

Produksi DNA Polimerase Rekombinan Sekuens Parsial dari Bakteri Termofilik *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734 = Production of Partial Sequence DNA Polymerase Recombinant from Thermophilic Bacteria *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734

Ika Nurkhasanah Prasetyaningsih, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920559849&lokasi=lokal>

Abstrak

DNA polimerase memiliki peran yang penting untuk memperbanyak DNA target dalam proses Polymerase Chain Reaction (PCR). Proses PCR dilakukan dalam suhu tinggi, sehingga DNA polimerase termostabil yang tidak terdenaturasi dalam suhu tinggi lebih disukai. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan isolasi dan kloning sekuens DNA polimerase termostabil dari *Geobacillus thermoleovorans* strain SGAir0734 dari pemandian air panas Batu Kuwung, Serang, Banten. Sekuens utuh DNA polimerase tersebut (2637 bp) digunakan sebagai dasar pembuatan sekuens parsialnya (1737 bp) dengan menghilangkan bagian eksonuklease. DNA polimerase sekuens parsial memiliki keunggulan dapat memproses PCR dengan lebih cepat. Pada penelitian ini, akan dilakukan optimisasi produksi sekuens parsial dari DNA polimerase termostabil rekombinan dari *Geobacillus thermoleovorans* strain SGAir0734 (GBK Pol Sekuens parsial). Gen GBK Pol Sekuens parsial dimasukkan ke dalam plasmid pET-15b. Plasmid tersebut ditransformasikan ke dalam *Escherichia coli* BL21. *Escherichia coli* dikultur dan protein diekspresikan dengan IPTG sebagai zat penginduksi. GBK Pol sekuens parsial ini kemudian dipanaskan dan lanjut ke purifikasi dengan metode Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC) menggunakan kolom His-Trap. GBK Pol sekuens parsial yang sudah berhasil dipurifikasi diuji dengan uji SDS-PAGE dan uji Lowry. Uji SDS PAGE menunjukkan bahwa ukuran protein yang didapatkan berkisar pada 58,1 kDa. Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi GBK Pol sekuens parsial paling banyak dipurifikasi dari sampel hasil pemanasan dengan variasi inoculum 20 mL dan suhu pemanasan 60, yaitu sekitar 343,931 µg/mL.

.....DNA polymerase has an important role to amplify target DNA in the Polymerase Chain Reaction (PCR) process. PCR is carried out at a high temperature, so thermostable DNA polymerase which is undenatured at high temperatures is preferred. In previous study, thermostable DNA polymerase from *Geobacillus thermoleovorans* strain SGAir0734 from Batu Kuwung hot springs, Serang, Banten has been isolated and cloned. The full sequence of DNA polymerase (2637 bp) was used as the basis for making the partial sequence (1737 bp) by removing the exonuclease region. The advantage of partial sequence DNA polymerase is that it can process PCR more quickly. In this study, optimization of the production and purification of partial sequences of thermostable recombinant DNA polymerase from *Geobacillus thermoleovorans* strain SGAir0734 (GBK Pol Partial sequence) will be carried out. GBK Pol Partial sequence gene was inserted into plasmid pET-15b. The plasmid was transformed into *Escherichia coli* BL-12. *Escherichia coli* are cultured, and proteins are expressed by adding IPTG as an inducing agent. The GBK Pol partial sequence will be heated and then proceed to purification by Immobilized Metal Affinity Chromatography (IMAC) method using His-Trap column. GBK Pol Partial sequence that has been successfully purified is tested using SDS-PAGE and Lowry test. In this study, the SDS PAGE test showed that the protein size was in the range of 58,1 kDa. The concentration of GBK Pol partial sequence was found to be the most purified from the heating sample with variation of 20 mL inoculum and heating temperature

of 60, which was around 343,931 $\mu\text{g/ml}$.