

Isolasi dan karakterisasi enzim rekombinan fruktansukrase asal *Weissella confusa* MBFCNC 2-(1) yang diklon di dalam *Bacillus subtilis* DB 403 = Isolation and characterization of recombinant enzyme fructansucrase originated from *Weissella confusa* MBFCNC 2-(1) which cloned in *Bacillus subtilis* DB 403

Maria Tyas Hapsari, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20385907&lokasi=lokal>

Abstrak

Fruktansukrase merupakan enzim ekstraselular yang biasanya diproduksi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL). Oleh BAL, enzim ini digunakan untuk memproduksi eksopolisakarida (EPS) dari substrat sukrosa maupun substrat rafinosa. EPS memiliki potensi yang besar dalam industri farmasi, pangan dan kesehatan. Dalam penelitian sebelumnya, Fruktansukrase rekombinan diklon ke dalam *Bacillus subtilis* DB 403 dan dirancang untuk disekresikan keluar sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi protein fruktansukrase rekombinan dari bakteri *Bacillus subtilis* dan untuk mengetahui aktivitas fruktansukrase rekombinan tersebut. Pada penelitian ini, *Bacillus subtilis* rekombinan ditumbuhkan dan dipanen untuk mendapatkan protein fruktansukrase di dalam supernatan kultur. Protein diekresikan secara ekstraselular. Ke dalam supernatan lalu ditambahkan PMSF untuk mencegah terjadinya degradasi oleh protease. Selanjutnya protein diliofilisasi dengan metode freeze dry. Pelet protein diresuspensikan dalam sejumlah kecil buffer sedemikian rupa sehingga konsentrasinya pekat, setelah itu difiltrasi dengan menggunakan Amicon® Ultra-15 Centrifugal Filter Device cutoff -30 kDa untuk memisahkan fraksi protein yang berukuran besar dan kecil. Fraksi protein yang lebih besar dari 30 kDa dikumpulkan, kemudian dianalisis dengan SDS-PAGE. Sebagian fraksi tersebut dianalisis secara in situ dengan PAS-staining. Aktivitas fruktansukrase dapat diamati pada gel yang diinkubasi dengan substrat sukrosa dan substrat rafinosa berupa pita berwarna pink intensif.

.....

Fructansucrase is an extracellular enzyme which usually produced by Lactic Acid Bacteria (LAB). By LAB, this enzyme is used to produce exopolysaccharide (EPS) from both sucrose and raffinose substrates. EPS has huge potential in pharmaceutical, food and health industries. In previous research, fructansucrase recombinant was cloned into *Bacillus subtilis* DB 403 and was designed to be secreted extracellularly. This research aims to isolate the recombinant protein fructansucrase from *Bacillus subtilis* and to understand the activity of this recombinant fructansucrase. *Bacillus subtilis* was grown and extracted to obtain the fructansucrase protein within the culture supernatant. PMSF was added into the supernatant to prevent any degradation by proteases. The supernatant was lyophilized using freeze-dry method. The protein pellets were then resuspended with small volume of buffer to obtain a more concentrated sample. Subsequently, the protein was filtrated using Amicon® Ultra-15 Centrifugal Filter Device cutoff -30 kDa to separate protein filtrate by size. Protein fraction which was larger than 30 kDa was collected and analyzed by SDS PAGE. Some of the fraction was analyzed in situ using PAS-staining. Fructansucrase activity is observed on gel after incubation with both sucrose and raffinose substrate as a pink intensive band.