

## INTISARI

*Luciferase-like monooxygenase* (LLM) merupakan *Flavin-dependent monooxygenase* (FMO) yang berperan sebagai biokatalisator dalam proses oksidasi *Baeyer Villiger*, halogenasi, dan epoksidasi. Sebelumnya, *Open Reading Frame* (ORF) LLM5 yang tergolong dari salah satu 5 *Open Reading Frame* (ORF) LLM *Priesta megaterium* berhasil dikloningkan pada vektor berupa pET-28a(+) dan diekspresikan dalam *Escherichia coli* BL21 (DE3). Penelitian ini bertujuan untuk memurnikan protein llm dan menganalisis kelarutannya serta karakterisasi parsial protein tersebut. Bakteri *Escherichia coli* BL21 (DE3) yang membawa pET-28a(+)-*llm5* dikultivasi dalam medium Luria Bertani dengan 50 µg/ml antibiotik kanamisin kemudian diamati hasil ekspresinya menggunakan SDS PAGE. Sel diinduksi dengan 0,1 dan 0,5 mM IPTG kemudian dipecah dengan sonikasi untuk menguji kelarutan. Rekombinan LLM5 kemudian dipurifikasi dengan kromatografi resin Hi Trap Q HP dan diuji karakterisasi parsialnya. Uji kelarutan menunjukkan bahwa LLM5 rekombinan berada dalam bentuk yang larut 74,24% dan 64,4%. LLM5 rekombinan berhasil dipurifikasi dengan kromatografi resin Hi Trap Q HP.

Kata kunci : Ekspresi, karakterisasi parsial, kelarutan, LLM5, purifikasi

### **ABSTRACT**

Luciferase-like monooxygenase (LLM) is a Flavin-dependent monooxygenase (FMO) that acts as a biocatalyst in Baeyer Villiger oxidation, halogenation, and epoxidation. Previously, LLM5 Open Reading Frame (ORF), which belongs to one of the 5 Open Reading Frames (ORF) of LLM in *Priestia megaterium*, was successfully cloned into a vector in the form of pET-28a(+), and it was expressed in *Escherichia coli* BL21 (DE3). This study was aimed at purifying the LLM protein and analysing its solubility and partial characterisation of the protein. *Escherichia coli* BL21 (DE3) carrying pET-28a(+)-*llm5* was cultivated in Luria Bertani medium with 50 µg/ml of the antibiotic kanamycin and then the expression results were observed using SDS PAGE. Cells were induced with 0,1 and 0,5 mM IPTG then split by sonication to test solubility. The LLM5 recombinant was then purified by Hi Trap Q HP resin chromatography and tested for its partial characterisation. The solubility analysis showed that recombinant LLM5 was 74,24% and 64,4% soluble. The recombinant LLM5 was successfully purified using Hi Trap Q HP resin chromatography.

**Keywords:** Expression, partial characterization, solubility, LLM5, purification