ABSTRAK

Danti Nur Savitri. 24020122140193 Optimasi Produksi Enzim Laktat Dehidrogenase Rekombinan dalam *Escherichia coli* BL21 (DE3) melalui Variasi Suhu, Konsentrasi Inducer, dan Waktu Pascainduksi. Di bawah Bimbingan Anto Budiharjo dan Radityo Pangestu.

Laktat dehidrogenase (LDH) merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis asam laktat, sehingga diperlukan strategi produksi yang dapat menghasilkan enzim ini dalam jumlah tinggi dan aktif secara katalitik. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh suhu, konsentrasi IPTG, dan waktu pascainduksi terhadap produksi D-LDH dan L-LDH rekombinan *Pediococcus pentosaceus* InaCC B159, mengetahui kondisi produksi optimum, mengevaluasi aktivitas enzimatik, serta mengevaluasi pengaruh penyisipan gen *ldhD* dan *ldhL* terhadap produksi asam laktat pada *E. coli* BL21(DE3). Gen *ldhD* dan *ldhL* diekspresikan menggunakan plasmid pET-28a(+) pada *E. coli* BL21 (DE3). Tahap optimasi produksi dilakukan melalui variasi suhu (25 °C, 30 °C, 37 °C), konsentrasi IPTG (0,5 mM, 1 mM, dan 2 mM), dan waktu pascainduksi (12 jam, 18 jam, dan 24 jam) dengan penambahan kontrol tanpa induksi dan kontrol tanpa gen target pada setiap tahap optimasi. Setiap tahap optimasi terdiri atas lima kelompok dengan masing-masing tiga ulangan yang disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengukuran kadar laktat dilakukan pada setiap kultur (*E. coli* BL21(DE3)-pET-28a-*ldhD, E. coli* BL21(DE3)-pET-28a-*ldhL, E. coli* BL21(DE3)-pET-28a-(+)) dengan masing-masing tiga ulangan dilakukan pada jam ke 0, 9, dan 48. Analisis protein dilakukan dengan SDS-PAGE dan BCA *assay*, serta aktivitas enzim diukur berdasarkan perubahan piruvat menjadi laktat. Hasil penelitian menunjukkan suhu, konsentrasi IPTG, dan waktu pascainduksi memengaruhi produksi protein rekombinan. Kondisi optimum produksi D-LDH diperoleh pada suhu 25°C, konsentrasi IPTG 0,5 mM, dan waktu pascainduksi 18 jam, sedangkan L-LDH pada 25°C, 1 mM IPTG, dan 18 jam pascainduksi. Kedua memiliki aktivitas enzim sebesar 5,88 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,30 U/mg untuk D-LDH dan 8,62 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,36 U/mg untuk L-LDH. Penyisipan gen *ldhD* dan *ldhL* meningkatkan produksi asam laktat dibandingkan kontrol, dengan produksi D-laktat sebesar 1,041 g/L dan L-laktat sebesar 0,636 g/L.

Kata Kunci : *Pediococcus pentosaceus*, *laktat dehidrogenase, protein rekombinan, asam laktat.*