

Studi Aktivitas Enzim Fusi YebF-Cas9 Rekombinan dari *Geobacillus kaustophilus* Secara In Silico dan In Vitro = The Study of Recombinant YebF-Cas9 Fusion Enzyme Activity from *Geobacillus kaustophilus* In In Silico and In Vitro Way

Hajar Muthi`ah Mahendra, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920545539&lokasi=lokal>

Abstrak

Rekayasa genetika adalah proses yang melibatkan perubahan struktur genetik suatu organisme dengan menghilangkan, memasukkan, atau memodifikasi materi genetik yang terdapat pada objek yang dituju. Salah satu teknik rekayasa genetika adalah pengeditan gen. Metode pengeditan gen yang paling populer saat ini adalah CRISPR-Cas9 yang merupakan singkatan dari clustered regularly interspaced short palindromic repeat-associated protein 9. Penelitian ini mengkaji aktivitas Cas9 dengan sgRNA dari bakteri *Geobacillus kaustophilus* secara in silico dan in vitro. Pada percobaan in silico digunakan metode molecular docking untuk mengkaji interaksi biomolekuler dengan variasi sgRNA yaitu spacer 10, 20, 30 nt; repeat 16, 25, 36 nt; dan tracrRNA 63, 98, 140 nt. Didapatkan hasil bahwa perubahan panjang spacer, repeat, dan tracrRNA dapat mempengaruhi tingkat besar afinitas pengikatan yang terbentuk dalam kompleks YebF-Cas9-sgRNA dari *Geobacillus kaustophilus*. Panjang optimal dari hasil molecular docking secara afinitas dan posisi yaitu pada variasi spacer 30 nt dengan repeat 16 nt dan tracrRNA 98 nt serta besar afinitas pengikatan $-419,24$ kkal/mol. Sedangkan pada percobaan in vitro, enzim Cas9 rekombinan dilakukan fusi enzim pembawa YebF dan diuji aktivitasnya menggunakan metode gel elektroforesis dengan variasi suhu inkubasi pada 30°C dan 50°C serta variasi konsentrasi enzim yaitu 9,4 M dan 20,1 M. Dari hasil gel elektroforesis, belum dapat hasil yang signifikan baik dalam uji aktivitas, pengaruh variasi suhu, maupun pengaruh variasi konsentrasi enzim.

.....Genetic engineering is a process that involves changing the genetic structure of an organism by removing, inserting, or modifying genetic material contained in the target object. One of the genetic engineering techniques is gene editing. The most popular gene editing method today is CRISPR-Cas9 which stands for clustered regularly interspaced short palindromic repeat-associated protein 9. This study examines the activity of Cas9 with sgRNA from the bacteria *Geobacillus kaustophilus* in in silico and in vitro way. In the in silico experiment, the molecular docking method was used to study biomolecular interactions with variations in sgRNA, namely spacer 10, 20, 30 nt; repeat 16, 25, 36 nt; and tracrRNA 63, 98, 140 nt. The results showed that changes in the length of the spacer, repeat, and tracrRNA can affect the level of binding affinity formed in the YebF-Cas9-sgRNA complex from *Geobacillus kaustophilus*. The optimal length of the molecular docking results in terms of affinity and position is in the variation of 30 nt spacer with 16 nt repeat and 98 nt tracrRNA and the binding affinity is -419.24 kcal/mol. While in the in vitro experiment, the recombinant Cas9 enzyme was fused with the YebF carrier enzyme and its activity was tested using the gel electrophoresis method with variations in incubation temperature at 30°C and 50°C and variations in enzyme concentration (9.4 M and 20.1 M). From the results of gel electrophoresis, there are no significant results were obtained in the activity test, the effect of temperature variations, or the effect of enzyme concentration variations.