



Abstract

PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR BASIS OF LEAD (Pb) TOLERANCE IN THERMOPHILIC BACTERIA

Anna Rakhmawati
17/420488/SMU/01139

Lead (Pb) tolerant thermophilic bacteria was isolated from the solfatara of Mount Merapi with high-temperature characteristics and contains Pb metal. This study aims at determining physiological properties, mechanism, and molecular basis of Pb tolerance in thermophilic bacteria.

A total of 340 thermophilic bacterial isolates were screened based on their Pb tolerance at various Pb concentrations, pH, and incubation temperatures. Selected isolates were then subjected to further determination based on Pb tolerance level, siderophore production capacity, biofilm formation, removal, and uptake capacity of Pb²⁺ ions. The selected isolate was then subjected to more detailed physiological and tolerance mechanisms analysis of Pb tolerance, followed by application of the isolate in biosorption assay of Pb²⁺ ion. Biosorption assay was conducted by using 100 ppm Pb²⁺ ion. The application of thermophilic bacterial isolates in biosorption assay was performed by using living and non-living cells at different cellular conditions of pH, temperature, contact time, and cell biomass. Molecular analysis of the thermophilic bacterial isolates was carried out by sequencing the whole genome of the bacteria.

Analysis of thermophilic bacterial isolates, based on their Pb tolerance level, demonstrated that 140, 39, 12, and 5 isolates were able to tolerate Pb²⁺ ion at concentrations of 25, 50, 75, and 100 ppm Pb²⁺ ion, respectively. Based on this observation, five isolates which demonstrated lead tolerance to 100 ppm Pb²⁺ ion were further investigated. Sequence analysis of 16S rRNA resulted in several strains identified as *Aeribacillus pallidus* MRP112, MRP148, MRP272, MRP278, and MRP280. One of the identified isolates, *A. pallidus* MRP280, showed the highest activity to Pb²⁺ ion tolerance, siderophore production, biofilm formation, and removal as well as Pb²⁺ ion uptake. Tolerance of *A. pallidus* MRP280 to 100 ppm Pb²⁺ ion was mediated through intracellular bioaccumulation, biosorption, siderophore production, biofilm formation, bioprecipitation, cell morphological changes, and efflux mechanisms. Application of *A. pallidus* MRP280 as biosorbent based on highest Pb²⁺ ion removal was achieved by using living cells, at pH 6, 55 °C, 100 minutes contact time, and cell biomass at OD₆₀₀ 0.5. Whole genome analysis of *A. pallidus* MRP280 showed that its genome contains 3,816,691 base pairs (bp) with 38.74% GC content, and the total number of protein-coding genes was 4,275. The results of this study also suggested that Pb²⁺ ion tolerance on thermophilic bacteria was mediated by the role of genes encoding efflux RND transporter permease, metal ABC transporter permease, metal ABC transporter ATP-binding protein, cadmium-translocating P-type ATPase, and MerR family transcriptional regulator.



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Fisiologi dan Dasar Molekular Toleransi terhadap Timbal (Pb) pada Bakteri Termofil
ANNA RAKHMAWATI, Prof. Ir. Triwibowo Yuwono, Ph.D.; Prof. Dr. Endang Tri Wahyuni, M.S.
Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

Keyword : *Aeribacillus pallidus*, biosorption, genome, Pb tolerance

Intisari

FISIOLOGI DAN DASAR MOLEKULAR TOLERANSI TERHADAP TIMBAL (Pb) PADA BAKTERI TERMOFIL

Anna Rakhmawati
17/420488/SMU/01139

Bakteri yang toleran terhadap timbal (Pb) telah diisolasi dari solfatara Gunung Merapi yang bersuhu tinggi dan mengandung logam timbal. Penelitian ini diarahkan untuk mempelajari sifat-sifat fisiologis, mekanisme, dan dasar-dasar molekular toleransi bakteri termofil terhadap timbal.

Sebanyak 340 isolat bakteri termofil diseleksi berdasarkan atas toleransinya terhadap ion Pb^{2+} pada berbagai konsentrasi ion Pb^{2+} , pH, dan suhu inkubasi. Isolat-isolat terpilih selanjutnya dianalisis lebih lanjut untuk menentukan tingkat toleransinya terhadap ion Pb^{2+} , kemampuan produksi siderofor, pembentukan biofilm, serta kapasitas penghilangan dan pengambilan ion Pb^{2+} . Satu isolat terpilih kemudian juga dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui fisiologi dan mekanisme toleransinya terhadap ion Pb^{2+} , serta penggunaannya dalam biosorpsi ion Pb^{2+} . Pengujian biosorpsi dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ion Pb^{2+} 100 ppm. Aplikasi isolat bakteri termofil dalam pengujian biosorpsi dilaksanakan dengan menggunakan sel-sel yang hidup maupun sel-sel mati pada berbagai kondisi yaitu pH, suhu, waktu kontak, dan biomassa sel. Selanjutnya, juga dilaksanakan analisis molekular terhadap isolat bakteri termofil dengan melakukan penentuan urutan DNA (*DNA sequencing*) genom secara lengkap (*Whole Genome Sequencing*).

Hasil analisis isolat bakteri termofil berdasarkan atas aras toleransinya terhadap ion Pb^{2+} menunjukkan jumlah isolat yaitu 140, 39, 12, dan 5 yang toleran terhadap ion Pb^{2+} pada konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 ppm. Lima isolat yang menunjukkan toleransi tertinggi terhadap ion Pb^{2+} kemudian diidentifikasi lebih lanjut dengan melakukan analisis urutan DNA yang mengode 16S rRNA. Hasil analisis menunjukkan bahwa isolat bakteri termofil termasuk dalam spesies *Aeribacillus pallidus* strain MRP112, MRP148, MRP272, MRP278, dan MRP280. Di antara kelima isolat tersebut, isolat MRP 280 menunjukkan aktivitas tertinggi dalam hal tingkat toleransi terhadap Pb, produksi siderofor, pembentukan biofilm, penghilangan, dan kapasitas pengambilan ion Pb^{2+} . Hasil-hasil penelitian juga memberikan gambaran bahwa toleransi *A. pallidus* MRP280 dilakukan dengan mekanisme bioakumulasi intraselular, biosorpsi, produksi siderofor, pembentukan biofilm, biopresipitasi, perubahan morfologi sel, dan mekanisme *efflux*. Penggunaan sel *A. pallidus* MRP280 sebagai biosorben berdasarkan persentase penghilangan ion Pb^{2+} tertinggi dengan menggunakan sel-sel yang hidup, pada pH 6, suhu 55 °C, waktu kontak selama 100 menit, dan pada kerapatan sel OD_{600} sebesar 0,5. Analisis genom lengkap terhadap *A. pallidus* MRP 280 menunjukkan bahwa genom bakteri ini



tersusun atas 3.816.619 pasangan basa DNA, dengan kandungan GC sebesar 38,74%, dan terdapat 4.275 gen yang mengode protein. Hasil-hasil penelitian ini juga memberikan gambaran bahwa toleransi terhadap ion Pb^{2+} didukung oleh ekspresi gen-gen yang mengode *transporter permease* yang berperan dalam *efflux RND*, *transporter permease metal ABC*, protein pengikat ATP pada *transporter metal ABC*, *ATPase* tipe P yang digunakan untuk translokasi kadmium, dan regulator transkripsi yang termasuk keluarga *MerR*.

Kata kunci : *Aeribacillus pallidus*, biosorpsi, genom, toleran Pb



UNIVERSITAS
GADJAH MADA

Fisiologi dan Dasar Molekular Toleransi terhadap Timbal (Pb) pada Bakteri Termofil
ANNA RAKHMAWATI, Prof. Ir. Triwibowo Yuwono, Ph.D.; Prof. Dr. Endang Tri Wahyuni, M.S.
Universitas Gadjah Mada, 2021 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>