



**UNIVERSITAS PERTAHANAN RI**

**IDENTIFIKASI GEN PENGKODE DAN PREDIKSI DOMAIN  
PROTEIN KITINASE DARI DUA AKSESI SORGUM LOKAL  
SEBAGAI UPAYA MENDUKUNG KETAHANAN  
PANGAN NASIONAL**

**WINA NUR SAPUTRI 320200301025**

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam  
Mendapatkan Gelar Sarjana**

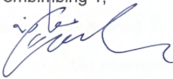
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER  
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

**BOGOR 2024**

## LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Wina Nur Saputri  
NIM : 320200301025  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan  
Alam Militer  
Judul Proposal Skripsi : Identifikasi Gen Pengkode dan Prediksi Domain  
Protein Kitinase dari Dua Aksesori Sorgum Lokal  
sebagai Upaya Mendukung Ketahanan  
Pangan Nasional

Pembimbing 1,



Dr.rer.nat Mo Awwanah, S.Si., M.Sc

Penata III/c NIP. 198711062024032001

Tanggal: 25 Juli 2024

Pembimbing 2,



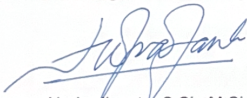
Dr.rer.nat. Pratiwi Prananingrum, S.Si., M.Sc

Penata III/c NIP. 198612182022022002

Tanggal: 25 Juli 2024

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,

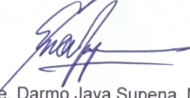


Nurhadiyanta, S.Si., M.Si.

Kolonel Ckm. NRP. 32987

Tanggal: 24 Juli 2024

Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence. Darmo Jaya Supena, M.Si.

Pembina Utama Muda IV/c

Tanggal: 26 Juli 2024

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Wina Nur Saputri  
 NIM : 320200301025  
 Program Studi : Biologi  
 Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer  
 Judul Skripsi : Identifikasi Gen Pengkode dan Prediksi Domain Protein Kitinase dari Dua Aksesori Sorgum Lokal sebagai Upaya Mendukung Ketahanan Pangan Nasional

| No | Nama                                                                                                            | Tanda Tangan                                                                        | Tanggal  |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 1  | Dosen Pembimbing 1:<br>Dr.rer.nat Mo Awwanah, S.Si., M.Sc<br>Penata III/c<br>NIP. 198711062024032001            |    | 25/07/24 |
| 2  | Dosen Pembimbing 2:<br>Dr.rer.nat. Pratiwi Prananingrum, S.Si., M.Sc<br>Penata III/c<br>NIP. 198612182022022002 |    | 25/07/24 |
| 3  | Dosen Penguji 1:<br>Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D<br>NIP. 198111062023212020                                  |   | 24/07/24 |
| 4  | Dosen Penguji 2:<br>Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si<br>Penda Tk. I III/b<br>NIP 199212062022031001            |  | 25/07/24 |

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, Juli 2024



Wina Nur Saputri

## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wina Nur Saputri  
NIM : 320200301025  
Program Studi : Sarjana Biologi  
Fakultas : FMIPA Militer  
Jenis Karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Identifikasi Gen Pengkode dan Prediksi Domain Protein Kitinase dari Dua Aksesori Sorgum Lokal sebagai Upaya Mendukung Ketahanan Pangan Nasional**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor  
Pada tanggal : 25 Juli 2024  
Yang menyatakan

Wina Nur Saputri  
NIM. 320200301025

## KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “Identifikasi Gen Pengkode dan Prediksi Domain Protein Kitinase dari Dua Aksesori Sorgum Lokal sebagai Upaya Mendukung Ketahanan Pangan Nasional” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini Kadet Mahasiswa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kolonel Ckm Nurhadiyanta, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi UNHAN RI dan pembimbing akademik yang selalu memberikan motivasi selama menempuh perkuliahan.
2. Dr.rer.nat Mo Awwanah, S.Si., M.Sc, selaku Dosen Pembimbing 1 Skripsi beserta Dr.rer.nat. Pratiwi Prananingrum, S.Si., M.Sc, selaku Pembimbing 2 Skripsi.
3. Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D selaku penguji 1, Dr. Rizky Dwi Satrio, S.Si., M.Si selaku penguji 2, dan Dosen serta staff Program Studi Biologi Universitas Pertahanan RI yang telah mendukung berjalannya skripsi.
4. Kedua Orang tua, Kakak dan Adik serta semua orang terkasih atas doa, cinta, restu yang tiada henti-hentinya serta dorongan semangat yang telah diberikan.
5. Kadet mahasiswa Cohort 1 UNHAN RI “Nata Nagara Adisankara Danadyaksa Wirasana” yang senantiasa menjaga tradisi Silih Asah, Asih, dan Asuh.
6. Rekan seperjuangan dan Adik Asuh Kadet Mahasiswa Biologi dan Resimen UNHAN RI yang selalu memberikan semangat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati mengharapakan kritik dan saran yang konstruktif demi kesempurnaan skripsi ini. Harapan penulis, skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap pengembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi stakeholder terkait.

Bogor, 25 Juli 2024

Wina Nur Saputri

## ABSTRAK

### IDENTIFIKASI GEN PENGKODE DAN PREDIKSI DOMAIN PROTEIN KITINASE DARI DUA AKSESI SORGUM LOKAL SEBAGAI UPAYA MENDUKUNG KETAHANAN PANGAN NASIONAL

*Sorghum* (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) merupakan anggota famili Poaceae yang sudah banyak dibudidayakan di Indonesia karena potensinya untuk mendukung diversifikasi pangan nasional. Akan tetapi, pengembangan sorgum sebagai bahan pangan alternatif mengalami ancaman karena infeksi oleh patogen fungi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi sekuens gen pengkode dan memprediksi domain protein kitinase dari dua aksesori Sorgum lokal Indonesia, yaitu Sorgum Manis (SM) dan Kempul (K). Metode pencarian kandidat gen dilakukan secara *In Silico* dengan *BLASTP search* di server Phytozome menggunakan sekuens asam amino kitinase dari *Capsicum annuum* (CaChIII7 (Capana07g001181)), kemudian dikonfirmasi melalui *BLASTN search* di laman NCBI. Isolasi kandidat gen dilakukan melalui *Reverse Transcription-PCR*, kemudian dilanjutkan dengan *Sanger sequencing*. Prediksi domain protein dilakukan dengan menggunakan server SignalP 4.1, DeepTMHMM, dan InterProScan. Terdapat tiga ortolog, *SobicCHIT1-1*, *SobicCHIT1-2*, dan *SobicCHIT1-3*, yang diprediksi sebagai kandidat gen pengkode kitinase pada Sorgum. *SobicCHIT1-1* hanya terekspresi dan berhasil diisolasi dari K, sedangkan *SobicCHIT1-3* hanya terekspresi dan berhasil diisolasi dari SM. *SobicCHIT1-2* terekspresi dan berhasil diisolasi baik dari SM maupun K. Perbandingan sekuens kandidat gen pengkode kitinase menunjukkan adanya perbedaan sekuens gen pengkode *SobicCHIT1-2* antara SM dan K, yang berpengaruh pada susunan asam aminonya, tetapi tidak berpengaruh pada domain proteinnya. Berdasarkan domain protein yang dimiliki, *SobicCHIT1-2* kemungkinan sebagai kitinase kelas IV karena memiliki CBD, sedangkan *SobicCHIT1-3* kemungkinan sebagai kitinase kelas II karena memiliki domain katalitik dari Glycoside hydrolase, family 19, tanpa CBD dan bersifat parsial. Klasifikasi *SobicCHIT1-1* belum dapat dipastikan, karena bersifat parsial.

**Kata kunci:** *Sorghum bicolor*, kandidat gen, protein kitinase, resistansi, patogen fungi.

## ABSTRACT

### **IDENTIFICATION OF CODING GENES AND PREDICTION OF CHITINASE PROTEIN DOMAINS FROM TWO LOCAL SORGHUM ACCESSIONS AS AN EFFORT TO SUPPORT NATIONAL FOOD SECURITY**

*Sorghum* (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) is a member of the Poaceae family that has been widely cultivated in Indonesia due to its potential to support national food diversification. However, the development of sorghum as an alternative food is under threat due to infection by fungal pathogens. This study aims to isolate and identify gene sequences encoding and predicting chitinase protein domains from two local Indonesian *Sorghum* accessions, namely Sweet Sorghum (SM) and Kempul (K). The gene candidate search method was carried out in silico with BLASTP search on the Phytozome server using chitinase amino acid sequences from *Capsicum annuum* (CaChIII7 (Capana07g001181)), then confirmed through BLASTN search on the NCBI page. Isolation of candidate genes was done through Reverse Transcription-PCR, followed by Sanger sequencing. Protein domain prediction was performed using SignalP 4.1, DeepTMHMM, and InterProScan servers. Three orthologs, SobicCHIT1-1, SobicCHIT1-2, and SobicCHIT1-3, were predicted as candidate chitinase coding genes in *Sorghum*. SobicCHIT1-1 was only expressed and successfully isolated from K, while SobicCHIT1-3 was only expressed and successfully isolated from SM. SobicCHIT1-2 was expressed and successfully isolated from both SM and K. Comparison of chitinase candidate gene sequences showed that there were differences in the SobicCHIT1-2 coding gene sequences between SM and K, which affected the amino acid sequence, but did not affect the protein domain. Based on the protein domain, SobicCHIT1-2 is likely a class IV chitinase because it has CBD, while SobicCHIT1-3 is likely a class II chitinase because it has the catalytic domain of Glycoside hydrolase, family 19, without CBD and is partial. The classification of SobicCHIT1-1 cannot be confirmed, because it is partial.

**Keywords:** *Sorghum bicolor*, candidate gene, chitinase protein, resistance, fungal pathogen.

## DAFTAR ISI

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| HALAMAN JUDUL.....                                                                      | i         |
| LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....                                                         | ii        |
| LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI .....                                                         | iii       |
| PERNYATAAN ORISINALITAS.....                                                            | iv        |
| LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH<br>UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS..... | v         |
| KATA PENGANTAR.....                                                                     | vi        |
| ABSTRAK.....                                                                            | vii       |
| ABSTRACT.....                                                                           | viii      |
| DAFTAR ISI.....                                                                         | ix        |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                                      | xi        |
| DAFTAR TABEL.....                                                                       | xiii      |
| DAFTAR SINGKATAN.....                                                                   | xiv       |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                                                    | xv        |
| <b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>                                                           | <b>1</b>  |
| 1.1 Latar Belakang .....                                                                | 1         |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                                               | 3         |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                                             | 4         |
| 1.4 Manfaat Penelitian.....                                                             | 4         |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                                                     | <b>5</b>  |
| 2.1 Landasan Teori .....                                                                | 5         |
| 2.2 Hasil Penelitian Terdahulu.....                                                     | 20        |
| 2.3 Kerangka Berpikir.....                                                              | 26        |
| <b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>                                               | <b>27</b> |

|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.1 Metode dan Desain Penelitian.....                                                              | 27        |
| 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....                                                              | 27        |
| 3.3 Alat dan Bahan Tanaman Penelitian .....                                                        | 29        |
| 3.3 Prosedur Penelitian .....                                                                      | 29        |
| 3.4 Metode Analisis Sekuens Gen dan Prediksi Domain Protein<br>Kitinase .....                      | 37        |
| <b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>                                                 | <b>38</b> |
| 4.1. Pencarian Kandidat Gen secara <i>In Silico</i> .....                                          | 38        |
| 4.2 Primer Spesifik untuk Mengisolasi dan Mengamplifikasi Gen<br>Pengkode Kitinase dan Aktin ..... | 43        |
| 4.3 Konsentrasi, Kemurnian dan Integritas RNA .....                                                | 44        |
| 4.3. Kualitas cDNA .....                                                                           | 48        |
| 4.4 Konsentrasi, Kemurnian dan Integritas gDNA .....                                               | 50        |
| 4.5 Isolasi dan Amplifikasi Gen Pengkode Kitinase .....                                            | 50        |
| 4.6 Sekuensing Gen Pengkode Kitinase .....                                                         | 54        |
| 4.7 Prediksi Domain Protein Kitinase.....                                                          | 60        |
| <b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>                                                             | <b>70</b> |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                               | 70        |
| 5.2 Saran .....                                                                                    | 71        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                                                                         | <b>72</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                                                                               | <b>82</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Struktur Tanaman <i>Sorghum bicolor</i> .....                                                                     | 6  |
| Gambar 2.2 Infeksi Penyakit Antraknosa oleh <i>Fungi Colletotrichum</i> sp<br>pada Sorgum .....                              | 11 |
| Gambar 2.3 Model Zigzag dalam Sistem Kekebalan .....                                                                         | 13 |
| Gambar 2.4 Patosistem antara Tumbuhan dan Patogen .....                                                                      | 14 |
| Gambar 2.5 Interaksi Sorgum dan <i>Colletotrichum</i> sp. beserta Cara<br>Resistensi .....                                   | 14 |
| Gambar 2.6 Struktur Molekul Kitin dan Unit Berulangannya .....                                                               | 16 |
| Gambar 2.7 Kitinase Sebagai Pendegradasi Kitin .....                                                                         | 16 |
| Gambar 2.8 Representasi Schematis dari Domain yang Dilestarikan yang<br>ada Dalam Protein CaChIII7 .....                     | 19 |
| Gambar 2. 9 Diagram Kerangka Berpikir .....                                                                                  | 26 |
| Gambar 3.1 Proses Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman .....                                                                   | 30 |
| Gambar 4. 1 <i>Multiple Alignment</i> Kandidat Gen Pengkode Kitinase pada<br>Sorgum. ....                                    | 42 |
| Gambar 4. 2 Hasil Pengecekan Integritas RNA .....                                                                            | 47 |
| Gambar 4. 3 Hasil Elektroforesis untuk Mengecek Kualitas cDNA Melalui<br>Ekspresi Aktin. ....                                | 49 |
| Gambar 4. 4 Perbandingan Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR<br>untuk SobichIT1-1 .....                              | 52 |
| Gambar 4. 5 Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR untuk<br>SobicCHIT1-2 .....                                          | 53 |
| Gambar 4. 6 Perbandingan Visualisasi Hasil Elektroforesis Produk PCR<br>untuk SobicCHIT .....                                | 54 |
| Gambar 4. 7 <i>Pairwise Alignment</i> Sekuens Nukleotida SobicCHIT1-2 .....                                                  | 59 |
| Gambar 4. 8 Multiple Alignment Sekuen Asam Amino Gen Pengkode<br>Kitinase yang Berhasil dari Aksesori Sorgum Lokal. ....     | 62 |
| Gambar 4. 9 Penyejajaran Sekuens Ketiga Protein Kitinase dari SM dan K<br>dengan Sekuens Asam Amino Kitinase At3g12500 ..... | 68 |

Gambar 4. 10 Representasi Domain Struktural dari Kitinase pada Sorgum  
secara Skematis. ....69



## DAFTAR TABEL

|                                                                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 2. 1 Kandungan Nutrisi pada Sorgum .....                                                                                 | 9  |
| Tabel 2. 2 Hasil Penelitian Terdahulu .....                                                                                    | 22 |
| Tabel 3.1 Jadwal Penelitian .....                                                                                              | 28 |
| Tabel 3.2 Program PCR untuk Amplifikasi Kandidat Gen.....                                                                      | 36 |
| Tabel 4. 1 Kandidat Gen Pengkode Kitinase pada Sorgum berdasarkan<br>Hasil Pencarian di Phytozome dan NCBI .....               | 40 |
| Tabel 4. 2 Daftar Primer Spesifik untuk Mengamplifikasi Gen Pengkode<br>Kitinase dan Mengecek Ekspresi Aktin pada Sorgum ..... | 44 |
| Tabel 4. 3 Konsentrasi dan Kemurnian RNA .....                                                                                 | 45 |
| Tabel 4. 4 Konsentrasi dan Kemurnian gDNA.....                                                                                 | 50 |
| Tabel 4. 5 Rangkuman Hasil Amplifikasi Kandidat Gen Pengkode Kitinase<br>dari Dua Aksesori Sorgum Lokal .....                  | 51 |
| Tabel 4. 6 Sekuens CDS Gen Pengkode Kitinase yang Berhasil Diisolasi<br>dari Dua Aksesori Sorgum Lokal .....                   | 56 |
| Tabel 4. 7 Prediksi In Silico Sekuens Asam Amino Kitinase dari Dua<br>Aksesori Sorgum Lokal .....                              | 60 |
| Tabel 4. 8 Hasil Prediksi Domain Protein Kitinase dari Dua Aksesori Sorgum<br>Lokal .....                                      | 63 |

## DAFTAR SINGKATAN



|                 |                                                         |
|-----------------|---------------------------------------------------------|
| <i>CaChIII7</i> | : <i>Capsicum annuum</i> homolog of basic endochitinase |
| <i>CBD</i>      | : Chitin Binding Domain                                 |
| <i>CBP</i>      | : Chitin Binding Protein                                |
| <i>CEBiP</i>    | : Chitin Elicitor Binding Protein                       |
| <i>CERK1</i>    | : Chitin Elicitor Receptor Kinase 1                     |
| <i>ETI</i>      | : Effector-Triggered Immunity                           |
| <i>GH</i>       | : Glikosida Hidrolase                                   |
| <i>GlcNAc</i>   | : $\beta$ -1,4-linked N-acetylglucosamine               |
| <i>LRR</i>      | : Leucine Rich Repeat                                   |
| <i>MAMP</i>     | : Microbe-Associated Molecular Pattern                  |
| <i>NTT</i>      | : Nusa Tenggara Timur                                   |
| <i>PAMP</i>     | : Pathogen-Associated Molecular Pattern                 |
| <i>PDA</i>      | : Potato Dextrose Agar                                  |
| <i>PR</i>       | : Pathogenesis-related                                  |
| <i>PRRs</i>     | : Pattern Recognition Receptors                         |
| <i>PUFA</i>     | : Polyunsaturated Fatty Acids                           |
| <i>PTI</i>      | : Pathogen-Triggered Immunity                           |
| <i>RLK</i>      | : Receptor Like Kinase                                  |
| <i>ROS</i>      | : Reactive Oxygen Species                               |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1 Surat Permohonan Akesi Sorgum .....                                                              | 82 |
| Lampiran 2 Sekuen Asam Amino CaChIII7 dari <i>Capsicum annuum</i> .....                                     | 83 |
| Lampiran 3 Master Mix sintesis cDNA dan Program PCR Gen Aktin .....                                         | 84 |
| Lampiran 4 Hasil Elektroforesis Produk PCR pada Proses Optimasi Suhu<br>Annealing dengan Gradient PCR ..... | 85 |
| Lampiran 5 Hasil Alignment sebagai kandidat gen SobicCHIT1-1 .....                                          | 87 |

