UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Kloning, Ekspresi, Purifikasi, dan Uji Aktivitas Karboksilesterase Rekombinan dari Planococcus plakortidis JS01
Sherly Aurora Cahyadewi, Muhammad Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D.; Nur Akbar Arofatullah, S.P., M.Bio
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Intisari

Karboksilesterase (EC 3.1.1.1) merupakan enzim dari famili α/β *hydrolase fold* dengan aplikasi yang luas seperti pada bidang farmasi dan bioremediasi. Karboksilesterase yang diisolasi dari bakteri halotoleran memiliki keunggulan karena dapat bekerja pada lingkungan berkadar garam tinggi. Pada penelitian sebelumnya, ORF karboksilesterase dari *Planococcus plakortidis* JS01 telah berhasil diisolasi dan aktivitas lipolitik ekstrak kasar enzim terhadap substrat Tween 80 telah diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengkloning ORF tersebut ke dalam inang *E. coli* BL21 (DE3) untuk mengetahui ekspresi dan solubilitas karboksilesterase rekombinan serta menguji aktivitas karboksilesterase rekombinan yang telah dipurifikasi. Kloning dilakukan dengan menyisipkan ORF karboksilesterase ke dalam vektor pET28a (+) lalu ditransformasikan ke *E. coli* DH5α untuk propagasi plasmid rekombinan. Plasmid rekombinan lalu diisolasi dan ditransformasikan ke *E. coli* BL21 (DE3) untuk diekspresikan melalui induksi IPTG. Hasil ekspresi dan kelarutan diamati dengan SDS-PAGE. Karboksilesterase rekombinan yang telah terekspresi lalu dipurifikasi dan diuji aktivitasnya menggunakan substrat Tween 80. Hasil menunjukkan bahwa ORF karboksilesterase dari *Planococcus plakortidis* JS01 berhasil dikloning menggunakan vektor pET28a (+) pada *E. coli* BL21 (DE3). Sekuens karboksilesterase rekombinan menunjukkan persentase identitas 100% dengan α/β *hydrolase* dari *Planococcus plakortidis* dan merujuk pada enzim karboksilesterase (EC 3.1.1.1) berdasarkan anotasi KEGG. Karboksilesterase rekombinan berhasil diekspresikan pada bakteri *E. coli* BL21 (DE3) dengan estimasi kelarutan sebesar 53%. Aktivitas karboksilesterase rekombinan yang telah dipurifikasi dari *E. coli* BL21 (DE3) terhadap Tween 80 tidak terdeteksi pada kondisi pengujian yang digunakan.

Kata kunci: karboksilesterase, *Planococcus plakortidis* JS01, kloning, ekspresi, uji aktivitas.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
Kloning, Ekspresi, Purifikasi, dan Uji Aktivitas Karboksilesterase Rekombinan dari Planococcus plakortidis JS01
Sherly Aurora Cahyadewi, Muhammad Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D.; Nur Akbar Arofatullah, S.P., M.Bio
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

Abstract

Carboxylesterase (EC 3.1.1.1) is an enzyme belongs to the α/β hydrolase fold family with broad applications such as in pharmaceuticals and bioremediation. Carboxylesterases isolated from halotolerant bacteria offer the advantage of structural and functional stability in high-salinity environments. In previous study, ORF encoding carboxylesterase from *Planococcus plakortidis* JS01 was successfully isolated and the lipolytic activity of crude enzyme extract against Tween 80 was identified. This study aims to clone this ORF into *E. coli* BL21 (DE3) to determine the expression and solubility of recombinant carboxylesterase, as well as to test the activity of the purified recombinant carboxylesterase. Cloning was initially carried out by inserting carboxylesterase ORF into pET28a (+) vector and then transformed into *E. coli* DH5α for recombinant plasmid propagation. The recombinant plasmid was harvested and then transformed to *E. coli* BL21 (DE3) for recombinant carboxylesterase expression by IPTG induction. The expression and solubility results were observed using SDS-PAGE. Recombinant carboxylesterase was then purified and its activity assayed using Tween 80 as the substrate. The results showed that carboxylesterase ORF from *Planococcus plakortidis* JS01 was successfully cloned using pET28a (+) vector in *E. coli* BL21 (DE3). The recombinant carboxylesterase sequence showed 100% identity with α/β hydrolase from *Planococcus plakortidis* and referred to carboxylesterase enzyme (EC 3.1.1.1) based on KEGG annotation. The recombinant carboxylesterase was successfully expressed in *E. coli* BL21 (DE3) with estimasted solubility of 53%. The activity of recombinant carboxylesterase purified from *E. coli* BL21 (DE3) against Tween 80 was not detected under the test conditions employed.

Keywords: carboxylesterase, *Planococcus plakortidis* JS01, cloning, expression, activity assay.