

Optimasi Kecepatan Agitasi, Volume Kerja dan Waktu Inkubasi Setelah Induksi terhadap Ekspresi Enzim DNA Polimerase Rekombinan dari Bakteri Termofilik *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734 pada Skala 250 mL dan 7,5 L = Optimization of Agitation Speed, Working Volume, and Post-Induction Incubation Time of Recombinant DNA Polymerase Expression from Thermophilic Bacteria *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734 at 250 mL and 7.5 L

Labitta Tsuraya Widagdo, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920524970&lokasi=lokal>

Abstrak

Indonesia memiliki ketergantungan terhadap impor kit untuk Polymerase Chain Reaction (PCR). Salah satu komponen krusial dalam PCR adalah DNA polimerase termostabil. Hal ini tidak sebanding dengan Indonesia yang terletak pada Ring of Fire, dimana Indonesia memiliki potensi ekosistem geothermal yang besar sebagai habitat bakteri termofilik penghasil DNA polimerase termostabil. Gen DNA pol I lokal dari *Geobacillus thermoleovorans* Batu Kuwung, Banten, telah berhasil dikloning pada plasmid pET-15b dan ditransformasikan pada *Escherichia coli* BL21. Meskipun GBK pol memiliki peran yang sangat penting dalam amplifikasi isothermal yang menjadikannya dapat diaplikasikan dalam PCR, untuk dapat memproduksi GBK pol secara komersil masih dinilai kurang layak secara ekonomi. Penelitian yang telah dilakukan untuk GBK pol masih memiliki keterbatasan dalam optimalisasi dan produksi scale-up. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan optimasi kondisi ekspresi seperti: kecepatan agitasi, waktu inkubasi setelah induksi, volume kerja dan peningkatan skala produksi pada 7,5 L bioreaktor untuk meningkatkan efisiensi, produksi dan ekspresi. Pada penelitian ini didapatkan kondisi optimum pada kecepatan agitasi 200 rpm, waktu inkubasi setelah induksi 4 jam dan 20% volume kerja. Selain itu, pada penelitian ini berhasil dilakukan produksi GBK pol pada 7,5 L bioreaktor dan menghasilkan konsentrasi protein tertinggi sebesar 0,042 µg/µL dengan waktu optimum untuk inkubasi setelah induksi selama 3 jam.

.....Indonesia relies on imported kits for Polymerase Chain Reaction (PCR). In fact, one of the crucial components in PCR is thermostable DNA polymerase. This is not comparable to Indonesia's potential which is located on the Ring of Fire. Consequently, Indonesia holds the potential for a large geothermal ecosystem which serves as a habitat for thermophilic bacteria capable of producing thermostable DNA polymerase. The local DNA pol I gene from *Geobacillus thermoleovorans* Batu Kuwung, Banten, has been successfully cloned into the plasmid pET-15b and transformed into *Escherichia coli* K pol in isothermal amplification, making it applicable for PCR, the commercial production of GBK pol is still considered economically unfeasible. The research conducted for GBK pol still has limitations in optimization and scale-up production. Therefore, in this study optimization of expression conditions was carried out, including the speed of agitation, post-induction incubation time, working volume and scale-up production at 7,5 L bioreactor to increase efficiency, production, and expression. In this study, the optimum conditions were obtained at an agitation speed of 200 rpm, a post-induction incubation time of 4 hours and 20% working volume. Furthermore, the production of GBK pol was successfully carried out in a 7.5 L bioreactor, resulting in the highest protein concentration of 0.042 µg/µL with the optimum post-induction incubation time for 3 hours.