

**ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE  
METALLOPROTEASE DARI ISOLAT UBCR\_12, UBCF\_01  
DAN UBCF\_13**

**SKRIPSI**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**PADANG**

**2018**

**ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE  
METALLOPROTEASE DARI ISOLAT UBCR\_12, UBCF\_01  
DAN UBCF\_13**

**OLEH  
HUSNUL RAHMI  
13 1021 2091**



*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Pertanian*

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2018**



**ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE  
METALLOPROTEASE DARI ISOLAT UBCR\_12, UBCF\_01  
DAN UBCF\_13**

**SKRIPSI**

**OLEH  
HUSNUL RAHMI  
13 1021 2091**

**Menyetujui,**

**Pembimbing I**



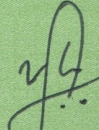
**Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP  
NIP. 19680202 1992031003**

**Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Andalas**



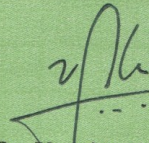
**Dr. Ir. Munzir Busniah, M.Si  
NIP. 196406081989031001**

**Pembimbing II**



**Dr. Yusniwati, SP, MP  
NIP. 197012172000121001**

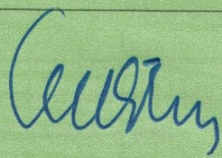
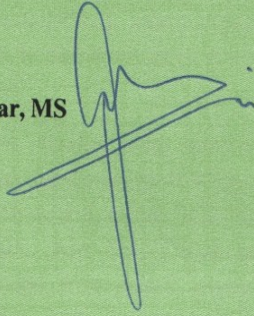
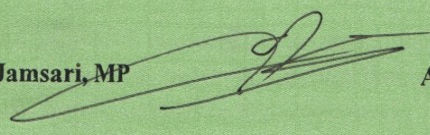
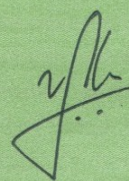
**Koordinator Program  
Studi Agroteknologi**



**Dr. Yusniwati, SP, MP.  
NIP. 197012172000122001**



Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas Padang, pada tanggal 12 Januari 2018.

No	Nama	Tanda Tangan	Jabatan
1.	Dr. Ir. Gustian, MS		Ketua
2.	Prof. Dr. Ir. Aswaldi Anwar, MS		Sekretaris
3.	Ir. Sutoyo, MS		Anggota
4.	Prof. Dr. sc. agr. Jamsari, MP		Anggota
5.	Dr. Yusniwati, SP. MP		Anggota



Alhamdulillahirabbil alamin..

Segala puji hamba bagi-Mu ya rabb, tuhan semesta alam, Yang maha memiliki dan menguasai, hanya karena berkat rahmat dan karunia-Mu yang engkau limpahkan kepada hamba sehingga hamba telah mampu menyelesaikan tahap pendidikan Strata 1 ini. Salawat beserta salam hamba hadiahkan bagi Nabi Muhammad SAW yang menjadi junjungan umat, suri tauladan.

Ku persembahkan sebuah karya sederhana ini untukmu wahai kedua orang tuaku. Berkat do'a, kasih sayang serta dukungan baik secara moril dan materil yang selalu mengalir dari hatimu yang tulus. Terimakasih Ma, Pa. Kepada kedua pembimbingku Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP. dan Dr. Yusniwati, SP. MP. yang telah membimbing, mengarahkan dan memberi banyak ilmu dengan kasabaran dan kedisiplinan serta memberi kesempatan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Kemudian terimakasihku untuk Uda, Abang, yang telah menjadi kakakku yang terhebat, selalu mendukung dan menyemangati. Kemudian untuk almh. kakakku tercantik yang sudah tenang disana, salam rindu yang tak terhingga untukmu. Untuk kedua adik-adikku, Nia dan Daud terimakasih sudah memberikan semangat kakak, semoga kita dapat mencapai impian dan dapat menjadi kebanggaan keluarga. Serta terimakasih untuk Bundo dan alm. Apak yang telah memberikanku kasih sayang tulus dan merawatku dari kecil layaknya anak kandung sendiri.

Teruntuk sahabat-sahabatku, yang telah mewarnai masa-masa perkuliahanku, Aliens (my put, my aye, my uni, my pujd, my hong, my ade, dan my yeyen), Princess kos (mella, poe, cipit, cunad, uum, cion, loly, udin, indo) , Luck(nut) Fams (nyonya, tuan, adek, mamang), keluarga KMIP, Koto Rangers, putera maritim (balvir cSP.) terimakasih atas canda tawa dan semangatnya, semoga impian indah kita segera tercapai. Terimakasih untuk keluarga besar Lab. Bioteknologi FP UNAND yang telah memberi semangat dan membantu menyelesaikan penelitian ini, terutama untuk kakak-kakak mentor terkece (Dr. Elly Syafriani, SP. dan Dr. Siti Nur Aisyah, SP.) dan Genomik team (K'aul, K'ira, Hong, Ulva). Buat Jam's fam 13 (K' Tik, Ides, Busek, Mbak Goza, Ulfa, Zizi, Ajo, Hong), semangat geng! Terimakasih juga untuk teman-teman seperjuangan program studi Agroteknologi'13, Plant breeder'13.



## BIODATA

Penulis dilahirkan di Koto Tengah Simalanggang, Kecamatan Payakumbuh, Kabupaten 50 Kota, Sumatera Barat, pada tanggal 10 September 1995 sebagai anak keempat dari enam bersaudara, dari pasangan Idris dan Zusnetti. Pendidikan awal dimulai dari TK. Pertiwi, Kenagarian Koto Tengah Simalanggang, Kecamatan Payakumbuh pada tahun 2000. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan ke Sekolah Dasar Negeri 02 Koto Tengah Simalanggang pada tahun 2001-2007. Selanjutnya penulis menempuh pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Swasta Ibnu Khaldun Tanjung Pati pada tahun 2007-2010, dilanjutkan ke Madrasah Aliyah 1 Model Bukittinggi dari tahun 2010-2013. Pada tahun 2013 penulis diterima di Fakultas Pertanian Universitas Andalas pada Program Studi Agroteknologi melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).



Padang, Januari 2018

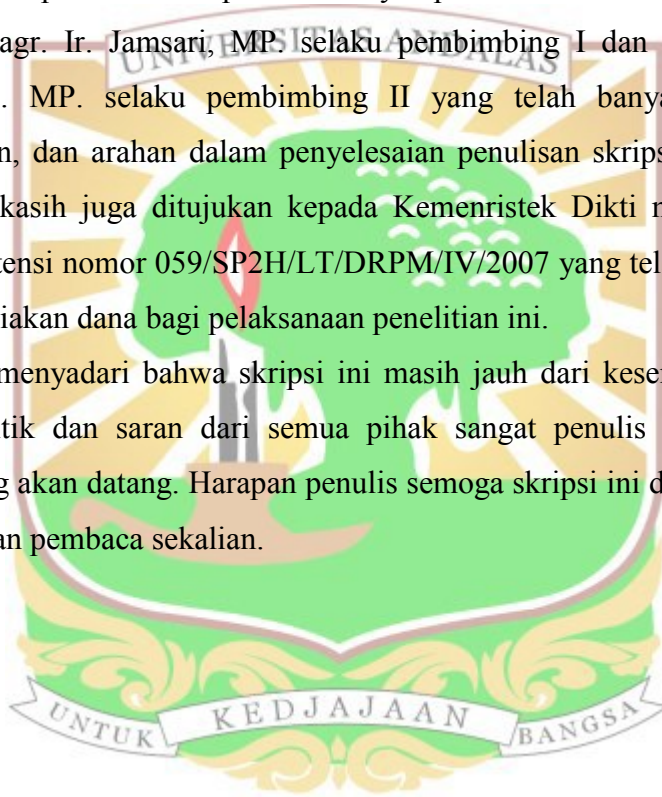
H.R.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur disampaikan kehadirat Allah Yang Maha Kuasa karena atas rahmat dan izin-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Selawat beserta salam kepada Nabi Muhammad SAW. sebagai suri tauladan dalam kehidupan. Skripsi ini disusun dengan judul **Isolasi dan Kloning Gen Pengkode Metalloprotease dari Isolat UBCR\_12, UBCF\_01 dan UBCF\_13** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Pertanian.

Pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan terimakasih kepada Bapak Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP. selaku pembimbing I dan kepada Ibu Dr. Yusniwati SP. MP. selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dan arahan dalam penyelesaian penulisan skripsi ini. Selain itu ucapan terimakasih juga ditujukan kepada Kemenristek Dikti melalui program Hibah Kompetensi nomor 059/SP2H/LT/DRPM/IV/2007 yang telah berkontribusi dalam menyediakan dana bagi pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kritik dan saran dari semua pihak sangat penulis harapkan untuk perbaikan yang akan datang. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca sekalian.



Padang, Januari 2018

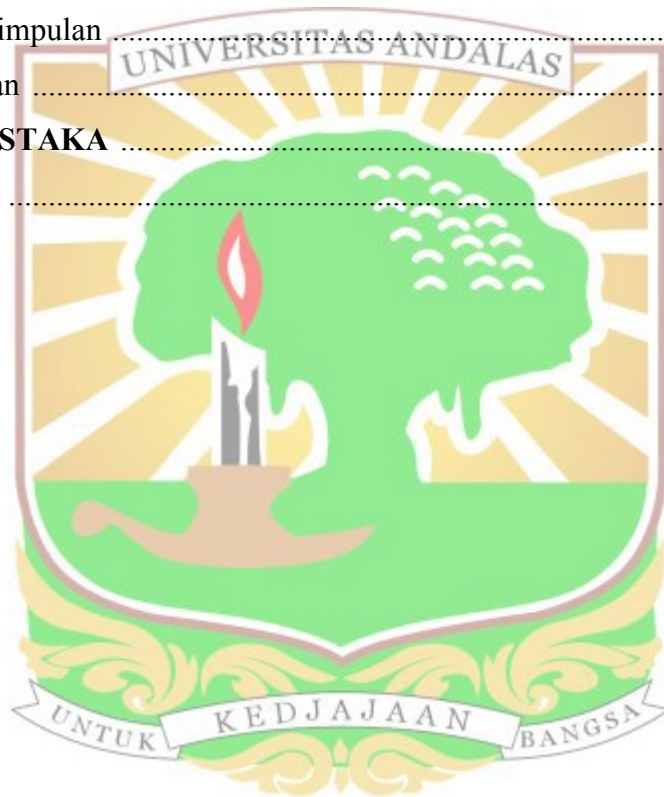
H.R

# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>ABSTRAK</b> .....	xiii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
A. Bakteri sebagai Agen Biokontrol .....	4
B. Enzim Protease .....	5
C. Rekayasa Genetika dan Kloning Gen .....	7
D. Transformasi Genetik dan Verifikasinya .....	9
E. Sekuensing dan Analisis Filogenetik .....	10
<b>BAB III BAHAN DAN METODE</b> .....	13
A. Waktu dan Tempat .....	13
B. Alat dan Bahan .....	13
C. Metode Penelitian .....	14
D. Pelaksanaan .....	14
1. Persiapan Alat dan Bahan .....	14
2. Optimasi Primer dan Amplifikasi .....	15
3. Persiapan Sel Kompeten .....	16
4. Ligasi DNA Hasil Amplifikasi ke dalam Plasmid pGem-T Easy Vektor.....	17
5. Transformasi Plasmid Rekombinan ke dalam <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ dengan Metode <i>Heat Shock</i> .....	17
6. PCR koloni dengan Primer T7/SP6 serta Pembuatan <i>Master Plate</i> .....	18



7. Isolasi DNA Plasmid Rekombinan .....	19
8. Amplifikasi Hasil Isolasi Plasmid dengan Primer T7/SP6 .....	20
9. Sekuensing dan Analisis Bioinformatika .....	20
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
A. Amplifikasi Gen <i>Metalloprotease</i> .....	22
B. Kloning Gen <i>Metalloprotease</i> ke dalam <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ .....	23
C. Verifikasi Plasmid Rekombinan .....	25
D. Sekuensing dan Analisis Bioinformatika .....	26
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>37</b>
A. Kesimpulan .....	37
B. Saran .....	37
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>42</b>



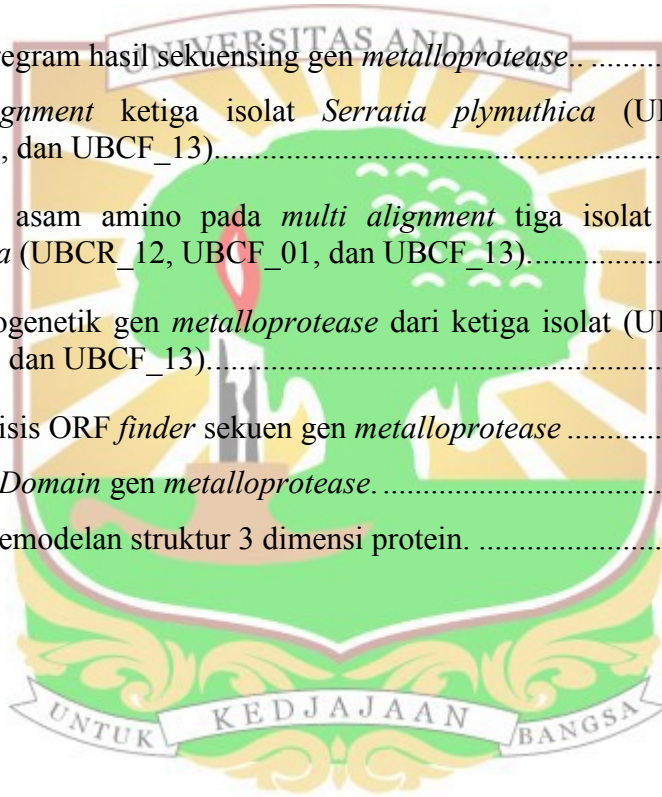
## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Sekuen primer Mtlpro-FR .....	16
2. Program PCR dengan primer Mtlpro-FR .....	16
3. Program PCR dengan primer T7/SP6 .....	18
4. Hasil analisis BLAST sekuen gen <i>metalloprotease</i> ketiga isolat.....	28
5. Sekuen ORF gen <i>metalloprotease</i> dari ketiga isolat .....	34



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bagan alir penelitian .....	14
2. Visualisasi hasil amplifikasi gen <i>metalloprotease</i> .....	22
3. Hasil <i>plating</i> bakteri <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ transforman.....	24
4. Visualisasi hasil PCR koloni <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ transforman.....	25
5. Hasil isolasi plasmid rekombinan.....	25
6. Visualisasi hasil amplifikasi plasmid rekombinan dengan primer T7/SP6.....	27
7. Elektroforegram hasil sekuensing gen <i>metalloprotease</i> .....	27
8. <i>Multi alignment</i> ketiga isolat <i>Serratia plymuthica</i> (UBCR_12, UBCF_01, dan UBCF_13).....	30
9. Substitusi asam amino pada <i>multi alignment</i> tiga isolat <i>Serratia plymuthica</i> (UBCR_12, UBCF_01, dan UBCF_13).....	31
10. Pohon filogenetik gen <i>metalloprotease</i> dari ketiga isolat (UBCR_12, UBCF_01 dan UBCF_13).....	32
11. Hasil analisis ORF <i>finder</i> sekuen gen <i>metalloprotease</i> .....	33
12. <i>Conserve Domain</i> gen <i>metalloprotease</i> .....	35
13. Analisis pemodelan struktur 3 dimensi protein. ....	36





## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Jadwal penelitian .....	42
2. Komposisi media .....	43
3. Peta <i>pGem-T Easy Vector</i> .....	44
4. Elektroforegram sekuen gen <i>metalloprotease</i> ketiga isolat .....	45
5. Sekuen gen <i>metalloprotease</i> ketiga isolat .....	52
6. <i>Multi alignment</i> gen <i>metalloprotease</i> .....	54
7. Sekuen asam amino ORF .....	56

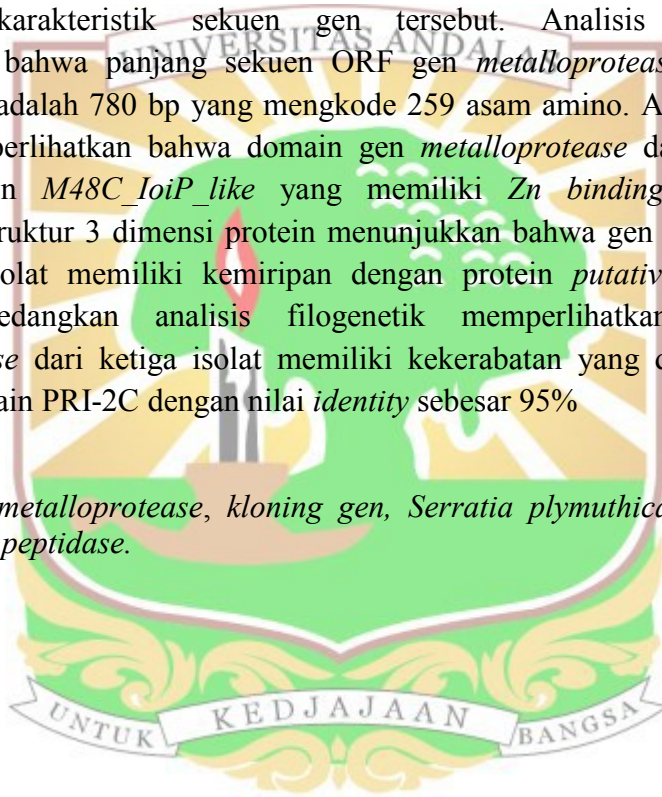


# ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE METALLOPROTEASE DARI ISOLAT UBCR\_12, UBCF\_01, DAN UBCF\_13

## Abstrak

*Metalloprotease* merupakan jenis enzim protease yang memerlukan ion logam untuk aktivasinya. *Metalloprotease* berpotensi dalam penekanan serangan hama dan dimanfaatkan dalam pengembangan sebagai insektisida alami. Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkloning gen *metalloprotease* dari bakteri *Serratia plymuthica* strain UBCR-12, UBCF\_01 dan UBCF\_13 untuk mengetahui karakteristik sekuen gen tersebut. Analisis bioinformatika menunjukkan bahwa panjang sekuen ORF gen *metalloprotease* dari masing-masing isolat adalah 780 bp yang mengkode 259 asam amino. Analisis *conserve domain* memperlihatkan bahwa domain gen *metalloprotease* dari ketiga isolat adalah domain *M48C\_IoiP\_like* yang memiliki *Zn binding site*. Analisis permodelan struktur 3 dimensi protein menunjukkan bahwa gen *metalloprotease* dari ketiga isolat memiliki kemiripan dengan protein *putative Zn-dependent peptidase*. Sedangkan analisis filogenetik memperlihatkan bahwa gen *metalloprotease* dari ketiga isolat memiliki kekerabatan yang dekat dengan *S. plymuthica* strain PRI-2C dengan nilai *identity* sebesar 95%

**Kata kunci:** *metalloprotease, kloning gen, Serratia plymuthica, Zn-dependent peptidase.*



# Isolation and Cloning of Genes Encoding a Metalloprotease from Isolates UBCR\_12, UBCF\_01 and UBCF\_13

## Abstract

Metalloproteases are a type of protease that require a metal ion for activation. Metalloproteases have potential to suppress pest attack and to be exploited as a bioinsecticide. The purpose of this study was to isolate and clone a metalloprotease gene from *Serratia plymuthica* strains UBCR-12, UBCF\_01 and UBCF\_13 and to identify the characteristics of the gene sequences. Bioinformatic analysis showed that the ORF from each gene isolated was 780 bp long, encoding 259 amino acids. Conserved domain analysis showed the presence of the M48\_Ioip\_like domain which contains a Zn binding site in all three genes. A 3 dimensional structural model of these gene products showed similarity with a putative Zn-dependent peptidase protein. Phylogenetic analysis showed that the metalloprotease gene of all three isolates had a close relationship with *S. plymuthica* strain PRI-2C (95% identity).

**keywords:** *metalloprotease*, cloning gene, *Serratia plymuthica*, Zn-dependent peptidase

