

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	ii
PRAKATA	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	3
I.3 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA dan PERUMUSAN HIPOTESIS	5
II.1 Tinjauan Pustaka	5
II.1.1 Enzim lipase	5
II.1.2 Enzim lipase dari bakteri	9
II.1.3 Bakteri <i>Alcaligenes</i>	10
II.1.4 Identifikasi bakteri	11
II.1.5 Desain primer	12
II.1.6 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	13
II.1.7 Sekuensing DNA	15
II.1.8 Analisis urutan nukleotida	16
II.1.9 Struktur 3D	17
II.2 Perumusan Hipotesis dan Rancangan Penelitian	17
II.2.1 Perumusan Hipotesis I	17
II.2.2 Perumusan Hipotesis II	18
II.2.3 Perumusan Hipotesis III	18
II.2.5 Rancangan Penelitian	19
BAB III METODE PENELITIAN	20
III.1 Bahan	20
III.2 Alat	20
III.3 Prosedur Penelitian	21
BAB IV HASIL dan PEMBAHASAN	27
IV.1 Peremajaan Bakteri <i>Alcaligenes</i> sp. JG3	27
IV.2 Identifikasi Bakteri dengan Gen 16S rRNA	28
IV.3 Isolasi DNA Bakteri <i>Alcaligenes</i> sp. JG3	31
IV.4 Desain Primer PCR Gen Pengkode Lipase	33
IV.5 Amplifikasi Gen Pengkode Lipase Secara PCR	35

IV.6 Sekuensing Hasil Amplifikasi Gen Pengkode Lipase	38
IV.7 Analisis Urutan Fragment Gen Pengkode Lipase	42
IV.8 Prediksi Struktur 3D	46
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
V.I Kesimpulan	53
V.II Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Reaksi hidrolisis trigliserida	6
Gambar II.2	Reaksi hidrolisis trigliserida	7
Gambar II.3	Representasi molekul enzim lipase	8
Gambar II.4	Tahapan proses amplifikasi secara PCR	14
Gambar II.5	Pelabelan DNA dengan <i>dye fluorescence</i> pada <i>cycle sequencing</i>	16
Gambar IV.1	Hasil inkubasi bakteri dengan variasi waktu (a) 12 jam dan (b) 24 jam pada media NA	28
Gambar IV.2	Urutan nukleotida hasil sekuensing dengan primer 16S rRNA	29
Gambar IV.3	Pohon filogenetik berdasarkan gen 16S sRNA	30
Gambar IV.4	Elektroforesis gel agarose hasil isolasi DNA bakteri <i>Alcaligenes sp. JG3</i> dengan (A) isolat 1 dan (B) isolat 2	31
Gambar IV.5	Posisi urutan nukleotida primer F1, R3 dan R5 pada gen lipase <i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> NCIB 8687	35
Gambar IV.6	Elektroforesis gel agarose hasil amplifikasi DNA (A) primer F1 dan R3, (B) primer F1 dan R5, serta (M) marker 100 pb	37
Gambar IV.7	Urutan nukleotida gen pengkode lipase dengan primer F1 dan R3	40
Gambar IV.8	Urutan nukleotida gen pengkode lipase dengan primer F1 dan R5	40
Gambar IV.9	Pensejajaran urutan nukleotida gen pengkode lipase dengan pasangan primer F1 dan R3 serta pasangan primer F1 dan R5	41
Gambar IV.10	Hasil pensejajaran urutan nukleotida fragmen 0,8 kb <i>Alcaligenes sp. JG3</i> terhadap <i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> NCIB 8687	43
Gambar IV.11	Hasil pensejajaran asam amino fragmen 0,8 kb, parsial lipase <i>Alcaligenes sp. JG3</i> dan lipase <i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i>	45
Gambar IV.12	Rancangan model struktur 3D	47
Gambar IV.13	Plot Ramachandran struktur 3D model 1	49
Gambar IV.14	Struktur 3D dan situs aktif	51
Gambar IV.15	Hasil pensejajaran urutan asam amino fragmen 0,8 kb <i>Alcaligenes sp. JG3</i> dan lipase <i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> NCIB 8687	52

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1	Analisis kuantitatif isolat DNA	31
Tabel IV.2	Kandidat primer	33
Tabel IV.3	Pasangan primer terpilih	34
Tabel IV.4	Hasil pensejajaran dengan BLASTn fragmen 0,8 kb	42
Tabel IV.5	Hasil pensejajaran dengan BLASTx fragmen 0,8 kb	44
Tabel IV.6	Hasil pencarian <i>template</i> server I-TASSER	47
Tabel IV.7	Hasil analisis plot Ramachandran dan <i>C-score</i>	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Kromatogram hasil sekuensing DNA bakteri dengan primer 16S rRNA	59
Lampiran 2	Persentase kemiripan isolat bakteri hasil identifikasi	64
Lampiran 3	Perhitungan panjang fragmen hasil amplifikasi	65
Lampiran 4	Urutan nukleotida gen pengkode lipase bakteri <i>Alcaligenes faecalis subsp. faecalis</i> NCIB 8687	68
Lampiran 5	Kromatogram hasil sekuensing dengan pasangan primer A dan B	71
Lampiran 6	Urutan nukleotida dengan primer F1 dan R3	81
Lampiran 7	Urutan nukleotida dengan primer F1 dan R5	82
Lampiran 8	Translasi urutan nukleotida fragmen 0,8 kb bakteri <i>Alcaligenes</i> sp. JG3	83
Lampiran 9	Plot Ramachandran	84