

Subkloning Gen Fosfolipase dan Transformasi Secara Konjugasi pada *Bacillus halodurans* CM1 serta Analisis Ekspresi Produk Gennya = Subclone Fosfolipase Gene and Conjugation Transformation on *Bacillus halodurans* CM1 and Analyze the product

Cindy Rizki, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20485565&lokasi=lokal>

Abstrak

ABSTRAK

Enzim lipase merupakan senyawa yang mempercepat reaksi pemecahan lipid menjadi asam lemak. Hal ini banyak digunakan dalam dunia industri. Salah satu metode yang digunakan untuk meningkatkan enzim lipase adalah kloning gen dengan mikroba, karena mudah dimanipulasi dan pertumbuhannya cepat. Penelitian sebelumnya yang dilakukan di LAPTIAB BPPT tentang kloning gen ialah pengklonaan gen lipase *Bacillus halodurans* CM1 (*lip* CM1) yang diekspresikan pada *E. coli* DH5 α mendapatkan 783 bp. Penelitian ini bertujuan melakukan kloning gen *lip* CM1 ke dalam vektor pBBRE 194 dengan metode ligasi dan ditransformasikan dengan metode konjugasi ke *Bacillus halodurans* CM1. Gen *lip* CM1 berhasil disisipkan ke dalam vektor pBBRE 194 di antara situs *Kpn*I dan *Pst*I dengan mendapatkan pita berukuran 9191 bp. Plasmid pBBRE 194 lip CM1 ditransformasi dengan metode heat shock ke *E. coli* DH5 α untuk ekspresi. Plasmid pBBRE 194 lip CM1 ditransformasi secara konjugasi ke *Bacillus halodurans* CM1. Selanjutnya dianalisis ekspresi produk gennya. Plasmid rekombinan (pBBRE 194 *lip* CM1) berhasil ditransformasikan secara konjugasi ke dalam *Bacillus subtilis* DB 104 (kontrol positif konjugasi) dan *Bacillus halodurans* CM1. Konjugasi berhasil dengan tumbuhnya koloni pada media selektif yang mengandung antibiotik *Erythromycin* dan *Tetracycline*, yang ditunjukkan dengan PCR insert dan terbentuknya zona bening pada media selektif. *Bacillus halodurans* CM1 rekombinan menunjukkan peningkatan ekspresi produk gen lipase dibandingkan dengan *Bacillus halodurans* CM1. *Bacillus halodurans* CM1 rekombinan memiliki aktivitas lipase $2,58 \pm 0,06$ U/mL, kadar protein 0,642 mg/mL, dan aktivitas lipase spesifik 10,04 U/mg.

ABSTRACT

Enzym lipase has great potency to be used in industry. Research concerning lipase production is being carried out to obtain better production result. The previous research conducted at LAPTIAB BPPT, the cloning of gen lipase *Bacillus halodurans* CM1 was expressed to *E. coli* DH5 α obtained 783 bp. This research aims to carry out cloning of gen lip CM1 into pBBRE 194 vector using ligation method and transform to *Bacillus halodurans* CM1 using conjugation method. Gen lip CM1 is successfully inserted into pBBRE 194 vector between *Kpn*I situs and *Pst*I obtaining a ban sized 9191 bp. Plasmid pBBRE 194 lip CM1 was transformed using heat shock method into *E. coli* DH5 α for expressing. Plasmid pBBRE 194 lip CM1 is transformed conjugatively into *Bacillus halodurans* CM1. Then, the gen product expression is analysed. Recombinant plasmid (pBBRE 194 lip CM1) is transformed into *Bacillus subtilis* DB 104 (conjugation positive

control) and *Bacillus halodurans* CM1. Successful conjugation shows the growth colony at selective media containing antibiotic, indicating with PCR insert and clear zone at the selective media. Recombinant *Bacillus halodurans* CM1 shows increment of the lipase gene product expression compared to *Bacillus halodurans* CM1. The recombinant *Bacillus halodurans* CM1 has lipase activity of $2,58 \pm 0,06$ U/mL, protein of 0,642 mg/mL, and specific lipase activity of 10,04 U/mg.