

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI.....	iii
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan.....	5
1.3. Keaslian Penelitian	5
1.4. Tujuan.....	6
1.5. Manfaat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA, LANDASAN TEORI, DAN HIPOTESIS.....	8
2.1. Tinjauan Pustaka	8
2.1.1. Virus Dengue dan Gen Recombinant Envelope (rE)	8
2.1.2. Vaksin DNA.....	11
2.1.3. Plasmid <i>Enhanced Green Fluorescence Protein</i> (pEGFP-N1-rE)..	14
2.1.4. Sel HeLa.....	16
2.1.5. Sistem Penghantaran Vaksin Berbasis Nanopartikel	17
2.1.6. Nanopolimer PCL dan Metode Enkapsulasi	19
2.2. Landasan Teori	22
2.3. Hipotesis.....	25
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2. Alat dan Bahan	26
3.3. Rancangan Penelitian	27
3.4. Definisi Operasional.....	28
3.5. Cara Kerja	29
3.5.1 Transformasi Plasmid DNA Rekombinan.....	36
3.5.2 PCR Koloni Bakteri Transforman.....	37
3.5.3 Isolasi Plasmid DNA Rekombinan	38
3.5.4 Restriksi Hasil Isolasi Plasmid.....	39
3.5.5 PCR hasil Isolasi Plasmid	39
3.5.6 Pembuatan Kompleks Nanopartikel PCL-pEGFP-N1-rE.....	41
3.5.7 Uji Retardasi Gel	41
3.5.8 Karakterisasi Kompleks Nanopartikel PCL-pEGFP-N1-rE	41
3.5.9 Uji Stabilitas	41
3.5.10 Uji Sitotoksik Kompleks Nanopartikel PCL-pEGFP-N1-rE.....	41
3.5.11 Trnsfeksi pada Kultur Sel HeLa	41
3.5.12 Pengamatan <i>Fluoresensi</i> pada Protein <i>EGFP</i>	41
3.5.13 Uji Ekspresi Tingkat RNA dengan <i>Two-Steps Reverse</i>	

<i>Transcriptase</i> PCR dilanjutkan dengan <i>Real-Time</i> PCR	41
3.6. Alur Penelitian.....	41
3.7. Analisis Data	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1. Transformasi Plasmid DNA Rekombinan N1-rE.....	43
4.2. PCR Koloni Bakteri Transforman.....	46
4.3. Isolasi Plasmid DNA Rekombinan N1-rE	47
4.4. PCR Isolasi Plasmid dan Restriksi Enzim Isolasi Plasmid	50
4.5. Uji Retardasi Formulasi Kompleks PCL-pEGFP-N1-rE	52
4.6. Karakterisasi Kompleks PCL-pEGFP-N1-rE.....	56
4.7. Uji Stabilitas Kompleks PCL-pEGFP-N1-rE.....	59
4.8. Uji Sitotoksik Kompleks PCL-pEGFP-N1-rE dengan <i>MTT Assay</i>	62
4.9. Analisis Efisiensi Transfeksi PCL-pEGFP-N1-rE pada Kultur Sel HeLa	64
4.10. Uji ekspresi Gen <i>rE</i> pada Kultur Sel HeLa tingkat mRNA dengan <i>Two-Step</i> RT-qPCR.....	66
BAB V KESIMPULAN DAN REKOMENDASI.....	73
5.1. Kesimpulan.....	73
5.2. Rekomendasi	73
DAFTAR PUSTAKA.....	74
LAMPIRAN	81

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Sekuen primer yang digunakan dalam penelitian	31
Tabel 2. Formulasi nanopartikel PCL	34
Tabel 3. Kemurnian dan konsentrasi plasmid DNA rekombinan	49
Tabel 4. Hasil uji ukuran, potensial zeta, indeks dipersitas, dan % efisiensi enkapsulasi kompleks nanopartikel PCL-pEGFP-N1-rE.....	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur genom DENV.....	9
Gambar 2. Mekanisme aksi vaksin DNA.....	13
Gambar 3. Peta Plasmid EGFP-N1	16
Gambar 4. Struktur Kimia <i>Poly-ϵ-caprolactone</i>	21
Gambar 5. Alur Kerja Penelitian.....	41
Gambar 6. Bakteri transforman <i>E. coli</i> DH5 α pada medium LB agar.....	44
Gambar 7. Hasil visualisasi PCR koloni bakteri transforman <i>E. coli</i> DH5 α	46
Gambar 8. Visualisasi DNA hasil isolasi plasmid rekombinan	48
Gambar 9. Hasil visualisasi DNA PCR isolasi plasmid pEGFP-N1-rE	50
Gambar 10. Visualisasi hasil restriksi enzim	51
Gambar 11. Visualisasi uji retardasi kompleks PCL-pEGFP-N1-rE	53
Gambar 12. Karakterisasi PCL-pEGFP-N1-rE	56
Gambar 13. Uji <i>DNase I</i>	60
Gambar 14. Uji <i>Fetal Bofine Serume</i>	61
Gambar 15. Hasil uji toksisitas sel HeLa	63
Gambar 16. Pengamatan <i>Fluoresensi</i>	65
Gambar 17. Visualisasi amplifikasi cDNA secara kualitatif	67
Gambar 18. <i>Melt peak</i>	68
Gambar 19. Hasil ekspresi relatif gen <i>rE</i>	70

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. <i>Ethical clearence</i>	81
Lampiran 2. Desain primer gen <i>rE</i> (primer deteksi II)	82
Lampiran 3. Peta pEGFP-N1-rE (insert gen <i>rE</i> ditandai dengan warna merah) yang dikonstruksi oleh <i>Gene Universal</i>	83
Lampiran 4. Grafik hasil analisis ukuran, zeta potensial dan PDI.....	84
Lampiran 5. Hasil pengukuran konsentrasi RNA menggunakan Nanodrop.....	85