

Identifikasi dan kloning gen rekombinan DNA polimerase bakteri termofilik *Geobacillus thermoleovorans* isolat lokal dengan bakteri inang *Escherichia coli* pada vektor pET23d = Identification and cloning of DNA polymerase recombinant gene of local isolate thermophilic bacteria *Geobacillus thermoleovorans* with *Escherichia coli* as host in vector pET23d.

Kevin Priyono Tansil, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20504577&lokasi=lokal>

Abstrak

DNA polimerase merupakan enzim yang mampu menyintesis DNA komplemen dari sebuah untai DNA induk. Enzim ini diproduksi oleh seluruh makhluk hidup, namun jenis yang tahan panas lebih lazim digunakan karena cenderung tidak mengalami denaturasi dalam proses *polymerase chain reaction* (PCR). Enzim ini dapat diperoleh dengan mengisolasi langsung dari bakteri asal maupun membuat gen rekombinan dan mentransformasikannya ke dalam inang yang lebih mudah dikultur. Tujuan utama dari penelitian ini adalah memperoleh enzim ini dengan metode rekombinan dengan memanfaatkan bakteri inang *Escherichia coli*. Produksi DNA polimerase rekombinan didasarkan pada bakteri termofilik *Geobacillus thermoleovorans* dari permandian air panas Batu Kuwung, Serang, Banten yang telah sebelumnya diisolasi dan melalui proses *whole genome sequence*. DNA polimerase yang dibuat gen rekombinan adalah DNA pol I yang diketahui memiliki fidelitas rendah. Gen DNA polimerase dari *Geobacillus thermoleovorans* dikloning ke dalam plasmid pET23d baik gen utuh (2637 bp) maupun parsial (1737 bp). Gen DNA pol I menjadi target untuk proses *polymerase chain reaction* (PCR) untuk diperbanyak sebelum di potong dengan menggunakan enzim restriksi NcoI dan BamHI. Gen yang telah dipotong lalu di masukkan ke dalam plasmid pET23d yang telah dipotong dengan enzim restriksi yang sama. Plasmid yang telah didapatkan di transformasikan ke dalam *Escherichia coli* BL21 untuk pengujian ekspresi proteinnya. Hasil analisis dengan menggunakan PCR menunjukkan bahwa gen DNA pol I baik utuh maupun parsial berhasil dikloning ke dalam plasmid pET23d. Keberhasilan dari proses kloning yang dilakukan juga dibuktikan dari hasil uji ekspresi secara intraseluler protein rekombinan DNA pol I pada *E. coli*. Hal ini mengindikasikan bahwa gen DNA pol I dari *Geobacillus thermoleovorans* permandian air panas Batu Kuwung, Serang, Banten berhasil di kloning dan diekspresikan di *E. coli*.

DNA polymerase is an enzyme that synthesizes complement DNA according to single strand template DNA. This enzyme is produced in all living organism, but the thermostabile ones are more favoured because less prone to denaturation in polymerase chain reaction (PCR). The enzyme can be acquired by isolating the enzyme from the native bacteria or manufacturing recombinant gene then insert it into a host that is easier to be cultivated. The main purpose of this study is to acquire the enzyme by manufacturing recombinant gene and utilizing *Escherichia coli* as the host. The recombinant DNA polymerase manufacturing is

based on thermophilic bacteria *Geobacillus thermoleovorans* from Batu Kuwung Hotspring, Serang, Banten which has been previously isolated and went through whole genome sequence process. DNA polymerase that will be produced is DNA pol I that is known has low fidelity. There are two genes that are cloned into pET23d vector, such as full gene (2637 bp) and partial gene (1737 bp). DNA pol I gene is the subject to polymerase chain reaction (PCR) to amplify before being cut with restriction enzymes of NcoI and BamHI. The cut genes then are inserted into pET23d that is also cut with the same enzymes. The acquired plasmids then is transformed into *Escherichia coli* BL21 for protein expression assay. PCR analysis shows that the DNA pol I both full and partial are successfully cloned into pET23d. The successes are also supported from intercellular DNA pol I protein test expression assay in *E. coli*. This findings indicate that the DNA pol I from *Geobacillus thermoleovorans* isolated from Batu Kuwung hot spring, Serang, Banten, is successfully cloned and expressed by *E. coli*.