



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
INTISARI	ix
ABSTRACT	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Kegunaan	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Mutasi Terarah	3
2.2 Overlapping Polymerase Chain Reaction (PCR)	4
2.3 Sistem Ko-Ekspresi.....	6
2.4 Hipotesis.....	8
III. METODE PENELITIAN	9
3.1 Tempat Penelitian.....	9
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	9
3.3 Cara Kerja	10
3.4 Bagan Alir Penelitian	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Overlapping PCR Open Reading Frame (ORF) Mutan <i>llm2</i>	20
4.2 Kloning ORF Mutan <i>llm2</i>	25
V. KESIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Kesimpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	33



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Komponen PCR Mix untuk <i>Overlapping</i> PCR ORF Mutan <i>llm2</i>	13
Tabel 3.2. Siklus PCR untuk <i>Overlapping</i> PCR ORF Mutan <i>llm2</i>	13
Tabel 3.3. Komponen Amplifikasi Hasil <i>Overlapping</i> PCR 2.....	15
Tabel 3.4. Siklus Amplifikasi Hasil <i>Overlapping</i> PCR 2 Sebanyak 31x.....	16
Tabel 3.5. Komponen Pemotongan Tunggal pada ORF Mutan <i>llm2</i>	16
Tabel 3.6. Komponen Pemotongan Ganda pada ORF Mutan <i>llm2</i> dan Vektor pET-28a(+)- <i>llm1</i>	17
Tabel 3.7. Komponen Ligasi ORF Mutan <i>llm2</i> dan Vektor pET-28a(+)- <i>llm1</i>	18



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme <i>silent mutation</i>	4
Gambar 2.2 Mekanisme mutasi terarah dengan <i>overlapping</i> PCR.....	6
Gambar 2.3 Mekanisme sistem ko-ekspresi	7
Gambar 3.1 Desain skema ko-ekspresi	10
Gambar 3.2 Desain primer <i>forward</i>	11
Gambar 3.3 Skema <i>overlapping</i> PCR.....	12
Gambar 3.4 Bagan alir penelitian	20
Gambar 4.1 Proses dan hasil <i>overlapping</i> PCR 1	21
Gambar 4.2 Hasil <i>overlapping</i> PCR 2.	22
Gambar 4.3 Proses dan hasil amplifikasi PCR 2.....	23
Gambar 4.4 Hasil <i>single digest</i> ORF mutan <i>llm2</i>	24
Gambar 4.5 Urutan sekuens mutan <i>llm2</i> (Atas) dan <i>llm2 Wild Type</i> (Bawah) yang disejajarkan.....	25
Gambar 4.6 Hasil BLASTx pada NCBI sekuens mutan <i>llm2</i>	26
Gambar 4.7 Hasil BLASTx dengan grafis sekuens mutan <i>llm2</i>	26
Gambar 4.8 <i>Double digest</i> vektor dan <i>insert</i> dengan enzim restriksi <i>EcoRI</i> dan <i>XhoI</i>	27
Gambar 4.9 Koloni transformasi hasil kloning mutan <i>llm2</i> ke plasmid pET-28a(+) dan <i>llm1</i>	28
Gambar 4.10 PCR koloni transformasi menggunakan <i>primer</i> T7.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sekuens ORF <i>llm2</i>	33
Lampiran 2. Sekuens ORF Mutan <i>llm2</i>	34
Lampiran 3. Prosedur Pembuatan Medium Luria Bertani Cair.....	34
Lampiran 4. Prosedur Pembuatan Medium Luria Bertani Agar.....	34
Lampiran 5. Prosedur Pembuatan Agarose 1%.....	35
Lampiran 6. Prosedur Pembuatan TBE 0,5%	35