

Ekspresi dan karakterisasi peptida bakteriosin rekombinan Bac1 dari bacillus subtilis DB403 asal weissella confusa MBF8-1 menggunakan elektroforesis = Expression and characterization of recombinant bacteriocin peptide Bac1 in bacillus subtilis DB403 from weissella confusa MBF8-1 by electrophoresis

Angelina Wening Widiyanti, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20431926&lokasi=lokal>

Abstrak

Bakteriosin telah dikenal sebagai polipeptida kecil yang memiliki aktivitas antimikroba dan disintesis oleh banyak bakteri. Pada penelitian sebelumnya, ditemukan adanya tiga peptida dengan motif glisin ganda yang diduga bakteriosin dalam *Weissella confusa* MBF8-1. Ketiga bakteriosin tersebut telah berhasil diklon pada *Bacillus subtilis* DB403. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi dan karakterisasi peptida rekombinan bakteriosin, khususnya Bac1 menggunakan metode elektroforesis Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel (SDS - PAGE). *Bacillus subtilis* DB403 dibiakkan dan diinduksi dengan Xylosa untuk melihat ekspresi peptida rekombinan. Kemudian sel diresuspensi dan dipurifikasi dengan Kolom Afinitas HisTrap FF 5 mL yang diikuti dengan liofilisasi. Karakterisasi diamati menggunakan SDS - PAGE dan dikonfirmasi menggunakan uji aktivitas antimikroba yang menunjukkan konsentrasi hambat minimal (KHM). Bakteri indikator yang digunakan adalah *Leuconostoc mesenteroides* TISTR120. Adanya gen bac1 dibuktikan dengan Polymerase Chain Reaction menggunakan plasmid sebagai template dan pasangan primer spesifik. Berdasarkan terjadinya misfolding dan agregasi yang disebabkan adanya penambahan Histidin tag pada bac1, peptida Bac1 tidak berhasil dikarakterisasi menggunakan SDS - PAGE. Fraksi elution buffer Bac1 menunjukkan adanya pita tunggal pada ukuran 96 kDa. Sedangkan prediksi kalkulasi berat molekul menggunakan sekuens asam amino menunjukkan bobot molekul Bac1 adalah 4,9 kDa. Hasil Uji KHM tidak menunjukkan aktivitas potensial Bac1 sebagai bakteriosin tunggal.

.....

Bacteriocin is a well-known ribosomally synthesized polypeptide by many bacteria, which has antimicrobial effect. In a previous study, three putative double glycine motive peptide encoded in *Weissella confusa* MBF8-1. These putative bacteriocins were cloned in *Bacillus subtilis* DB403. This study aims to observe expression and characterization recombinant bacteriocin, in particular Bac1 using Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel (SDS - PAGE) method. *B. subtilis* DB403 was cultivated and induced with xylose to observe the expression of recombinant peptide. Then, cell was resuspended and purified with HisTrap FF Affinity Column 5 mL, followed by lyophilization. Characterization was done by SDS ? PAGE and was confirmed by antimicrobial activity assay performing Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Indicator bacteria used was *Leuconostoc mesenteroides* TISTR120. The existence of bac1 gene has been proved by Polymerase Chain Reaction (PCR) using plasmid as template and specific primer pairs. It is assumed that due to malfolding and aggregation caused by Histidin tag added to bac1 gene, Bac1 peptide cannot be succesfully characterized by SDS - PAGE. Analysis of Bac1 fraction from elution buffer step resulted a single band at 96 kDa. While, predictive calculation of molecular weight by Bac1 amino acid sequence is 4.9 kDa. MIC assay result did not show potential activity of Bac1 as a single bacteriocin.