

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	7
1.5. Keaslian Penelitian	7
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI.....	8
2.1. Tinjauan Pustaka.....	8
2.1.1. Virus Penyakit Jembrana (VPJ) dan Pencegahannya.....	8
2.1.2. Ekspresi Gen untuk Induksi Imunitas dengan DNA Rekombinan dan Gen tat VPJ.....	11
2.1.3. Terapi Gen.....	13
2.1.4. Nanopartikel PLGA sebagai Agen Penghantar Gen	14
2.1.5. Nanopartikel Kitosan sebagai Agen Penghantaran Gen	17
2.1.6. Karakteristik Nanopartikel sebagai Sistem Penghantaran untuk Ekspresi Gen	18
2.1.7. Optimasi Kodon	19
2.1.8. Plasmid Enhanced Green Fluorescence Protein (pEGFP-C1)	21
2.1.9. Sistem Penghantaran dengan Liposom Kationik dan Nanopartikel Kitosan pada Vaksin DNA.....	22
2.1.10. Metode <i>Complex Coacervatio</i>	24
2.1.11. Karakteristik Nanopartikel Kitosan-DNA.....	24
2.1.12. Sistem Penghantar DNA pada Sel Mamalia	26



2.1.13. Gen Trans-Activator Transcription (<i>tat</i>) VPJ	27
2.1.14. Induksi Imunitas Berbasis DNA	31
2.1.15. Biodistribusi dan Trafficking Nanopartikel	36
2.2. Landasan Teori dan Hipotesis.....	38
2.2.1. Landasan Teori	38
2.2.2. Hipotesis Penelitian	39
BAB III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	41
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	41
3.2. Materi Penelitian.....	41
3.3. Rancangan Penelitian.....	43
3.4. Definisi Operasional	44
3.5. Metode Penelitian	46
3.5.1. Implementasi konsensus untuk protein <i>tat1</i> VPJ dan optimasi Kodon	46
3.5.2. Transformasi Plasmid DNA Rekombinan	47
3.5.3. Isolasi DNA Rekombinan dan evaluasinya.....	49
3.5.4. Persiapan PLGA-pEGFP-C1- <i>tat</i> dan uji enkapsulasi.....	53
3.5.5. Persiapan Kitosan-pEGFP-C1- <i>tat</i> dan uji enkapsulasi.....	55
3.5.6. Analisis karakterisasi fisikokimia kompleks PLGA-pEGFP-C1- <i>tat</i>	56
3.5.7. Uji stabilitas dengan DNase I.....	56
3.5.8. Uji sitotoksitas nanopartikel	57
3.5.9. Transfeksi dalam sel HeLa yang dikultur	58
3.5.10. Pengamatan Fluoresensi pada Protein EGFP	59
3.5.11. Isolasi RNA total sel HeLa yang dikultur	59
3.5.12. Sintesis cDNA dari isolasi RNA total dan PCR.....	60
3.5.13. Elektrophoresis Hasil PCR	62
3.5.14. Real-time PCR	62
3.5.15. Analisis Data Ekspresi Gen.....	63
3.6. Analisa Data.....	64
3.7. Alur Penelitian	65
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	66
4.1. Konstruksi gen <i>tat</i> VPJ	66
4.2. Transformasi Plasmid DNA Rekombinan.....	67
4.3. Isolasi Plasmid DNA Rekombinan	69
4.4. Evaluasi Hasil Isoasi DNA Rekombinan.....	70



4.5. Analisis enkapsulasi kompleks PLGA-pEGFP-C1-tat dari formulasi	72
4.6. Analisis karakterisasi fisikokimia kompleks PLGA-pEGFP-C1-tat	73
4.7. Analisis enkapsulasi kompleks Kitosan-pEGFP-C1-tat dari formulasi	75
4.8. Analisis karakterisasi fisikokimia kompleks Kitosan-pEGFP-C1-tat.....	77
4.9. Uji stabilitas dengan DNase I.....	79
4.10. Uji sitotoksitas kompleks Nanopartikel-pEGFP-C1-tat VPJ	80
4.11. Pengamatan protein fusi EGFP-tat.....	82
4.12. Analisis ekspresi mRNA pEGFP-C1-tat	84
4.13. Hubungan Ekspresi pEGFP-C1-tat dengan Sifat Fisikokimia Nanopartikel	89
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	93
5.1. Kesimpulan.....	93
5.2. Saran.....	93
RINGKASAN.....	94
SUMMARY	108
DAFTAR PUSTAKA.....	119
LAMPIRAN	126