

ABSTRAK

Penisilin G asilase (PGA) merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam produksi antibiotik turunan β -laktam saat ini. Enzim tersebut dapat mengatalisis reaksi hidrolisis penisilin G menjadi 6-APA dan PAA serta reaksi sintesis antibiotik turunan β -laktam dari 6-APA dan rantai samping asil. Beberapa mikroorganisme diketahui mampu memproduksi enzim PGA, salah satunya adalah *Bacillus megaterium*. Selain itu, gen penyandi PGA (*pga*) dari *B. megaterium* telah berhasil diketahui urutan nukleotidanya. Gen *pga* dari *B. megaterium* dalam penelitian ini telah disintesis kemudian disisipkan ke dalam vektor ekspresi plasmid pET22b. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis rekombinan klon gen *pga* menggunakan metode PCR dan DNA *sequencing* serta mengonfirmasi kesesuaian rekombinan klon gen *pga* dengan membandingkan urutan basa yang diperoleh terhadap gen *pga* dari *B. megaterium* sintetik.

Rekombinan plasmid pET22b-*pga* hasil sintesis kemudian ditransformasikan ke dalam inang *Escherichia coli* DH5 α kompeten dengan metode kalsium klorida. Plasmid hasil kloning kemudian diisolasi untuk dianalisis dilakukan dengan PCR. Hasil produk PCR dari plasmid isolasi dibandingkan dengan produk PCR pET22b-*pga* sintetik. Produk PCR kemudian di-*sequencing* untuk selanjutnya dibandingkan dengan sekuens desain *pga* sintetik dari *B. megaterium*.

Produk yang diperoleh dari PCR isolat plasmid memiliki ukuran yang sama dengan produk PCR pET22b-*pga* sintetik. Urutan basa hasil *sequencing* juga menunjukkan bahwa isolat plasmid membawa gen *pga* *B. megaterium* sintetik. Kedua hasil tersebut mengonfirmasi bahwa rekombinan klon gen *pga* telah sesuai dengan gen *pga* sintetik dari *B. megaterium*.

Kata kunci : PGA, *Bacillus megaterium*, PCR, DNA *sequencing*

ABSTRACT

*Penicillin G acylase (PGA) is an enzyme that has an important role in the production of current β -lactam antibiotics. The enzyme can catalyze hydrolysis reaction of penicillin G to 6-APA and PAA as well as synthesis reaction of β -lactam derivative antibiotics by 6-APA and acyl side chains. Some microorganisms are known to produce PGA enzymes, one of them is *Bacillus megaterium*. In addition, the PGA encoding gene (pga) of *B. megaterium* has been known its sequence. The pga gene of *B. megaterium* in this study has been synthesized then inserted into plasmids expression vector, pET22b. The aim of this research is to analyze recombinant clones pga gene using PCR and DNA sequencing and to confirm pga recombinant clones by comparing the obtained sequence to the synthetic pga gene of *B. megaterium*.*

*Synthetic plasmid recombinants, pET22b-pga, are transformed into the host competent cell *Escherichia coli* DH5 α with calcium chloride method. The recombinant plasmid results are then isolated for being analyzed by PCR. The PCR product from isolated plasmids then are compared to PCR product of synthetic pET22b-pga. The PCR product then sequenced in order comparing to synthetic design sequence pga gene from *B. megaterium*.*

*The PCR results from plasmid isolation has the same size comparing PCR result from synthetic pET22b-pga. The sequencing result shows the plasmid isolate carrying synthetic pga from *B. megaterium*. Both of these results confirm that the pga recombinant clone is in accordance with the synthetic pga from *B. megaterium*.*

Keywords: PGA, *Bacillus megaterium*, PCR, DNA sequencing