

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR SINGKATAN	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
INTISARI	ix
ABSTRACT	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan	3
1.3. Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Bakteri Kitinolitik	4
2.2. Enzim Kitinase	4
2.3. Gen	5
2.4. Gen Kitinase	6
2.5. DNA Rekombinan	7
2.5.1. Kloning	8
2.5.2. Vektor pET28a	9
2.5.3. Ekspresi Gen	11
III. METODE PENELITIAN	12
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	12
3.2. Alat dan Bahan	12
3.3. Prosedur Penelitian	12
3.3.1. Amplifikasi Gen Kitinase	11
3.3.1.1. Elektroforesis	13
3.3.1.2. Purifikasi Gen Kitinase (Produk PCR)	14
3.3.2. Kloning Gen Kitinase	14
3.3.2.1. Pemotongan DNA Produk PCR	14
3.3.2.2. Pemotongan Vektor Ekspresi (pET28a)	14
3.3.2.3. Ligasi dan Transformasi	15
3.3.2.4. Seleksi dan Konfirmasi Plasmid Rekombinan	16
3.3.2.5. Sekuensing	17
3.3.3. Produksi dan Optimasi Enzim Kitinase Rekombinan	18

3.3.3.1. Transformasi dan konfirmasi pET28a Rekombinan pada <i>E. coli</i> BL21	18
3.2.3.2. Konfirmasi Enzim Kitinase	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1. Hasil	20
4.1.1. <i>E. coli</i> DH5α Rekombinan	20
4.1.2. Gen Kitinase Rekombinan	21
4.1.2.1. Kloning Gen Kitinase pada Plasmid pET28a	22
4.1.2.2. Sekuensing dan Analisis Data	23
4.1.3. Ekspresi Gen Kitinase	26
4.1.3.1. Analisis SDS-PAGE	26
4.2. Pembahasan Umum	27
V. PENUTUP	33
5.1. Kesimpulan	33
5.2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38

DAFTAR SINGKATAN

APS	<i>Ammonium Persulfat</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ETOH <i>Absolute</i>	Etanol H ₂ O
IPTG	<i>Isopropyl- β-D- thiogalactopyranoside</i>
LB	<i>Luria Bertani</i>
LS	<i>Lysis Solution</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NFW	<i>Nuclear Free Water</i>
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCIAA	<i>Phenol Clorofoam</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
Rf	<i>Retardaction Factor</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
SDS PAGE	<i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
SOC	<i>Super Optimal broth with Catabolite repression</i>
TE	Tris-EDTA
TEMED	<i>Tetrametiletendiamin</i>
TSS	<i>Transformation and Storage Solution</i>
UV	<i>Ultra Violet</i>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Ringkasan berdasarkan urutan genom dari <i>E. cloacae</i>	7
Tabel 4.1 Hasil analisis blastn DNA gen kitinase rekombinan LCK 20	23
Tabel 4.2 Hasil analisis blastx asam amino kitinase LCK20	24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Proses kloning gen	9
Gambar 2.2 Peta vektor ekspresi plasmid pET28a	10
Gambar 4.1 Koloni hasil <i>E. coli</i> DH5 α rekombinan isolat LCK 20 dalam medium LB agar yang telah diberi kanamisin	21
Gambar 4.2 PCR koloni kitinase rekombinan	21
Gambar 4.3 Visualisasi gen target	23
Gambar 4.4 <i>Aligment</i> kitinase rekombinan dengan <i>E. cloacae</i> strain CAV1669	25
Gambar 4.5 Deduksi dari gen kitinase rekombinan menjadi asam amoni	26
Gambar 4.6 Ekspresi gen dengan analisis SDS-PAGE.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Aktivitas kitinase LCK 20	38
Lampiran 2. Analisis blastn DNA gen kitinase rekombinan LCK 20	38
Lampiran 3. Analisis blastx asam amino kitinase LCK 20	39
Lampiran 4 . Perhitungan BM protein rekombinan LCK 20	40
Lampiran 5. Peta plasmid pET28a.....	41
Lampiran 6. Peta ilustrasi plasmid rekombinan hasil transformasi dari ligasi pET28a dengan gen target	41
Lampiran 7. Pergeseran <i>frame</i> basa nitrogen LCK 20	42