

Identifikasi Molekuler dan Karakterisasi Gen *Lip* Bakteri Lipolitik *Indigenous* dari *Spent Bleaching Earth*

Siti Soleha
17/417046/PBI/01483

INTISARI

Lipase dapat mengkatalisis pemecahan lipid dan dapat dimanfaatkan dalam bidang industri dan degradasi senyawa pencemar. Lipase dapat dihasilkan oleh bakteri dan merupakan bentuk ekspresi dari gen *Lip*. Lipase hasil ekspresi gen *Lip* dikarakterisasi berdasarkan pH, suhu, senyawa ion dan berat molekul. Karakterisasi lipase dilakukan untuk mempermudah pemanfaatan lipase pada aplikasinya. Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) mengidentifikasi spesies bakteri lipolitik dari *spent bleaching earth*, (2) mengetahui karakter gen *Lip* yang bertanggung jawab pada proses sintesis lipase dan (3) mengetahui karakter lipase berdasarkan pH, suhu, senyawa ion dan berat molekul. Isolat bakteri lipolitik diisolasi dari *spent bleaching earth*. Isolat dengan kemampuan lipolitik tertinggi diidentifikasi menggunakan *16S* rRNA dan dikarakterisasi gen *Lip* nya. Bakteri lipolitik yang diperoleh digunakan untuk produksi lipase. Lipase yang dihasilkan kemudian dipurifikasi dan dikarakterisasi berdasarkan berbagai faktor. Berat molekul lipase akan dianalisis menggunakan SDS-PAGE. Isolasi bakteri dari *spent bleaching earth* diperoleh 4 isolat dengan kemampuan lipolitik. Proses skrining menunjukkan indeks lipolitik dan aktivitas ekstrak kasar lipase tertinggi dihasilkan oleh isolat SBE01 sebesar $8,8 \pm 0,7$ mm dan 5,7 U/ml secara berurutan. Berdasarkan analisis gen *16S* rRNA isolat SBE01 termasuk ke dalam kelompok *Moraxella* sp. Gen *Lip* *Moraxella* sp sebanyak 387 bp dapat diamplifikasi pada suhu *annealing* 66°C dan mengkode 129 asam amino. Lipase *Moraxella* sp mempunyai pola *conserve* HGG (His-Gly-Gly) dan dikelompokkan ke dalam famili IV. Lipase yang dihasilkan oleh *Moraxella* sp dapat beraktivitas optimum pada pH 7,0 dan suhu 50°C dengan berat molekul 32,40 kDa. CaO dan MgO dapat meningkatkan aktivitas lipase sebesar 12,97 U/mg protein dan 11,93 U/mg protein secara berurutan pada konsentrasi 0,1 mM. Aktivitas lipase dapat menurun dengan menambahkan 0,1 mM Fe₂O₃ (3,09 U/mg protein) and MnO₂ (4,62 U/mg protein).

Kata kunci: *Moraxella* sp, gen *Lip*, lipase, *spent bleaching earth*

Molecular Identification and *Lip* Gene Characterization of Indigenous Lipolytic Bacteria from Spent Bleaching Earth

Siti Soleha

17/417046/PBI/01483

ABSTRACT

Lipase enzyme proceed lipid splitting catalyzation reaction. This ability can be utilized in industrial fields and degradation of pollutant compounds. Lipase can be produced by bacteria and is an expression form of the *Lip* gene. Lipase from the expression of the *Lip* gene was characterized by pH, temperature, ionic compounds and molecular weight. Lipase characterization was carried out to facilitate the use of lipases in the application. The goals of this study were to (1) identify the species of lipolytic bacteria from spent bleaching earth, (2) determine the character of the *Lip* gene responsible for the lipase synthesis process and (3) determine the character of lipase based on pH, temperature, and ion compounds and molecular weight. Isolates of lipolytic bacteria isolated from spent bleaching earth. Isolates with the highest lipolytic ability were identified using *16S* rRNA and characterized by the *Lip* gene. The lipolytic bacteria obtained were used for lipase production. Furthermore, the result of lipase was purified and caharacterized by several factors. The lipase molecular weight will be analyzed using SDS-PAGE. Isolation of bacteria from spent bleaching earth obtained 4 isolates with lipolytic ability. The skrinig process was showed the highest lipolytic index and crude lipase activity were produced by isolates of SBE01 of $8,8 \pm 0,7$ mm and 5,7 U/ml respectively. Based on the analysis of *16S* rRNA, SBE01 isolates belong to the *Moraxella* sp. 387 bp *Lip* gene of *Moraxella* sp can be amplified at an annealing temperature of 66°C and encode 129 amino acids. Lipase from *Moraxella* sp has a motif conserve concencus sequence of HGG (His-Gly-Gly) and was grouped into family IV. Lipase activity from *Moraxella* sp can be optimum at pH 7,0 and 50°C with a molecular weight of 32,40 kDa. CaO and MgO could increase lipase activity by 12,97 U/mg protein and 11,93 U/mg protein respectively at a concentration of 0,1 mM. While, lipase activity can decrease by adding 0.1 mM Fe₂O₃ (3,09 U/mg protein) and MnO₂ (4,62 U/mg protein).

Keywords: *Moraxella* sp, *Lip* gene, lipase, spent bleaching earth