

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN EKSPRESI HETEROLOG GEN PENYANDI LAKASE *Trametes hirsuta* EDN082 DALAM SISTEM *Pichia pastoris*

MUHAMAD ILHAM



PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025



@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 TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Isolasi, Karakterisasi dan Ekspresi Heterolog Gen Penyandi Lakase *Trametes hirsuta* EDN082 dalam Sistem *Pichia pastoris*” 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 tesis ini.

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

Bogor, Juni 2025

Muhamad Ilham
NIM P0501212023



@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

RINGKASAN

MUHAMAD ILHAM. Isolasi, karakterisasi dan ekspresi heterolog gen penyandi lakase *Trametes hirsuta* EDN082 dalam sistem *Pichia pastoris*. Dibimbing oleh ANJA MERYANDINI, DEDE HERI YULI YANTO, dan ASRUL MUHAMAD FUAD.

Lakase (EC 1.10.3.2) merupakan enzim multifungsi dari kelompok Multi-Copper Oxidase (MCO) yang mampu mengoksidasi berbagai jenis senyawa fenolik maupun non-fenolik. Enzim ini digunakan secara luas dalam berbagai bidang, termasuk penggunaannya sebagai "*green catalysts*" dalam bioremediasi limbah cair berbahaya. Lakase Native dari *T. hirsuta* EDN082 telah berhasil diisolasi dan diketahui aktivitas bioremediasinya pada penelitian terdahulu. Pada penelitian ini, salah satu gen penyandi lakase berhasil diskriminasi dari transkriptom *T. hirsuta* EDN082 menggunakan novel degenerate primer. Gen tersebut dinamai gen *Thlacc1* yang kemudian dikarakterisasi secara bioinformatik dan menunjukkan kekerabatan dengan kelompok minor lakase F, memiliki kemiripan tinggi terhadap lakase 3 (AOX15704.1) sebesar 99,20%, berukuran 1497 bp (GC content 62,66%) yang menyandi 499 asam amino mature protein. Gen tersebut membawa region pengikatan tembaga (Cu) yang umum dimiliki oleh gen-gen penyandi lakase berupa L1 (HWHGFFQ), L2 (HSHLSTQ), L3 (HPFHLHG) dan L4 (HCHIDFHL), serta termasuk dalam kelompok *High-Redox Potential Laccase* (HPRL) berdasarkan residu asam amino disekitar region L4. Gen *Thlacc1* menyandi jenis lakase yang didominasi oleh region hidrofilik dengan titik isoelektrik pada pH 5,2 serta mengandung 4 situs potensial N-glikosilasi dan 11 situs potensial O-glikosilasi. Pemodelan struktur tiga dimensi (3D) protein mengungkap kemiripan tinggi dengan struktur lakase *T. hirsuta* (PDB ID: 3PXL, nilai RMSD 0.575 Å) dan memiliki kofaktor berupa 4 atom tembaga yang terdiri atas T1, T2 dan T3 α /T3 β dengan rongga pengikatan substrat berpusat pada residu His458.

Gen *Thlacc1* berhasil dikonstruksi ke dalam pGEM-Teasy sebagai vektor kloning dan pPICZaB sebagai vektor ekspresi. Gen tersebut di-fusi pada N-terminal dengan sinyal sekresi α -mating factor lewat penambahan situs *EcoRI* pada ujung 5' dan fusi C-terminal dengan 6xHis tag lewat penambahan situs *NotI* pada ujung 3'. *Expression cassette* pPICZaB_Thlacc1 berhasil diintegrasikan kedalam genom *P. pastoris* BG11 Δ AOX1 pada lokus promoter *AOX1* dan menghasilkan 64 strain, dimana 63 strain (98,4%) diantaranya mampu mensekresikan lakase rekombinan rThlacc1 kedalam medium yang diinduksi oleh methanol. Aktivitas oksidasi terhadap ABTS yang diamati mencapai rata-rata 0,0136 U/mL pada jam ke-18. Terdapat 2 strain terbaik yang menghasilkan rThlacc1 dengan aktivitas 0,434 Unit/mL (koloni 20) dan 0,411 Unit/mL (koloni 42) pada jam ke-72. Lakase rekombinan rThlacc1 memiliki ukuran 64 kDa atau 6,6 kDa lebih besar dibanding native lakase dari *T. hirsuta* EDN082.

Kata kunci: Ekspresi heterologus, karakterisasi bioinformatik, kloning gen, lakase rekombinan, *Pichia pastoris*, *Trametes hirsuta* EDN082.



SUMMARY

MUHAMAD ILHAM. Isolation, Characterization, and Heterologous Expression of Laccase-Encoding Gene from *Trametes hirsuta* EDN082 in *Pichia pastoris*. Supervised by ANJA MERYANDINI, DEDE HERI YULI YANTO, and ASRUL MUHAMAD FUAD.

Laccase (EC 1.10.3.2) is a multi-purpose enzyme belong to the Multi-Copper Oxidase (MCO) family, capable of oxidizing various phenolic and non-phenolic compounds. This enzyme is widely used in various fields, including its application as a "green catalyst" in the bioremediation of hazardous liquid waste. Native laccase from *T. hirsuta* EDN082 has been successfully isolated, demonstrating bioremediation activity in previous studies. In this study, a laccase-encoding gene was screened from the transcriptome of *T. hirsuta* EDN082 using novel degenerate primers. The gene was named *Thlacc1* where the bioinformatic characterization showed a close relationship with the minor laccase group F, exhibiting a high similarity of 99,20% to laccase 3 (AOX15704.1), with a length of 1497 bp (GC content 62,66%) encoding a mature protein of 499 amino acids. The gene contains copper (Cu) binding regions commonly found in laccase-encoding genes, specifically L1 (HWHGFFQ), L2 (HSHLSTQ), L3 (HPFHLHG), and L4 (HCHIDFHL). It belongs to the High-Redox Potential Laccase (HPRL) group based on the amino acid residues surrounding the L4 region. The *Thlacc1* gene encodes a laccase characterized by hydrophilic regions, with an isoelectric point at pH 5,2, four potential N-glycosylation sites and eleven potential O-glycosylation sites. Three-dimensional (3D) structural modeling of the protein revealed a high similarity to the laccase structure from *T. hirsuta* (PDB ID: 3PXL, RMSD value 0,575 Å), and it has four copper co-factors composed of T1, T2, and T3 α /T3 β with substrate binding cavity centered at His458.

The *Thlacc1* gene was successfully constructed into pGEM-Teasy cloning vector and pPICZ α B expression vector. The gene was fused at the N-terminus with the α -mating factor secretion signal by adding an *EcoRI* restriction site at the 5' end and the C-terminus with a 6xHis tag by adding a *NotI* restriction site at the 3' end. The expression cassette pPICZ α B_Thlacc1 was successfully integrated into the genome of *P. pastoris* BG11 Δ AOX1 at the locus of the AOX1 promoter, resulting in 64 strains. Among these, 63 strains (98.4%) could secrete the recombinant laccase rThlacc1 into the medium induced by methanol, exhibiting an average oxidation activity against ABTS of 0.0136 U/mL at 18 hours post-induction. The best two strains were observed to produce rThlacc1 with activities of 0.434 U/mL (colony 20) and 0.411 U/mL (colony 42) at 72 hours post-induction. The recombinant laccase rThlacc1 has a molecular weight of 64 kDa, which is 6.6 kDa larger than the native laccase from *T. hirsuta* EDN082.

Keywords: Bioinformatic characterization, gene cloning, heterologous expression, *Pichia pastoris*, recombinant laccase, *Trametes hirsuta* EDN082.



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 2025
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



@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

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN EKSPRESI HETEROLOG GEN PENYANDI LAKASE *Trametes hirsuta* EDN082 DALAM SISTEM *Pichia pastoris*

MUHAMAD ILHAM

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains pada
Program Studi Bioteknologi

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

1. Dr. Rika Indri Astuti, S.Si., M.Si



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.



Judul Tesis : Isolasi, Karakterisasi dan Ekspresi Heterolog Gen Penyandi Lakase
Trametes hirsuta EDN082 dalam Sistem *Pichia pastoris*

Nama : Muhamad Ilham

NIM : P0501212023

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh,

Pembimbing 1 :
Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S.



Pembimbing 2 :
Dr. Dede Heri Yuli Yanto, S.Si, M.Agr

Pembimbing 3 :
Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si

Diketahui oleh,

Ketua Program Studi
Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si.
NIP. 196204191989031001



Dekan Pascasarjana
Prof. Dr. Ir. Dodik Ridho Nurrochmat, M.Sc.F.Trop., IPU
NIP.197003291996081001



Tanggal Ujian : 06 Mei 2025

Tanggal Lulus: 18 JUN 2025



@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

Alhamdulillahiraobbil'aalamiin, Puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah Yang Maha Esa karena berkat izin, rahmat, dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Isolasi, Karakterisasi dan Ekspresi Heterolog Gen Penyandi Lakase *Trametes hirsuta* EDN082 dalam Sistem *Pichia pastoris*”.

Penulis mengucapkan terima kasih untuk Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S sebagai pembimbing I, Dr. Dede Heri Yuli Yanto, S.Si, M.Agr sebagai pembimbing II, dan Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si sebagai pembimbing III yang telah membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan tesis ini. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Ketua Program Studi Bioteknologi Prof. Dr. Ir. Miftahudin, M.Si., penguji luar komisi pembimbing Dr. Rika Indri Astuti dan seluruh dosen pengajar di Program Studi Bioteknologi. Selanjutnya, ucapan terimakasih penulis sampaikan untuk Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) Republik Indonesia yang sudah mendanai studi magister penulis hingga selesai. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada staf dan manajemen pengelola integrated Laboratory of Bioproduct, dan Laboratorium genomik (BRIN), peneliti-peneliti dari kelompok riset rekayasa komposit mikroba (MCE-PRMT), rekan-rekan penelitian (Silviyani Nurul Karimah, Regita Reynata, dan Sunu Pertiwi) serta rekan-rekan Bioteknologi Angkatan 2021/2022.

Penulis juga mengucapkan terimakasih banyak kepada orang tua dan saudara-saudara penulis serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayang sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik. Penulis berharap karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya pengembangan lakase rekombinan di Indonesia.

Bogor, Juni 2025

Muhamad Ilham



DAFTAR ISI

PRAKATA	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I PENDAHULUAN	1
1. Latar Belakang	1
2. Perumusan Masalah	2
3. Tujuan	2
4. Manfaat	3
5. Ruang Lingkup	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 <i>Trametes hirsuta</i>	4
2.2 Keragaman dan Karakteristik Gen Penyandi Lakase Genus <i>Trametes</i>	4
2.3 Enzim Lakase	5
2.4 Karakteristik Enzimatik Lakase pada Fungi	7
2.5 <i>Pichia pastoris</i>	8
III METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Kerja	11
3.3.1 Preparasi Isolat	11
3.3.2 Ekstraksi RNA Total <i>Trametes hirsuta</i> EDN082	11
3.3.3 Sintesis cDNA	12
3.3.4 Desain Degenerate Primer untuk Eksplorasi Gen Lakase	12
3.3.5 Eksplorasi Gen-Gen Lakase dari Transkriptom <i>T. hirsuta</i> EDN082	12
3.3.6 Desain Primer Spesifik untuk Amplifikasi Gen Lakase Utuh	13
3.3.7 Amplifikasi Gen Lakase 6 dan Gen Lakase 3	13
3.3.8 Kloning Gen <i>Thlacc1</i> dan Transformasi ke <i>Escherichia coli</i> DH5α	13
3.3.9 Isolasi Plasmid pGEM-Teasy_Thlacc1, PCR dan Pola Restriksi	13
3.3.10 Sekuensing Plasmid pGEM-Teasy_Thlacc1	14
3.3.11 Konstruksi <i>Expression Cassette</i> pPICZαB-Thlacc1	14
3.3.12 Transformasi ke <i>E. coli</i> TOP10_pPICZαB-Thlacc1 dan Sekuensing	14
3.3.13 Elektroporasi ke <i>Pichia pastoris</i> BG11 ΔAOX1	14
3.3.14 Uji Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 ΔAOX1 pPICZαB-Thlacc1	15
3.3.15 Analisis Profil Protein dengan SDS-PAGE	15
3.3.16 Karakterisasi Sekuen Penyandi Mature <i>Thlacc1</i> <i>T. hirsuta</i> EDN082	16
3.3.17 Analisis Filogenetik Gen <i>Thlacc1</i>	16
3.3.18 Analisis Hidrofobisitas dan Total Muatan	17
3.3.19 Prediksi situs N-Glikosilasi dan O-Glikosilasi	17
3.3.20 Pemodelan Struktur 3D Protein Lakase dari Gen <i>Thlacc1</i>	17
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Hasil Isolasi RNA total <i>Trametes hirsuta</i> EDN082	19
4.2 Hasil Sintesis cDNA	19
4.3 Hasil Desain Degenerate Primer untuk Eksplorasi Gen Lakase	20
4.4 Hasil Eksplorasi Gen-Gen Lakase dari Transkriptom <i>T. hirsuta</i> EDN082	21

4.5	Desain Primer Spesifik untuk Amplifikasi Gen Lakase Utuh	22
4.6	Amplifikasi Gen Lakase 6 dan Lakase 3	24
4.7	Hasil Kloning Gen <i>Thlacc1</i> dan Transformasi ke <i>Escherichia coli</i> DH5α	26
4.8	Hasil Isolasi Plasmid pGEM-Teasy_Thlacc1, PCR dan Pola Restriksi	27
4.9	Hasil Sekuensing Plasmid pGEM-Teasy_Thlacc1	29
4.10	Hasil Konstruksi <i>Expression Cassette</i> pPICZαB- <i>Thlacc1</i>	30
4.11	Transforman <i>E. coli</i> TOP10_pPICZαB- <i>Thlacc1</i> dan Sekuensing	31
4.12	Hasil Elektroporasi ke <i>Pichia pastoris</i> BG11 ΔAOX1	33
4.13	Uji Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 ΔAOX1_pPICZαB- <i>Thlacc1</i>	35
4.13.1	Hasil Uji Kemampuan Tumbuh pada Media Zeocin	35
4.13.2	Hasil Uji Aktivitas Lakase Rekombinan	36
4.14	Analisis Profil Protein dengan <i>SDS-PAGE</i>	39
4.15	Karakterisasi Sekuen Penyandi Mature <i>Thlacc1</i> <i>T.hirsuta</i> EDN082	40
4.15.1	Hasil Analisis BLAST NCBI	40
4.15.2	Hasil Analisis <i>Multiple Alignment</i>	41
4.16	Hasil Analisis Filogenetik Gen <i>Thlacc1</i>	42
4.17	Hasil Analisis Hidrofobisitas dan Total muatan	42
4.18	Hasil Prediksi Situs N-Glikosilasi dan O-Glikosilasi	44
4.19	Hasil Pemodelan 3D protein Lakase dari Gen <i>Thlacc1</i>	45
V	SIMPULAN DAN SARAN	47
5.1	Simpulan	47
5.2	Saran	47
	DAFTAR PUSTAKA	48
	LAMPIRAN	60
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP	68



DAFTAR TABEL

1	Hasil kuantifikasi total RNA yang diisolasi dari kultur <i>T. hirsuta</i> EDN082	19
2	Sekuen nukleotida primer-primer degenerate beserta prediksi produknya	21
3	Hasil sekuen dari data kromatogram LaccCDG-F2 dan BLASTn	22
4	Hasil sekuen dari data kromatogram LaccABCDEFG-R dan BLASTn	22
5	Primer spesifik gen lakase 6 dan sekuen nukleotidanya	23
6	Primer spesifik gen lakase 3 dan sekuen nukleotidanya	24
7	Komponen dan Kondisi PCR umum lakase 6 dan lakase 3	24
8	Hasil gel purifikasi produk PCR mature <i>Thlacc1</i>	26
9	Hasil BLASTn sekuen nukleotida gen <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> EDN082	41
10	Hasil BLASTp sekuen asam amino <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> EDN082	41

DAFTAR GAMBAR

1	Representasi asam-asam amino situs katalitik pada lakase	6
2	Representasi reaksi redox oleh lakase	7
3	Diagram alir penelitian	11
4	Hasil elektroforesis produk PCR menggunakan primer universal	20
5	Prediksi penempelan primer-primer degenerate pada sekuen gen lakase	20
6	Hasil PCR menggunakan pasangan set degenerate primer	21
7	Posisi penempelan primer spesifik terhadap template gen lakase 6	23
8	Posisi penempelan primer spesifik terhadap template gen lakase 3	24
9	Hasil amplifikasi gen lakase 6 dan lakase 3	25
10	Hasil amplifikasi mature <i>Thlacc1</i>	26
11	Hasil transformasi dan PCR koloni	27
12	Hasil elektroforesis pada gel agarose 1%	28
13	Hasil restriksi pada gel agarose 1%	29
14	Hasil pengurutan sekuen mature <i>Thlacc1</i> yang berukuran 1497 pb	29
15	Hasil pengurutan asam amino mature <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> berukuran 499 AA	29
16	Hasil double digesti dan simulasi konstruksi <i>expression cassette</i>	30
17	Hasil transformasi pPICZαB- <i>Thlacc1</i> ke <i>E. coli</i> TOP10	31
18	Hasil PCR koloni menggunakan primer Lacc6B-nF1+Lacc6_nRI	32
19	Hasil double digesti pPICZαB- <i>Thlacc1</i> menggunakan <i>EcoRI</i> + <i>NotI</i>	32
20	Hasil linearisasi plasmid pPICZαB- <i>Thlacc1</i> menggunakan <i>SacI</i>	33
21	Transforman <i>P. pastoris</i> BG11 ΔAOX1_pPICZαB_Thlacc1	34
22	Hasil seleksi 64 koloni transforman <i>P. pastoris</i> BG11 ΔAOX1_pPICZαB- <i>Thlacc1</i> pada plate YPDS+zeocin	36
23	Aktivitas koloni-koloni transforman jam ke-18	37
24	Aktivitas enzim lakase (U/mL) terhadap ABTS	38
25	Aktivitas lakase terhadap ABTS setelah 5 menit inkubasi	39
26	Analisis profil protein menggunakan SDS-PAGE	39
27	Pohon filogenetik yang dikonstruksi menggunakan MEGA X	42
28	Profil hidrofobisitas mature <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> EDN082	43
29	Total muatan mature <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> EDN082 pada berbagai pH	44
30	Prediksi struktur 3D mature <i>Thlacc1 T. hirsuta</i> EDN082	45
31	Hasil analisis struktural model 3D	46

DAFTAR LAMPIRAN

1 Preparasi sel kompeten <i>Escherichia coli</i> DH5 α dan TOP10	61
2 Preparasi sel kompeten <i>Pichia pastoris</i> BG11 Δ AOX1	62
3 Preparasi media YPDS + Zeocin dan BMMY +Ampicillin	63
4 Hasil analisis signal peptide	64
5 Perbandingan sekuen lakase pada Native Thlacc1 vs pGEM-Teasy_Thlacc1 vs pPICZ α B_Thlacc1	65
6 Hasil penjajaran asam amino <i>Thlacc1</i> vs lakase 6 & lakase 3	66
7 Hasil multiple alignment Cobalt NCBI	67



@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