

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Keaslian Penelitian	2
C. Manfaat Penelitian	3
D. Permasalahan	3
E. Tujuan Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Virus <i>Epstein-Barr</i>	5
B. Kanker Nasofaring dan Kaitannya dengan Virus <i>Epstein-Barr</i>	8
C. Uji Serologis NPC-EBV	10
D. <i>Early Antigen</i> dan Perubahan dari Siklus Laten ke Siklus Litik	10
E. <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA)	14
III. BAHAN DAN CARA KERJA	16
A. Bahan	16
1. <i>Cell line HH514</i> terinduksi ekspresi EA	16
2. Serum penderita NPC, serum normal dan serum penderita kanker non NPC	16
3. Antibodi monoklonal dan poliklonal anti protein EBV	17
4. Reagen untuk imunoblotting dan ELISA	17
B. Cara Kerja	18
1. Induksi HH514-c16	18
2. Ekstraksi protein EA	18
a. Ekstraksi cara bertahap	18
b. Ekstraksi cara langsung	19
3. Analisis protein EA hasil ekstraksi dengan SDS-PAGE, <i>western blot</i> dan imunoblotting	19
4. Produksi adn penentuan konsentrasi ekstrak EA dengan <i>Micro BCA Protein Assay Kit</i>	22
a. Pembuatan larutan standar dan reagen	23
b. Pengukuran konsentrasi protein	24
5. Pembuatan <i>Checkerboard</i> ELISA	24
6. Optimasi ELISA	25
7. Uji ELISA serum pasien NPC	26

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
A. Hasil Induksi HH514 untuk ekspresi EA	27
1. <i>Epstein-Barr Nuclear Antigen</i> (EBNA1)	30
2. ZEBRA	31
3. Protein <i>early</i>	32
4. Protein litik fase akhir	32
B. Ekstraksi Protein	33
1. Elektroforesis	33
a. Ekstraksi cara bertahap	33
b. Ekstraksi cara langsung	35
2. Immunoblotting	36
3. Deteksi ekstrak EA menggunakan antibodi	38
a. BALF2 (138 kDa)	41
b. <i>DNase/BGLF5</i> (55+57 kDa)	41
c. BMRF1 (47-54 kDa)	42
C. Produksi dan Penentuan Konsentrasi Ekstrak EA menggunakan <i>Micro</i> <i>BCA Protein Assay Kit</i>	42
D. Pembuatan <i>Checkerboard</i> ELISA	43
E. Optimasi Sistem ELISA	45
1. Penambahan <i>gullisorb</i> pada pengenceran serum	47
2. <i>Blocking buffer</i>	48
3. Pelarut serum	49
4. Pelarut konjugat	52
F. Uji ELISA IgA-Ekstrak EA pada Serum Penderita NPC dan Serum Normal sebagai Kontrol	54
V. KESIMPULAN DAN SARAN	62
A. Kesimpulan	62
B. Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	68

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. DNA Virus <i>Epstein-Barr</i> , urutan gen terkait transformasi dan protein mayor siklus litik	6
Gambar 2. Diagram ekspresi antigen EBV pada model secara <i>in vitro</i> pada saat induksi dari fase laten ke fase litik	12
Gambar 3. Reaksi ELISA tak langsung	15
Gambar 4. Bagan ekstraksi dengan cara bertahap	20
Gambar 5. Bagan ekstraksi dengan cara langsung	21
Gambar 6. Bagan ELISA <i>chart</i> pada pembuatan <i>checkerboard</i>	26
Gambar 7. Elektroforesis HH514 terinduksi ekspresi EA+VCA dan HH514 terinduksi ekspresi EA	28
Gambar 8. Immunoblotting HH514 terinduksi ekspresi EA+VCA dan HH514 terinduksi ekspresi EA	29
Gambar 9. Elektroforesis hasil ekstraksi cara bertahap	34
Gambar 10. Elektroforesis hasil ekstraksi cara langsung	35
Gambar 11. Immunoblotting hasil ekstraksi cara bertahap	37
Gambar 12. Immunoblotting hasil ekstraksi cara langsung	38
Gambar 13. Immunoblotting ekstrak EA dengan berbagai antibodi	40
Gambar 14. Grafik hasil absorbansi <i>checkerboard</i>	44
Gambar 15. Grafik ELISA IgA EA ekstrak standar	46
Gambar 16. Grafik optimasi IgA EA ekstrak: penambahan gullsorb	47
Gambar 17. Grafik optimasi <i>blocking agent</i>	50
Gambar 18. Grafik optimasi pelarut serum	51
Gambar 19. Grafik optimasi pelarut konjugat	53
Gambar 20. <i>Scatter</i> ELISA IgA-EA ekstrak pada serum penderita NPC dan orang normal	55
Gambar 21. Proses terjadinya antibodi IgA dalam sirkulasi	59