

RINGKASAN

Moloney Murine Leukimia Virus Reverse Transcriptase (MMLV-RT) merupakan enzim rekombinan yang digunakan untuk sintesis *complementary DNA* (cDNA) dari RNA. Enzim RT digunakan pada proses *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) untuk analisis ekspresi gen, mendeteksi virus dengan materi genetik RNA, dan penelitian biologi molekuler lainnya. Namun, produksi enzim RT pada skala bioreaktor masih relatif jarang, terhitung dari jurnal yang dipublikasikan. Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi enzim rekombinan *MMLV-Reverse Ttranscriptase* yang diinsersikan ke dalam plasmid *pD451-SR_MMLV-RT* dengan *Esherichia coli* BL21 *star* (DE3) sebagai inang dan metode auto-induksi tanpa menggunakan IPTG pada skala bioreaktor. Oleh karena itu, diperlukan optimasi parameter yang berpengaruh penting terhadap hasil produksi enzim dalam skala bioreaktor, yaitu kecepatan agitasi, laju aerasi, dan konsentrasi inoculum.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genomik, Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional. Metode penelitian ini menggunakan pendekatan eksperimental untuk mendapatkan kondisi optimum berupa kecepatan agitasi, laju aerasi, dan konsentrasi inoculum dari beberapa variasi yang diuji. Variabel bebas yang diamati adalah kecepatan agitasi, laju aerasi, dan konsentrasi inoculum, sedangkan variabel terikat adalah kuantitas atau jumlah enzim yang dihasilkan dan aktivitas enzim. Parameter yang diamati meliputi *Optical Density* (OD₆₀₀) dan konsentrasi protein berdasarkan hasil perlakuan optimasi kecepatan agitasi, laju aerasi, dan konsentrasi inoculum. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kecepatan agitasi, laju aerasi dan konsentrasi inoculum yang optimum untuk memproduksi enzim *MMLV-Reverse Ttranscriptase* skala bioreaktor.

Penelitian ini berhasil mendapatkan kondisi optimum untuk produksi enzim rekombinan *MMLV-Reverse Ttranscriptase* pada agitasi 300 rpm, aerasi 3 vvm, dan konsentrasi inoculan 5%. Sebanyak 35,6 mg/L enzim rekombinan *MMLV-Reverse Ttranscriptase* berhasil dimurnikan pada kondisi optimum tersebut, sehingga menghasilkan peningkatan hasil protein sebesar 3,78 kali lipat dari *crude extract*. Selain itu, enzim rekombinan *MMLV-Reverse Ttranscriptase* juga menunjukkan aktivitas spesifik sebesar 11394,4 U/mg. Penelitian ini masih perlu dikembangkan pada *buffer storage* enzim tersebut dengan tujuan mencegah denaturasi dan penurunan aktivitas.

Kata kunci : *aerasi, agitasi, bioreaktor, inoculum, MMLV-Reverse Transcriptase*

SUMMARY

Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (MMLV-RT) is a recombinant enzyme used for the synthesis of complementary DNA (cDNA) from RNA. The RT enzyme is used in the Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) process for gene expression analysis, detecting viruses with RNA genetic material, and other molecular biology research. However, production of RT enzymes on a bioreactor scale is still rare, according to published journals. This research aims to produce the *MMLV-Reverse Ttranscriptase* recombinant enzyme which is inserted into the *pD451-SR_MMLV-RT* plasmid using *Esherichia coli* BL21 star (DE3) as the host and an auto-induction method without using IPTG on a bioreactor scale. Therefore, it is necessary to optimize parameters that have an important influence on enzyme production results on a bioreactor scale, namely agitation speed, aeration rate and inoculum concentration.

This research was conducted at the Genomics Laboratory, Applied Microbiology Research Center, National Research and Innovation Agency. This research method uses an experimental approach to obtain optimum conditions in the form of agitation speed, aeration rate, and inoculum concentration from several variations tested. The independent variables observed were agitation speed, aeration rate, and inoculum concentration. Meanwhile, the dependent variables of this research are the quantity or amount of enzyme produced and enzyme activity. The parameters observed included Optical Density (OD₆₀₀) and protein concentration based on the results of optimization treatment for agitation speed, aeration rate and inoculum concentration. This research is expected to provide information regarding the agitation speed, aeration rate and optimum inoculum concentration for producing the *MMLV-Reverse Ttranscriptase* enzyme on a bioreactor scale.

This research succeeded in obtaining optimum conditions for the production of *MMLV-Reverse Ttranscriptase* recombinant enzymes at 300 rpm agitation, 3 vvm aeration, and 5% inoculant concentration. A total of 35.6 mg/L of *MMLV-Reverse Ttranscriptase* recombinant enzyme was successfully purified under these optimum conditions, resulting in an increase in protein yield of 3.78 fold from the crude extract. In addition, the *MMLV-Reverse Ttranscriptase* recombinant enzyme also showed a specific activity of 11394.4 U/mg. This research still needs to be developed in terms of buffer storage for the *MMLV-Reverse Ttranscriptase* enzyme with the aim of preventing denaturation and decreasing activity of the enzyme.

Keywords : *aeration, agitation, bioreactor, inoculum, MMLV-Reverse Transcriptase.*