasa Protein melalui <i>Site-Directed Mutagenesis</i>	6
III METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Penelitian	10
IV HASIL	14
4.1 Desain Primer Mutasi Q516H dan L480M	14
4.2 Plasmid pPICZαB-GOX-Xho	18
4.3 PCR <i>Site-Directed Mutagenesis</i> Mutasi Titik Q516H dan L480M	19
4.4 Koloni Transforman DNA Plasmid Rekombinan pPICZαB-GOX-Xho Q516H ke dalam Sel Kompeten <i>Escherichia coli</i> DH5α	20
4.5 Plasmid Transforman pPICZαB-GOX-Xho Q516H	20
4.6 Koloni Transforman pPICZαB-GOX-Xho Q516H/L480M ke dalam Sel Kompeten <i>Escherichia coli</i> DH5α	21
V PEMBAHASAN	23
5.1 Karakteristik Primer Mutation Q516H dan L480M	23
5.2 Plasmid pPICZαB-GOX-Xho	24
5.3 PCR <i>Site-Directed Mutagenesis</i> Q516H dan L480M	26
5.4 Transforman pPICZαB-GOX-Xho Q516H ke dalam Sel Kompeten <i>Escherichia coli</i> DH5α	26
5.5 Transforman pPICZαB-GOX-Xho Q516H /L480M ke dalam Sel Kompeten <i>Escherichia coli</i> DH5α	28
VI SIMPULAN DAN SARAN	29
6.1 Simpulan	29
6.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	36
RIWAYAT HIDUP	46



DAFTAR TABEL

1	Pengukuran PCR <i>Site-Directed Mutagenesis</i> menggunakan <i>pfu</i> DNA polymerase	12
	Karakteristik fisikokimia kandidat primer mutasi titik Q516H	15
	Karakteristik fisikokimia kandidat primer mutasi titik L480M	16
	Karakteristik primer mutasi titik Q516H dan L480M pada gen <i>GOX</i>	17
	Analisis parameter termodinamika dan struktur <i>hairpin</i> primer mutasi	17
2	Kuantifikasi <i>E. coli</i> pembawa plasmid pPICZαB- <i>GOX-Xho</i> menggunakan Spektrofotometer NanoDrop	18

DAFTAR GAMBAR

1	Reaksi glukosa oksidase (<i>GOX</i>)	3
2	Peta vektor plasmid pPICZα (A, B, dan C)	5
3	Skema protokol <i>site-directed mutagenesis</i>	8
4	Mekanisme <i>whole-plasmid</i> PCR mutagenesis, digesti <i>DpnI</i> , dan <i>in vivo</i> assembly pada sel <i>E. coli</i>	9
5	Posisi pasangan primer H516Q_F dan H516Q_R pada gen <i>GOX</i>	14
6	Posisi pasangan primer M480L_F dan M480L_R pada gen <i>GOX</i>	14
7	Elektroforegram isolasi <i>E. coli</i> pembawa plasmid pPICZαB- <i>GOX-Xho</i>	19
8	<i>E. coli</i> DH5α transforman pPICZαB- <i>GOX-Xho</i> mutasi Q516H pada media LSLB agar + zeocin 25 µg/mL	20
9	Elektroforegram koloni tunggal transforman plasmid pPICZαB- <i>GOX-Xho</i> Q516H	21
10	<i>E. coli</i> DH5α transforman cetakan pPICZαB- <i>GOX-Xho</i> Q516H/L480M pada media LSLB agar + zeocin 25 µg/mL	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	37
2	Komposisi media	38
3	Preparasi reagen	39
4	Komposisi komponen pada HiPure Plasmid Mini Kit	40
5	Desain Primer Mutagenik	41
6	Komposisi campuran dan kondisi PCR mutasi Q516H	42
7	Komposisi campuran dan kondisi PCR mutasi L480M	43
8	Kuantifikasi koloni tunggal transforman plasmid pPICZαB- <i>GOX-Xho</i> Q516H	44
9	Peta plasmid pPICZα- <i>GOX</i>	45