

ABSTRAK

Leoni Handoyo, 24020220140077, **Ekspresi Gen dan Optimasi Produksi Xilanase GH Famili 11 dari *Kitasatospora* sp. pada *Escherichia coli* BL21 (DE3).** Di bawah bimbingan Anto Budiharjo dan Nanik Rahmani

Xilanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis xilan menjadi xilooligosakarida (XOS) dan xilosa. Enzim ini memiliki banyak aplikasi di bidang industri farmasi, makanan dan pakan, toko roti, kertas dan bubur kertas, tekstil, hingga *bio-refinery*. Penggunaan enzim dalam industri dibutuhkan dalam jumlah yang tinggi dan mampu bertahan dalam proses industri sehingga diperlukan mikroba potensial yang mampu memproduksi xilanase. Penelitian sebelumnya mengenai xilanase (GH-10 dan GH-11) dari strain *Kitasatospora* sp. ID06-480 yang diekspresikan pada *Streptomyces lividans* 1326 secara efisien menghidrolisis xilan dan menghasilkan XOS. *Escherichia coli* BL21 (DE3) merupakan *host cell* yang baik dalam ekspresi protein rekombinan karena kemampuannya dalam *over* ekspresi protein. Penelitian mengenai ekspresi heterolog xilanase GH11 yang berasal dari *Kitasatospora* sp. ID06-480 pada bakteri *Escherichia coli* BL21 (DE3) perlu dilakukan untuk mengetahui ekspresi dan aktivitasnya. Tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui ekspresi gen xilanase GH famili 11 dari *Kitasatospora* sp. pada *Escherichia coli* BL21 (DE3). Selain itu, dilakukan analisis mengenai media produksi yang optimum untuk meningkatkan aktivitas enzim xilanase GH famili 11 rekombinan. Analisis terkait suhu, konsentrasi IPTG, dan *post induction time* yang optimum secara simultan saat produksi dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology-Box-Behnken Design* (RSM-BBD) untuk meningkatkan aktivitas enzim xilanase GH famili 11 rekombinan. Transformasi plasmid dengan sisipan gen xilanase GH11 ke *Escherichia coli* BL21 (DE3) dilakukan, dilanjutkan dengan seleksi koloni terbaik dilihat dari visualisasi ekspresi protein melalui SDS PAGE. Koloni terpilih digunakan untuk optimasi media produksi (LB, TB, 2x YT, dan SC 100%) dan optimasi produksi dengan RSM-BBD (suhu, konsentrasi IPTG, dan *post induction time* secara simultan) dalam meningkatkan aktivitas enzim. Hasil penelitian menunjukkan xilanase GH famili 11 dari *Kitasatospora* sp. berhasil diekspresikan pada *Escherichia coli* BL21 (DE3). Media TB menjadi media optimum dengan nilai aktivitas terbesar 27 Unit/mL pada kultur jam ke-12. Suhu, konsentrasi IPTG, dan *post induction time* secara simultan yang optimum dalam meningkatkan aktivitas secara berurutan, yaitu 26,4°C, 0,5 mM, 12 jam dengan nilai aktivitas 84,4237 Unit/mL.

Kata kunci : Escherichia coli BL21 (DE3), Xilanase GH11, Ekspresi heterolog, Optimasi produksi, RSM-BBD