

## INTISARI

### ANALISIS EKSPRESI *OPEN READING FRAME* (ORF) METALOPROTEASE

NI KADEK AYU GITA OKARINI

13/347894/PN/13186

Metaloprotease merupakan protease yang mekanisme katalitiknya memerlukan metal ion (kation) sebagai kofaktor. Zinc merupakan metal ion yang paling umum ditemukan pada kebanyakan metaloprotease. Beberapa diantaranya ada yang menggunakan kobalt sebagai metal kofaktor. Metaloprotease dapat digunakan sebagai anti mikrobial pada makanan yang berbentuk bubuk. Untuk itu banyak industri makanan yang berusaha untuk memproduksi metaloprotease. Sebelum dilakukan produksi, perlu diketahui ekspresi dari *open reading frame (orf)* metaloprotease agar dapat diperoleh hasil yang efisien. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis ekspresi *open reading frame* metaloprotease dari *Bacillus* sp. T3. Analisis ekspresi dilakukan dengan mengisolasi protein dari sel transforman pembawa *orf* metaloprotease dan dipisahkan dengan menggunakan elektroforesis SDS PAGE. Sel transforman merupakan sel *Escherichia coli* BL21(DE3) yang telah ditransformasi vektor ekspresi (pET-28a) dan tersisipi *orf* metaloprotease. Analisis ekspresi dilakukan berdasarkan pada perbedaan konsentrasi induser, *isoprophyl thio  $\beta$ -D-galactopyranoside* (IPTG) dan variasi lama waktu induksi yaitu 1, 2, dan 3 jam. Analisis SDS PAGE menunjukkan bahwa metaloprotease rekombinan memiliki berat molekul sekitar 66 kDa. Hasil ini lebih besar sekitar 2 kDa dari hasil prediksi berdasarkan jumlah residu asam amino. Protein rekombinan hasil ekspresi merupakan protein intraselular dan berada dalam bentuk *inclusion body*. Lama waktu induksi optimal untuk ekspresi metaloprotease dalam *E. coli* BL21(DE3) adalah minimal 1 jam setelah penambahan IPTG dan minimum IPTG yang efektif untuk proses induksi adalah 0,5 mM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *orf* metaloprotease rekombinan dari *Bacillus* sp. T3 dapat diekspresikan oleh *E. coli* BL21(DE3).

Kata kunci : analisis ekspresi, *isoprophyl thio  $\beta$ -D-galactopyranoside* (IPTG), *open reading frame (orf)* metaloprotease, SDS PAGE.

## ABSTRACT

### EXPRESSION ANALYSIS OF OPEN READING FRAME (ORF) METALOPROTEASE

NI KADEK AYU GITA OKARINI

13/347894/PN/13186

Metalloprotease is a protease that specifically cleaves the peptide bond mediated by the metal cofactor. Most of the metalloprotease require zinc ( $\text{Zn}^{2+}$ ) cation as metal cofactor, but some of them use cobalt ( $\text{Co}^{2+}$ ). Metalloprotease can be used as antimicrobial in powdered foods. Therefore many food industries are trying to produce metalloprotease. Before to production this enzyme, we need to know the expression of the open reading frame (orf) metalloprotease in order to obtain efficient results. The objective of this work was to carried out the expression analysis of metalloprotease open reading frame (orf) from *Bacillus* sp. T3 in *Escherichia coli* BL21(DE3) system. Expression analyses were carried out by using SDS PAGE method. The pET28a harboured with metalloprotease orf was used to transform *E. coli* BL21(DE3). The expression of recombinant metalloprotease was induced by isoprophyl thio- $\beta$ -D-galactopyranoside (IPTG). Expression analyses of recombinant metalloprotease were examined under different concentraion of IPTG and different induction time. The results indicated that the orf of recombinant metalloprotease was sucessfully overexpressed in *E. coli* BL21(DE3) system. However the expressed protein was present in insoluble form (inclusion body). Furthermore the expressed protein exhibited 2 kDa larger on SDS PAGE as compared to the molecular weight that calculated based on the amino acid sequence. Optimum induction time of recombinant metalloprotease was 1 hours with 1 mM IPTG.

**Keywords:** Expression analysis, isoprophyl thio  $\beta$ -D-galactopyranoside (IPTG), open reading frame (orf) metalloprotease, SDS PAGE.