

DAFTAR ISI

PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI	xviii
I. PENDAHULUAN.....	xix
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
1.5 Keaslian Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA, LANDASAN TEORI, DAN HIPOTESIS	7
2.1 Tinjauan Pustaka.....	7
2.2 Landasan Teori	26
2.3 Hipotesis	27
III. METODE PENELITIAN.....	29
3.1 Lokasi Penelitian.....	29
3.2 Bahan dan Alat.....	29
3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	31
3.4 Definisi Operasional	32
3.5 Cara Kerja.....	34
3.5.1 Persiapan <i>E. coli</i> DH5 α	34
3.5.2 Transformasi dan Kloning Konstruk pTm ke dalam <i>E. coli</i> DH5 α Metode CaCl ₂	34
3.5.3 Isolasi Konstruk pTm dari Transforman <i>E. coli</i> DH5 α Skala MaxiPrep.....	34
3.5.4 Konfirmasi gen <i>env-Tm</i> VPJ.....	37

3.5.4.1	Analisis Konstruk pTm Hasil Isolasi dari <i>E. coli</i> DH5 α menggunakan Elektroforesis	37
3.5.4.2	Analisis dan Kloning Konstruk pTm Hasil Isolasi dari <i>E. coli</i> DH5 α menggunakan PCR.....	38
3.5.4.3	Analisis Konstruk pTm Hasil Isolasi dari <i>E. coli</i> DH5 α menggunakan Enzim Restriksi	39
3.5.5	Persiapan Larutan Stok Kitosan 1%.....	39
3.5.6	Persiapan Larutan Stok PLGA 5%	39
3.5.7	Persiapan Larutan Stok PVA 2%	40
3.5.8	Pembuatan Kompleks Nanopartikel.....	40
3.5.8.1	Pembuatan Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M)....	40
3.5.8.2	Pembuatan Kompleks Nanopartikel pTm/PLGA.....	41
3.5.9	Pembuatan pTm/EL	41
3.5.10	Screening Kompleks Nanopartikel	42
3.5.10.1	Analisis Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA Metode <i>Retardation Assay</i>	42
3.5.10.2	Uji Stabilitas Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA terhadap DNase I	43
3.5.10.3	Uji Sitotoksik Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA Metode <i>MTT Assay</i>	43
3.5.11	Pengukuran <i>Encapsulation Efficiency</i> dan <i>Loading Capacity</i> Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA	44
3.5.12	Pengukuran Distribusi Ukuran Partikel Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA menggunakan Mastersizer	44
3.5.13	Pengukuran Potensial Zeta Kompleks Nanopartikel menggunakan pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA Zetasizer	44
3.5.14	Analisis Morfologi dan Komposisi Unsur Kompleks Nanopartikel pTm/PLGA.....	45
3.5.15	Transfeksi Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA terhadap HeLa.....	45
3.5.16	Pengamatan Fluoresensi Protein Fusi EGFP- <i>env-Tm</i> pada sel HeLa	46
3.5.17	Isolasi RNA Total Sel HeLa	46

3.5.18 Sintesis cDNA Hasil Isolasi RNA Total	47
3.5.19 Analisis Ekspresi Tingkat mRNA menggunakan <i>Real Time</i> PCR	48
3.6 Analisis Data.....	49
3.7 Alur Penelitian	51
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	52
4.1 Konfirmasi Transforman <i>E. coli</i> DH5 α yang Mengandung Konstruk pTm.....	52
4.1.1 Seleksi Klon dalam Media Agar Luria Bertani (LB) Mengandung 50 μ g/mL Kanamisin	52
4.1.2 Isolasi Konstruk pTm dari Transforman <i>E. coli</i> DH5 α Skala <i>MaxiPrep</i>	53
4.1.3 Analisis Konstruk pTm secara Elektroforesis, PCR, dan Enzim Restriksi	54
4.2 Hasil <i>Screening</i> Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA	56
4.2.1 Hasil Uji <i>Retardation Assay</i> Kompleks Nanopartikel pTm/K....	57
4.2.2 Hasil Uji <i>Retardation Assay</i> Kompleks Nanopartikel pTm/PLGA	59
4.2.3 Hasil Uji Stabilitas Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA terhadap DNase I	61
4.2.4 Hasil Uji Sitotoksik Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA Metode MTT <i>Assay</i>	64
4.3 Persentase <i>Encapsulation Efficiency</i> dan <i>Loading Capacity</i> Kompleks Nanopartikel pTm/K(L/M) dan pTm/PLGA	65
4.4 Hasil Pengukuran Distribusi Ukuran Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA.....	68
4.5 Hasil Pengukuran Potensial Zeta Kompleks Nanopartikel pTm/K dan pTm/PLGA	70
4.6 Hasil Analisis <i>Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-ray</i> <i>spectroscopy</i> + <i>Mapping</i> (SEM/EDXs+ <i>Mapping</i>) Kompleks Nanopartikel pTm/PLGA	72
4.7 Hasil Pengamatan Fluoresensi Protein Fusi EGFP- <i>env-Tm</i> pada Sel HeLa	77

4.8 Hasil Analisis Ekspresi Tingkat mRNA menggunakan <i>Real Time</i> PCR	80
4.9 Hubungan %EE dan %LC terhadap Nilai <i>Normalized Expression</i>	91
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	96
DAFTAR PUSTAKA	98
LAMPIRAN.....	104