



PEMURNIAN PARSIAL DAN KARAKTERISASI ENZIM LIPASE ALKALI DARI BAKTERI *Kluyvera* sp KB-4

Intisari

Johanes Boyke Priambudi

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari cara pemurnian lipase yang dihasilkan oleh *Kluyvera* sp KB-4 dan sekaligus mempelajari sifat-sifatnya.

Penelitian ini dikerjakan dalam 3 tahap, yaitu : 1). Produksi enzim, 2). Pemurnian enzim dengan kromatografi interaksi hidrofobik menggunakan phenyl toyopearl, dan 3). Sifat-sifat enzim.

Produksi enzim menggunakan media yang terdiri dari sorbitol 0,5%, bacteriological pepton 1,0%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,05%, $NaNO_3$ 0,1%, KH_2PO_4 0,1% dan sebagai inducer digunakan minyak jagung dengan konsentrasi 0,1%. pH medium diatur pada pH 7,5. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam.

Enzim kasar diisolasi dari medium dengan sentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit dan selanjutnya diaplikasikan kedalam kolom phenyl toyopearl. Kolom dicuci melalui dua tahapan. Tahap pertama kolom dicuci dengan buffer KPB 20 mM pH 7,5 yang mengandung ammonium sulfat 0,5 M dan tahap kedua dielusi dengan menggunakan larutan gradien ammonium sulfat 0,5 – 0 M dalam buffer KPB 20 mM pH 7,5. Hasilnya dikumpulkan dalam *fraction collector* dan dilakukan peneraan terhadap masing-masing fraksi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 280 nm. Hasil peneraan kemudian dituangkan dalam bentuk grafik.

Hasil pemurnian dengan kromatografi interaksi hidrofobik menggunakan phenyl toyopearl diperoleh satu puncak protein dan anaknya. Dari pengujian aktivitas enzim selanjutnya enzim yang diperoleh digolongkan menjadi 2 yaitu lipase I dan lipase II. Lipase I mempunyai tingkat kemurnian 1,97 kali dan recovery sebesar 7%, sedangkan lipase II 4,45 kali dan 3%.

Hasil pengujian sifat enzim, aktivitas lipase I optimal pada suhu 37°C, pH 7 sampai 8 dan lipase II pada suhu 40°C, pH 7,5 sampai 8,5. Aktivitas kedua lipase tersebut cukup tetap stabil sampai suhu 40°C selama 30 menit dengan aktivitas rata-rata sebesar 68,87%.

PARTIAL PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALINE LIPASE FROM *Kluuvera sp* KB4

Abstract

Johanes Boyke Priambudi

The purpose of this research is to study the purification of lipase produced by *Kluuvera sp* KB4 and its characters.

This research is divided into three stages, that are : 1.) Enzyme production, 2.) Enzyme purification by hidrophobic interaction chromatography with phenyl toyopearl and 3.) Enzyme characterization.

Enzyme is produced using medium that consists of 0,5% sorbitol; 1,0% bacteriological pepton, 0,05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1% $NaNO_3$; 0,1% KH_2PO_4 and 0,1% corn oil as the inducer. Incubation is carried out at 37°C for 24 hours. pH of the medium is adjusted to 7,5.

Crude enzyme is isolated from the medium by Centrifugated at 3500 rpm for 30 minutes and then applied into phenyl toyopearl column. Then the column is washed within 2 steps. At step one, it's washed using 20 mM KPB buffer pH 7,5 contains ammonium sulfat 0,5 M and followed by washing it by ammonium sulfat solvent gradien 0,5 M – 0 M in 20 mM KPB buffer pH 7,5 as step two. The protein result is collected in fraction collector and each of them is analyzed using spectrophotometer at 280 nm. Then the result is converted into grafic.

The purification result brought about one protein peak and its derivats. The enzyme is divided into 2 groups, i.e. lipase I and lipase II by enzyme activity test. Purification level of lipase I is 1,97 times and its recovery is 7%, whereas lipase II is 4,45 times and 3%.

Activity of lipase I is optimal at 37°C, pH 7 to 8 and lipase II is at 40°C, pH 7,5 to 8,5. Activity of both enzymes is still stabil to 40°C for 30 minutes with activity about 68,87%.