



LAPORAN PENELITIAN LANJUT

**KLONING DAN EKSPRESI GEN PENGKODE ENZIM
SELULASE DAN XILANASE DARI *Bacillus subtilis* DALAM
*Escherichia coli***

Oleh:

Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.

FAKULTAS Teknobiologi

UNIVERSITAS SURABAYA

Desember, 2013



LAPORAN PENELITIAN LANJUT

**KLONING DAN EKSPRESI GEN PENGKODE ENZIM
SELULASE DAN XILANASE DARI *Bacillus subtilis* DALAM
*Escherichia coli***

Oleh:

Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.

FAKULTAS Teknobiologi

UNIVERSITAS SURABAYA

Desember, 2013

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN PENELITIAN LANJUT

1. a. Judul Penelitian : Kloning dan ekspresi gen pengkode enzim selulase dan xilanase dari *Bacillus subtilis* dalam sel *Escherichia coli*
- b. Bidang Ilmu : MIPA/Biologi
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.
 - b. Jenis Kelamin : Perempuan
 - c. Golongan Pangkat dan NPK : IIIId / 190023
 - d. Jabatan Fungsional : Lektor300
 - e. Jabatan Struktural : Kepala Laboratorium Purifikasi dan Biologi Molekuler
 - f. Fakultas/Jurusan : Teknobiologi
 - g. Pusat Penelitian : Lab. Bioteknologi Mikroorganisme dan Lab. Purifikasi dan Biologi Molekuler
 - h. Telp/Faksimili : 031-2981399/ 031-2981278
 - E-mail : mariana_wahjudi@ubaya.ac.id
3. Jumlah Anggota Peneliti : -
 - a. Nama Anggota Peneliti I : -
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Teknobiologi, Ubaya
5. Kerjasama dengan Institusi Lain : -
 - a. Alamat : -
 - b. Telp/Faksimili : -
 - c. E-mail : -
6. Lama Penelitian : 12 bulan
7. Biaya yang Diperlukan : Rp. 30.000.000,-
(tiga puluh juta rupiah)

Surabaya, 15 Desember 2013

Mengetahui,
Dekan Fakultas/Pusat Studi



(Dr. Rer.nat. Maria Goretti M. Purwanto)
NPK: 199002

Ketua Peneliti,



(Dr. Dra. Mariana Wahjudi, M.Si.)
NPK. 190023

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Ubaya



(Dr. Ioan Nursari Simanjuntak, S.H., M.Hum.)
NPK : 196008

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vi
ABSTRAK DAN KATA KUNCI	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III. TUJUAN PENELITIAN	14
BAB IV. METODE PENELITIAN	11
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar

5.1	Hasil amplifikasi gen <i>Bacillus subtilis</i> spizizenii secara PCR.	20
5.2	Plasmid pMMB67EH dilinearisasi dengan dua enzim restriksi, <i>HindIII</i> dan <i>EcoRI</i> .	21
5.3	Fragmen DNA ysdC insert dipreparasi dari fragmen ysdC hasil PCR yang dipotong dengan dua enzim restriksi, <i>HindIII</i> dan <i>EcoRI</i> .	22
5.4	<i>Escherichia coli</i> strain Origami transforman (A) dan hasil penanaman ulang pada media LB ampisilin (B).	23
5.5	Hasil analisis koloni <i>Escherichia coli</i> Origami transforman pMMB-ysdC secara PCR dengan Primer Sekuensing SeqForpMMB67 dan SeqRevpMMB67.	24
5.6	Hasil analisa secara PCR koloni <i>Escherichia coli</i> Origami transforman no 5 dan 6.	25
5.7	Analisis restriksi plasmid rekombinan pMMB-ysdC dari <i>E. coli</i> Origami transforman no 6.	26
5.8	Hasil PCR gen BSUW23_10175 dari <i>B. Subtilis sp. spizizenii</i> W23 dengan template DNA kromosomal (A) dan koloni langsung (B) pada gel agarose 1% dalam buffer TAE.	27
5.9	Preparasi vektor untuk kloning gen BSUW10175.	28
5.10	Fragmen DNA insert hasil restriksi fragmen 10175 hasil PCR dengan dua enzim restriksi, <i>HindIII</i> dan <i>EcoRI</i> .	29
5.11	Koloni transforman <i>E. coli</i> DH5 α dan Origami pada media LB ampisilin.	30
5.12	Hasil analisis koloni <i>E. coli</i> Origami transforman pMMB-10175 secara PCR dengan primer sekuensing SeqForpMMB67 dan SeqRevpMMB67 pada gel agarose 1% dalam buffer TAE.	31
5.13	Hasil analisis koloni <i>E. coli</i> transforman pMMB-10175 secara PCR dengan primer For-BSUW23_10175 dan Rev-BSUW23_10175.	31
5.14	Analisis restriksi plasmid rekombinan pMMB-10175 dari <i>E. coli</i> Origami transforman no 8.	32
5.15	Hasil <i>colony-PCR</i> untuk amplifikasi gen <i>xynB</i> <i>B. subtilis</i> spizizenii.	33
5.16	Preparasi vektor untuk kloning gen <i>xynB</i> .	34
5.17	Fragmen DNA insert hasil restriksi fragmen <i>xynB</i> hasil PCR dengan dua enzim restriksi, <i>SacI</i> dan <i>XbaI</i> .	35
5.18	Koloni transforman <i>E. coli</i> DH5 α dan Origami pMMB-xynB pada media LB ampisilin.	36
5.19	Hasil analisis koloni <i>E. coli</i> DH-5 α transforman pMMB-xynB secara PCR dengan primer sekuensing SeqForpMMB67 dan	

	SeqRevpMMB67 pada gel agarose 1% dalam buffer TAE.	38
5.20	Hasil analisis koloni <i>E. coli</i> Origami transforman pMMB- <i>xynB</i> secara PCR dengan primer sekuensing SeqForpMMB67 dan SeqRevpMMB67 pada gel agarose 1% dalam buffer TAE.	39
5.21	Hasil analisis plamid rekombinan dari <i>E. coli</i> transforman pMMB- <i>xynB</i> secara PCR dengan primer For- <i>xynB</i> _BSUW23 dan Rev- <i>xynB</i> _BSUW23	40
5.22	Hasil analisis plamid rekombinan dari <i>E. coli</i> transforman pMMB- <i>xynB</i> secara PCR dengan primer SeqForpMMB67 dan SeqRevpMMB67	41
5.23	Analisis restriksi plasmid rekombinan pMMB- <i>xynB</i> dari <i>E. coli</i> Origami transforman no 9.	42
5.24	Aktivitas Enzim β -1,4-endoglukanase dari <i>B. subtilis</i> spizizenii dalam <i>E. coli</i> Origami pMMB- <i>ysdC</i> transforman.	44
5.25	Aktivitas Enzim endo β -1,3-1,4 glukonase dari <i>B. subtilis</i> spizizenii dalam <i>E. coli</i> Origami pMMB-10175 transforman.	46
5.26	Aktivitas enzim ekstraseluler endo β -1,3-1,4 glukonase <i>B. subtilis</i> spizizenii dalam <i>E. coli</i> Origami pMMB-10175 transforman yang ditumbuhkan dalam media tanpa <i>carboxymethyl cellulosa</i> (CMC).	48
5.26	Aktivitas enzim β -xilanase <i>B. subtilis</i> spizizenii dalam kultur <i>E. coli</i> pMMB- <i>xynB</i> transforman.	49

DAFTAR LAMPIRAN

Urutan Basa Gen, dan Plasmid yang Digunakan	54
Urutan basa plasmid pMMB67EH (8828 bp)	54
Peta Plasmid pMMB67EH	54
Urutan basa gen <i>ysdC</i> BSUW_14005	57
Urutan Gen BSUW23_10175, pengkode Endo- β -1,3-1,4 glukonase pada <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> str. W23	57
Urutan Gen Pengkode β -xilanase (<i>xynB</i>) pada <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> str. W23	57
Urutan basa rekombinan plasmid pMMB- <i>ysdC</i> (9901 bp)	58
Urutan nukleotida pMMB-10175	61
Urutan nukleotida pMMB- <i>xynB</i>	63
Komposisi <i>Buffer</i>	67
Kurva standar DNS dan Tabel Data Hasil Uji aktifitas	68
Hasil Seminar Penelitian	69