

Optimasi Ekspresi Gen Penyandi Penisilin G Asilase (PGA) dari *Achromobacter xylosoxidans* pada *Escherichia coli* Arctic Express (DE3) dan *Escherichia coli* BL21 (DE3) = Optimization of Penicillin G Acylase (PGA) Coding Gene Expression from *Achromobacter xylosoxidans* on *Escherichia coli* Arctic Express (DE3) and *Escherichia coli* BL21 (DE3)

Kartika Sari Cendana, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920518248&lokasi=lokal>

Abstrak

Penisilin dari kelompok antibiotik -laktam dianggap mampu menjadi produk antibiotik superior di pasaran global. Akibat fenomena resistensi antibiotik turunan pertama, enzim penisilin G Asilase (PGA) berperan penting pada industri antibiotik semisintetik -laktam seperti amoksisilin. Enzim PGA dari *Achromobacter xylosoxidans* yang diekspresikan menggunakan teknologi DNA rekombinan pada sel inang ekspresi *E. coli* BL21 (DE3) dan *E. coli* Arctic Express (DE3) menghasilkan badan inklusi yang bersifat insoluble. Optimasi ekspresi enzim PGA dilakukan dengan parameter konsentrasi penginduksi isopropil--D-galaktopiranosida (IPTG) dan suplementasi media dengan CaCl_2 . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui parameter optimal berupa variasi konsentrasi IPTG dan penambahan CaCl_2 pada ekspresi gen penyandi Penisilin G Asilase (PGA) yang berasal dari *A. xylosoxidans* pada sel kompeten *E. coli* Arctic Express (DE3) dan *E. coli* BL21 (DE3) serta mengamati ekspresi gen penyandi enzim PGA secara intraseluler dan ekstraseluler. Ekspresi gen dilakukan secara lambat dengan perlakuan suhu rendah, yaitu 20°C untuk *E. coli* BL21 (DE3) dan 10°C untuk *E. coli* Arctic Express (DE3), selama 16 jam menggunakan media Luria Bertani (LB). Produk enzim AxPGA dianalisis secara kualitatif menggunakan elektroforesis SDS-PAGE dan secara kuantitatif menggunakan uji Bradford dan uji aktivitas hidrolisis. Sel inang ekspresi *E. coli* Arctic Express (DE3) dan *E. coli* BL21 (DE3) mengekspresikan enzim AxPGA periplasmik dengan aktivitas $6,3 \pm 0,76$ U/mL dan $4,7 \pm 0,05$ U/mL berturut-turut, sedangkan sitoplasmik dengan aktivitas $7,3 \pm 0,2$ U/mL dan $4,5 \pm 0,11$ U/mL berturut-turut. Hasil analisis menunjukkan bahwa enzim AxPGA berhasil diekspresikan pada *E. coli* Arctic Express (DE3) dan *E. coli* BL21 (DE3) dengan induksi IPTG 0,5 mM dan penambahan CaCl_2 10 mM secara optimal.

.....Penicillin from the -lactam antibiotic group is capable to become a superior antibiotic product in the global market. As a result of the first-generation antibiotic resistance phenomenon, the penicillin G Acylase (PGA) enzyme plays an important role in the -lactam semisynthetic antibiotic industry such as amoxicillin. The PGA enzymes from *Achromobacter xylosoxidans* which is expressed using recombinant DNA technology using *E. coli* Arctic Express (DE3) and *E. coli* BL21 (DE3) host cell expressions produce insoluble inclusion bodies Optimization of PGA enzyme expression was carried out with isopropyl--D-galactopyranoside (IPTG) induction and CaCl_2 media supplementation parameter. This study aims to determine the optimal parameters of IPTG concentrations and CaCl_2 supplementation on the expression of the penicillin G acylase (PGA) encoding gene from *A. xylosoxidans* in *E. coli* Arctic Express (DE3) and *E. coli* BL21 (DE3) and to observe intracellular and extracellular expressions. Gene expression carried out slowly with low temperature, 20°C for *E. coli* BL21 (DE3) and 10°C for *E. coli* Arctic Express (DE3), for 16 hours using Luria Bertani (LB) media. The AxPGA enzyme product analyze qualitatively using SDS-

PAGE electrophoresis and quantitatively using the Bradford test and hydrolysis activity. *E. coli* Arctic Express (DE3) dan *E. coli* BL21 (DE3) host cells expressed the periplasmic AxPGA enzymes with activity of $6,3 \pm 0,76$ U/mL dan $4,7 \pm 0,05$ U/mL, respectively, while the cytoplasmic AxPGA enzymes with activity of $7,3 \pm 0,2$ U/mL and $4,5 \pm 0,11$ U/mL respectively. The results showed that the AxPGA enzyme was optimally expressed in *E. coli* Arctic Express (DE3) and *E. coli* BL21 (DE3) with 0,5 mM IPTG induction and 10 mM CaCl₂ media supplementation.