

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
Halaman Panitia Ujian Tertutup Naskah Disertasi	iii
DAFTAR ISI	iv
PRAKATA	viii
UCAPAN TERIMA KASIH	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
Lembar Renungan	xx
BAB I PENGANTAR	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kajian tentang Biofilm <i>Candida</i>	7
2.2 <i>Digestive Gland Achatina fulica</i> sebagai Reservoir Enzim Glikosida Hidrolase.....	8
2.2.1 Cairan <i>Digestive Gland Achatina fulica</i> dan Manfaatnya.....	8
2.2.2 Enzim Glikosida Hidrolase dari Cairan <i>Digestive Gland</i> <i>Achatina fulica</i>	10
2.2.3 Klasifikasi Glikosida Hidrolase.....	12

2.3 Pustaka Metagenomik.....	16
2.3.1 Eksplorasi Gen Menggunakan Pendekatan Pustaka Metagenomik cDNA.....	16
2.3.2 Sintesis cDNA dengan <i>Reverse Transkriptase Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR).....	19
2.3.3 Phage λ sebagai Vektor cDNA Library Ekspresion.....	21
2.3.4 Digesti cDNA dengan Endonuklease Restriksi.....	23
2.3.5 Ligasi cDNA Target pada Vektor.....	24
2.3.6 Transduksi pada <i>E. coli</i> XL 1-Blue.....	25
2.3.7 Konfirmasi Hasil Transduksi yang Membawa cDNA Sisipan..	26
2.3.8 Komposisi Pustaka Metagenomik cDNA.....	27
2.3.9 Sekuensing DNA Target.....	28
2.3.10 Karakterisasi Protein Rekombinan.....	30
2.4 Analisa Molekul Protein Secara <i>In Silico</i>	33
BAB III HIPOTESIS DAN KONSEP ILMIAH.....	37
3.1 Hipotesis Penelitian.....	37
3.2 Kerangka Konsep Ilmiah.....	37
3.3 Bagan Kerangka Konsep.....	39
3.4 Bagan Kerangka Operasional.....	40
BAB IV METODE PENELITIAN.....	41
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	41
4.2 Sampel Penelitian.....	41
4.3 Lokasi Penelitian.....	41
4.4 Etik Penelitian.....	41
4.5 Bahan Penelitian.....	42
4.5.1 Bahan Isolasi RNA.....	42
4.5.2 Sintesis <i>Sintesis</i> cDNA Untai Pertama dan cDNA Untai Kedua.....	42
4.5.3 Amplifikasi cDNA.....	42
4.5.4 Digesti Proteinase K.....	42

4.5.5 Digesti <i>SfiI</i>	42
4.5.6 Fraksinasi Ukuran cDNA.....	43
4.5.7 Purifikasi cDNA.....	43
4.5.8 Ligasi Vektor.....	43
4.5.9 <i>Plating</i> dan Kultur <i>E.coli</i>	43
4.5.10 Transduksi dan Titering λ phage pada <i>E. coli</i>	43
4.6 Cara Kerja.....	43
4.6.1 Isolasi mRNA.....	43
4.6.2 Sintesis cDNA.....	45
4.6.3 Konstruksi Pustaka cDNA.....	48
4.6.4 Penapisan <i>E. coli</i> Rekombinan Berdasarkan Aktivitas 1,3- β - glukanase.....	51
4.6.5 Sekensing dan Ekspresi Klon Rekombinan dalam <i>E. coli</i>	52
4.6.6 Penentuan Aktivitas β -glukanase.....	56
4.6.7 Karakterisasi Protein Rekombinan.....	57
4.6.8 Penentuan Sensitifitas Protein secara <i>In Silico</i>	58
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	59
5.1 Strategi Metagenomik untuk Mendapatkan Gen Novel 1,3- β - Glukanase.....	59
5.2 Isolasi RNA dari <i>Digestif Gland Achatina fulica</i>	62
5.3 Sintesis cDNA.....	66
5.3.1 Sintesis cDNA dengan RT-PCR.....	66
5.3.2 Analisis Hasil Retriksi cDNA dengan <i>SfiI</i>	68
5.3.3 Analisis Hasil Fraksinasi cDNA.....	69
5.4 Konstruksi Pustaka Ekspresi Metagenomik cDNA <i>Digestive Gland</i> <i>Achatina fulica</i>	71
5.4.1 Analisis hasil ligasi cDNA <i>digestive gland Achatina fulica</i> terhadap vektor lambda.....	71
5.4.2 Titering Pustaka Metagenomik.....	72
5.5 Penapisan Plak Rekombinan dengan Aktivitas 1,3- β -Glukanase.....	74
5.6 Sekuensing dan Analisis Gen 1,3- β -Glukanase.....	77

5.7 Analisis Filogenetik Gen 1,3- β -Glukanase.....	82
5.8 Uji Ekspresi Protein MKAFGlu1 pada Inang <i>E.coli</i>	84
5.9 Penentuan Berat Molekul 1,3- β -Glukanase Rekombinan.....	87
5.10 Karakterisasi 1,3- β -Glukanase Rekombinan MKAFGlu1.....	88
5.11 Analisis <i>in silico</i> MKAFGlu1.....	91
5.11.1 <i>Molecular modeling</i> MKAFGlu1 dengan <i>Homology</i> <i>Modeling</i>	92
5.11.2 <i>Molecular docking</i> MKAFGlu1.....	97
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	104
6.1 Kesimpulan.....	104
6.2 Saran.....	105
DAFTAR PUSTAKA	106