

LAPORAN AKHIR PENELITIAN
SKEMA HIBAH PENELITIAN INTERNAL



ANALISIS BIOINFORMATIKA DALAM PEMBUATAN
GEN SINTETIK *Cellulose-binding module* DARI *Trichoderma*

Febriana Dwi Wahyuni

NIDN. 0323029101

UNIVERSITAS ESA UNGGUL JAKARTA

Agustus, 2017

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Analisis Bioinformatika dalam Pembuatan Gen Sintetik
Cellulose-binding module dari *Trichoderma*

Peneliti

a. Nama lengkap dengan gelar : Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd., M.Si.
b. NIDN : 0323029101
c. Jabatan Fungsional/Struktural : Tenaga pengajar
d. Program Studi/Jurusan : Bioteknologi
e. No. HP : 081291789560
f. Alamat E-mail : febriana@esaunggul.ac.id

Jakarta, 4 Agustus 2017

Mengetahui
Dekan Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan


Universitas Esa Unggul
Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan

(Dr. Aprilita Rina Yanti Eff, M.Biomed., Apt.)
NIK. 215020572

Peneliti


(Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd., M.Si.)
NIDN. 0323029101

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Esa Unggul


Universitas Esa Unggul
LPPM

(Dr. Hasyim, SE., ME., M.Ed.)
0201040164

RINGKASAN

Cellulose-binding module (CBM) merupakan suatu domain protein yang umum dijumpai pada berbagai jenis enzim selulase. Fungsi dari CBM ini bisa dimanfaatkan untuk proses *binding* dan imobilisasi suatu protein pada matriks selulosa. CBM bisa diperoleh dari beberapa organisme, salah satunya yaitu *Trichoderma reesei*. Untuk mendapatkan suatu gen, tidak harus diisolasi dari organisme asal. Sekuen gen bisa diperoleh secara sintetik melalui analisis bioinformatika sesuai dengan sekuen gen yang sama dengan yang ada di GeneBank. Analisis bioinformatika bisa digunakan untuk mencari sekuen gen baru ataupun gen yang sudah ada. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan gen sintetik *cbmsyn* secara cepat dan efisien tanpa mengurangi aktivitas protein, yang selanjutnya dapat diligasikan dengan gen lain sehingga berfungsi sebagai enzim imobil. Dari hasil analisis bioinformatika, diperoleh DNA sekuen berukuran sekitar 498 pb dengan panjang protein 166 asam amino. Sekuen tersebut dimodifikasi dengan menambahkan beberapa situs restriksi, yaitu *Bam*HI, *Afe*I, dan *Sca*I. Sekuen DNA yang diperoleh telah dioptimasi dengan kodon *Pichia pastoris*.

Kata Kunci : Bioinformatika, *Cellulose-binding module*, Gen Sintetik, *Trichoderma reesei*

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Analisis Bioinformatika dalam Pembuatan Gen Sintetik *Cellulose-binding module* dari *Trichoderma*”. Laporan ini merupakan hasil penelitian yang dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Universitas Esa Unggul.

Laporan ini dapat disusun dengan bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada berbagai pihak yang telah memberikan kontribusi, baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyusunan laporan ini.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi para pembaca. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan ini. Penulis mengharapkan adanya saran dan kritik yang bersifat membangun.

Jakarta, 30 Oktober 2017

Febriana Dwi Wahyuni

DAFTAR ISI

Halaman Pengesahan	i
Ringkasan	ii
Prakata	iii
Daftar Isi	iv
Daftar Tabel dan gambar	v
Bab 1. Pendahuluan	1
Bab 2. Tinjauan Pustaka	2
Bab 3. Tujuan dan Manfaat Penelitian	4
Bab 4. Metode Penelitian	5
Bab 5. Hasil dan Luaran yang Dicapai	6
Bab 6. Rencana Tahapan berikutnya	12
Bab 7. Kesimpulan dan Saran	13
Daftar Pustaka	14
Lampiran	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia protein Endoglukanase EG-I	9
--	---

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur <i>Cellulose-binding Module</i>	3
Gambar 2. Sekuen gen <i>cbmsyn</i>	7
Gambar 3. Sekuen Protein Endoglukanase EG-1	7
Gambar 4. Domain protein Endoglukanase EG-1	8
Gambar 5. Prediksi signal peptide protein Endoglukanase EG-I	8
Gambar 6. Struktur 3D protein Endo- glukanase EG 1	9
Gambar 7. Hasil analisis berat molekul pada setiap posisi gen untuk protein Endoglukanase EG-1 dengan menggunakan software Protsclae	10
Gambar 7. Hasil analisis berat molekul pada setiap posisi gen untuk protein Endoglukanase EG-1 dengan menggunakan software Protsclae	10

BAB 1. PENDAHULUAN

Cellulose-binding module (CBM) merupakan suatu domain protein yang umum dijumpai pada berbagai jenis enzim selulase. CBM umumnya berfungsi dalam proses pengikatan enzim selulase pada substratnya, yaitu selulosa sehingga dapat memfasilitasi kerja dari enzim selulosa tersebut (Wang *et al.* 2001). Fungsi CBM ini dapat dimanfaatkan untuk proses pengikatan (*binding*) dan imobilisasi suatu protein pada matriks selulosa (Wahyuni, 2016).

CBM awalnya diklasifikasikan sebagai *Cellulose Binding Domain* (CBD) berdasarkan penemuan awal dari beberapa modul yang mengikat selulosa (Ito *et al.* 2004). CBM mengandung 30 sampai 200 asam amino dan ada sebagai *single domain* atau *double domain* dalam satu protein. Posisi CBM bisa berada di ujung C-terminal atau N-terminal dan kadang-kadang terpusat dalam rantai polipeptida (Shoseyov *et al.* 2006).

CBM dapat diperoleh dari berbagai organisme, salah satunya adalah *Trichoderma reesei*. *Trichoderma* adalah mikroorganisme penghasil sistem enzim selulase yang telah sering digunakan dalam industri. Untuk mendapatkan gen penyandi protein CBM, tidak harus diisolasi dari organisme asal. Sekuen gen bisa diperoleh secara sintetik melalui aplikasi bioinformatika.

Metode bioinformatik berbasis web digunakan untuk mencari anotasi (penamaan), pemetaan genom, dan analisis sekuen lanjut lainnya yang dijalankan secara *online* melalui program yang tersedia secara gratis di web. Keunggulan metode tersebut adalah hemat dan dapat menjadi penelitian pendahuluan sebelum percobaan secara nyata dilakukan (Jhala, 2011).

Analisis bioinformatik ini bertujuan untuk membuat gen sintetik *cbmsyn* dengan program berbasis web. Analisis yang dilakukan adalah untuk mencari sekuen gen *cbmsyn* yang berasal dari organisme *T. Reesei* yang telah ada di GeneBank. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan gen sintetik *cbmsyn* secara cepat dan efisien tanpa mengurangi aktivitas protein, yang selanjutnya dapat diligasikan dengan gen lain sehingga berfungsi sebagai enzim imobil.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kajian Bioinformatika

Bioinformatika adalah ilmu gabungan antara ilmu biologi dan ilmu komputer. Bioinformatika hadir sebagai alternatif pencarian sekuen enzim baru menggunakan analisis filogeni (kekerabatan) untuk mencari spesies terdekat berdasarkan data genome yang ada di *Gene Bank*. Metode bioinformatika berbasis web digunakan untuk mencari anotasi (penamaan), pemetaan genome, dan analisis sekuen lanjut lainnya yang dijalankan secara *online* melalui program yang tersedia secara gratis di web (Narita, 2012). Perkembangan internet juga mendukung berkembangnya bioinformatika. Basis data bioinformatika yang terhubung melalui Internet memudahkan para ilmuwan dan peneliti mengumpulkan hasil sekuensing ke dalam basis data tersebut atau memperoleh data sekuens biologis sebagai bahan penelitian. Selain itu, pengembangan dan penemuan program terbaru dari aplikasi bioinformatika melalui internet memudahkan para peneliti mengakses program-program tersebut dan kemudian memudahkan dalam penerapan program tersebut dan mengembangkannya (Mount, 2011).

2.2. Cellulose-Binding Module

Polikarbohidrat tidak larut, seperti selulosa, merupakan substrat yang sulit untuk degradasi enzim. Hal ini karena sulitnya jangkauan substrat yang padat untuk situs katalitik enzim dan sebagian karena heterogenitas struktur fisik. Karakteristik substrat ini menetapkan persyaratan khusus untuk hidrolisis enzim. Salah satu solusi untuk degradasi enzim dengan substrat terlarut yaitu dihasilkan *substrate-binding module* yang berbeda. Contoh modul tersebut dapat ditemukan dalam *carbohydrate-active enzyme* seperti selulase, hemiselulase, dan kitinase.

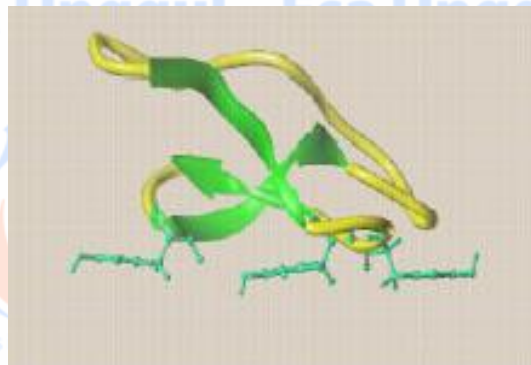
Cellulose-Binding Module (CBM) merupakan suatu domain protein yang umum dijumpai pada berbagai jenis enzim selulase. CBM umumnya berfungsi dalam proses pengikatan enzim selulase pada substratnya, yaitu selulosa sehingga dapat memfasilitasi kerja dari enzim selulosa tersebut (Wang 2001). Fungsi dari CBM ini dapat dimanfaatkan untuk proses pengikatan (*binding*) dan immobilisasi suatu protein pada matriks selulosa.

CBM awalnya diklasifikasikan sebagai *Cellulose Binding Domain* (CBD) berdasarkan penemuan awal dari beberapa modul yang mengikat selulosa (Ito *et al.* 2004). CBM mengandung 30 sampai 200 asam amino dan ada sebagai *single domain* atau *double domain*

dalam satu protein. Posisi CBM bisa berada di ujung C-terminal atau N-terminal dan kadang-kadang terpusat dalam rantai polipeptida (Shoseyov *et al.* 2006).

CBM telah ditemukan di dalam protein hidrolitik dan non hidrolitik. Protein yang memiliki aktivitas hidrolitik (contoh: selulase dan xylanase) meliputi molekular kompleks yang berisikan modul yang mempunyai ciri-ciri tersendiri (biasanya modul katalitik), yang biasanya bergabung dengan urutan linker yang relatif tidak terstruktur (Shoseyov *et al.* 2006). CBM juga telah ditemukan pada beberapa polisakarida selain selulase dan xylanase. Pada *Trichoderma reesei*, CBM telah diidentifikasi dalam hemiselulosa, endomannanase, dan acetilxylanase.

Beberapa tahun belakangan, penggunaan CBM telah dimanfaatkan dalam beberapa bidang bioteknologi. Ada beberapa sifat dasar CBM yang menjadikannya banyak diaplikasikan dalam beberapa bidang, diantaranya yaitu CBM biasanya dapat melipat sendiri dan dapat berfungsi secara otonom pada protein kimera, penempelan matrix yang berlimpah dan murah, memiliki sifat fisik dan kimia yang baik, serta dapat mengendalikan pengikatan yang spesifik (Shoseyov 2006).



Gambar 1 Struktur Cellulose Binding Module

Sumber : Lehtio 2001

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuat gen sintetik *cbmsyn* melalui aplikasi bioinformatika berbasis web.

3.2. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk menjadi dasar dalam menghasilkan suatu protein khimera atau protein fusi antara CBM dengan gen sintetik lainnya yang dapat memfasilitasi imobilisasi suatu enzim pada matriksnya.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Material

Gen *cellulose-binding module* (*cbmsyn*) dibuat secara sintetik yang dirancang berdasarkan informasi sekuens gen *cbm* (*wild type*) yang terdapat pada GeneBank.

4.2. Metode

1. Analisis struktur, fungsi, ekspresi gen *cbmsyn* dengan menggunakan database bio-informatika dari situs <http://www.ncbi.nlm.gov> dan PubMed, <http://www.uniprot.org> dan <http://www.ensembl.org>. Sekuen gen *cbm* yang diperoleh kemudian dioptimasi dengan kodon *Pichia pastoris* menggunakan program DNAWorks 3.2;
2. Analisis sekuen protein CBM (domain protein, karakteristik fisiko-kimia, profil skala asam amino, prediksi signal peptide, prediksi target peptide) dengan menggunakan situs <http://www.expasy.org>, Prosite, Protparam, Pro-Scale, Psipred, SignalP, TargetP dan PeptideCutter;
3. Analisis struktur 3D protein CBM dengan menggunakan situs Protein Data Bank, <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/> menu PSIPRED dan 3D protein menggunakan situs <http://www.pdb.org> menu Swiss Model dan software PYMOL; dan
4. Analisis desain primer dengan menggunakan software Primer3 dari sekuens gen yang memiliki similaritas tinggi (pada daerah basa domain cds) dengan keunikan basa untuk dibuat desain primer. Untuk menghindari hairpin pilih sekuen hasil desain primer software PerlPrimer.

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil

Pembuatan gen tidak harus diisolasi dari organisme asal. Gen bisa dibuat secara sintetik dengan metoda kajian bioinformatika. Bioinformatika mampu menjadi basis data untuk mengelola informasi biologis dan analisis ekspresi gen.

Cellulose-Binding Module (CBM) merupakan suatu domain protein yang umum dijumpai pada berbagai jenis enzim selulase. Fungsi dari CBM ini dapat dimanfaatkan untuk proses pengikatan (*binding*) dan imobilisasi suatu protein pada matriks selulosa.

CBM telah ditemukan di dalam protein hidrolitik dan non hidrolitik. Protein yang memiliki aktivitas hidrolitik (contoh: selulase dan xylanase) meliputi molekular kompleks yang berisikan modul yang mempunyai ciri-ciri tersendiri (biasanya modul katalitik), yang biasanya bergabung dengan urutan linker yang relatif tidak terstruktur (Shoseyov *et al.* 2006). CBM juga telah ditemukan pada beberapa polisakarida selain selulase dan xylanase. Pada *Trichoderma reesei*, CBM telah diidentifikasi dalam hemiselulosa, endomannanase, dan acetilxylanase (Margolles *et al.* 1996; Stalbrand *et al.* 1995).

Beberapa tahun belakangan, penggunaan CBM telah dimanfaatkan dalam beberapa bidang bioteknologi. Ada beberapa sifat dasar CBM yang menjadikannya banyak diaplikasikan dalam beberapa bidang, diantaranya yaitu CBM biasanya dapat melipat sendiri dan dapat berfungsi secara otonom pada protein kimera, penempelan matrix yang berlimpah dan murah, memiliki sifat fisik dan kimia yang baik, serta dapat mengendalikan pengikatan yang spesifik (Shoseyov 2006).

Dalam penelitian ini, dibuat suatu gen sintetik dari organisme *Trichoderma reesei* (*Hypocrea jecorina*). Sekuen gen *cbmsyn* diperoleh dari genebank melalui NCBI dengan nomor akses M15665. Berikut adalah hasil sekuen dari gen *cbmsyn*:

```
1  ATGCATCACCACCAT CATCACGATG TTGCTTCTAATGAACAAAAGTTGAT
   TTCTGAAGAG
61  GATTTGGGATCCAGCAAACCTGTTTGGGGTCAATGTGGCGGTATCGGTT
   GGTCTGGACCA
121 ACTAACTGTGCTCCAGGTTCTGCTT GTTCTACTTTGAACCCATACTACGC
   TCAATGTATT
181 CCAGGTGCTAC TACAATCACTACATCTACTAGACCACCAAGTGGTCCTA
   CAACTACTACC
```


241 AGAGCCACTTCTACAAGTTCATCAACTCCTCCCACATCTAGCGCTGATTAC
 AAGGACGAT
 301 GATGATAAGAGTACTCCACCTCCACCAGCTTCCTCTACCACGTTTTCTA
 CGACTTCTAGA
 361 TCTTCTACTACTTCATCTTCTCCATC TTGTACTCAAACCTCATTGGGGACAG
 TGTGGTGGT
 421 ATTGGATACTCTGGTTGTAAGACTTGTACGTCCGGTACAACCTTGTCAT
 ACTCTAACGAT
 481 TACTACTCACAATGTTTG

Gambar 2. sekuen gen *cbmsyn* yang telah dimodifikasi dengan memuat beberapa situs restriksi (GGATCC: *Bam*HI; AGCGCT: *Afe*I AGTACT: *Sca*I.

Dari hasil pencarian sekuen gen *cbmsyn* yang ada di geneBank melalui NCBI, diperoleh sekuen gen *cbmsyn* dari *T. Reesei* (*Hypocrea jecorina*), yang terdiri dari 498 pasang basa. CBM mempunyai nama lain yaitu Endoglucanase EG-1. Gen tersebut telah dimodifikasi dengan menambahkan beberapa situs restriksi seperti *Bam*HI, *Afe*I, dan *Sca*I. Sekuen DNA tersebut kemudian di optimasi dengan kodon *Pichia pastoris* menggunakan program DNAWorks 3.2.

Setelah diperoleh sekuen DNA gen *cbmsyn*, selanjutnya dicari sekuen protein melalui program UniProt.

MNKSVA	PLLL	AASILYGGAV	AQQT	VWGQCG	GIGWSGPTNC	APGSACSTLN	50
PYYAQ	CIPGA	TTITTSTRPP	SGPTTT	TRAT	STSSSTPPTS	SGVRFAGVNI	100
AGDFG	GCTTD	GTCVTSKVYP	PLKNFTGSNN	YPD	GIGQM	QHFVNEDGMTIF	150
RLPVG	WQYLV	NNNLGGN	LDS	TSISKYDQLV	QGCLSLGAYC	IVDIHNYARW	200
NGGIIG	QGGP	TNAQFTSLWS	QLASKYASQS	RWVFGIMNEP	HDVNINTWAA		250
TVQEV	WTAIR	NAGATSQFIS	LPGNDWQSAG	AFISDGSAAA	LSQVTNP	DGDS	300
TTNLIF	DVHK	YLDSDNSGTH	AECTTNIDG	AFSPLATWLR	QNNRQAILTE		350
TGGGNV	QSCI	QDMCQQIQYL	NQNSDVYLG	VGWGAGSFDS	TYVLTETPTS		400
SGNSW	TDTS	L	VSSCLARK				418

Gambar 3. Sekuen Protein Endoglucanase EG-1

Family & Domains

Domains and Repeats

Feature key	Position(s)	Length	Description	Graphical view
Domain	22 – 57	36	CBM1	

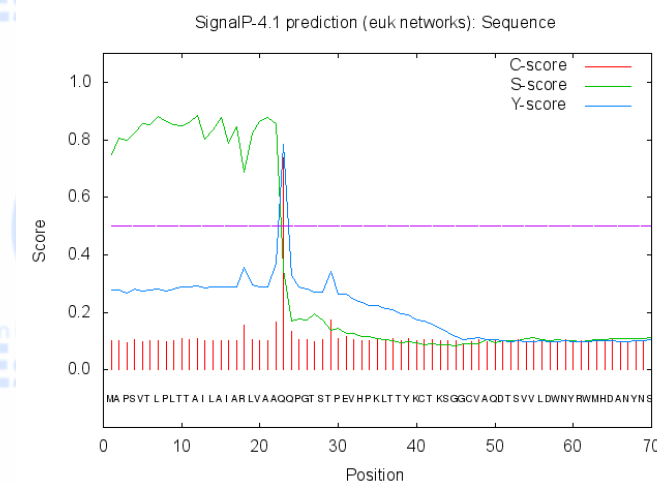
Region

Feature key	Position(s)	Length	Description	Graphical view
Region	58 – 91	34	Linker	
Region	92 – 418	327	Catalytic	

Gambar 4. Domain protein Endoglucanase EG-1

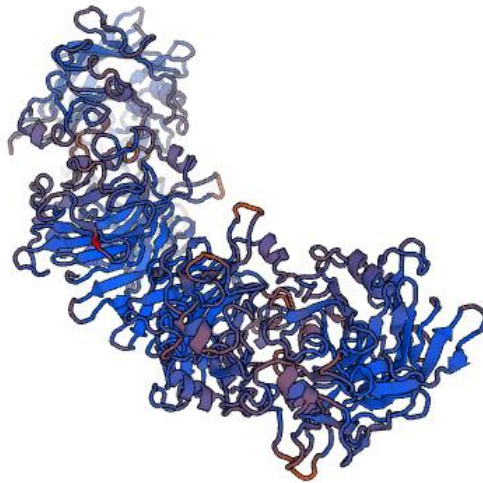
Berdasarkan dari struktur domain Endoglucanase EG-1, dapat diketahui bahwa pada protein tersebut terdapat linker dan sisi katalitik enzim.

Untuk mengetahui apakah pada protein endoglucanase EG-I mempunyai signal peptide atau tidak, maka dilakukan analisis dengan menggunakan signalP.



Gambar 5. Prediksi signal peptide protein Endoglucanase EG-I

Struktur 3 dimensi protein endoglucanase EG-I dari *T. Reesei* dapat diketahui menggunakan software Swiss Model. Secara umum, struktur endoglucanase EG-I adalah sebagai berikut



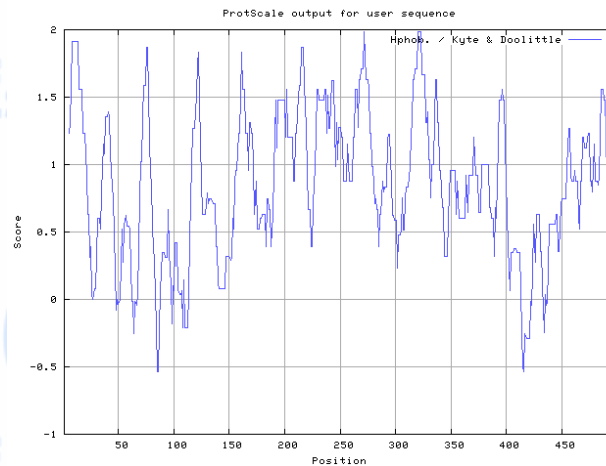
Gambar 6. Struktur 3D protein Endo- glukase EG 1

Untuk mengetahui presentasi asam amino, berat molekul, isoelektrik point (pI) dan sifat fisiko kimia lain dari protein Endoglucanase EG-I dilakukan analisis dengan menggunakan Postparam Expasy.

Tabel 1. Sifat Fisika dan Kimia protein Endoglucanase EG-I

Parameter	Protein Endoglucanase EG-1
Berat Molekul	42870.67
pH isoelektrik	5.17
Komposisi asam amino	ala (A) 128 25.7% Cys (C) 132 26.3 % Gly (G) 89 17.9 % Thr (T) 150 30.1 %
Komposisi atom	Carbon C 1555 Hydrogen H 2614 Nitrogen N 498 Oxygen O 649 Sulfur S 131 $C_{1555}H_{2614}N_{498}O_{649}S_{131}$ Total jumlah atoms: 5447
Index aliphatic	25.70
<i>Grand average of hydropathicity (GRAVY)</i>	0.837

Untuk melihat hidrofobisitas sekuens asam amino protein Endoglucanase EG-I dilakukan analisis menggunakan ProtScale.



Gambar 7. Hasil analisis berat molekul pada setiap posisi gen untuk protein Endoglucanase EG-1 dengan menggunakan software Protsclae

Dilakukan desain primer dari sekuen yang dipilih dan dimasukkan ke dalam program primer3 output. Dan diperoleh beberapa alternatif desain primer sebagai berikut:

Primer3 Output

```
No mispriming library specified
Using 1-based sequence positions
OLIGO
LEFT PRIMER 130 20 59.12 55.00 0.00 0.00 0.00 GCTCCAGGTTCTGCTTGTTTC
RIGHT PRIMER 283 20 58.88 55.00 0.00 0.00 0.00 CGCTAGATGTGGGAGGAGTT
SEQUENCE SIZE: 498
INCLUDED REGION SIZE: 498

PRODUCT SIZE: 154, PAIR ANY_TH COMPL: 4.83, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00

ADDITIONAL OLIGOS
start len tm gc% any th 3' th hairpin seq
1 LEFT PRIMER 264 20 58.88 55.00 0.00 0.00 0.00 AACTCCTCCCATCTAGCG
RIGHT PRIMER 467 20 59.25 50.00 5.81 0.00 0.00 TGACAAGTTGTACCGGACGT
PRODUCT SIZE: 204, PAIR ANY_TH COMPL: 0.00, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00
2 LEFT PRIMER 270 20 58.88 50.00 8.35 1.72 0.00 TCCACATCTAGCGCGTGATT
RIGHT PRIMER 423 20 59.30 55.00 0.00 0.00 0.00 AATACCACCACTGTCCCC
PRODUCT SIZE: 154, PAIR ANY_TH COMPL: 0.00, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00
3 LEFT PRIMER 115 20 58.19 55.00 0.00 0.00 0.00 GGACCACTACTGTGCTCC
RIGHT PRIMER 338 20 59.17 60.00 0.00 0.00 0.00 GTAGAGGAAGCTGGTGGAGG
PRODUCT SIZE: 224, PAIR ANY_TH COMPL: 2.72, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00
4 LEFT PRIMER 111 21 58.86 52.38 1.01 0.00 0.00 GTCTGGACCACTACTGTGTC
RIGHT PRIMER 328 20 58.81 60.00 14.87 14.87 0.00 CTGGTGGAGGTGGAGTACTC
PRODUCT SIZE: 218, PAIR ANY_TH COMPL: 0.00, PAIR 3'_TH COMPL: 0.00

Statistics
con too in in not no tm tm high high high high end
sid many tar excl ok bad GC too too any th 3' th hair- poly X stab ok
ered Ns get reg reg GC% clamp low high compl compl pin 0 0 684
Left 2394 0 0 0 0 68 0 1427 186 0 1 28 0 0 679
Right 2394 0 0 0 0 12 0 1521 173 0 0 9 0 0 679
Pair State:
considered 1806, unacceptable product size 1800, primer in pair overlaps a primer in a better pair 189, ok 6
libprimer3 release 2.3.6
```

Gambar 8. Analisis primer

Dari hasil analisis primer, yang memenuhi syarat adalah primer 2 yang memiliki ukuran produk 154 bp dimulai pada basa ke 270. Forward Primer1 ini memiliki panjang 20 basa, Tm 58.88°C, dan % GC 50%. Reverse primer 1 memiliki panjang 20 basa, Tm 59.30°C, dan % GC 55%.

Primer ini tidak membentuk hairpin loop, dimer, maupun palindrome setelah dianalisis dengan menggunakan software <http://sg.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer/>

5.2. Luaran yang dicapai

Luaran penelitian ini adalah publikasi jurnal ilmiah nasional tidak terakreditasi.

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Adapun rencana untuk penelitian berikutnya yaitu :

1. Melakukan analisis PCR terhadap gen *cbmsyn* yang telah diisolasi secara sintetik
2. Meligasikan gen *cbmsyn* dengan plasmid pPICZa
3. Membuat plasmid rekombinan dengan meligasikan pPICZa-*cbmsyn* dengan gen pengkode enzim lipase untuk menghasilkan suatu protein khimera

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Dari hasil analisis bioinformatika, diperoleh DNA sekuen berukuran sekitar 498 pb dengan panjang protein 166 asam amino. Sekuen tersebut dimodifikasi dengan menambahkan beberapa situs restriksi, yaitu *Bam*HI, *Afe*I, dan *Sca*I. Sekuen DNA yang diperoleh telah dioptimasi dengan kodon *Pichia pastoris*.

7.2. Saran

Perlu dilakukan analisis PCR untuk mendeteksi adanya gen *cbmsyn*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ito J, Fujita Y, Ueda M, Fukuda H, Kondo A. (2004). Improvement of cellulose-degrading ability of a yeast strain displaying *Trichoderma reesei* endoglucanase II by recombination of cellulose-binding domain. *Biotechnol. Prog.* 20: 668-691.
- Jhala, M.K., *et al.* (2011). Role of Bioinformatics in Biotechnology. Information Technology Centre, GAU, Anand. Terdapat di http://openmed.nic.in/1383/01/Role_of_Bioinformatics_in_Biotechnology.pdf
- Lehtio, Janne. (2001). Functional Studies and engineering of Family I Carbohydrate-binding Modules. Royal Institute of Technolog. Sweden.
- Mount, D.W. 2001. *Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis*, Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Narita, V., Arum, A.L., Isnaeni, S., Fawzya N.Y. (2012). Analisis Bioinformatika Berbasis WEB untuk eksplorasi Enzim Kitonase Berdasarkan Kemiripan Sekuens. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*. Vol 1. No 4: 197-203.
- Shoseyov O, Shani Z, Ley I. (2006). Carbohydrate Binding Modules: Biochemical Properties and novel applications. *Microbiology and Molecular Biology*. 70(2): 283-295.
- Wang Y, Slade MB, Gooley AA, Atwell BJ, Williams KL. (2001). Cellulose-binding Modules from extracellular matrix protein of *Dictyostelium discoideum* stalk and sheath. *Eur. J. Biochem.* 268: 4334-4345.
- Wahyuni, FD. (2016). Konstruksi Vektor dan Ekspresi Protein Rekombinan Lipase *Candida antarctica* (CALB) dengan *Cellulose Binding Module* (CBM) pada *Pichia pastoris*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor

LAMPIRAN

Format Biodata Peneliti

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd., M.Si.
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	NIP/NIK/identitas lainnya	3574016302910002
4	NIDN (jika ada)	028401
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Probolinggo, 23 Februari 1991
6	E-mail	febriana@esaunggul.ac.id
7	Nomor telepon/HP	081291789560
8	Nama Institusi Tempat Kerja	Universitas Esa Unggul
9	Alamat Kantor	Jalan Arjuna Utara No. 9, RT 1/ RW 2, Duri Kepa, Kebon Jeruk, Jakarta Barat
10	Nomor telepon/Faks	(021) 5674223

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Jember	Institut Pertanian Bogor
Bidang Ilmu	Biologi	Bioteknologi
Tahun masuk-lulus	2009-2013	2013-2016
Judul Skripsi/Tesis	Pengaruh Ekstrak n-Heksan Daging Buah Delima Putih (<i>Punica granatum</i>) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) dan Pemanfaatannya sebagai Buku Suplemen	Konstruksi Vektor dan Ekspresi Protein Rekombinan Lipase <i>Candida antarctica</i> (CalB) dengan Cellulose Binding Module (CBM) pada <i>Pichia pastoris</i>
Nama Pembimbing	1. Dr. Iis Nurasyiah, S.P.,M.P 2. Slamet Hariyadi, M.Si	1. Prof. Dr. Suharsono, DEA 2. Dr. Asrul Muhamad Fuad

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

(bukan skripsi, tesis, dan disertasi)

No	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber	Jumlah
1	2012	SABU <i>Punica granatum</i> – Sari Buah Delima sebagai Minuman Antikolesterol Tanpa Efek Samping	DIKTI	10.566.000
2	2015	Ekspresi Konstitutif Protein Rekombinan <i>Candida antarctica</i> Lipase B pada <i>Pichia pastoris</i>	DIPA	30.000.000

D. Publikasi Artikel Ilmiah dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/Nomor/Tahun
1.	Pengaruh Ekstrak n-Heksan Daging Buah Delima Putih (<i>Punica granatum</i>) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah pada Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> L.) dan Pemanfaatannya sebagai Buku Suplemen	Pancaran Pendidikan	2 (4): 89-99/2013
2.	Constitutive Expression of <i>Candida antarctica</i> Lipase B (Calb) in <i>Pichia pastoris</i> Using pGAPZα Vector	Annales Bogoriense	20 (1): 31-38/2016

E. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 5 tahun terakhir

No	Nama Temu Ilmiah/ Seminar	Judul Artikel Ilmiah	Waktu dan Tempat

F. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Buku	Tahun	Jumlah Halaman	Penerbit

G. Perolehan HKI dalam 10 Tahun Terakhir

No.	Judul/Tema HKI	Tahun	Jenis	Nomor P/ID

H. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 10 Tahun Terakhir

No	Judul/Tema/Jenis Rekayasa Sosial Lainnya yang telah Diterapkan	Tahun	Tempat Penerapan	Respon Masyarakat

I. Penghargaan dalam 10 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

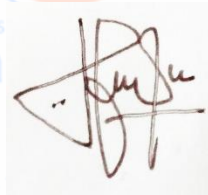
No	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila dikemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam penulisan Laporan Hibah Internal Universitas Esa Unggul.

Jakarta, 30 Oktober 2017

Pengusul



Febriana Dwi Wahyuni, S.Pd., M.Si

