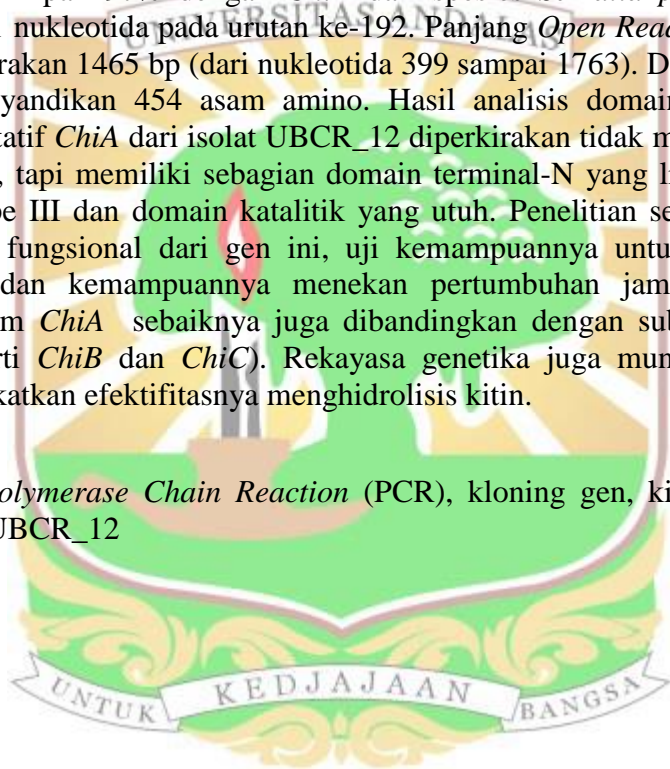


KLONING GEN PENGKODE KITINASE-A (*ChiA*) DARI BAKTERI RIZOSFER (ISOLAT UBCR_12)

Abstrak

Kitinase berpotensi untuk mengontrol berbagai jenis fitopatogen yang mengandung kitin sebagai penyusun dinding selnya, seperti jamur. Dalam penelitian ini, gen pengkode kitinase-A (*ChiA*) dari isolat UBCR_12 diamplifikasi menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan dikloning ke *E. coli* DH5 α menggunakan vektor *pGEM-T Easy*. Panjang DNA yang dikloning adalah 1780 bp. Hasil karakterisasinya menunjukkan bahwa DNA yang dikloning tersebut memiliki kemiripan 97% dengan *ChiA* dari spesies *Serratia plymuthica*, tapi terjadi delesi 1 nukleotida pada urutan ke-192. Panjang *Open Reading Frame*-nya (ORF) diperkirakan 1465 bp (dari nukleotida 399 sampai 1763). Dengan demikian ORF ini menyandikan 454 asam amino. Hasil analisis domain menunjukkan bahwa gen putatif *ChiA* dari isolat UBCR_12 diperkirakan tidak memiliki domain peptida sinyal, tapi memiliki sebagian domain terminal-N yang lipatnya mirip fibronektin tipe III dan domain katalitik yang utuh. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji fungsional dari gen ini, uji kemampuannya untuk menghidrolis koloid kitin dan kemampuannya menekan pertumbuhan jamur fitopatogen. Aktivitas enzim *ChiA* sebaiknya juga dibandingkan dengan subfamili kitinase lainnya (seperti *ChiB* dan *ChiC*). Rekayasa genetika juga mungkin dilakukan untuk meningkatkan efektifitasnya menghidrolisis kitin.

Keywords: *Polymerase Chain Reaction* (PCR), kloning gen, kitinase-A, isolat UBCR_12



CLONING OF A GENE ENCODING CHITINASE-A (ChiA) FROM A RHIZOSPHERE BACTERIUM (ISOLATE UBCR_12)

Abstract

Chitinases have the potential to control many phytopathogens that contain chitin as a component of their cell walls, such as fungi. In this research, the gene encoding chitinase-A (ChiA) was amplified by the Polymerase Chain Reaction (PCR), and then cloned into *E. coli* DH5 α using the pGEM-T Easy vector. The length of the cloned DNA was 1780 bp. It contained an unexpected deletion at position 192 compared to other ChiA gene sequences and a 1465 bp long Open Reading Frame (from nucleotide 399 to 1763). The ORF could encode a protein of 454 amino acid residues. This cloned DNA showed 97% similarity with ChiA from *Serratia plymuthica*. Conserved Domain analysis suggested that ChiA UBCR_12 does not have a signal peptide domain, but contains a partial N-terminal fibronectin type III-like domain, and a full length catalytic domain. Further research is needed to functionally analyse this gene, to analyse the enzymes ability to hydrolyze colloidal chitin and to test its ability to suppress the growth of phytopatogenic fungi. The activity of this enzyme should also be compared with that of chitinases from the other subfamilies (ChiB and ChiC). It might also be engineered to increase its effectiveness at hydrolyzing chitin.

Keywords: Polymerase Chain Reaction (PCR), gene cloning, chitinase-A, isolate UBCR_12

