

Pengaruh variasi suhu pada purifikasi dan amplifikasi DNA dengan DNA Polimerase Rekombinan dari Bakteri Termofilik *Geobacillus thermoleovorans* SGAir0734 = Effects of temperature on purification and DNA amplification with recombinant DNA Polymerase from Thermophilic Bacteria *Geobacillus thermoleovorans* SGAir0734

Carola Serafina Kiara Amabel Drupadi, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20519119&lokasi=lokal>

Abstrak

DNA polimerase merupakan sebuah enzim yang memiliki aplikasi luas dalam dunia bioteknologi. Peran DNA polimerase dalam sintesis DNA membuat DNA polimerase sebuah reagen yang sering digunakan pada berbagai metode amplifikasi DNA. Proses sintesis DNA pada metode-metode tersebut menggunakan suhu tinggi, sehingga dibutuhkan DNA polimerase yang tidak terdenaturasi pada suhu tinggi atau dengan kata lain termostabil. Salah satu sumber DNA polimerase termostabil adalah bakteri termofilik *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734 (GBK Pol) yang diisolasi dari mata air panas Batu Kuwung, Banten, Indonesia. Pada penelitian sebelumnya, telah diuji coba produksi dari GBK Pol dengan suhu purifikasi pada rentang 60 – 80 dimana diduga terjadi denaturasi dari enzim. Maka dari itu, pada penelitian ini dilakukan purifikasi GBK Pol sekuens utuh dan parsial dengan metode immobilized metal affinity chromatography (IMAC) dengan rentang suhu 40 – 60 dan uji aktivitas amplifikasi DNA dengan metode loop mediated isothermal amplification (LAMP) dengan rentang suhu 25 – 60. Hasil uji Lowry menunjukkan bahwa pemanasan 60 menghasilkan GBK pol dengan konsentrasi tertinggi, yaitu sekitar 134 µg/ml untuk plasmid sekuens utuh. GBK pol hasil purifikasi kemudian diuji aktivitasnya dengan LAMP, dimana reaksi pada suhu 40 selama 2 jam menghasilkan pita yang jelas pada elektroforesis dan menghasilkan konsentrasi DNA tertinggi. GBK pol dari hasil purifikasi dengan pemanasan 60 menghasilkan konsentrasi DNA tertinggi pada LAMP suhu 40 baik untuk sekuens parsial dan utuh.

.....DNA polymerase is an enzyme that has a wide application in the world of biotechnology. DNA Polymerase's role in synthesizing DNA makes DNA polymerase a favorable reagent in various DNA amplification methods. The synthesis process in these methods is done in high temperatures, thus a DNA polymerase that won't experience denaturation in high temperatures, or in other words thermostable, is needed. One source of thermostable DNA polymerase is the thermophilic bacteria *Geobacillus thermoleovorans* Strain SGAir0734 (dubbed GBK Pol) that has been isolated from Batu Kuwung hot springs, Banten, Indonesia. In the previous study, a production trial of GBK pol has been carried out with purification temperatures that range between 60 – 80, where denaturation of the enzyme is suspected to have happened. As such, in this study, lower temperatures of 40 – 60 are employed in the purification of GBK Pol with immobilized metal affinity chromatography (IMAC) as well as in the activity study with loop mediated isothermal amplification (LAMP) with reaction temperatures of 25 – 60. The Lowry assay results show that the highest GBK pol concentration is achieved with 60 heat treatment, with a concentration of around 134 µg/ml for full sequence plasmid. Purified GBK pol are then tested with LAMP, where isothermal amplification at 40 for 2 hours resulted in the clearest bands during gel electrophoresis as well as highest concentrations of DNA. The highest concentration of DNA is achieved from GBK pol with 60 heat treatment, suggesting that 60 is the optimal temperature for purification.