

**OPTIMASI PRODUKSI DAN KARAKTERISASI GLUKOSA
OKSIDASE IPBCC 08.610 REKOMBINAN
PADA *Pichia pastoris***

NANDYA ALIKA KHOIRUNNISA



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



@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.

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini, saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Optimasi Produksi dan Karakterisasi Glukosa Oksidase IPBCC 08.610 Rekombinan pada *Pichia pastoris*” adalah karya saya berdasarkan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun pada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan telah dicantumkan dalam bagian Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

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

Bogor, Juli 2026

Nandya Alike Khoirunnisa
G8401221105

- 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

NANDYA ALIKA KHOIRUNNISA. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Glukosa Oksidase IPBCC 08.610 Rekombinan pada *Pichia pastoris*. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI dan POPI ASRI KURNIATIN.

Glukosa oksidase (GOX) merupakan enzim yang banyak dimanfaatkan dalam industri dan bioteknologi. Penelitian ini bertujuan mengoptimasi produksi GOX rekombinan dari *Aspergillus niger* IPBCC 08.610 yang diekspresikan pada *Pichia pastoris* BG11 dengan penginduksi metanol melalui variasi metanol 1%, 2%, dan 3% serta mengkarakterisasi protein yang dihasilkan. Karakterisasi kadar protein menggunakan metode Bradford, aktivitas enzim menggunakan metode Horseradish Peroxidase (HRP) - [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] (ABTS), prediksi bobot molekul menggunakan sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), dan prediksi struktur protein menggunakan AlphaFold3, dan Biopython. Hasil menunjukkan metanol 3% menghasilkan kadar protein total tertinggi sebesar 24,15 mg pada ekstrak kasar dan 10,914 mg pada pengendapan amonium sulfat. Pengujian HRP-ABTS dan SDS-PAGE belum mengonfirmasi aktivitas maupun keberadaan pita protein GOX, sedangkan analisis *in silico* menunjukkan kualitas struktur dan potensi kelarutan yang tinggi. Optimasi lebih lanjut masih diperlukan untuk menghasilkan GOX rekombinan yang aktif.

Kata kunci: Glukosa oksidase (GOX), *Pichia pastoris*, induksi metanol, protein rekombinan

ABSTRACT

NANDYA ALIKA KHOIRUNNISA. Optimization of Production and Characterization of Recombinant Glucose Oxidase IPBCC 08.610 in *Pichia pastoris*. Supervised by LAKSMI AMBARSARI and POPI ASRI KURNIATIN

Glucose oxidase (GOX) is an enzyme widely used in industrial and biotechnological applications. This study aimed to optimize the production of recombinant GOX from *Aspergillus niger* IPBCC 08.610 expressed in *Pichia pastoris* BG11 using methanol as an inducer at concentrations of 1%, 2%, and 3%, and to characterize the resulting recombinant protein. Protein characterization was performed using the Bradford assay, Horseradish Peroxidase (HRP)-2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), AlphaFold3, and Biopython. The results showed that 3% methanol produced the highest total protein content, reaching 24.15 mg in the crude extracellular extract and 10.914 mg after ammonium sulfate precipitation. HRP-ABTS and SDS-PAGE analyses did not confirm GOX activity or the presence of the target GOX protein band. In contrast, *in silico* analyses indicated high structural confidence and favorable protein solubility. Further optimization is required to obtain an active recombinant GOX.

Keywords: Glucose oxidase (GOX), *Pichia pastoris*, methanol induction, recombinant protein



@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.

© 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.

OPTIMASI PRODUKSI DAN KARAKTERISASI GLUKOSA OKSIDASE IPBCC 08.610 REKOMBINAN PADA *Pichia pastoris*

NANDYA ALIKA KHOIRUNNISA

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

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 Dr. Dimas Andrianto, S.Si., M.Si.
- 2 Prof. Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si.



Judul Skripsi : Optimasi Produksi dan Karakterisasi Glukosa Oksidase IPBCC
08.610 Rekombinan pada *Pichia pastoris*

Nama : Nandya Alike Khoirunnisa
NIM : G8401221105

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S.
NIP. 19601118199403200

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:
10 Juli 2026

Tanggal Lulus:



- 

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat dalam menempuh pendidikan Program Sarjana di IPB University. Penelitian berjudul “Optimasi Produksi dan Karakterisasi Glukosa Oksidase IPBCC 08.610 Rekombinan pada *Pichia pastoris*” dilaksanakan sejak November 2025 sampai Mei 2026.

Perjalanan dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai tantangan dan kendala yang dihadapi selama prosesnya. Berkat bimbingan, dukungan, serta bantuan dari berbagai pihak, skripsi ini dapat diselesaikan. Segala kebaikan yang telah diberikan tidak dapat dibalas sepenuhnya selain ungkapan terima kasih yang sebesar-besarnya. Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada:

1. Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S. selaku pembimbing I dan Dr. Popi Asri Kurniatin, S. Si., Apt., M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberi bimbingan dan arahan dengan sabar. Setiap diskusi dan masukan yang diberikan menjadi pengalaman berharga serta inspirasi dalam membentuk pola pikir kritis selama menghadapi permasalahan penelitian.
2. Keluarga tercinta. Terima kasih kepada ibu, ayah, serta adik penulis atas pengorbanan, dukungan, dan doa yang tak pernah putus.
3. Staf Laboratorium Departemen Biokimia yang telah membantu dalam penyediaan fasilitas dan bimbingan teknis selama pelaksanaan penelitian.
4. Sahabat dan rekan seperjuangan. Apresiasi dan terima kasih untuk Zahra, Najmi, Anggun, Ayu, Intan, Maudy atas waktu, bantuan teknis, diskusi, serta kebersamaan yang penuh makna selama proses penelitian di Laboratorium Biokimia. Terima kasih untuk Belva, Diana, Biki, Bitu, Shila, Tsabit, Ayu, Anggun, Damar, Alena, Bakhita, Nadya, ka Ical, ka Iber, Sofia, Ilham, Acep, Firli, Ica, serta sahabat penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Doa serta dukungan moral yang diberikan selama proses penyusunan skripsi ini sangat berarti.
5. Teman-teman Biokimia 59, Rubisco atas kebersamaan, diskusi, dan semangat yang diberikan.

Bogor, Juli 2026

Nandya Alike Khoirunnisa



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 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Glukosa Oksidase	3
2.2 Plasmid pPICZ α B- <i>GOX-Xho</i>	4
2.3 <i>Pichia pastoris</i>	6
2.4 Sekresi protein di <i>Pichia pastoris</i>	8
2.5 Produksi Enzim	9
2.6 Fraksinasi Enzim	10
2.7 Karakterisasi Enzim	11
III METODE	12
3.1 Waktu dan Tempat	12
3.2 Alat dan Bahan	12
3.3 Ruang Lingkup Penelitian	12
IV HASIL	17
4.1 Prediksi Struktur <i>GOX</i> Menggunakan AlphaFold3	17
4.2 Prediksi Potensi Kelarutan Protein Menggunakan Biopython	18
4.3 Produksi <i>GOX</i> Rekombinan dari <i>Pichia pastoris</i>	19
4.4 Bobot Molekul <i>GOX</i> Rekombinan	21
V PEMBAHASAN	23
5.1 Prediksi Struktur <i>GOX</i> Menggunakan AlphaFold3	23
5.2 Prediksi Potensi Kelarutan Protein Menggunakan Biopython	24
5.3 Produksi <i>GOX</i> Rekombinan dari <i>Pichia pastoris</i>	25
5.4 Aktivitas Enzim	28
5.5 Bobot Molekul <i>GOX</i> Rekombinan	30
VI SIMPULAN DAN SARAN	33
6.1 Simpulan	33
6.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	42
RIWAYAT HIDUP	50

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.



DAFTAR TABEL

1	Nilai pTM <i>GOX wild type</i> dan <i>GOX</i> rekombinan	17
2	Potensi kelarutan <i>GOX wild type</i> dan <i>GOX</i> rekombinan	18
3	Pertumbuhan <i>Pichia pastoris</i> BG11 selama produksi <i>GOX</i> rekombinan	20
4	Kadar protein total <i>GOX</i> rekombinan sebelum dan setelah pengendapan amonium sulfat	21

DAFTAR GAMBAR

1	Reaksi oksidasi oleh enzim <i>GOX</i>	3
2	Peta plasmid rekombinan pPICZαB- <i>GOX-Xho</i>	5
3	Pohon filogenetik spesies dalam genus <i>Komagataella</i>	6
4	Jalur metabolisme metanol di <i>Pichia pastoris</i>	7
5	Jalur sekresi protein pada <i>Pichia pastoris</i>	8
6	Prediksi Struktur <i>GOX wild type</i> menggunakan AlphaFold3	17
7	Prediksi struktur <i>GOX</i> rekombinan menggunakan AlphaFold3	18
8	Hasil produksi <i>GOX</i> rekombinan dari <i>Pichia pastoris</i> BG11	19
9	Elektroforegram protein ekstraseluler <i>Pichia pastoris</i> BG11	22
10	Reaksi oksidasi glukosa oleh <i>GOX</i> dan deteksi H ₂ O ₂ menggunakan HRP-ABTS pada panjang gelombang 420 nm	29

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	43
2	Sekuens <i>GOX Wild Type</i>	44
3	Sekuens <i>GOX</i> Rekombinan	44
4	Contoh perhitungan penyesuaian OD ₆₀₀ kultur	44
5	Kurva standar BSA	45
6	Data absorbansi uji kadar protein ekstrak kasar	46
7	Data absorbansi uji kadar protein pengendapan amonium sulfat 80%	46
8	Data absorbansi <i>kinetic cycle</i> uji aktivitas enzim pada ekstrak kasar	46
9	Data absorbansi <i>kinetic cycle</i> uji aktivitas enzim pada fraksi amonium sulfat 80%	47
10	Komposisi media pertumbuhan yang digunakan	48
11	Komposisi <i>Buffer</i> dan pereaksi yang digunakan	48
12	Komposisi SDS-PAGE	49