



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGAJUAN .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN .....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI .....	xii
ABSTRACT.....	xiii
I. PENDAHULUAN .....	1
1. Latar Belakang.....	1
2. Tujuan .....	3
3. Manfaat .....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
1. Bakteri Kitinolitik.....	4
2. Kitinase .....	5
3. Gen Kitinase .....	6
3.1. Isolasi Gen Kitinase.....	6
3.2. Kloning Gen .....	8
3.3. Ekspresi Gen.....	11
4. DNA Rekombinan .....	11
III. METODE PENELITIAN .....	13
1. Waktu dan Tempat.....	13
2. Alat dan Bahan .....	13
2.1. Alat .....	13
2.2. Bahan .....	13
3. Prosedur Penelitian .....	14
3.1. Amplifikasi Gen Kitinase .....	14
3.2. Elektroforesis .....	15
3.3. Purifikasi Gen Kitinase.....	15
3.4. Kloning Gen Kitinase dan Transformasi pada <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ .....	15
3.4.1. Pemotongan DNA Gen Kitinase.....	15
3.4.2. Pemotongan Vektor Ekspresi (PET28a).....	16
3.4.3. Ligasi dan Transformasi .....	16
3.4.4. Seleksi dan Konfirmasi PET28a Rekombinan .....	17
3.5. Sekuensing.....	18



3.6. Produksi dan Optimasi Enzim Kitinase.....	18
3.6.1. Transformasi dan Konfirmasi PET28a Rekombinan pada <i>E. coli</i> BL21 .....	18
3.6.2. Konfirmasi Enzim Kitinase .....	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	21
1. Hasil Penelitian .....	21
1.1. <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ Rekombinan .....	21
1.2. Gen Kitinase Rekombinan.....	23
1.2.1. Kloning Gen Kitinase pada Plasmid PET28a.....	24
1.2.2. Sekuensing dan Analisis Data .....	25
1.3. Ekspresi Gen Kitinase .....	28
2. Pembahasan .....	29
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	36
DAFTAR PUSTAKA .....	37
LAMPIRAN.....	41

## DAFTAR SINGKATAN

APS	<i>Amonium Pensulfat</i> ),
ATP	<i>AdenosinTriphosphate</i>
BLAST	<i>Basic Local Aligment Search Tool</i>
DF	<i>Detergent Free</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
LB	<i>Luria Bertani</i>
NCBI	<i>National Center fir Biotechnology Information</i>
NFW	<i>Nuclease Free Water</i>
OD	<i>Optical Density</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamid Gel Electrophoresis</i>
TBE	<i>Tris Borat EDTA</i>



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Ringkasan sekuensing genom dari <i>E. cloacae</i> .....	4
Tabel 2.2. Situs pengenalan dan situs pemotongan enzim restriksi .....	9
Tabel 4.1. Hasil BLASTN atau Nucleotide BLAST DNA Gen Kitinase Rekombinan Isolat TB 22.....	25
Tabel 4.2. Hasil BLASTX Asam Amino Kitinase Isolat TB 22 .....	25



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Tahapan Proses PCR .....	7
Gambar 2.2. Skema Plasmid PET28a .....	10
Gambar 4.1. PCR Gen Kitinase dari <i>E. cloacae</i> .....	22
Gambar 4.2. Transformasi PET28a+kitinase ke dalam <i>E. coli</i> DH5 $\alpha$ pada medium LB Agar dengan Kanamisin 50 mg/ml .....	22
Gambar 4.3. PCR Koloni Kitinase Rekombinan dari <i>E. cloacae</i> .....	23
Gambar 4.4. Visualisasi Gen Kitinase dari <i>E. cloacae</i> .....	24
Gambar 4.5. Hasil Sekuensing Menggunakan T7 Promotor dan T7 Terminator ....	26
Gambar 4.6. <i>Aligment</i> Gen Kitinase Rekombinan dengan <i>E. cloacae</i> strain CAV1669 dan <i>E. cloacae</i> strain CAV1668 .....	27
Gambar 4.7. Deduksi Gen Kitinase Rekombinan Menjadi Asam Amino Menggunakan Program Bioedit .....	28
Gambar 4.8. Ekspresi Gen Kitinase Rekombinan Menggunakan SDS-PAGE.....	29



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil BLASTN atau Nucleotide BLAST Gen kitinase Rekombian dari <i>E. cloacae</i> .....	41
Lampiran 2. Hasil BLASTX Gen Kitinase Rekombinan dari <i>E. cloacae</i> .....	42
Lampiran 3. Penempelan Primer <i>Forward</i> dan <i>Reverse E. cloacae</i> .....	43
Lampiran 4. Perhitungan Berat Molekul Protein Kitinase Rekombinan Menggunakan Polypeptide Size Calculation .....	43
Lampiran 5. Perhitungan Berat Molekul Protein Kitinase Rekombinan Menggunakan Persamaan Garis Linier .....	44