

Ekspresi Enzim Rekombinan Reverse Transcriptase (RT Δ RNase H) *Simian Betaretrovirus* Serotipe-2 Asal *Macaca fascicularis* Indonesia dalam Sistem Ekspresi *Escherichia coli*

(Expression of Reverse Transcriptase (RT Δ RNase H) Recombinant Enzyme of Serotype-2 *Simian Betaretrovirus* Isolated from Indonesian *Macaca fascicularis* Using *Escherichia coli* Expression System)

Uus Saepuloh^{1*}, Diah Iskandriati¹, Joko Pamungkas^{1,2}, Dondin Sajuthi^{1,2}

ABSTRAK

Enzim *reverse transcriptase* (RT) merupakan salah satu reagen yang sangat penting dalam bidang biologi molekuler, yaitu untuk mensintesis DNA komplementer (cDNA) dari messenger RNA (mRNA). Kombinasi antara aktivitas RT dan amplifikasi PCR telah menjadi suatu *gold standard* dalam proses pengklonan daerah pengkode gen dari berbagai target yang diinginkan. Dengan demikian, enzim RT telah menjadi bagian penting dalam perkembangan biologi molekuler, genetik, dan biomedis. Tujuan dari penelitian ini ialah menghasilkan enzim rekombinan RT Δ RNase H *simian betaretrovirus* serotype-2 (SRV-2) yang diisolasi dari monyet ekor panjang (*Macaca fascicularis*) asal Indonesia. Tahapan penelitian yang telah dilakukan ialah ekspresi gen penyandi RT SRV-2 menggunakan sistem ekspresi *Escherichia coli*, pemurnian, analisis hasil ekspresi, dan aplikasi pada teknik RT PCR. Hasil analisis ekspresi protein dengan teknik SDS PAGE menunjukkan ada pita protein spesifik berukuran sekitar 32,7 kDa yang kemungkinan merupakan pita RT SRV-2. Aplikasi enzim RT SRV-2 dalam teknik RT PCR berhasil mentranskripsi balik mRNA pada beberapa target gen, yaitu β -globin, virus CDV, dan *env* virus SRV-2. Hal ini menunjukkan bahwa enzim rekombinan RT SRV-2 berhasil dikembangkan dan menunjukkan aktivitas walaupun masih rendah dibandingkan enzim komersial.

Kata kunci: enzim rekombinan, *reverse transcriptase*, sistem ekspresi *escherichia coli*, SRV-2

ABSTRACT

Reverse transcriptase (RT) enzyme is a key tool in molecular biology for the synthesis of complementary DNA (cDNA) from messenger RNA (mRNA). Combining RT activity with PCR amplification has been a gold standard as the first step in cloning the coding region of any gene of interest. Evidently, RTs have been critical in advancing molecular biology, genetics and medicine to their current stage. In this study, we were developing the RT Δ RNase H recombinant enzyme isolated from serotype-2 *simian betaretrovirus*-2 (SRV-2) infected Indonesian *Macaca fascicularis* using *Escherichia coli* expression system. The study was conducted using RT SRV-2 gene expression using *E. coli* expression system, proteins purification, and application to RT PCR technique. The SDS PAGE expression analysis showed a specific band size of 32.7 kDa assumed as RT protein enzyme. Application of RT SRV-2 enzyme generated to the RT PCR technique of β -globin CDV and SRV-2 *env* gene target showed that the RT SRV-2 enzyme was capable to reverse transcribed mRNA into cDNA as indicated by the presence of specific DNA band compared with commercial RT enzymes. This RT SRV-2 enzyme showed its activity similar to that of commercial one, although the activity was lower.

Keywords: *escherichia coli* expression system, recombinant enzyme, *reverse transcriptase*, SRV-2

PENDAHULUAN

Selama beberapa dasawarsa terakhir, enzim *reverse transcriptase* (RT) menjadi salah satu reagen yang penting dalam bidang biologi molekuler, yaitu untuk sintesis DNA komplementer (cDNA) dari mRNA. Aplikasi enzim RT ini telah memberikan pemahaman yang luas mengenai sejumlah mekanisme regulator seluler. Selain itu, kombinasi antara aktivitas RT

dengan amplifikasi PCR telah menjadi suatu *gold standard* dalam proses pengklonan gen *coding region* dari berbagai sasaran gen yang diinginkan. Dengan demikian, enzim RT telah menjadi bagian penting dalam perkembangan biologi molekuler, genetik, dan biomedis (Hizi & Herschhorn 2007).

Gencarnya penelitian mengenai enzim RT dipicu oleh penemuan retrovirus manusia, yaitu *human immunodeficiency virus* (HIV) pada tahun 1980-an yang merupakan agen patogen penyebab terjadinya *acquired immunodeficiency syndrome* (AIDS) pada manusia. Telah tersedianya informasi mengenai retrovirus dan RT sangat membantu dalam identifikasi dan penelitian mengenai agen patogen ini. Tingginya morbiditas dan mortalitas pada penderita HIV/AIDS mengharuskan ditemukannya agen antiretrovirus dan

¹ Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Institut Pertanian Bogor, Jalan Lodaya II/5 Bogor 16151.

² Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

* Penulis korespondensi: E-mail: uussaepuloh@yahoo.com