

Ekspresi dan karakterisasi peptida bakteriosin rekombinan Bac3 dari bacillus subtilis DB403 asal weissella confusa MBF8-1 menggunakan elektroforesis = Expression and characterization of Bac3 recombinant bacteriocin peptide from bacillus subtilis DB403 originated from weissella confusa MBF8-1 by electrophoresis

Catherine, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20431919&lokasi=lokal>

Abstrak

Dari penelitian sebelumnya, diketahui bahwa terdapat tiga jenis bakteriosin yang disandi oleh Weissella confusa MBF8-1, yaitu Bac1, Bac2, dan Bac3. Penelitian ini bertujuan untuk menguji keberhasilan ekspresi Bac3 yang dibawa oleh Bacillus subtilis DB403 serta karakterisasinya dengan elektroforesis SDS-PAGE dan uji KHM. Keberadaan gen bac3 dikonfirmasi dengan PCR yang menunjukkan fragmen DNA berada pada 135 bp. Produksi skala besar rekombinan B. subtilis DB403 dilakukan dengan menggunakan fermenter dengan agitasi 100 rpm dan suhu 30oC. Pelet sel yang diperoleh, dipanen dengan sentrifugasi dan dipecah dengan ultrasonikasi. Pada saat pemecahan sel, PMSF sebagai penghambat protease ditambahkan ke dalam suspensi sel, kemudian disentrifugasi. Proses purifikasi menggunakan kolom HisTrap dan fraksi purifikasi diliofilisasi. Konsentrasi protein yang akan dikarakterisasi dengan elektroforesis SDS-PAGE diukur dengan menggunakan BCA Assay. Hasil elektroforesis SDS-PAGE tidak menunjukkan pita protein seperti yang diharapkan dan ini diduga karena adanya fenomena folding, hasil purifikasi menunjukkan pita berada pada ukuran 86-87 kDa. Untuk konfirmasi proses purifikasi, uji aktivitas antimikroba KHM dilakukan, hasil uji menunjukkan peptida rekombinan Bac3 memiliki aktivitas antimikroba yang lemah.

.....

From the previous study, it was reported that three type of bacteriocins were produced by Weissella confusa MBF8-1, they are Bac1, Bac2, and Bac3. The objectives from this study are to know the result of Bac3 expression in Bacillus subtilis DB403 and the characterization by SDS-PAGE and MIC. The existence of bac3 encoding gene was confirmed by PCR showing DNA fragment at 135 bp. Large scale production of recombinant B. subtilis DB403 is done by fermenter with the agitation was set to 100 rpm and the temperature was 30oC. The pellet cell obtained was collected by centrifugation and the cell lysed by ultrasonication. During cell lysis, protease inhibitor PMSF was added to the cell suspension, followed by centrifugation. Purification by HisTrap column was carried out and the protein was lyophilized. The concentration of protein for SDS-PAGE characterization was measured by performing BCA Assay. The SDS-PAGE did not show protein band as expected and it was assumed due to folding phenomenon problem, purification result showed at 86-87 kDa band. To confirm the purification process, antimicrobial activity assay performing MIC was carried out, the result showed weak antimicrobial activity of Bac3 recombinant peptide.