

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Luar	i
Sampul Dalam	ii
Halaman Prasyarat Gelar	iii
Halaman Pengesahan	iv
UCAPAN TERIMAKASIH	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat penelitian	5
1.4.1. Manfaat keilmuan	5
1.4.2. Manfaat praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Xilan dan Enzim Xilanolitik	6
2.2. Glikosida Hidrolase	7
2.3. β -xilosidase	9
2.4. Parameter kinetika	11
2.5. Pemurnian enzim dengan tehnik kromatografi	17
2.5.1. Kromatografi filtrasi gel	17
2.5.2. Kromatografi penukar ion	18
2.5.3. Kromatografi afinitas	20
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	21
3.1. Kerangka Konseptual	21
3.2. Hipotesis Penelitian	23
3.3. Skema Kerangka Konseptual Penelitian	24
BAB IV METODE PENELITIAN	25
4.1. Bahan dan alat penelitian	25
4.1.1. Galur bakteri	25
4.1.2. Bahan penelitian	25
4.1.3. Alat penelitian	25
4.2. Tempat dan waktu penelitian	26
4.3. Kerangka operasional penelitian	26
4.3.1. Pengaruh IPTG terhadap tingkat ekspresi	26
4.3.2. Pemurnian GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	27
4.3.3. Karakterisasi GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	29

4.4. Prosedur penelitian.....	29
4.4.1. Persiapan penelitian	29
A. Pembuatan media LB padat untuk peremajaan.....	29
isolat GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	
B. Pembuatan media LB cair untuk proses inokulasi.....	29
C. Pembuatan media produksi	30
D. Pembuatan larutan buffer untuk pemurnian.....	30
enzim GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	
E. Pembuatan buffer fosfat untuk penentuan.....	30
aktivitas GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	
F. Pembuatan larutan pNPX untuk penentuan.....	31
karakterisasi enzim GbtXyl43A tipe alami	
dan varian D121N	
G. Pembuatan HCL 6N.....	31
H. Pembuatan NaOH 10 M.....	31
I. Pembuatan akrilamid/bisakrilamid.....	31
J. Pembuatan buffer tris HCl 1,5 M pH 8,8.....	31
K. Pembuatan buffer tris HCl 1,5 M pH 6,8.....	31
L. Pembuatan larutan SDS 10%	32
M. Pembuatan larutan APS 20%.....	32
N. Pembuatan <i>sampel buffer</i>	32
O. Pembuatan <i>running buffer</i>	32
P. Pembuatan <i>separating gel</i>	32
Q. Pembuatan <i>stacking gel</i>	33
R. Pembuatan larutan <i>staining</i>	33
S. Pembuatan larutan <i>destaining</i>	33
T. Pembuatan larutan Na ₂ CO ₃	33
U. Pembuatan reagen Bradford.....	33
V. Pembuatan larutan standar albumin	34
W. Pembuatan larutan standar <i>p</i> -nitrofenol	34
4.4.2. Pengaruh IPTG terhadap tingkat ekspresi.....	34
GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N	
4.4.3. Produksi dan isolasi GbtXyl43A tipe alami.....	35
dan varian D121N	
4.4.4. Pemurnian GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N.....	35
4.4.5. Penentuan kadar protein GbtXYI43A tipe	36
alami dan varian D121N	
4.4.6. Pengujian aktivitas GbtXyl43A tipe alami	37
dan varian D121N pada pH dan suhu optimum	
4.4.7. Penentuan parameter kinetika enzim	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
5.1. Produksi enzim GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N.....	38
5.2. Pemurnian Enzim GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N.....	40
5.2.1. Pemurnian Enzim GbtXyl43A tipe alami dengan	
kromatografi afinitas	41
5.2.2. Pemurnian enzim GbtXyl43A varian D121N	43

	dengan kromatografi afinitas dan kromatografi penukar ion	
5.3.	Uji aktivitas GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N.....	45
	terhadap substrat <i>p</i> NPX	
5.4.	Analisis profil kinetika GbtXyl43A tipe alami	47
	dan varian D121N	
BAB VI	KESIMPULAN DAN SARAN	54
6.1.	Kesimpulan.....	54
6.2.	Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	59



DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
Tabel 5.1.	Aktivitas GbtXyl43A varian D121N dengan optimasi konsentrasi IPTG	38
Tabel 5.2.	Pemurnian rotein GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N.....	46



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1.	Struktur xilan dan lokasi pemutusan rantai xilan oleh enzim xilanolitik (Dood <i>et al.</i> , 2011)	7
Gambar 2.2	Mekanisme katalisis inversi pada kelompok GH43 (Yuan <i>et al.</i> , 2012)	8
Gambar 2.3	Perubahan konsentrasi substrat (A), produk (P), enzim bebas (E), enzim substrat yang kompleks (ES), dan jumlah enzim (Et) dari waktu ke waktu (Rogers and Gibon, 2009)	12
Gambar 2.4	Penentuan V_0 pada berbagai variasi konsentrasi substrat (Berg, 2012)	13
Gambar 2.5	Plot Lineweaver-Burk (nelson and Cox, 2007)	16
Gambar 2.6	Kromatografi filtasi gel (Berg, 2012)	18
Gambar 2.7	Matriks penukar kation dan anion (Berg, 2012)	19
Gambar 2.8	Kromatografi penukar ion (Berg, 2012)	19
Gambar 2.9	Kromatografi afinitas (Berg, 2012)	20
Gambar 5.1	Elektroforegram enzim GbtXyl43A varian D121N untuk optimasi IPTG	39
Gambar 5.2	Interaksi antara protein His-Tag dengan resin Ni-NTA (Magdeldin and Moser, 2012)	41
Gambar 5.3	Struktur senyawa imidazole dan histidin (Chawla <i>et al.</i> , 2012)	41
Gambar 5.4	Elektroforegram enzim GbtXyl43A tipe alami	42
Gambar 5.5	Elektroforegram enzim GbtXyl43A varian D121N	45
Gambar 5.6	Reaksi hidrolisis <i>p</i> -nitrofenol- β -D-xilopiranosida oleh β -xilosidase	46
Gambar 5.7	Kurva hubungan waktu inkubasi pada berbagai konsentrasi substrat dengan konsentrasi <i>p</i> -nitrofenol pada GbtXyl43A tipe alami	49
Gambar 5.8	Kurva Lineweaver Burk untuk kinetika GbtXyl43A tipe alami	50
Gambar 5.9	Kurva hubungan waktu inkubasi pada berbagai konsentrasi substrat dengan konsentrasi <i>p</i> -nitrofenol pada GbtXY143A varian D121N	51
Gambar 5.10	Kurva Lineweaver Burk untuk kinetika GbtXyl43A varian D121N	52

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran
Lampiran 1.	Kurva standar <i>p</i> -nitrofenol
Lampiran 2.	Kurva standar protein
Lampiran 3.	Data aktivitas GbtXyl43A varian D121N untuk optimasi IPTG
Lampiran 4.	Data penentuan kadar protein dan aktivitas spesifik enzim GbtXyl43A varian D121N untuk optimasi IPTG
Lampiran 5.	Data aktivitas GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N sebelum dan sesudah pemurnian
Lampiran 6.	Data penentuan kadar protein enzim GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N
Lampiran 7.	Data aktivitas, kadar protein, aktivitas spesifik GbtXyl43A tipe alami dan varian D121N sebelum dan sesudah pemurnian
Lampiran 8.	Grafik hubungan konsentrasi <i>p</i> -nitrofenol dengan waktu inkubasi GbtXyl43A tipe alami
Lampiran 9.	Penentuan nilai K_M , V_{max} , k_{cat} dan k_{cat}/K_M GbtXyl43A tipe alami
Lampiran 10.	Grafik hubungan konsentrasi <i>p</i> -nitrofenol dengan waktu inkubasi GbtXyl43A varian D121N
Lampiran 11.	Penentuan nilai K_M dan V_{max} GbtXyl43A varian D121N

DAFTAR SINGKATAN

IPTG	: Isopropyl- β -D-thiogalactoside
OD	: <i>Optical density</i>
LB	: Luria Britani
pNPX	: para-nitrofenil- β -D-xilopiranosida
pNP	: para-nitrofenol
SDS	: <i>Sodium Dedocyl sulphate</i>
PAGE	: Poliakrilamida gel elektroforesis
TEMED	: N,N,N'N'- <i>Tetramethylen-etiline-diamine</i>
rpm	: <i>rotation per minutes</i>
kDa	: kiloDalton
GH	: Glikosida Hidrolase
GbtXyl43A	: <i>Geobacillus thermoleovorans</i> IT-08 xilosidase 43
GbtXyl43A varian D121N	: <i>Geobacillus thermoleovorans</i> IT-08 hasil mutasi Asp menjadi Asn
CM	: <i>Catalytic Module</i>