

**SOLASI, OPTIMALISASI PRODUKSI, DAN KARAKTERISASI LIPASE
EKSTRASELULER DARI BAKTERI HALOFILIK ISOLAT TAMBAK
GARAM DESA LES, KECAMATAN TEJAKULA, KABUPATEN
BULELENG, BALI**

Oleh

Ida Ayu Putu Adi Kartika Dewi, NIM 2253015001

Program Studi DIV Kimia Terapan

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, optimalisasi produksi, dan karakterisasi lipase ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri halofilik isolat Tambak Garam Desa Les, Kecamatan Tejakula, Kabupaten Buleleng, Bali. Penelitian dimulai dengan pengambilan sampel tanah dan air garam, dilanjutkan dengan penumbuhan dan isolasi bakteri kedua sampel dengan media Luria Bertani. Koloni bakteri yang diperoleh selanjutnya diuji potensinya menggunakan media rhodamine olive oil agar dan diskriming menggunakan media produksi lipase untuk memperoleh isolat bakteri penghasil lipase terbaik. Isolat terbaik diidentifikasi menggunakan analisis filogenetik dengan gen 16s rRNA dan dioptimalkan produksinya dengan memvariasikan media produksi dan waktu inkubasi. Optimalisasi media produksi dilakukan dengan *response surface methodology* (RSM). Lipase selanjutnya diproduksi dengan media dan waktu inkubasi optimum serta dikarakterisasi dengan parameter, yaitu: pH, temperatur, kadar garam, dan kation divalen. Aktivitas lipase diuji dengan metode spektrofotometri dengan substrat 4-nitrofenil palmitat. Hasil penelitian memperoleh beberapa bakteri halofilik yang berpotensi sebagai penghasil lipase. Hasil uji aktivitas enzim menunjukkan satu koloni bakteri yaitu isolat TG 1 menghasilkan lipase dengan aktivitas paling tinggi (2,71 U/mL). Hasil identifikasi bakteri isolat TG 1 menunjukkan 99,77% kemiripan dengan *Salinivibrio* sp. D2-7M. Hasil optimalisasi produksi lipase dari bakteri halofilik *Salinivibrio* sp. TG 1 memperoleh komposisi media optimal yaitu: nutrient broth 2% b/v, MgSO₄ 0,04% b/v, CaCl₂ 0,07% b/v, NaCl 6,6% b/v, dan minyak olive 0,4% b/v dengan waktu inkubasi optimal selama 12 jam. Hasil optimalisasi produksi telah berhasil meningkatkan aktivitas lipase dari 2,71 U/mL menjadi 6,57 U/mL. Hasil karakterisasi lipase oleh bakteri *Salinivibrio* sp. TG 1 menunjukkan aktivitas optimum pada pH 8,67; temperatur 37°C; dan kadar NaCl 3% b/v, dengan aktivitas lipase sebesar 14,63 U/mL. Keberadaan ion logam Ca²⁺ dan Mg²⁺ mampu meningkatkan sedikit aktivitas lipase, namun ion Cu²⁺, Pb²⁺, dan Fe²⁺ menurunkan aktivitas lipase secara signifikan. Kation Sn²⁺ menimbulkan efek paling fatal terhadap aktivitas lipase yang mengakibatkan lipase menjadi tidak aktif. Berdasarkan hasil yang diperoleh, bakteri halofilik *Salinivibrio* sp. TG 1 ini memiliki potensi yang sangat menjanjikan sebagai produsen lipase skala industri.

Kata-kata kunci: bakteri halofilik, tambak garam, lipase ekstraseluler, *Salinivibrio* sp.

**ISOLATION, OPTIMIZATION OF PRODUCTION, AND
CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR LIPASE FROM
HALOPHILIC BACTERIA ISOLATE OF SALT POND, LES VILLAGE,
TEJAKULA DISTRICT, BULELENG DISTRICT, BALI**

By

Ida Ayu Putu Adi Kartika Dewi, NIM 2253015001

DIV Applied Chemistry Study Program

ABSTRACT

This research aims to isolate, optimize production, and characterize extracellular lipase produced by halophilic bacteria isolates from Tambak Garam, Les Village, Tejakula District, Buleleng Regency, Bali. The research began with taking samples of soil and salt water, followed by growing and isolating bacteria from both samples using Luria Bertani media. The bacterial colonies obtained were then tested for potential using rhodamine olive oil agar media and screened using lipase production media to obtain the best lipase producing bacterial isolates. The best isolate was identified using phylogenetic analysis with the 16s rRNA gene and its production was optimized by varying the production media and incubation time. Optimization of production media is carried out by *response surface methodology* (RSM). Lipase is then produced using optimum media and incubation time and characterized by parameters, namely: pH, temperature, salt content and divalent cations. Lipase activity was tested using a spectrophotometric method with 4-nitrophenyl palmitate as a substrate. The research results showed that several halophilic bacteria have the potential to produce lipase. The results of the enzyme activity test showed that one bacterial colony, namely isolate TG 1, produced lipase with the highest activity (2.71 U/mL). The bacterial identification results of TG 1 isolate showed 99.77% similarity to *Salinivibrio* sp. D2-7M. Results of optimizing lipase production from halophilic bacteria *Salinivibrio* sp. TG 1 obtained the optimal media composition, namely: nutrient broth 2% w/v, MgSO₄ 0.04% b/v, CaCl₂ 0.07% w/v, NaCl 6.6% w/v, and olive oil 0.4% w/v with an optimal incubation time of 12 hours. The results of production optimization have succeeded in increasing lipase activity from 2.71 U/mL to 6.57 U/mL. Results of lipase characterization by bacteria *Salinivibrio* sp. TG 1 shows optimum activity at pH 8.67; temperature 37°C; and NaCl content of 3% w/v, with lipase activity of 14.63 U/mL. The presence of Ca metal ions²⁺ and Mg²⁺ able to slightly increase lipase activity, but Cu ions²⁺, Pb²⁺, and Fe²⁺ significantly reduced lipase activity. Sn cations²⁺ causes the most fatal effect on lipase activity which causes lipase to become inactive. Based on the results obtained, halophilic bacteria *Salinivibrio* sp. TG 1 has very promising potential as a lipase producer on an industrial scale.

Key words: halophilic bacteria, salt ponds, extracellular lipase, *Salinivibrio* sp.