

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 β -1,3-glukanase	4
2.2 Kloning Gen	5
2.2.1 Penyisipan DNA ke dalam Vektor.....	6
2.2.2 Transformasi	6
2.2.3 Seleksi Hasil Transformasi	7
2.3 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	8
2.4 <i>Pichia pastoris</i>	10
2.4.1 Sistem Ekspresi di <i>Pichia pastoris</i>	12
2.4.2 Galur <i>Pichia pastoris</i> sebagai Sel Inang.....	13
2.4.3 Vektor Ekspresi pPICZ α A (Higgins and Hames, 1999).....	14
2.4.4 Rekombinasi dan Integrasi pada <i>Picihia pastoris</i>	15
2.5 Elektroforesis.....	16

BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	18
3.2. Bahan dan Sampel Penelitian	18
3.2.1. Gen <i>MKAFGluI</i>	18
3.2.2. Bahan Penelitian	18
3.3. Peralatan	18
3.4. Diagram Alir.....	19
3.5. Prosedur Kerja.....	20
3.5.1 Kultivasi <i>E. coli</i> BM 25.8 Rekombinan (pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i>).....	20
3.5.2 Isolasi Plasmid pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i> dari <i>E. coli</i> BM 25.8 Rekombinan (pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i>)	20
3.5.3 Subklon Gen <i>MKAFGluI</i> dari pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i>	21
3.5.4 Isolasi Plasmid Rekombinan pPICZ α A- <i>MKAFGluI</i>	22
3.5.5 Verifikasi Hasil Isolasi Plasmid Rekombinan pPICZ α A- <i>MKAFGluI</i> .	23
3.5.6 Transformasi ke <i>P. pastoris</i> KM71H.....	23
3.5.7 Ekspresi Gen <i>MKAFGluI</i> dengan Induksi Metanol.....	25
3.5.8 Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim <i>MKAFGluI</i>	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Isolasi Plasmid pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i> dari <i>E. coli</i> BM 25.8.....	26
4.2 Isolasi dan Amplifikasi Gen <i>MKAFGluI</i> dari pTriplEx2- <i>MKAFGluI</i>	28
4.3 Restriksi Gen <i>MKAFGluI</i>	31
4.4 Restriksi Plasmid pPICZ α A	33
4.6 Ligasi Gen <i>MKAFGluI</i> dengan Plasmid pPICZ α A	34
4.7 Transformasi Hasil Ligasi ke dalam <i>E. coli</i> TOP10.....	34
4.8 Isolasi Plasmid Rekombinan pPICZ α A- <i>MKAFGluI</i>	37
4.9 Verifikasi Hasil isolasi Plasmid Rekombinan pPICZ α A- <i>MKAFGluI</i>	38
4.10 Transformasi pPICZ α A- <i>MKAFGluI</i> ke dalam <i>P. pastoris</i> KM71H.....	40
4.11 Ekspresi gen <i>MKAFGluI</i> di <i>P. pastoris</i> KM71H.....	42
4.12 Uji Aktivitas Enzim <i>MKAFGluI</i> dalam Supernatan Biakan Cair	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46

DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	