

Intisari

Luciferase-like monooxygenase (LLM) merupakan enzim FMN-dependen monooksigenase yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis reaksi oksidasi Baeyer-Villiger. Aktivitas oksidasi tersebut memiliki peranan penting dalam proses biosintesis berbagai jenis senyawa organik serta degradasi senyawa xenobiotik. Hasil analisis *in-silico* mengindikasikan bahwa genom *Priestia megaterium* PSA14 memiliki empat *open reading frames* (ORFs) LLM yang belum diketahui fungsinya. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk melakukan isolasi, kloning, serta ekspresi protein ORF LLM *Luc1* dari genom *Priestia megaterium* PSA 14 pada *Escherichia coli* BL21 yang diinduksi dengan (*isopropyl β-D-1 thiogalactopyranoside*) IPTG. Isolasi ORF LLM *Luc1* dengan ukuran 1064 bp dilakukan dengan amplifikasi menggunakan PCR dan dikloning ke dalam vektor ekspresi pET28a(+) dengan ukuran 3569 bp yang dipotong menggunakan enzim restriksi *NcoI* dan *EcoRI* secara *double digest*. Ligasi ORF *Luc1* dilakukan dengan T4 DNA Ligase, kemudian hasil ligasi ditransformasi ke dalam sel kompeten *Escherichia coli* BL21(DE3). Ekspresi dari DNA rekombinan *Luc1* pada *Escherichia coli* BL21(DE3) diinduksi oleh IPTG dan dianalisis dengan 12% SDS-PAGE. Melalui penelitian ini, diperoleh hasil bahwa ORF *Luc1* berhasil dikloning dan diekspresikan pada *Escherichia coli* BL21(DE3) dengan berat molekul sebesar 33 kDa.

Kata kunci : *Priestia megaterium* PSA14, LLM *Luc1*, oksidasi Baeyer-Villiger.

Abstract

Luciferase-like monooxygenase (LLM) is an FMN-dependent monooxygenase enzyme that has the ability to catalyze Baeyer-Villiger oxidation reaction. This oxidation activity has an important role in biosynthesis of various types of organic compounds and the degradation of xenobiotic compounds. The results of in-silico analysis indicate that *Priestia megaterium* PSA14 genome has four LLM open reading frames (ORFs) with unknown functions. The objective of this work was to isolate, clone, and overexpress the ORF LLM Luc1 protein from the *Priestia megaterium* PSA 14 genome in *Escherichia coli* BL21 induced by isopropyl β -D-1 thiogalactopyranoside (IPTG). Isolation of ORF LLM Luc1 with a base length of 1064 bp was carried out by amplification using PCR and cloned into pET28a(+) expression vector with a size of 3569 bp, which was cut using restriction enzymes NcoI and EcoRI by double digest method. ORF Luc1 ligation was performed with T4 DNA Ligase, then the ligation results were transformed into *Escherichia coli* BL21(DE3) competent cells. Overexpression of Luc1 recombinant DNA in *Escherichia coli* BL21(DE3) is induced by IPTG and analyzed by 12% SDS-PAGE. Through this study, it was found that ORF Luc1 was successfully cloned and expressed in *Escherichia coli* BL21(DE3) with a molecular weight of 33 kDa.

Keywords : *Priestia megaterium* PSA14, LLM *Luc1*, Baeyer-Villiger oxidation.