

**ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE ENZIM  
KITINASE-A DARI BAKTERI RIZOSFER KELAPA SAWIT  
KE DALAM PLASMID *pGEM-T Easy* DAN SEL *E. coli***

**Tesis**

**UMAR LINGGOM**



**Dosen Pembimbing:  
Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, M.P  
Dr. Lily Syukriani, S.P., M.P**

**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS ANDALAS**

**2024**

# ISOLASI DAN KLONING GEN PENGKODE ENZIM KITINASE-A DARI BAKTERI RIZOSFER KELAPA SAWIT KE DALAM PLASMID *pGEM-T Easy* DAN SEL *E. COLI*

Oleh: Umar Linggom (2021652003)

Dibawah bimbingan

Prof. Dr.sc.agr. Ir. Jamsari, MP dan Dr. Lily Syukriani, S.P., MP

## Abstrak

Enzim kitinase memiliki banyak manfaat, salah satunya di bidang pertanian karena fungsinya yang berpotensi mengendalikan banyak patogen seperti jamur yang mengandung kitin pada dinding selnya. Dalam penelitian ini, gen yang mengkode enzim kitinase diperoleh dari bakteri yang diisolasi dari rizosfer kelapa sawit. Gen tersebut kemudian dikonstruksi pada plasmid *pGEM-T Easy* dan ditransformasikan ke bakteri *E. coli* DH5 $\alpha$  untuk meningkatkan produksinya. Hasil identifikasi molekuler menunjukkan bahwa bakteri yang ditemukan adalah *Bacillus subtilis*. Bakteri tersebut telah dilakukan uji kitinolitik dan uji daya hambat terhadap *Ganoderma boninense*. Panjang gen pengkode kitinase pada bakteri *Bacillus subtilis* adalah 1254 bp diamplifikasi menggunakan primer spesifik yang dirancang yaitu BsChiA F dan BsChiA R. Hasil transformasi dikonfirmasi dengan PCR koloni, isolasi DNA plasmid, dan amplifikasi PCR DNA plasmid menggunakan primer BsChiA dan Primer T7-SP6. Hasil menunjukkan bahwa dalam DNA plasmid rekombinan terdapat gen pengkode kitinase sesuai ukuran target yang diapit oleh primer BsChiA F dan BsChiA R sebesar 1.306 bp dan gen yang terligasi oleh T7-SP6 sebesar 1.447 bp. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tahapan transformasi dan konstruksi fragmen gen BsChiA ke plasmid *pGEM-T Easy* telah berhasil dilakukan.

*Kata kunci:* Kitinase, *pGEM-T Easy*, *E. coli* DH5 $\alpha$ , Kloning

**ISOLATION AND CLONING OF THE CITINASE-A ENZYMES  
CODING GENE FROM OIL PALM THE RHIZOSFERIC  
BACTERIA INTO pGEM-T Easy PLASMID AND E. coli CELL**

By: Umar Linggom (2021652003)

(Supervised by: Prof. Dr.sc.agr. Ir. Jamsari, MP dan Dr. Lily Syukriani, S.P., MP)

**Abstract**

*Chitinase enzymes have many benefits, one of which is in agriculture because of their function in potentially controlling many pathogens such as fungi that contain chitin in their cell walls. In this study, the gene encoding the chitinase enzyme was obtained from bacteria isolated from the rhizosphere of oil palm. The gene was then constructed on pGEM-T Easy plasmid and transformed into E. coli DH5a bacteria to increase its production. Molecular identification results showed that the bacteria found were Bacillus subtilis. The bacteria have been subjected to chitinolytic test and inhibition test against Ganoderma boninense. The length of the chitinase coding gene in Bacillus subtilis bacteria is 1254 bp amplified using specific primers designed, namely BsChiA F and BsChiA R. The transformation results were confirmed by colony PCR, plasmid DNA isolation, and PCR amplification of plasmid DNA using BsChiA primers and T7-SP6 primers. The results showed that in the recombinant plasmid DNA there was a chitinase coding gene of the target size flanked by primers BsChiA F and BsChiA R of 1,306 bp and a gene ligated by T7-SP6 of 1,447 bp. Thus, it can be concluded that the transformation and construction stages of the BsChiA gene fragment into the pGEM-T Easy plasmid have been successfully carried out.*

**Keywords:** Chitinase, pGEM-T Easy, E. coli DH5a, Cloning

