

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xiii</b>
<b>INTISARI.....</b>	<b>xv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xvi</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Permasalahan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Virus Dengue .....	6
2.2 Protein prM/E.....	8
2.3 Infeksi Virus Dengue dan Respon Imun terhadap Infeksi Virus Dengue .....	9
2.4 Perkembangan Vaksin Dengue .....	11
2.5 Analisis Prediksi Epitop Sel B dan Sel T.....	14
2.6 Ligasi gen prM/E kedalam vektor pPiczaA .....	15
2.7 Transformasi gen prM/E pada <i>Escherichia coli</i> TOP 10.....	16
2.8 Ekspresi gen pada <i>Pichia pastoris</i> .....	17

2.9 Landasan Teori.....	19
2.10. Hipotesis.....	21
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Pelaksanaa Penelitian .....	22
3.2 Bahan dan Alat.....	22
3.2.1 Bahan.....	22
3.2.2 Alat.....	23
3.3 Cara Kerja .....	23
3.3.1 Propagasi Plasmid pGEMT <i>easy-prM/E</i> DENV-1 didalam <i>Escherichia coli</i> DH5 $\alpha$ .....	23
3.3.2 Isolasi Plasmid pGEMT <i>easy-prM/E</i> DENV-1 .....	24
3.3.3 Amplifikasi Gen prM/E DENV-1 pada plasmid pGEMT <i>easy</i> .....	25
3.3.4 Purifikasi Hasil Amplifikasi Gen prM/E DENV-1 .....	26
3.3.5 Pemotongan Produk PCR Gen prM/E DENV-1 dan Plasmid pPic $\alpha$ A.....	27
3.3.6 Transformasi Gen prM/E DENV-1 pada <i>Escherichia coli</i> TOP 10 .....	28
3.3.6.1 Ligasi Gen prM/E dan Plasmid pPic $\alpha$ A .....	28
3.3.6.2 Transformasi <i>Escherichia coli</i> TOP 10 dengan menggunakan Metode <i>Heat Shock</i> .....	28
3.3.6.3 Isolasi Plasmid Rekombinan pPic $\alpha$ A-prM/E DENV-1 dari <i>Escherichia coli</i> TOP 10 .....	30
3.3.7 Seleksi plasmid pPic $\alpha$ A Rekombinan .....	31
3.3.7.1 Pengecekan Hasil Plasmid Rekombinan dengan Elektroforesis.....	31
3.3.7.2 Pengecekan Hasil Plasmid Rekombinan dengan Sekuensing.....	32
3.3.8 Transformasi Plasmid Rekombinan pPic $\alpha$ A-prM/E DENV-1 ke <i>Pichia pastoris</i> .....	32
3.3.8.1 Linierisasi plasmid rekombinan pPic $\alpha$ A-prM/E DENV-1 dengan enzim Pme I .....	32
3.3.8.2 Persiapan sel <i>Pichia pastoris</i> kompeten.....	33
3.3.8.3 Transformasi plasmid rekombinan strain <i>Pichia pastoris</i> X-33 .....	33

3.3.8.4 Konfirmasi protein prM/E DENV-1 dengan SDS PAGE .....	34
3.3.9 Analisis Data .....	35
3.3.10 Alur Penelitian .....	37
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
4.1 Amplifikasi gen prM/E DENV-1 .....	38
4.2 Kloning Gen prM/E DENV-1 .....	39
4.3 Sekuensing dan Analisis Data .....	44
4.4 Hasil purifikasi protein prM/E DENV-1 pada <i>Pichia pastoris</i> X-33.....	51
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>54</b>
5.1 Kesimpulan .....	54
5.2 Saran.....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>60</b>
<b>NASKAH PUBLIKASI.....</b>	<b>82</b>

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Racikan reagensia pada proses ligasi gen prM/E dan pPiczaA .....	28
Tabel 2. Hasil Transformasi pPiczaA pada <i>Escherichia coli</i> .....	41
Tabel 3. Prediksi epitop sel T Virus Dengue Serotipe 1 Isolat 073 dengan pemodelan <i>human leucocyte antigen</i> (HLA) .....	46
Tabel 4. Prediksi epitop sel T Dengue Virus Serotipe 1 isolat Balitbangkes dengan pemodelan <i>human leucocyte antigen</i> (HLA) .....	47
Tabel 5. Prediksi Epitop Sel B Virus Dengue Serotipe 1 isolat Balitbangkes dan Isolat 073 Berdasarkan <i>Flexibility Scale</i> , <i>Accessibility</i> dan <i>Antigenic Scale</i> . Tidak ada perubahan epitop kecuali *. ....	49

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1.Struktur Flavivirus.....	7
Gambar 2.Skema imunitas sekunder.....	10
Gambar 3.Respon antibodi sekunder .....	10
Gambar 4. Sekuens pPiczaA memiliki 3.593 nukleotida.. .....	16
Gambar 5. Alur Penelitian.....	37
Gambar 6. Elektroforegram produk PCR gen prM/E DENV-1.. .....	38
Gambar 7. Digesti pPiczaA dan <i>insert</i> prM/E menggunakan <i>XhoI</i> dan <i>NotI</i> .....	39
Gambar 8. Hasil transformasi pada pPiczaA-prM/E DENV-1 <i>Escherichia coli</i> TOP 10 .....	40
Gambar 9. Elektroforegram hasil isolasi plasmid pPiczaA rekombinan dengan perbandingan ligasi vektor dan gen <i>insert</i> 1:3.....	41
Gambar 10. Elektroforegram hasil isolasi plasmid pPiczaA rekombinan dengan perbandingan ligasi vektor dan gen <i>insert</i> 1:5.....	42
Gambar 11.Elektroforegram hasil digesti plasmid rekombinan pPiczaA perbandingan ligasi vektor dan gen <i>insert</i> 1:3 menggunakan <i>XhoI</i> dan <i>NotI</i> .....	43
Gambar 12. Elektroforegram hasil amplifikasi dengan menggunakan primer AOX.44	
Gambar 13. Hasil transformasi pada <i>Pichia pastoris</i> .....	51
Gambar 14. Ekspresi protein rekombinan <i>Pichia pastoris</i> .....	52

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Sekuen nukleotida gen prM/E DENV-1 isolat 073 dengan isolat Balitbangkes .....	60
Lampiran 2. Homologi hasil sekuensing plasmid pPiczαA rekombinan dengan DENV-1 isolat Balitbangkes.....	62
Lampiran 3. Sekuen asam amino gen prM/E-DENV-1 isolat 073 dengan sekuen dari DENV-1 isolat Balitbangkes.....	65
Lampiran 4. Prediksi epitop sel T DENV-1 Isolat 073 dengan pemodelan <i>human leucocyte antigen</i> (HLA).....	66
Lampiran 5. Peta prediksi sel limfosit T pada gen prM/E DENV-1 isolat 073 berdasarkan analisis nHLAPred. ....	68
Lampiran 6. Prediksi epitop sel T DENV-1 isolat Balitbangkes dengan pemodelan <i>human leucocyte antigen</i> (HLA).....	69
Lampiran 7. Peta prediksi sel limfosit T pada gen prM/E DENV-1 isolat Balitbangkes berdasarkan analisis nHLAPred. ....	71
Lampiran 8. Prediksi Epitop Sel B DENV-1 isolat Balitbangkes dan Isolat 073 Berdasarkan <i>Flexibility Scale</i> , <i>Accessibility</i> dan <i>Antigenic Scale</i> .....	72
Lampiran 9. Peta pemetaan posisi epitop limfosit sel B DENV-1 isolat Balitbangkes. ....	74
Lampiran 10. Pengecekan Hasil Plasmid Rekombinan dengan Primer AOX .....	75
Lampiran 11. Peta pemetaan posisi epitop limfosit sel B DENV-1 Isolat 073.....	76

Lampiran 12. Hasil Pemotongan <i>pPicz</i> $\alpha$ A dengan <i>Xho</i> I dan <i>Not</i> I.....	77
Lampiran 13. Ijin Kelayakan Etik.....	79
Lampiran 14. Ijin Laboratorium Falitma Fakultas Biologi UGM.....	80
Lampiran 15. Ijin Laboratorium Falitma Fakultas Biologi UGM.....	81

## DAFTAR SINGKATAN

DENV	: <i>Dengue virus</i>
LB	: Luria bertani
LBLS	: Luria bertani <i>low salt</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
DHF	: <i>Dengue Hemorrhagic Fever</i>
DSS	: <i>Dengue Shock Syndrome</i>
prM/E	: <i>Precursor Membrane/Envelope</i>
ADE	: <i>Antibody-Dependent Enhancement of Infection</i>
LAV	: <i>Live Attenuated Vaccines</i>