

ABSTRACT

The enzyme cellulase is an enzyme that specifically cleaves β -1, 4-glycosidic bond of cellulose. *Bacillus amyloliquefaciens* T3 has been reported to be able to produce extracellular cellulase. The objective of this work was to isolate and clone the cellulase-encoding gene from *B. amyloliquefaciens* T3 and to characterize its physicochemical properties. To confirm whether *B. amyloliquefaciens* T3 could produce the extra cellular protease or not, measurements of proteolytic index were carried out. The results showed that the proteolytic index value was 3.89 ± 0.89 . The proteolytic index value confirmed that *B. amyloliquefaciens* T3 was carrying the cellulase-encoding gene. The cellulase encoding gene of *B. amyloliquefaciens* T3 was isolated by PCR methods with primers designed with a size of 1500 bp. The amplified gene was then sequenced and cloned in pET system. Physicochemical characterizations were carried out by *in silico* analyses. The amplified gene was able to show a 97 % identity with cellulase of *B. amyloliquefaciens* (Accession No. AGW99978.1). The amplified gene was cloned into pET system and SDS-PAGE (15 %) analysis showed that a unique faint band was detected at the size of 55 kDa. The size was comparable to that of the calculation from the amino acid sequence. The amino acid composition and the phylogenetic analyses indicated that cellulase from *B. amyloliquefaciens* T3 belonged to the mesophilic groups.

Keywords: Cellulase encoding gene, Cellulose, *Bacillus amyloliquefaciens* T3, *in silico* analysis

INTISARI

Selulase adalah enzim yang secara khusus memecahkan bubarkan ikatan β -1,4-glikosidik dari selulosa. *Bacillus amyloliquefaciens* T3 telah dilaporkan mampu menghasilkan selulase ekstraselular. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengklon gen encoding selulase dari *B. amyloliquefaciens* T3 dan mengkarakterisasi sifat fisikokimia. Untuk memastikan apakah *B. amyloliquefaciens* T3 masih menghasilkan protease seluler ekstra, indeks proteolitik diukur, hasilnya menunjukkan bahwa nilai indeks proteolitik adalah $3,89 \pm 0,89$. Indeks proteolitik mengkonfirmasi bahwa *B. amyloliquefaciens* T3 membawa gen pengkode selulase. Gen pengkode selulase dari *B. amyloliquefaciens* T3 diisolasi dengan metode PCR dengan primer yang dirancang berukuran 1500 bp, gen hasil amplifikasi dikelompokkan kemudian diklon ke dalam sistem pET. Penentuan fisikokimia dilakukan dengan analisis *in silico*. Gen yang diperkuat menunjukkan kemiripan identitas sebesar 97% dengan selulase 97% dengan selulase *B. amyloliquefaciens* (Accession No. AGW99978.1). Gen hasil amplifikasi diklon ke dalam sistem pET dan analisis SDS-PAGE 15% menunjukkan terdapat pita samar yang unik yang terdeteksi pada ukuran 55 kDa. Ukuran tersebut sebanding dengan perhitungan dari urutan asam amino, komposisi asam amino dan analisis filogenetik yang menunjukkan bahwa selulase dari *B. amyloliquefaciens* T3 termasuk dalam kelompok mesofilik.

Kata kunci: Gen pengkode selulase, selulosa, *Bacillus amyloliquefaciens* T3, *in silico* analysis.