

Isolasi Fragmen Gen Bakteriosin Lantibiotik Sal9 dan Gen Bakteriosin Nonlantibiotik Sm1 dan Sm2 dari Genom *Streptococcus macedonicus* MBF10-2 dan Perancangannya Untuk Kloning = Isolation of Sal9 Lantibiotic and Sm1 and Sm2 Nonlantibiotic Bacteriocin Gene Fragment from *Streptococcus macedonicus* MBF10-2 Genome and its Design for Cloning

Helen Pricilia, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20520165&lokasi=lokal>

Abstrak

Kejadian resistensi antimikroba telah menyebabkan berkurangnya efektivitas agen antimikroba yang sudah beredar. Bakteriosin adalah peptida antimikroba (PAM) yang dihasilkan oleh bakteri. Penelitian sebelumnya telah mengidentifikasi bakteriosin jenis lantibiotik Salivaricin 9 dan nonlantibiotik Sm1 dan Sm2 yang dihasilkan oleh *Streptococcus macedonicus* MBF10-2. Upaya pengembangan agen antimikroba baru dikendalai oleh masalah seperti jumlah produksi bakteriosin alami yang terbatas dan harga bakteriosin sintetik yang tinggi. Ekspresi peptida bakteriosin secara heterolog dapat menjadi metode alternatif produksi bakteriosin. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh fragmen gen bakteriosin secara *in vitro* dan perancangannya untuk kloning secara *in silico*. Fragmen gen penyandi bakteriosin matur diperoleh dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR) dengan primer hasil rancangan. Fragmen gen bakteriosin kemudian dilakukan kloning secara *in vitro* pada vektor pTA2 untuk menghasilkan plasmid rekombinan pTA2_Sal9, pTA2_Sm1 dan pTA2_Sm2. Seluruh plasmid rekombinan dikonfirmasi dengan PCR dan Sanger sekuensing. Seluruh plasmid rekombinan yang telah dikonfirmasi digunakan untuk mengamplifikasi fragmen gen bakteriosin dengan primer modifikasi yang mengandung situs enzim restriksi untuk dielaborasi pada setiap ujung fragmen gen secara *in silico*. Fragmen gen bakteriosin yang telah dimodifikasi kemudian dikloning secara *in silico* pada vektor pNZ8148 dan pET-28a(+) untuk produksi pada *Lactococcus lactis* dan *Escherichia coli* secara berturut-turut dengan restriksi-insersi. Primer dan plasmid rekombinan hasil perancangan yang dihasilkan perlu dilanjutkan ke tahap uji coba *in vitro*.

.....

The emergence of antimicrobial resistance has resulted in the decrease of efficiency of the current available antimicrobial agents. Bacteriocins are antimicrobial peptides (AMP) that are produced by bacteria. Bacteriocins produced by *Streptococcus macedonicus* MBF10-2 have been previously identified as the lantibiotic salivaricin 9 and the nonlantibiotics Sm1 and Sm2. The development of bacteriocins as new antimicrobial agents is challenged by the limited natural production of bacteriocins and the high costs of synthetic bacteriocins. Heterologous expression of bacteriocin peptides can be an alternative method. This study aims to isolate the bacteriocin gene fragment of Sal9, Sm1 and Sm2, followed by *in vitro* and *in silico* cloning. Specific primers were designed to obtain the gene fragments by *polymerase chain reaction* (PCR). The gene fragments were then cloned *in vitro* into pTA2 vector, generating pTA2_Sal9, pTA2_Sm1 dan pTA2_Sm2 recombinant plasmids. The recombinant plasmids were then confirmed by PCR and Sanger sequencing. *In silico* studies were carried out by using all recombinant plasmids and the gene fragments were amplified by employing modified

oligonucleotide primers containing enzyme restriction sites to flank the gene fragment. The modified bacteriocin gene fragments are then cloned *in silico* into expression vectors pNZ8148 and pET-28a(+) for the production in *Lactococcus lactis* and *Escherichia coli* respectively by restriction-insertion. The designed primers and plasmid constructs serve as reference for further *in-vitro* study.