

Ekspresi dan karakterisasi protein rekombinan fruktansukrase asal *Weissella confusa* MBFCNC-2(1) di *Escherichia coli* dengan SDS-PAGE

Nanda Asyura Rizkyani, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20181366&lokasi=lokal>

Abstrak

Fruktosiltransferase (FTFase) atau fruktansukrase merupakan enzim ekstraseluler yang digunakan oleh bakteri asam laktat (BAL) untuk mensintesis produk eksopolisakarida (EPS) fruktan dari substrat sukrosa. Manfaat dari produk ini tidak hanya diaplikasikan dalam industri makanan, tetapi juga dalam industri farmasi, kesehatan dan kosmetik. Dalam studi sebelumnya, FTF rekombinan dari *Escherichia coli* telah dikonstruksi. Kemudian *Escherichia coli* rekombinan yang telah membawa gen *ftf* dipelajari ekspresinya untuk memperoleh protein fruktansukrase rekombinan dan mengetahui aktivitas fruktansukrase rekombinan dengan menggunakan teknik SDS-PAGE serta esei aktivitas enzim secara in situ pada studi ini. *Escherichia coli* rekombinan ditumbuhkan dan diinduksi dengan IPTG untuk menghasilkan protein FTF. Setelah sel dipecah, filtrat pelet sel dipekatkan dengan konsentrator untuk selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi kolom afinitas Ni^{2+} . Langkah ini dilakukan untuk mengisolasi FTF rekombinan yang bergabung dengan tag Histidin agar berikatan secara efisien terhadap Ni^{2+} . Dengan demikian, hanya FTF rekombinan dalam fraksi terakhir akan dielusikan oleh buffer imidazol, dan fraksi ini digunakan untuk melakukan analisis lebih lanjut, yaitu SDS PAGE. Dengan menggunakan SDS PAGE, berat molekul protein diperkirakan 130 kDa, sedangkan untuk aktivitasnya, dilakukan protokol in situ dengan menggunakan PAS staining. Aktivitas FTF dapat diamati pada gel yang di-staining PAS setelah gel diinkubasi dengan rafinosa sebagai substrat, tetapi tidak dapat diamati pada substrat sukrosa.