

Subkloning Gen Protease dan Konjugasi ke *Bacillus halodurans* CM1 dan *Bacillus subtilis* DB104, serta Analisis Ekspresi Produk Gennya = Subcloning of The Protease Gene and Conjugation to *Bacillus halodurans* CM1 and *Bacillus subtilis* DB104, and Analysis of The Gene Product Expression

Endang Rahmawati, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20485538&lokasi=lokal>

Abstrak

Enzim protease sangat potensial untuk digunakan di berbagai bidang industri. Salah satu bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease yang potensial adalah *Bacillus halodurans* CM1. *Bacillus halodurans* CM1 merupakan bakteri alkalotermofilik yang dimiliki oleh BPPT dan terdeteksi dapat menghasilkan enzim protease alkalotermofilik. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan subkloning gen protease dan konjugasi ke *Bacillus halodurans* CM1 dan *Bacillus subtilis* DB104 sebagai kontrol, serta menganalisis ekspresi produk gen yang dihasilkan. Gen protease berhasil diamplifikasi sebagai insert sebesar 1.417 pb dan berhasil tersisipi ke dalam vektor pBBRE194 yang berukuran 8.402 pb, dengan menghasilkan plasmid rekombinan sebesar 9.819 pb. Hasil konjugasi ke *Bacillus subtilis* DB104 diperoleh 1 klon positif yang terverifikasi plasmidnya dan menghasilkan zona bening. Sementara itu, konjugasi ke *Bacillus halodurans* CM1 diperoleh beberapa klon yang resisten terhadap antibiotik tetrasiklin dan menghasilkan zona bening, tetapi belum didapatkan klon positif yang berhasil diekstraksi plasmidnya. Enzim protease rekombinan yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* DB104 rekombinan memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan *Bacillus subtilis* DB104. Hasil karakterisasi enzim protease rekombinan pada rentang suhu 30^oC–60^oC dan pH 5–9 menunjukkan aktivitas tertinggi pada suhu 50^oC dan pH 9 yaitu sebesar 13,66 U/mL, sehingga termasuk dalam protease alkalotermofilik.

Protease is a potential enzyme that applied in various industry fields. One of the bacteria that can produce a potential protease enzyme is *Bacillus halodurans* CM1. *Bacillus halodurans* CM1 is an alkalotermophilic bacteria that is collected by BPPT and is detected can produce alkalotermophilic protease enzyme. This study aim to subclone the protease gene and conjugation to *Bacillus halodurans* CM1 and *Bacillus subtilis* DB104 as control, and analyze the expression of product gene produced. The protease gene was successfully amplified as an insert of 1.417 bp and was successfully inserted into the pBBRE194 vector of 8.402 bp, by producing a recombinant plasmid of 9,819 bp. Conjugation to *Bacillus subtilis* DB104 obtained 1 positive clone verified by the plasmid and produced a clear zone. Conjugation to *Bacillus halodurans* CM1 obtained some clones that were resistant to tetracycline antibiotic and produced clear zone, but no positive clones with the plasmid were successfully extracted. The recombinant protease enzyme produced by *Bacillus subtilis* DB104 recombinant has higher activity compared to *Bacillus subtilis* DB104. The results of the recombinant protease enzyme characterization in the temperature range of 30^oC–60^oC and pH 5–9 show the highest activity at 50^oC and pH 9 which is 13.66 U/mL, so it included to the alkalotermophilic protease group.