

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Luar	i
Sampul Dalam	ii
Halaman Prasyarat gelar	iii
Halaman Pengesahan	iv
Ucapan terimakasih	v
Abstrak	vii
<i>Abstract</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Keilmuan.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Membran Amnion	5
2.2 <i>Secretory Leukocyte Protease Inhibitor</i> (SLPI).....	6
2.3 Inhibisi Enzim	7
2.3.1 Inhibisi Kompetitif	8
2.3.2 Inhibisi Non-Kompetitif	9
2.3.3 Inhibisi Unkompetitif	9
2.4 Inhibitor Serine Protease	10
2.4.1 Sifat Inhibisi dari <i>Secretory Leukocyte Protease Inhibitor</i>	11
2.5 Kloning Gen	12
2.6 Vektor Plasmid pET-30a.....	16
2.7 Tag Polihistidin	18
2.8 Ekspresi Gen	18
2.8.1 Regulasi Ekspresi Pada Prokariot	19
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	22
3.1 Kerangka konseptual penelitian	22
3.2 Hipotesis.....	24
BAB IV METODE PENELITIAN	26
4.1 Desain Penelitian	26

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
4.3 Sampel, Bahan dan Alat Penelitian	26
4.3.1 Sampel Penelitian.....	26
4.3.2 Bahan Penelitian	26
4.3.3 Alat Penelitian.....	27
4.4 Prosedur Penelitian	28
4.4.1 Isolasi DNA Plasmid pET-ESLPI dan pET-30a	28
4.4.1.1 Analisis DNA plasmid dengan Elektroforesis	28
4.4.2 Desain Konstruksi	29
4.4.3 Amplifikasi Gen Penyandi SLPI (NSLPI, CSLPI dan PSLPI) dengan PCR.....	29
4.4.4 Purifikasi Amplikon PCR	30
4.4.5 Restriksi Amplikon PCR dan pET30a	30
4.4.6 Kloning Gen Penyandi SLPI (NSLPI, CSLPI dan PSLPI).....	31
4.4.6.1 Ligasi Gen Penyandi SLPI dengan pET-30a	31
4.4.6.2 Transformasi Plasmid Rekombinan ke dalam <i>E.coli</i> TOP10	31
4.4.7 Analisis DNA Plasmid Rekombinan (pET-NSLPI, pET-CSLPI dan pET-PSLPI)	32
4.4.7.1 Isolasi Plasmid Rekombinan dari <i>E. coli</i> TOP10.....	32
4.4.7.2 Analisis Restriksi Plasmid Rekombinan	32
4.4.7.3 Sekuensing Plasmid Rekombinan.....	33
4.4.8 Transformasi Plasmid Rekombinan ke dalam <i>E.coli</i> BL21	33
4.4.9 Produksi Plasmid Rekombinan dari <i>E.coli</i> BL21	33
4.4.9.1 Analisis Protein Rekombinan dengan SDS-PAGE.....	34
4.4.9.2 Uji Aktivitas Inhibisi SLPI Terhadap Aktivitas Enzim <i>Porcine Pancreatic Elastase</i> (PPE)	34
4.5 Diagram Alir Penelitian	35
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	36
5.1 Isolasi DNA Plasmid pET-ESLPI dan pET30a.....	36
5.2 Desain Konstruksi	37
5.3 Amplifikasi Gen Penyandi SLPI (NSLPI, CSLPI dan PSLPI) dengan PCR	43
5.4 Purifikasi Amplikon PCR	45
5.5 Restriksi pET30a dan Amplikon PCR	46
5.6 Kloning Gen Penyandi SLPI (SLPI-N, SLPI-C, SLPI-P).....	47
5.6.1 Ligasi Gen Penyandi SLPI dengan pET-30a	47
5.6.2 Transformasi Plasmid Rekombinan ke dalam <i>E.coli</i> TOP10 ...	48
5.7 Analisis DNA Plasmid Rekombinan (pET-NSLPI, pET-CSLPI dan pET-PSLPI).....	50
5.7.1 Isolasi Plasmid Rekombinan dari <i>E. coli</i> TOP10.....	50
5.7.2 Analisis Restriksi Plasmid Rekombinan	51
5.7.3 Sekuensing Plasmid Rekombinan	51

5.8 Transformasi Plasmid Rekombinan ke dalam <i>E.coli</i> BL21	55
5.9 Analisis Aktivitas Inhibisi Plasmid Rekombinan Terhadap Aktivitas Enzim <i>Porcine Pancreatic Elastase</i> (PPE)	58
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	71



DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
Tabel 5.1.	Pengukuran Absorbansi Aktivitas Inhibisi SLPI Terhadap PPE	61
Tabel 5.2.	Nilai Persentase Inhibisi dari pET-NSLPI, pET-NSLPI, pET- PSLPI	62



DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1.	Struktur Membran Amnion (Fairbairn <i>et al.</i> , 2014).....	6
Gambar 2.2.	Ekson dan Intron pada Gen Penyandi SLPI (Munadzirah, 2008)	7
Gambar 2.3.	Inhibisi Kompetitif (Palmer, 1995)	8
Gambar 2.4.	Inhibisi Non Kompetitif (Palmer, 1995)	9
Gambar 2.5.	Inhibisi Unkompetitif (Palmer, 1995)	10
Gambar 2.6.	Struktur 3D Protein SLPI (Grutter <i>et al.</i> , 1988).....	12
Gambar 2.7.	Siklus PCR (Brown,2010).....	15
Gambar 2.8.	Peta Plasmid pET30a (novagen)	17
Gambar 2.9.	Struktur laktosa, alolaktosa dan IPTG (Purnamasi, 2011)....	19
Gambar 2.10.	Gambaran skematis mekanisme induksi IPTG pada operon Laktosa (Hardin, 2012).....	20
Gambar 5.1	Hasil Elektroforesis DNA plasmid.....	37
Gambar 5.2	Peta plasmid pET-30a.....	38
Gambar 5.3	Desain konstruksi pET-NSLPI.....	40
Gambar 5.4	Desain konstruksi pET-CSLPI.....	41
Gambar 5.5	Desain konstruksi pET-PSLPI.....	43
Gambar 5.6	Hasil Analisis Elektroforesis Amplikon PCR.....	45
Gambar 5.7	Hasil Analisis Elektroforesis DNA purifikasi.....	46
Gambar 5.8	Sisi Pematangan Enzim Restriksi <i>E.coRI</i> , <i>E.coRI</i> , <i>XhoI</i>	47
Gambar 5.9.	Hasil transformasi di <i>E. coli</i> TOP10.....	49
Gambar 5.10.	Hasil Analisis Elektroforesis plasmid Rekombinan.....	50
Gambar 5.11.	Hasil Analisis Elektroforesis plasmid rekombinan yang direstriksi menggunakan <i>XhoI</i>	51
Gambar 5.12	Aligment sekuensing pET-NSLPI.....	52
Gambar 5.13	Aligment sekuensing pET-CSLPI.....	53
Gambar 5.14	Aligment sekuensing pET-PSLPI.....	54
Gambar 5.15.	Hasil transformasi di <i>E. coli</i> BL21.....	55
Gambar 5.16	Analisis SDS PAGE SLPI rekombinan.....	58
Gambar 5.17	Gambaran skematis rantai polipeptida 1//2SLPI (Koizumi <i>et al.</i> , 2007).....	59
Gambar 5.18.	Reaksi terbentuknya ρ -nitroanilin dari aktivitas enzim PPE terhadap substrat N-suc-Ala-Ala-Pro-Phe- ρ -nitroanilide (Purnamasi, 2011).....	60
Gambar 5.19	Kurva Regresi aktivitas Enzim PPE terhadap waktu.....	62

DAFTAR SINGKATAN

DNA	: Deoxyribo Nucleic Acid
dNTP	: Deoksiribonukleotida
EtBr	: Etidium Bromide
Histag	: Histidin Tag
IPTG	: isopropyl- β -D-thiogalactopyranosidase
LB	: Luria Bertani
PPE	: <i>Porcine Pancreatic Elastase</i>
RPM	: Rotation per minute
SLPI	: <i>Secretory Leukocyte Protease Inhibitor</i>
TAE	: Tris base-Asam Asetat-EDTA
Tm	: Melting Temperature
PCR	: Polimeration Chain Reaction
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Elektroforesis
CSLPI	: Gen SLPI yang memiliki histag di C-terminal
NSLPI	: Gen SLPI yang memiliki histag di N-terminal
PSLPI	: Gen SLPI yang memiliki histag di P-terminal
pET-CSLPI	: Plasmid rekombinan dari pET30a yang sudah terinsersi oleh gen penyandi CSLPI
pET-NSLPI	: Plasmid rekombinan dari pET30a yang sudah terinsersi oleh gen penyandi NSLPI
pET-PSLPI	: Plasmid rekombinan dari pET30a yang sudah terinsersi oleh gen penyandi PSLPI

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul Lampiran
Lampiran 1.	Pembuatan Media
Lampiran 2.	Pembuatan Sel Kompeten
Lampiran 3.	Sekuens pET-NSLPI, pET-CSLPI dan pET-PSLPI
Lampiran 4.	Data Absorbansi Uji Kemampuan Inhibisi SLPI Terhadap Enzim PPE
Lampiran 5.	Perhitungan Persentase Inhibisi

