DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN ..... **ii**
PRAKATA ..... **iii**
ABSTRAK ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
DAFTAR ISI ..... **vi**
DAFTAR GAMBAR ..... **viii**
DAFTAR TABEL ..... **ix**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **x**
I. PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan 5
1.4 Manfaat 5
II. TINJAUAN PUSTAKA **7**
2.1 Enzim 7
2.2 Laktat Dehidrogenase 9
2.3 Sistem Ekspresi Protein Rekombinan pada Escherichia coli BL21 (DE3) 11
2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekspresi Protein Rekombinan 13
2.4.1 Suhu 13
2.4.2 IPTG 16
2.4.3 Waktu Pascainduksi 17
2.5 Optimasi Produksi 18
2.5.1 Metode One Factor at a Time (OFAT) 19
2.6 Karakterisasi Protein 20
2.6.1 BCA 20
2.6.2 SDS-PAGE 21
2.7 Uji Aktivitas Enzim LDH 22
2.8 Hipotesis Penelitian 23
III. METODE PENELITIAN **24**
3.1 Waktu dan Tempat 24
3.2 Alat dan Bahan 24
3.2.1 Alat 24
3.2.2 Bahan 24
3.3 Cara Kerja 26
3.3.1 Identifikasi Sekuens Asam Amino D-LDH dan L-LDH 26
3.3.2 Pembuatan Media Kultur 26
3.3.3 Peremajaan Bakteri 27
3.3.4 Pembuatan Starter Culture 28
3.3.5 Pemindahan Kultur ke Media Produksi 28
3.3.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan 28
3.3.7 Optimasi Produksi 29
3.3.8 Panen dan Lisis Sel 31

3.3.9 Pengukuran Konsentrasi Protein (BCA Assay) 31
3.3.10 SDS PAGE 32
3.3.11 Uji Aktivitas Enzim LDH 33
3.3.12 Produksi Asam Laktat 34
3.4 Rancangan Percobaan 35
3.5 Analisis Data 37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 38
4.1 Analisis Sekuens Protein D-LDH dan L-LDH 38
4.2 Optimasi Produksi Enzim D-LDH dan L-LDH 51
4.2. Optimasi Suhu 51
4.2.2Optimasi Konsentrasi IPTG 60
4.2.3Optimasi Waktu Pascainduksi 66
4.3 Produksi Enzim D-LDH dan L-LDH pada Kondisi Optimum 72
4.4 Aktivitas Enzim pada Kondisi Optimum 77
4.5 Produksi Asam Laktat 85
V. PENUTUP 92
5.1 Kesimpulan 92
5.2 Saran 93
DAFTAR PUSTAKA 94
UCAPAN TERIMA KASIH 110
LAMPIRAN 112
DAFTAR RIWAYAT HIDUP 185