

## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL .....  | i    |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                                   | ii   |
| DAFTAR ISI.....  | iii  |
| DAFTAR TABEL.....  | vi   |
| DAFTAR GAMBAR .....  | vii  |
| PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI .....                            | viii |
| KATA PENGANTAR .....                                       | ix   |
| ABSTRAK.....   | xi   |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                      | xii  |
| BAB I. PENDAHULUAN .....                                   | 1    |
| A. Latar Belakang .....                                    | 1    |
| B. Rumusan Masalah .....                                   | 6    |
| C. Tujuan Penelitian .....                                 | 6    |
| D. Manfaat Penelitian .....                                | 7    |
| E. Keaslian & Kebaruan Penelitian .....                    | 7    |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....                             | 10   |
| A. Virus Zika .....  | 10   |
| 1. Klasifikasi dan filogenetik .....                       | 10   |
| 2. Biologi virus Zika .....                                | 12   |
| B. Infeksi Virus Zika .....                                | 14   |
| 1. Manifestasi klinis infeksi virus Zika.....              | 14   |
| 2. Pemeriksaan laboratorium untuk infeksi virus Zika ..... | 16   |
| C. Protein Nonstruktural 1 (NS1) Virus Zika.....           | 18   |
| D. DNA Rekombinan .....                                    | 23   |
| 1. Enzim restriksi dan ligase .....                        | 23   |
| 2. Vektor kloning dan ekspresi .....                       | 25   |
| 3. Sel inang.....  | 27   |
| 4. Transformasi dan seleksi.....                           | 28   |
| E. Pengaturan Ekspresi Gen .....                           | 29   |

|  |           |
|--|-----------|
| F. Purifikasi Protein Rekombinan .....   | 31        |
| G. Kerangka Teori .....  | 33        |
| H. Kerangka Konsep .....   | 34        |
| I. Hipotesis .....   | 34        |
| <b>BAB III. METODE PENELITIAN.....</b>   | <b>35</b> |
| A. Rancangan Penelitian .....  | 35        |
| B. Subjek Penelitian .....   | 35        |
| C. Lokasi Penelitian.....  | 36        |
| D. Variabel Penelitian.....  | 37        |
| E. Definisi Operasional .....  | 37        |
| F. Alat dan Bahan Penelitian.....  | 38        |
| G. Jalannya Penelitian.....  | 39        |
| 1. Analisis <i>in silico</i> protein NS1 ZIKV.....   | 39        |
| 2. Pembuatan gen penyandi protein NS1 <sub>FL</sub> dan NS1 <sub>WD</sub> ZIKV .....                               | 39        |
| 3. Transformasi plasmid rekombinan dan verifikasi hasil kloning.....   | 40        |
| 4. Optimasi ekspresi dan produksi protein rekombinan NS1 <sub>FL</sub> dan NS1 <sub>WD</sub><br>.....              | 41        |
| 5. Analisis protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> dengan SDS-PAGE.....                                 | 42        |
| 6. Purifikasi protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....  | 43        |
| 7. Pemeriksaan <i>Western blotting</i> protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....                     | 43        |
| 8. Injeksi mencit BALB/c dengan protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....                            | 44        |
| 9. Uji antigenisitas, imunogenisitas, dan reaksi silang protein rNS1 <sub>FL</sub> dan<br>rNS1 <sub>WD</sub> ..... | 45        |
| H. Analisis Data Penelitian .....  | 49        |
| I. Etika Penelitian .....  | 49        |
| <b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>   | <b>51</b> |
| A. Hasil .....   | 51        |
| 1. Analisis <i>in silico</i> protein NS1 ZIKV.....   | 51        |
| 2. Kloning, ekspresi, dan purifikasi protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....                       | 57        |
| 3. Antigenisitas dan imunogenisitas protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....                        | 63        |
| 4. Reaksi silang protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....   | 65        |

|   |     |
|---|-----|
| B. Pembahasan.....  | 66  |
| 1. Analisis <i>in silico</i> protein NS1 ZIKV.....  | 66  |
| 2. Kloning, ekspresi, dan purifikasi protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....                | 69  |
| 3. Antigenisitas, imunogenisitas, dan reaksi silang protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> ..... | 73  |
| C. Keterbatasan Penelitian.....   | 79  |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....  | 80  |
| A. Kesimpulan .....   | 80  |
| B. Saran .....  | 80  |
| RINGKASAN .....   | 81  |
| <i>SUMMARY</i> .....  | 93  |
| DAFTAR PUSTAKA .....  | 104 |
| LAMPIRAN.....   | 115 |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....   | 128 |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| Tabel 1. Prosedur dan dosis injeksi protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....  | 45 |
| Tabel 2. Persentase kesamaan urutan asam amino NS1 <sub>FL</sub> dan NS1 <sub>WD</sub> antara ZIKV Indonesia ( <i>Genbank</i> KU179098.2) dengan isolat ZIKV lainnya.....  | 51 |
| Tabel 3. Persentase kesamaan urutan asam amino NS1 <sub>FL</sub> dan NS1 <sub>WD</sub> antara ZIKV Indonesia ( <i>Genbank</i> KU179098.2) dengan DENV serotipe 1 - 4 ..... | 52 |
| Tabel 4. Hasil Plot Ramachandran dan <i>G-factors</i> dari prediksi struktur 3D protein NS1 ZIKV dan DENV .....  | 53 |
| Tabel 5. Analisis prediksi epitop sel B protein NS1 ZIKV .....   | 56 |
| Tabel 6. Konsentrasi protein rekombinan rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....  | 63 |

## DAFTAR GAMBAR

|   |    |
|---|----|
| Gambar 1. Pohon filogenetik ZIKV isolat Indonesia .....                                     | 12 |
| Gambar 2. Struktur virion dan organisasi genom ZIKV .....                                   | 13 |
| Gambar 3. Struktur dimer protein NS1 ZIKV .....   | 19 |
| Gambar 4. Model heksamer protein NS1 ZIKV .....   | 21 |
| Gambar 5. Konservasi urutan NS1 yang dipetakan ke permukaan protein .....                   | 22 |
| Gambar 6. Enzim restriksi .....   | 24 |
| Gambar 7. Proses ligasi.....  | 25 |
| Gambar 8. Mekanisme 2 langkah ekspresi protein dengan promotor T7 .....                     | 30 |
| Gambar 9. Kerangka teori penelitian .....   | 33 |
| Gambar 10. Kerangka konsep penelitian .....   | 34 |
| Gambar 11. Alur penelitian tahap I.....   | 47 |
| Gambar 12. Alur penelitian tahap II .....   | 48 |
| Gambar 13. Struktur 3 dimensi (3D) dan elemen struktur 2D protein NS1 ZIKV dan DENV1-4..... | 54 |
| Gambar 14. Perbandingan struktur 3D protein NS1 ZIKV dengan DENV1-4....                     | 55 |
| Gambar 15. Pertumbuhan sel <i>E. coli</i> BL21 (DE3) pada agar LB.....                      | 57 |
| Gambar 16. Elektroforesis hasil PCR koloni sel <i>E. coli</i> BL21 (DE3).....               | 58 |
| Gambar 17. Hasil SDS-PAGE ekspresi protein rNS1 <sub>FL</sub> pada suhu 37°C .....          | 59 |
| Gambar 18. Hasil SDS-PAGE ekspresi protein rNS1 <sub>FL</sub> pada suhu 29°C .....          | 59 |
| Gambar 19. Hasil SDS-PAGE ekspresi protein rNS1 <sub>WD</sub> pada suhu 37°C.....           | 60 |
| Gambar 20. Hasil SDS-PAGE ekspresi protein rNS1 <sub>WD</sub> pada suhu 20°C.....           | 61 |
| Gambar 21. Analisis hasil purifikasi protein rNS1 <sub>FL</sub> .....                       | 62 |
| Gambar 22. Analisis hasil purifikasi protein rNS1 <sub>WD</sub> .....                       | 62 |
| Gambar 23. Antigenisitas protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....            | 63 |
| Gambar 24. Rerata OD ELISA serum mencit BALB/c .....  | 64 |
| Gambar 25. Reaksi silang protein rNS1 <sub>FL</sub> dan rNS1 <sub>WD</sub> .....            | 66 |