Isolasi, Kloning, dan Ekspresi Open Reading Frame Alcohol Dehydrogenase dari Planococcus plakortidis
JS01
Rr. Angelicha Larasati Chandra Diningrat, M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D.; Susanti Mugi Lestari, S.P.,
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

INTISARI

Alcohol dehydrogenase (ADH) merupakan enzim oksidoreduktase yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis reaksi oksidasi-reduksi yang bersifat reversibel antara alkohol dan aldehida. Salah satu kelompok ADH kelas III, yaitu *glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase*, berpotensi diaplikasikan dalam detoksifikasi formaldehida. *Planococcus plakortidis* JS01 merupakan bakteri halofil yang potensial dimanfaatkan menjadi sumber enzim untuk aplikasi industri. Analisis *in silico* menunjukkan bahwa genom *Planococcus plakortidis* JS01 memiliki *open reading frame* pengode *alcohol dehydrogenase* (ADH). Penelitian ini bertujuan untuk isolasi, kloning, dan ekspresi ORF ADH dari genom *Planococcus plakortidis* JS01 pada bakteri *Escherichia coli* BL21(DE3). Isolasi ORF ADH dilakukan dengan amplifikasi PCR menggunakan primer spesifik gen kemudian dikloning ke dalam vektor ekspresi pET-28a(+) melalui mekanisme restriksi-ligasi. Hasil amplifikasi menunjukkan ORF ADH berukuran 1140 bp berhasil dikloning dan memiliki persentase identitas 100% dengan *zinc-dependent alcohol dehydrogenase* dari *Planococcus plakortidis*. Ekspresi protein rekombinan ADH pada bakteri *Escherichia coli* BL21(DE3) optimal diinduksi menggunakan 0.5 mM IPTG pada suhu 30°C selama 4 jam. Penambahan variasi $ZnSO_4$ dengan rentang 0.1–1 mM terbukti meningkatkan intensitas pita protein dengan berat molekul sekitar 44.1 kDa. Analisis SDS-PAGE menunjukkan bahwa protein rekombinan ADH berhasil diekspresikan, namun dominan berada pada fraksi tidak larut.

Kata Kunci: *Alcohol dehydrogenase, Planococcus plakortidis* JS01, Kloning Gen, Ekspresi Protein Rekombinan

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Isolasi, Kloning, dan Ekspresi Open Reading Frame Alcohol Dehydrogenase dari Planococcus plakortidis JS01
Rr. Angelicha Larasati Chandra Diningrat, M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D.; Susanti Mugi Lestari, S.P.,
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

Alcohol dehydrogenase (ADH) is an oxidoreductase that catalyzes reversible oxidation-reduction reactions between alcohols and aldehydes. One group of class III ADHs, including glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenases, has potential applications in formaldehyde detoxification. *Planococcus plakortidis* JS01 is a halophilic bacterium with potential as a source of industrially relevant enzymes. In silico analysis revealed the presence of an open reading frame (ORF) encoding alcohol dehydrogenase in the genome of *Planococcus plakortidis* JS01. This study aimed to isolate, clone, and express the ADH ORF from the *Planococcus plakortidis* JS01 genome in *Escherichia coli* BL21(DE3). The ADH ORF was amplified by PCR using gene-specific primers and subsequently cloned into the pET-28a(+) expression vector through a restriction-ligation strategy. The amplification results showed that the ADH ORF with a base length of 1140 bp was successfully cloned and exhibited 100% sequence identity to the zinc-dependent alcohol dehydrogenase of *Planococcus plakortidis*. Expression of the recombinant ADH protein in *Escherichia coli* BL21(DE3) was optimal when induced using 0.5 mM IPTG at 30°C for 4 h. Supplementation with $ZnSO_4$ at concentrations ranging from 0.1 to 1 mM enhanced the intensity of the protein band corresponding to a molecular weight of approximately 44.1 kDa. SDS-PAGE analysis confirmed successful expression of the recombinant ADH, which was predominantly detected in the insoluble fraction.

Keywords: *Alcohol dehydrogenase, Planococcus plakortidis* JS01, Gene Cloning, Recombinant Protein Expression