

KARAKTERISASI GEN *entC* TERKAIT BIOSINTESIS *ENTEROBACTIN* PADA *Escherichia coli* DAN POTENSINYA SEBAGAI PENGKELAT BESI DARAH

Ali Muharom

Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

Ringkasan

Thalassemia merupakan salah satu penyakit genetik yang disebabkan oleh adanya mutasi pada gen yang mengkodekan rantai hemoglobin (Hb) pada eritrosit. Thalassemia dibedakan menjadi Thalassemia Alfa dan Thalassemia Beta. Penderita thalassemia mengalami gangguan pada transpor O₂ sehingga memerlukan transfusi darah secara rutin. Setiap kali transfusi darah terjadi penumpukan ion Fe di dalam tubuh penderita. Pemberian senyawa pengkelat Fe biasanya dilakukan untuk menolong hidup pasien. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat menghasilkan senyawa siderofor yang dikenal sebagai enterobactin untuk mengkelat ion Fe. Penelitian ditujukan untuk mengkarakterisasi gen *entC* terkait biosintesis *enterobactin* pada *E. coli* dan mengetahui potensinya sebagai pengkelat besi pada darah.

Penelitian ini dimulai dengan isolasi DNA bakteri *E.coli strain DH5a* dan *E. coli strain FNCC-0091* menggunakan buffer lisis dengan pelarut campuran fenol/kloroform dan dilanjutkan dengan amplifikasi gen *entC* menggunakan primer yang didesain dengan bantuan data NCBI. Hasil amplifikasi kemudian di sekuensing dan diperoleh panjang gen *entC* pada kedua strain adalah 1175 bp. Dibandingkan dengan sekuens nukleotida gen *entC* pada *E. coli strain K-12*, pada strain *DH5a* terdapat perbedaan basa nitrogen pada nukleotida ke-56, ke-1046, ke-1085, dan ke-1105. Selain itu juga terdapat delesi pada nukleotida ke-52, 53, dan 54. Pada strain *FNCC-0091* hanya terdapat perbedaan basa nitrogen pada nukleotida ke-72. Dibandingkan dengan sekuens asam amino enzim *Isochorismate synthase* pada *E. coli strain K-12*, pada *E. coli strain DH5a* menunjukkan perbedaan sekuens asam amino ke-17 (Ala→Arg), ke-19 (Asn→His), ke-349 (Ala→Pro), dan ke-362 (Ala→Thr). Selain itu juga terdapat delesi 1 asam amino pada urutan asam amino ke-18. Pada *E. coli strain FNCC-0091* terdapat perbedaan pada asam amino ke-17 (Ala→Arg), dan ke-24 (Met→Lys). Aktivitas *enterobactin* bakteri *E. coli strain DH5a* lebih dalam menurunkan kadar Fe³⁺ bebas di darah dibandingkan dengan *enterobactin E. coli strain FNCC-0091*.

Kata Kunci : *E. coli*, *enterobactin*, gen *entC*, *Isochorismate synthase*, *iron overload*

CHARACTERIZATION OF *entC* GENE INVOLVED ENTEROBACTIN PRODUCTION IN *Escherichia coli* AND IT'S POTENTIAL AS BLOOD'S Fe CHELATOR

Ali Muharom

Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada

Abstract

Thalassemia is a genetic disease caused by mutations in the gene encoded globin protein in erythrocytes. Thalassemia is distinguished into Alpha and Beta Thalassemia. Thalassemia patient less O₂ transport and require regularly blood transfusions. There is an accumulation of Fe ions in the body of the patient when transfusion. Administration of Fe chelator compounds is usually to help the patient's life. *E. coli* is an *anaerobic facultative* bacteria that can produce compounds known as *enterobactin* to chelate Fe ions. The study was conducted to characterize *entC* genes that associated *enterobactin* production in *E. coli* and determine its potential as a iron chelator in the blood.

This research was started by DNA isolation of *E.coli strain DH5a* and *E. coli strain FNCC-0091* using lysis buffer with a solvent mixture of phenol/chloroform and continued with *entC* gene amplification using primers designed with the aid of the NCBI data. The results of gene amplification of both strain are 1175 bp. Compared with the nucleotide sequences of *entC* gene of *E. coli strain K-12*, There are differences in nucleotide sequence in *E. coli strain DH5a*, i.e at 56th, 1046th, 1085th, and 1105th. There are also deletion in nucleotides 52th, 53th, and 54th. *E.coli strain FNCC-0091* contained only single nucleotide difference at 72nd. Compared with the amino acid sequence *Isochorismate synthase* enzymes in *E. coli strain K-12*, *E. coli strain DH5a* shows the amino acid sequence differences at 17th (Ala→Arg), 19th (Asn→His), 349th (Ala→Pro), and 362th (Ala→Thr). There is also a deletion of one amino acid in the amino acid sequence at 18th. In *E. coli strain FNCC-0091* there are difference in the amino acid 17th (Ala→Arg), and 24th (Met→Lys). The *enterobactin*'s activity of *E. coli strain DH5a* bigger to decrease of free Fe³⁺ in the blood than *enterobactin* of *E. coli strain FNCC-0091*.

Keyword : *E. coli*, *enterobactin*, gen *entC*, *Isochorismate synthase*, iron overload