



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL SAMPUL.....	i
SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PRAKATA.....	v
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
INTISARI	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan	3
C. Tujuan	3
D. Manfaat	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Biofuel.....	5
2. Produksi Lipid melalui Rekayasa Genetika	7
3. <i>Yeast</i> sebagai Organisme Penghasil Lipid	9
4. <i>Rhodotorula toruloides</i> sebagai <i>Yeast</i> Transforman	11
5. Gen <i>DGA1</i> Pengkode Sintesis Lipid.....	13
6. Transformasi Genetik	15
7. Vektor Rekombinan.....	16
8. Overekspresi Gen	18
9. Sumber karbon untuk produksi lipid	19
10. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	21
B. Hipotesis.....	22
BAB III. METODE PENELITIAN	23
A. Waktu dan Tempat	23
B. Alat dan Bahan.....	23
1. Bahan	23
2. Alat	23



C. Cara Kerja.....	24
1. Skema penelitian	24
2. Persiapan Mikroorganisme dan Media	24
3. Konstruksi Plasmid dan <i>Design</i> Primer	25
4. Preparasi Vektor dan Gen Target	26
5. Ligasi Vektor dengan Gen Target	26
6. Preparasi Sel Kompeten <i>E. coli</i> BL21	27
7. Preparasi Sel Kompeten <i>R. toruloides</i>	28
8. Transformasi Plasmid Rekombinan ke Sel Kompeten <i>E. coli</i>	28
9. Skrining PCR Hasil Transformasi pada <i>E. coli</i> BL21	29
10. Isolasi Plasmid Rekombinan	30
11. Transformasi Plasmid Rekombinan pKLAC2 ke dalam <i>yeast</i>	30
12. Deteksi Gen Target <i>DGA1</i> pada <i>R. toruloides</i> dengan <i>colony</i> PCR... 31	
13. Preparasi Medium Fermentasi dan <i>Yeast</i> Rekombinan	32
14. Fermentasi Produksi Lipid dari Rekombinan <i>R. toruloides</i>	32
15. Ekstraksi dan Kuantifikasi Kandungan Lipid Hasil Fermentasi	33
16. Analisis Data	33
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
A. Konstruksi Plasmid Rekombinan.....	35
B. Kultur Sel Kompeten <i>E. coli</i> BL21	37
C. Kultur Sel Kompeten <i>R. toruloides</i>	38
D. Transformasi Plasmid pKLAC2- <i>DGA1</i> pada <i>E. coli</i> BL21	39
E. Uji Skrinning melalui PCR terhadap Plasmid Rekombinan pada <i>E. coli</i> 40	
F. Isolasi Plasmid Rekombinan	41
G. Transformasi Plasmid Rekombinan pada <i>R. toruloides</i>	42
H. Skrinning Hasil Transformasi pada <i>R. toruloides engineered</i>	43
I. Skrinning dan Konfirmasi Plasmid pKLAC2	44
J. Hasil Fermentasi dengan Sumber Karbon Glukosa	45
K. Analisis konsentrasi sumber karbon terhadap <i>yeast</i> rekombinan	53
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	61
A. Kesimpulan.....	61
B. Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN.....	70