



INTISARI

ISOLASI DAN ANALISIS *IN SILICO* ORF PUTATIVE AMILASE DARI *Bacillus amyloliquefaciens* T3

RACHMAWATI ALIFATUL JANNAH
12/334822/PN/12890

Amilase merupakan enzim penting dalam bioteknologi dan kebutuhannya mencapai 30% dari kebutuhan total enzim industri. Perlu dilakukan upaya untuk meningkatkan produksi tanpa diiringi dengan kenaikan biaya. Isolat bakteri amilolitik yang berpotensi digunakan sebagai acuan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai struktur dari α -amilase, maka dari itu dalam penelitian ini perlu dilakukan dilakukan isolasi, kloning, dan analisis *in silico* orf dari gen penyandi α -amilase *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3. Orf dari gen penyandi α -amilase isolat bakteri amilolitik, *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3 telah berhasil diamplifikasi dengan menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menghasilkan pita berukuran 1881 bp dan dikloning dalam plasmid pET28a- dan ditransformasikan dalam *Escherichia coli* BL21. Uji transformasi positif dilakukan dengan metode *PCR colony* dengan menggunakan primer AmyF dan AmyR yang menghasilkan pita berukuran sama dengan hasil isolasi gen. Hasil analisis sekuen basa DNA menggunakan *Blastx* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), gen tersebut memiliki nilai similaritas antara 67-80% jika dibandingkan dengan gen dari kelompok bakteri *Bacillus*. Berdasarkan hasil dari analisis *in silico* secara umum asam amino orf α -amilase dari *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3 memiliki karakter dekat dengan α -amilase kelompok mesofil, yaitu memiliki lebih banyak asam amino bersifat asam, rasio asam amino negatif positif mendekati rata-rata rasio α -amilase dari kelompok mesofil, nilai pI dalam kisaran pH netral, dan rasio arginin lisin mendekati rata-rata rasio α -amilase dari kelompok mesofil.

Kata kunci : *putative*, orf, isolasi, kloning, analisis *in silico*, α -amilase, *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3.



ABSTRACT

**ISOLATION AND IN SILICO ANALYSIS OF ORF PUTATIVE
AMYLASE FROM *Bacillus amyloliquefaciens* T3**

**RACHMAWATI ALIFATUL JANNAH
12/334822/PN/12890**

Amylase plays a very important role in biotechnology improvements and its demand reach 30% of total demand enzyme in industries. Various efforts were made to increase production without followed by increased costs. Potential isolates of amylolytic bacteria to be used as reference in enzyme engineering, therefore in this research we isolated, cloned, and in silico analysed the physicochemical properties of α -amylase *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3 for further analysis. Gene encoding α -amylase from amylolytic bacterial isolate, *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3 was successfully amplified by using Polymerase Chain Reaction (PCR) method produced band of 1881 bp size and cloned into plasmid system pET28a- then transformed into *Escherichia coli* BL21. Analysis of transformed cells by colony PCR method using primers BamAmyF and BamAmyR produced band of 1881 bp which is same like isolation product. Analysis of nucleotide sequence from *Blastx* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), shows that deduced amino acid of the gene has 67-80% similarity to *Bacillus* group. This protein has high negative charge amino acid, neutral pI, B/A ratio and Arg/Lys ratio close to mesophilic group.

Keyword : putative, orf, isolation, cloning, in silico analysis, α -amilase, *Bacillus amyloliquefaciens* strain T3.