

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	ii
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
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Lignin	7
2.2 <i>Carbohydrate Binding Module</i> Lakase 2 (<i>Chimeric</i> Lakase).....	9
2.3 Plasmid pYHM1	14
2.4 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824.....	15
2.5 Transformasi dengan Metode <i>Lithium Acetate</i>	19

BAB III.....	22
METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.2 Bahan dan Peralatan Penelitian.....	22
3.2.1 Sampel Penelitian.....	22
3.2.2 Bahan Penelitian.....	22
3.2.3 Alat Penelitian.....	23
3.3 Diagram Alir.....	24
3.4 Prosedur Penelitian.....	25
3.4.1 Pembuatan Media dan Reagensia.....	25
3.4.1.1 Pembuatan Media LB (Luberia Bertani) Padat.....	25
3.4.1.2 Pembuatan Media YPD (<i>Yeast Extract-Peptone Dextrose</i>) Padat....	26
3.4.1.3 Media YNBD-U (<i>Yeast Nitrogen Base Dextrose</i> tanpa Urasil) Padat	26
3.4.1.4 Pembuatan Larutan Ampisilin 100 mg/mL.....	26
3.4.1.5 Pembuatan Larutan buffer TAE (Tris Asetat EDTA) 1x.....	26
3.4.1.6 Pembuatan Larutan SDS (<i>Sodium Dodecyl Sulfat</i>) 1%.....	27
3.4.1.7 Pembuatan Larutan Buffer Tris-HCl 1,5 M pH 8.8 dan 1 M pH 6,8	27
3.4.1.8 Pembuatan Larutan Buffer PBS.....	27
3.4.1.9 Pembuatan Larutan EDTA (Etilemn Diamin Tetra Asetat) 10 mM pH 8.....	27
3.4.1.10 Pembuatan Larutan PEG (Poli Etilen Glikol) 400 50%.....	28
3.4.1.11 Pembuatan Larutan LiAc 1 M dan 0,1 M.....	28
3.4.1.12 Pembuatan Agar.....	28
3.4.1.13 Pembuatan Larutan <i>Staining</i>	28
3.4.1.14 Pembuatan Larutan Destaining.....	29
3.4.2 Peremajaan Isolat.....	29
3.4.2.1 Peremajaan Isolat <i>Escherchia coli</i> TOP10 yang mengandung gen <i>cbm-lcc2</i> di Media LBA.....	29

3.4.2.2 Peremajaan Isolat <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824 di Media YPD	29
3.4.3 PCR (Polymerase Chain Reaction) gen pYHM1- <i>cbm-lcc2</i> pada koloni <i>Escherchia coli</i> TOP10.....	29
3.4.4 Elektroforesis	30
3.4.5 Isolasi DNA Plasmid pYHM1-(<i>cbm-lcc2</i>).....	30
3.4.6 Restriksi DNA Plasmid secara <i>Single Digest</i>	31
3.4.7 Transformasi gen pYHM1-(<i>cbm-lcc2</i>) pada sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824 dengan metode <i>Lithium Acetate</i>	32
3.4.8 Ekspresi Gen <i>cbm-lcc2</i> pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824.....	33
3.4.9 SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecyl Sulfate PolyAcrylamide Gel Electrophoresis</i>).....	34
BAB IV	36
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
4.1 Identifikasi gen <i>cbm-lcc2</i> pada plasmid pYHM1 dengan Metode PCR	36
4.2 Isolasi DNA Plasmid.....	40
4.3 Restriksi DNA Plasmid	44
4.4 Transformasi gen <i>cbm-lcc2</i> pada <i>Saccharomyce cerevisiae</i> BJ1824	45
4.5 Ekspresi gen <i>cbm-lcc2</i> pada <i>Saccharomyce cerevisiae</i> BJ1824	49
BAB V.....	53
PENUTUP.....	53
5.1 KESIMPULAN.....	53
5.2 SARAN	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Efek Kation pada Proses Transformasi	20
Tabel 4.1 Urutan primer F dan R	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema dinding sel tumbuhan beserta satuan penyusun lignin	7
Gambar 2.2 Struktur lignin beserta ikatan yang terbentuk	8
Gambar 2.3 Skema representatif pusat Cu pada lakase	10
Gambar 2.4 Peta Vektor Plasmid pYHM1	15
Gambar 3.1 Peta Vektor DNA Plasmid rekombinan pYHM1- <i>cbm lcc2</i>	25
Gambar 4.1 Isolat <i>E. coli</i> TOP10	36
Gambar 4.2 Isolat <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824	37
Gambar 4.3 Kondisi PCR Koloni	38
Gambar 4.4 Gambar Elektroforegram produk PCR Koloni	40
Gambar 4.5 Gambar Gel Agarose dan Posisi Pita Open Circular, Linier, dan Supercoil	43
Gambar 4.6 Elektroforegram Hasil Isolasi Plasmid	43
Gambar 4.7 Elektroforegram Hasil Restriksi secara Single Digest dengan Menggunakan Enzim Restriksi EcoR1 (8012 pb)	45
Gambar 4.8 Peta Plasmid pYHM1	47
Gambar 4.9 Hasil Transformasi <i>cbm-lcc2</i> pada <i>Saccharomyces cerevisiae</i> BJ1824	48
Gambar 4.10 Model Regulasi Transkripsi Promotor GAL1 dalam plasmid pYHM1	50
Gambar 4.11 Hasil SDS-PAGE dari ekspresi pYHM1- <i>cbm-lcc2</i>	51

DAFTAR LAMPIRAN

NO.	LAMPIRAN
1.	Sequence pYHM1
2.	Sequence HM1
3.	Sequence gen <i>cbm-lcc2</i>
4.	Sequence HM1- <i>cbm-lcc2</i>
5.	Ukuran Protein
6.	Perhitungan untuk Pembuatan Larutan Buffer 50x
7.	Perhitungan untuk Pembuatan Larutan Asam Asetat Glasial 0,2 M
8.	Perhitungan untuk Pembuatan Larutan SDS 10%
9.	Perhitungan untuk Pembuatan Larutan LiAc
10.	Perhitungan untuk Pembuatan APS 10%
11.	Perhitungan untuk Pembuatan Acrylamide 30%

DAFTAR SINGKATAN

bp	: <i>Base pair</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumine</i>
BJ1824	: Salah satu jenis strain dari <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Cazy	: Database yang menyimpan semua informasi tentang semua enzim
CBM	: <i>Carbohydrate Binding Module</i>
CBM-GbtXyl43B	: CBM (<i>Carbohydrate binding module</i>) modul non katalitik yang terdapat dalam Enzim β -xilosidase 43 yang diisolasi dari <i>Geobacillus thermoleovorans</i> IT-08
<i>cbm-lcc2</i>	: Gen fusi penyandi <i>cbm</i> dan <i>lcc2</i>
CM	: <i>Catalytic module</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
dNTP	: <i>Deoxynucleoside Triphosphate</i>
<i>E. coli</i> Top10	: Bakteri <i>Escherichia coli</i> strain Top10 yang digunakan sebagai sel inang dalam transformasi
EC	: The Enzyme Commission Number
ECF	: <i>Elementally Chlorine Free</i>
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetat
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorben Assay</i>
GAL1	: Promotor yang menyandi galaktosa
GbtXyl43B	: Enzim β -xilosidase 43 yang mengandung modul katalitik dan modul non katalitik
kb	: <i>kilo base</i>
kD	: <i>kilo Dalton</i>
Lakase/HBT	: Lakase dengan bantuan mediator HBT atau 1-hidroksibenzotriazol
Lakase-CBM/HBT	: Lakase yang difusi dengan CBM dan dengan bantuan 1-hidroksibenzotriazol
LiAc	: <i>Lithium Acetate</i>
LB	: Luria Bertani
LBA	: Luria Bertani Ampisilin
<i>lcc2</i>	: gen penyandi lakase dari <i>Pleurotus salmoneostramineus</i>
MCS	: <i>Multiple cloning site</i>
OD	: <i>Optical density</i>
OM	: <i>Oyster mushroom</i>
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i>
PEG	: Poly Etilen Glikol
pYES2	: Salah satu jenis vektor kloning dan ekspresi

pYHM1	: Vektor sekresi rekombinan dari pYES2 yang difusikan dengan sinyal peptida HM1
pYHM1-Af	: plasmid pYHM1 dengan gen penyandi Abfa
pYHM1-(<i>cbm-lcc2</i>)	: pYHM1 pembawa gen fusi <i>cbm-lcc2</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
RNAase	: Ribonuclease
TCF	: <i>Totally Chlorine Free</i>
YE _p	: <i>Yeast Episomal Plasmid</i>
YNB	: <i>Yeast Nitrogen Base</i>
YNBD-U	: <i>Yeast Nitrogen Base Dextrose without Urasil</i>
YPD	: <i>Yeast Peptone Dextrose</i>