

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
SURAT PENGESAHAN .....	ii
SURAT PERNYATAAN PLAGIASI .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN .....	xv
INTISARI .....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
BAB I .....	1
PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Keaslian Penelitian .....	4
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
BAB II .....	7
TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS .....	7
2.1 Tinjauan Pustaka .....	7
2.1.1 Definisi dan Karakteristik <i>Sulfurisphaera javensis</i> KD-1 .....	7
2.1.2 DNA Polimerase Famili B .....	9
2.1.3 Struktur dan Mekanisme DNA Polimerase B3 .....	11
2.1.4 Implikasi DNA Polimerase B3 Archaea dalam Bioteknologi Diagnostik .....	14
2.2 Landasan Teori .....	17
2.3. Hipotesis .....	18
BAB III .....	19
METODE PENELITIAN .....	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	19
3.2 Variabel Penelitian .....	19
3.3 Alat dan Bahan .....	20
3.4 Rancangan Penelitian .....	21
3.5 Prosedur Penelitian .....	21
3.5.1 Analisis Bioinformatik DNA Polimerase B3 .....	21
3.5.2 Konstruksi Plasmid Rekombinan DNA Polimerase B3 .....	24
3.5.3 Amplifikasi Gen DNA Polimerase B3 dari <i>Sulfurisphaera       javensis</i> KD-1 .....	25
3.5.4 Kloning gen DNA polimerase B3 pada Plasmid pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 melalui sel inang <i>E.coli</i> DH5 $\alpha$ .....	25

3.5.4.1	Preparasi plasmid .....	26
3.5.4.2	Ligasi dan transformasi hasil ligasi ke <i>E.coli</i> DH5 $\alpha$ .....	26
3.5.4.3	PCR koloni .....	27
3.5.4.4	<i>Digest</i> klon positif .....	27
3.5.4.5	Sekuensing klon positif .....	28
3.5.5	Ekspresi dan Optimasi Produksi Protein Rekombinan DNA	
	Polimerase B3 melalui sel inang <i>E.coli</i> BL21 (DE3) pLysS.....	28
3.5.6	Produksi DNA Polimerase B3 .....	29
3.5.7	Purifikasi DNA Polimerase B3.....	30
	3.5.7.1 Purifikasi dengan kolom MBPtrap HP 5 ml.....	30
	3.5.7.2 Purifikasi dengan kolom GSTtrap HP 5 ml.....	31
	3.5.7.3 Konsentrat Hasil Purifikasi DNA Polimerase B3.....	31
3.5.8	Pemotongan Fusi Tag MBP dengan TEV Protease .....	32
3.5.9	Pengukuran Kadar Protein .....	34
3.5.10	Uji Ekstensi Primer Tunggal .....	34
3.5.11	Validasi Aktivitas DNA Polimerase B3 menggunakan qPCR.....	36
3.6	Analisis Data .....	36
3.7	Alur Penelitian.....	37
BAB IV .....		38
HASIL DAN PEMBAHASAN .....		38
4.1	Analisis Bioinformatika Enzim DNA Polimerase B3	
	<i>S.Javensis</i> KD-1 .....	38
4.1.1	Urutan sekuens DNA Polimerase B3 <i>S.Javensis</i> KD-1.....	38
4.1.2	Karakterisasi protein DNA Polimerase B3 <i>S.Javensis</i> KD-1 .....	38
4.1.3	Alignment dan analisis motif DNA Polimerase B3 <i>S.Javensis</i> KD-1 .....	41
4.1.4	Analisis pohon filogenetik .....	45
4.1.5	Prediksi Domain DNA Polimerase B3	
	<i>S. javensis</i> KD-1 .....	46
4.1.6	Prediksi pemodelan DNA Polimerase B3 <i>S. javensis</i> KD-1 .....	47
4.1.7	Analisis interaksi DNA Polimerase B3 <i>S. javensis</i> KD-1 terhadap beberapa biomolekul .....	49
4.2	Konstruksi Plasmid Rekombinan DNA Polimerase B3 pada pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 .....	52
4.3	Amplifikasi Gen DNA Polimerase B3 <i>S.Javensis</i> KD-1 .....	56
4.4	Isolasi Plasmid serta Analisis Double Digest pada pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 .....	58
4.5	Validasi Klon Positif Plasmid pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 Rekombinan <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$ .....	60
	4.5.1 PCR koloni transforman gen DNA Polimerase B3 pada plasmid pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 .....	60
	4.5.2 <i>Double digest</i> koloni positif DNA Polimerase B3 <i>S. javensis</i> KD-1 .....	61
	4.5.3 Analisis sekuens klon positif DNA Polimerase B3 <i>S. javensis</i> KD-1 pada plasmid pMAL-c6T dan pGEX-6P-1 rekombinan...	63



4.6	Transformasi, Ekspresi, Ekstraksi, Konfirmasi dan Optimasi Produksi DNA Polimerase B3 pada <i>Escherichia coli</i> BL21 (DE3) pLysS.....	64
4.6.1	Validasi klon positif DNA Polimerase B3 pada <i>Escherichia coli</i> BL21(DE3) pLysS .....	64
4.6.2	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pMAL-c6T dan ditumbuhkan pada suhu 37 °C .....	66
4.6.3	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pMAL-c6T dan ditumbuhkan pada suhu 25 °C .....	69
4.6.4	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pMAL-c6T dan ditumbuhkan pada suhu 16 °C .....	71
4.6.5	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pMAL-c6T dan ditumbuhkan pada suhu 14 °C .....	73
4.6.6	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pGEX-6P-1 dan ditumbuhkan pada suhu 37 °C .....	77
4.6.7	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 y ang dibawa dalam plasmid pGEX-6P-1 dan ditumbuhkan pada suhu 25 °C .....	81
4.6.8	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pGEX-6P-1 dan ditumbuhkan pada suhu 16 °C .....	83
4.6.9	Optimasi pemberian IPTG pada biakan <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pLysS pembawa DNA polimerase B3 dari <i>S.javensis</i> KD-1 yang dibawa dalam plasmid pGEX-6P-1 dan ditumbuhkan pada suhu 14 °C .....	85
4.7	Purifikasi dan Pengukuran Kadar Protein DNA Polimerase B3 <i>S.javensis</i> KD-1 .....	89
4.8	Uji Pendahuluan aktivitas DNA polimerase B3 <i>S. javensis</i> KD-1 .....	95
4.8.1	Uji Aktivitas Berbasis Perpanjangan Primer .....	96
4.8.2	Validasi aktivitas DNA Polimerase B3 menggunakan qPCR.....	97
4.9	Implikasi DNA Polimerase B3 <i>S.javensis</i> KD-1 .....	100
	BAB V.....	
	KESIMPULAN DAN SARAN.....	102



UNIVERSITAS  
GADJAH MADA

**Analisis Bioinformatika, Kloning, dan Ekspresi Heterolog DNA Polimerase B3 Asal Sulfurisphaera javensis KD-1 pada Sel Inang Escherichia coli**  
Awal Nur Rahmat, Dr. rer. nat. Lucia Dhiantika Witasari, S.Farm., Apt., M.Biotech; Dr. Naswardi Nur, M.Si  
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

5.1	Kesimpulan.....	102
5.2	Saran.....	103
	DAFTAR PUSTAKA.....	104
	LAMPIRAN.....	121