



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Keaslian Penelitian.....	3
1.5 Manfaat.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA, LANDASAN TEORI, DAN HIPOTESIS	5
2.1 Tinjauan Pustaka.....	5
2.1.1 Virus Penyakit Jembrana (VPJ) dan Pencegahannya	5
2.1.2 Optimasi Kodon.....	6
2.1.3 Vaksin DNA dan Gen <i>gag-CA</i> pada VPJ	7
2.1.4 Plasmid <i>Enhanced Green Fluororescence Protein</i> (pEGFP-C1).....	10
2.1.5 Terapi Gen.....	12
2.1.6 Sistem Penghantaran dengan Liposom Kationik dan Nanopartikel	



Kitosan pada Vaksin DNA.....	12
2.1.7 Metode <i>Complex Coacervation</i>	14
2.1.8 Karakteristik Nanopartikel Kitosan-DNA	15
2.1.9 Sistem Penghantar DNA pada Sel Mamalia	16
2.2 Landasan Teori.....	18
2.3 Hipotesis.....	20
III. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Bahan dan Alat.....	21
3.2 Rancangan Penelitian.....	23
3.3 Definisi Operasional.....	24
3.4 Cara Kerja.....	26
3.4.1 Optimasi Kodon dan Konstruksi pada pEGFP-C1....	26
3.4.2 Transformasi Plasmid DNA rekombinan.....	27
3.4.3 Koloni PCR Bakteri Transforman.....	28
3.4.4 Isolasi Plasmid DNA Rekombinan.....	29
3.4.5 Elektroforesis Hasil Isolasi Plasmid.....	29
3.4.6 Restriksi Hasil Isolasi Plasmid.....	30
3.4.7 Elektroforesis Hasil Restriksi.....	30
3.4.8 PCR Hasil Isolasi Plasmid, Sekuensing dan Analisis Data.....	31
3.4.9 Preparasi Larutan Kitosan.....	31
3.4.10 Pembuatan Kompleks Reagen Penghantar dengan DNA.....	32
3.4.11 Uji Penghambatan pada Gel Agarosa.....	32
3.4.12 Penentuan Ukuran Partikel, Zeta Potensial dan Uji Sitotoksik.....	32
3.4.13 Transfeksi pada Kultur Sel HeLa.....	33



3.4.14	Elektroforesis Hasil Isolasi RNA.....	34
3.4.15	Pengamatan Fluoresensi pada Protein EGFP-Capsid.....	34
3.4.16	Uji Ekspresi Tingkat RNA dengan <i>Two-Step Reverse Transcript PCR</i> dilanjutkan dengan <i>Real-Time PCR</i>	34
3.4.17	Uji Ekspresi Tingkat Protein dengan <i>Western Blot</i> ..	37
3.5	Alur Penelitian.....	39
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	40
4.1	Optimasi Kodon gen <i>gag-CA</i> VPJ dan Konstruksinya.....	40
4.2	Transformasi Plasmid DNA Rekombinan.....	42
4.3	Koloni PCR	43
4.4	Isolasi Plasmid DNA Rekombinan.....	44
4.5	Restriksi Plasmid DNA Rekombinan.....	46
4.6	PCR Hasil Isolasi Plasmid, Sekuensing dan Analisis Data.....	47
4.7	Pengamatan Kompleks Nanopartikel Kitosan-DNA, Karakterisasi Ukuran Partikel, Zeta Potensial dan Uji Sitotoksik.....	50
4.8	Uji Ekspresi dengan Pengamatan Fluoresensi.....	54
4.9	Elektroforesis Hasil Isolasi RNA dari sel HeLa dengan Perlakuan.....	55
4.10	Uji Ekspresi dengan <i>Two Step Reverse Transcriptase PCR</i> dilanjutkan dengan <i>Real Time PCR</i>	57
4.11	Uji Ekspresi Tingkat Protein dengan <i>Western Blot</i>	59
V.	KESIMPULAN DAN REKOMENDASI.....	63
5.1	Kesimpulan.....	63
5.2	Rekomendasi.....	63
	DAFTAR PUSTAKA.....	64