

REKONSTRUKSI PLASMID pPICZ α B-GOX-Xho MELALUI MUTASI TERARAH Q516H DAN V23I

INTAN SAFITRI



**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 “Rekonstruksi Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho melalui mutasi terarah Q516H dan V23I” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada 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 dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

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

Bogor, Juli 2026

Intan Safitri
G8401221089



@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

INTAN SAFITRI. Rekonstruksi Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho melalui Mutasi Terarah Q516H dan V23I. Dibimbing oleh LAKSMI AMBARSARI dan POPI ASRI KURNIATIN.

Glukosa oksidase (GOX) merupakan enzim golongan oksidoreduktase yang banyak dimanfaatkan dalam bidang bioteknologi karena kemampuannya mengkatalisis oksidasi β -D-glukosa menjadi D-glukono- δ -lakton dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa konstruksi plasmid pPICZ α B-GOX-Xho mengandung beberapa mutasi acak, di antaranya substitusi histidin menjadi glutamin pada residu 516 (Q516H) dan isoleusin menjadi valin pada residu 23 (V23I), yang berpotensi memengaruhi konformasi enzim. Penelitian ini bertujuan merekonstruksi kedua mutasi tersebut melalui mutasi titik (*point mutation*) menggunakan metode *site-directed mutagenesis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer mutagenesis Q516H dan V23I memenuhi kriteria desain serta konstruksi plasmid berhasil diamplifikasi menggunakan metode *whole plasmid* PCR. Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H berhasil ditransformasikan ke dalam *Escherichia coli* DH5 α dan diisolasi dengan kualitas DNA yang baik.

Kata kunci: glukosa oksidase, mutasi titik, plasmid rekombinan, pPICZ α B, *site-directed mutagenesis*.

ABSTRACT

INTAN SAFITRI. Reconstruction of the pPICZ α B-GOX-Xho Plasmid through Q516H and V23I Site-Directed Mutagenesis. Supervised by LAKSMI AMBARSARI and POPI ASRI KURNIATIN.

Glucose oxidase (GOX) is an oxidoreductase enzyme widely used in biotechnology due to its ability to catalyze the oxidation of β -D-glucose into D-glucono- δ -lactone and hydrogen peroxide (H_2O_2). Previous studies showed that the pPICZ α B-GOX-Xho plasmid construct contained several random mutations, including the substitution of histidine with glutamine at residue 516 (Q516H) and isoleucine with valine at residue 23 (V23I), which may affect the enzyme conformation. This study aimed to reconstruct these two mutations through point mutagenesis using the site-directed mutagenesis method. The results showed that the Q516H and V23I mutagenic primers met the design criteria, and the plasmid constructs were successfully amplified using the whole-plasmid PCR method. The pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H plasmid was successfully transformed into *Escherichia coli* DH5 α and subsequently isolated with good DNA quality.

Keywords: glucose oxidase, point mutation, recombinant plasmid, pPICZ α B, *site-directed mutagenesis*.



@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.

REKONSTRUKSI PLASMID pPICZ α B-GOX-Xho MELALUI MUTASI TERARAH Q516H DAN V23I

INTAN SAFITRI

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 Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
- 2 Prof. Dr. drh. Hasim, DEA.



Judul Skripsi : Rekonstruksi plasmid pPICZ α B-GOX-Xho melalui mutasi terarah Q516H dan V23I

Nama : Intan Safitri
NIM : G8401221089

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 19770915 2005012002

Tanggal Ujian:
17 Juli 2026

Tanggal Lulus:



@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.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Oktober 2025 sampai bulan Mei 2026 ini dengan judul “Rekonstruksi Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho melalui mutasi terarah Q516H dan V23I”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari M.S. selaku pembimbing pertama dan Dr. Popi Asri Kurniatin S.Si., Apt., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada staf Laboratorium Biokimia yang telah membantu dalam penyediaan fasilitas serta memberikan bimbingan teknis selama pelaksanaan penelitian. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, adik serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya. Tak lupa juga, kepada teman-teman yang mendukung saya, Ayla Azzahra, Dythia Asma, Salma, Indriyani, Shofi Khadijah, Shafiyah Syahidah, Tazkiyah Aulia, Annisa, Camila Niken, Intan Sukma, Mayla Hijrah, Mira Dwi, Ana Aulia, Fitrah Immaniar, Nusaibah Isba, Khaalisya. Rekan-rekan Tim GOD yang membantu dan menemani selama penelitian (Anggun, Maudy, Ayu, Nandya). Serta rekan-rekan Biokimia angkatan 59 yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2026

Intan Safitri
G8401221089

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan 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 mengumunkan 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.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Ruang Lingkup	2
1.6 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Glukosa Oksidase	3
2.2 Plasmid pPICZ α	3
2.3 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	4
2.4 <i>Site directed Mutagenesis</i>	6
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Prosedur Kerja	8
IV HASIL	11
4.1 Primer Q516H dan V23I	11
4.2 Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho	12
4.3 Sel Kompeten <i>E. coli</i> DH5 α , pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H dan Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H	13
4.4 Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H	14
4.5 Sel Kompeten <i>E. coli</i> DH5 α , pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H-V23I dan Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H-V23I	16
V PEMBAHASAN	17
5.1 Primer Q516H dan V23I	17
5.2 Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho	18
5.3 Sel Kompeten <i>E. coli</i> DH5 α , pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H dan Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H	19
5.4 Plasmid pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H	22
5.5 Sel Kompeten <i>E. coli</i> DH5 α , pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H-V23I dan Transforman <i>E. coli</i> DH5 α _pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H-V23I	23
VI SIMPULAN DAN SARAN	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	34
RIWAYAT HIDUP	53



DAFTAR TABEL

1	Kuantifikasi pPICZ α B-GOX- Xho hasil isolasi menggunakan kit	13
2	Kuantifikasi Plasmid pPICZ α B- GOX- Xho-Q516H	15

DAFTAR GAMBAR

1	Mekanisme amplifikasi DNA menggunakan PCR	4
2	Peta plasmid pPICZ α	5
3	Posisi penempelan primer mutagenesis V23I	11
4	Posisi penempelan primer mutagenesis Q516H	12
5	Elektroforegram hasil isolasi plasmid pPICZ α B-GOX-Xho	12
6	Transforman <i>E. coli</i> DH5 α pPICZ α B-GOX-Xho pada media selektif LSLB + Zeosin	14
7	Elektroforegram plasmid pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H	15
8	Transforman <i>E. coli</i> DH5 α pPICZ α B-GOX-Xho-Q516H-V23I pada media selektif LSLB + zeosin	16

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	34
2	Komposisi media	35
3	Preparasi reagen	36
4	Kandidat primer Q516H	38
5	Kandidat primer V23I	40
6	Prediksi Pembentukan Heterodimer dan Self-dimer Primer Q516H	42
7	Hasil analisis struktur hairpin primer Q516H	43
8	Prediksi Pembentukan Heterodimer dan Self-dimer Primer V23I	47
9	Hasil analisis struktur hairpin primer V23I	48
10	Kondisi PCR Mutagenesis Gen GOX	51
11	Peta plasmid rekombinan pPICZ α B-GOX-Xho	52