

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3. Manfaat Penelitian.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Flavin Mononukleotida (FMN)-Dependen Monooksigenase.....	3
2.2 Oksidasi Baeyer-Villiger.....	5
2.3 <i>Luciferase-Like</i> Monooksigenase (LLM)	7
2.4 Bakteri <i>Priestia megaterium</i>	7
2.5 Hipotesis.....	8
III. METODE PENELITIAN.....	9
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	9
3.2 Alat dan Bahan.....	9
3.3 Cara Kerja Penelitian.....	10
3.3.1 Isolasi ORF LLM <i>Luc1</i>	10
3.3.2 <i>Sequencing</i> ORF LLM <i>Luc1</i>	11
3.3.3 Kloning ORF LLM <i>Luc1</i> ke Plasmid Vektor pET28a(+)......	12
3.3.3.1 Pemotongan ORF LLM <i>Luc1</i> dan vektor pET28a dengan enzim restriksi.....	12

3.3.3.2	Pemurnian gel hasil digest ORF LLM <i>Luc1</i> dan vektor pET28a dengan enzim restriksi.....	13
3.3.3.3	Ligasi ORF LLM <i>Luc1</i> dan vektor pET28a(+)......	13
3.3.3.4	Pembuatan Sel Kompeten.....	14
3.3.3.5	Transformasi.....	14
3.3.3.6	Seleksi Transforman dengan PCR Koloni.....	15
3.3.3.7	Isolasi Plasmid Rekombinan.....	16
3.3.3.8	Konfirmasi Plasmid Rekombinan dengan <i>Double Digest</i>	16
3.3.4	<i>Sequencing</i> Plasmid Rekombinan.....	16
3.3.5	Ekspresi LLM <i>Luc1</i>	17
3.3.5.1	Induksi IPTG.....	17
3.3.5.2	SDS-PAGE.....	17
3.4	Bagan Alir Penelitian.....	18
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1	Isolasi <i>Open Reading Frame</i> (ORF) LLM <i>Luc1</i> genom <i>Priestia megaterium</i> PSA14.....	20
4.2	Kloning <i>Open Reading Frame</i> (ORF) LLM <i>Luc1</i> <i>Priestia megaterium</i> PSA14.....	19
4.3	Ekspresi LLM <i>Luc1</i>	25
V.	KESIMPULAN.....	27
5.1	Kesimpulan.....	27
5.6	Saran.....	27
	DAFTAR PUSTAKA	28
	LAMPIRAN.....	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Kelompok Flavin-dependen monooksigenase..... 4
Tabel 2.2	Kelompok Baeyer-Villiger monooksigenase..... 7
Tabel 3.1	Komponen PCR <i>mix</i> untuk amplifikasi ORF LLM <i>Luc1</i> 11
Tabel 3.2	Siklus PCR untuk amplifikasi ORF LLM <i>Luc1</i> 11
Tabel 3.3	Komponen <i>digest mix</i> untuk pemotongan DNA target dan plasmid vektor..... 12
Tabel 3.4	Komposisi <i>ligation mix</i> untuk ligasi DNA target dan plasmid vektor..... 13
Tabel 3.5	Komponen PCR <i>mix</i> untuk amplifikasi PCR koloni..... 15
Tabel 4.1	Hasil BLAST-X plasmid rekombinan LLM <i>Luc1</i> dan pET28a(+).. 24

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Mekanisme reaksi oksigenasi yang dikatalisis oleh FMN-dependen monooksigenase.....	4
Gambar 2.2 Mekanisme reaksi oksigenasi Baeyer-Villiger.....	6
Gambar 3.1 Bagan Alir Penelitian.....	18
Gambar 4.1 Visualisasi amplikon <i>open reading frame</i> LLM <i>Luc1 Priestia megaterium</i> PSA14.....	19
Gambar 4.2 Visualisasi hasil <i>double digest</i> plasmid vektor pET28a(+) dan DNA <i>insert</i> LLM <i>Luc1</i>	20
Gambar 4.3 Visualisasi hasil PCR koloni.....	22
Gambar 4.4 Visualisasi hasil pemotongan ganda plasmid rekombinan pET28a(+)- <i>Luc1</i>	23
Gambar 4.5 Identifikasi sisi restriksi <i>NcoI</i> dan <i>EcoRI</i> pada plasmid rekombinan.....	24
Gambar 4.6 Analisis ekspresi rekombinan <i>Luc1</i> pada 12% SDS-PAGE).....	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Prosedur pembuatan medium LB..... 29
Lampiran 2	Sekuens ORF LLM <i>Luc1</i> dari bakteri <i>Priestia megaterium</i> PSA14..... 29
Lampiran 3	Sekuens DNA rekombinan LLM <i>Luc1</i> dalam vektor pET28a(+). 30
Lampiran 4	Dokumentasi koloni hasil transformasi DNA rekombinan..... 30
Lampiran 5	Prosedur pembuatan <i>resolving gel</i> dan <i>stacking gel</i> untuk analisis SDS-PAGE..... 31
Lampiran 6	Perhitungan berat molekul dari ekspresi gen LLM <i>Luc1</i> pada SDS-PAGE..... 31
Lampiran 7	Peta vektor plasmid pET28a(+). 32