

ABSTRACT

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF LIPASE ENZYME FROM *Bacillus cereus* ALP E1 AND CATALYSIS TEST IN TRANSESTERIFICATION REACTIONS

By

NINDY NOVITA SARI

Lipase is a hydrolase enzyme capable of catalyzing reactions such as esterification, transesterification, hydrolysis, alcoholysis, acidolysis, aminolysis, and interesterification. Lipase has broad industrial applications but exploration of new lipases from *Bacillus cereus* is still limited. This study aims to obtain lipase enzymes from *B. cereus* ALP E1, purify, characterize enzymes, and determine catalytic ability of lipase in transesterification reactions.

Lipase enzyme production used the submerged fermentation method, then purification by ammonium sulfate fractionation and dialysis. Lipase enzyme activity was analyzed by UV-Vis spectrophotometry and protein content by the Lowry method. Characterization was carried out on several parameters, including pH, temperature, substrate variation, surfactants, metal ions, and organic solvents. After that, the catalytic ability of the lipase enzyme in the transesterification reaction was tested.

The results of lipase enzyme production from *B. cereus* ALP E1 using optimum conditions of pH 7, 8% Palm Oil Mill Effluent (POME) substrate, 155 rpm agitation, and 72 hours growth time obtained a specific activity of 2525.34 U/mg. Purification with 20-90% ammonium sulfate fraction and dialysis obtained specific activities of 12,520.22 U/mg and 31,083.14 U/mg. SDS-PAGE analysis showed a dominant protein band with a molecular weight of 55 kDa. The characteristics of the lipase enzyme showed optimum activity at pH 5, a temperature of 40°C, the optimum substrate *p*-Nitrophenyl palmitate. The addition of Tween 20 surfactant, Ba²⁺ ion, and organic solvent chloroform increased the relative activity of the lipase enzyme. Transesterification test using lipase catalyst produced oleate compounds and loss of trilaurin. Based on these results, it can be concluded that lipase from *B. cereus* ALP E1 has the potential to be used in industrial applications.

Keywords: *B. cereus* ALP E1, characterization, lipase, purification, transesterification.

ABSTRAK

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI ENZIM LIPASE DARI *Bacillus cereus* ALP E1 SERTA UJI KATALISIS DALAM REAKSI TRANSESTERIFIKASI

Oleh

NINDY NOVITA SARI

Lipase adalah salah satu enzim hidrolase yang memiliki kemampuan mengkatalisis reaksi seperti, esterifikasi, transesterifikasi, hidrolisis, alkoholisis, asidolisis, aminolisis, dan interesterifikasi. Lipase memiliki aplikasi luas di bidang industri, namun eksplorasi lipase baru dari *Bacillus cereus* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan enzim lipase dari *B. cereus* ALP E1, memurnikan dan mengkarakterisasi enzim, serta mengetahui kemampuan katalisis lipase dalam reaksi transesterifikasi.

Produksi enzim lipase menggunakan metode *submerged fermentation*, kemudian dimurnikan dengan metode fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Aktivitas enzim lipase dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan kadar protein dengan metode Lowry. Karakterisasi dilakukan pada beberapa parameter diantaranya: pH, suhu, variasi substrat, surfaktan, ion logam, dan pelarut organik. Setelah itu dilakukan uji kemampuan katalisis dari enzim lipase dalam reaksi transesterifikasi.

Hasil produksi enzim lipase dari *B. cereus* ALP E1 menggunakan kondisi optimum pH 7, substrat *Palm Oil Mill Effluent* (POME) 8%, agitasi 155 rpm, dan waktu pertumbuhan 72 jam didapatkan aktivitas spesifik 2525,34 U/mg. Pada pemurnian dengan fraksi amonium sulfat 20-90% dan dialisis didapatkan aktivitas spesifik sebesar 12.520,22 U/mg dan 31.083,14 U/mg. Analisis SDS-PAGE memperlihatkan pita protein dominan dengan berat molekul 55 kDa. Karakteristik enzim lipase menunjukkan aktivitas optimum pada pH 5, suhu 40°C, substrat optimum *p*-Nitrofenil palmitat. Penambahan surfaktan Tween 20, ion Ba²⁺, dan pelarut organik kloroform meningkatkan aktivitas relatif enzim lipase. Uji transesterifikasi menggunakan katalis lipase menghasilkan senyawa oleat dan hilangnya trilaurin. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa lipase dari *B. cereus* ALP E1 berpotensi digunakan dalam aplikasi industri.

Keywords: *B. cereus* ALP E1, karakterisasi, lipase, pemurnian, transesterifikasi.