

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
INTISARI	x
ABSTRACT	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
1.5 Keaslian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Megalocytivirus</i>	5
2.1.1 Patogenitas dan Dampak Infeksi <i>Megalocytivirus</i>	5
2.1.2 Karakteristik Virion <i>Megalocytivirus</i>	6
2.1.3 Gen ORF 007L ISKNV	9
2.2 Teknologi Protein Rekombinan	11
2.2.1 Pendekatan Metagenomik untuk Mendapatkan Gen.....	11
2.2.2 Kloning dan Ekspresi Protein	12
2.2.2 Purifikasi Protein.....	15
2.3 Imunologi	17
2.3.1 Sistem Imun Vertebrata.....	17
2.3.2 Epitop Sel T dan Sel B	19
2.3.3 Vaksinasi dengan Protein Rekombinan	20
2.4 Landasan Teori	21
2.5 Hipotesis.....	22
III METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Bahan dan Alat	23
3.1.1 Bahan	23
3.1.2 Alat.....	24
3.2 Pelaksanaan Penelitian	24

3.3 Cara Kerja.....	25
3.3.1 Desain Primer ORF 007L ISKNV.....	25
3.3.2 Amplifikasi ORF 007L ISKNV	26
3.3.3 Kloning gen homolog ORF 007L ISKNV	27
3.3.3.1 Pemotongan DNA gen homolog ORF 007L ISKNV.....	27
3.3.3.2 Pemotongan DNA vektor pET-32a.....	27
3.3.3.3 Ligasi dan Transformasi.....	28
3.3.3.4 Seleksi dan Konfirmasi pET-32 Rekombinan	29
3.3.3.5 Sekuensing dan Prediksi Epitop.....	30
3.3.4 Ekspresi dan Optimasi Protein Homolog ORF 007L ISKNV	31
3.3.4.1 Transformasi pET-32-ORF007L pada <i>E.coli</i> BL21 <i>cd</i>	31
3.3.4.2 Ekspresi protein homolog ORF 007L	31
3.3.4.3 Pengecekan solubilitas protein homolog ORF 007L	33
3.3.4.4 Optimasi produksi protein ORF 007L	33
3.3.4.5 Purifikasi protein ORF 007L.....	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Desain Primer ORF 007L ISKNV.....	37
4.2 Amplifikasi gen homolog ORF 007L ISKNV.....	39
4.3 Kloning gen homolog ORF 007L ISKNV.....	40
4.4 Sekuensing dan Prediksi Epitop	43
4.5 Ekspresi Protein Homolog ORF 007L ISKNV	53
4.6 Purifikasi Protein Rekombinan ORF 007L ISKNV	59
V. PENUTUP.....	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran	62
Daftar Pustaka	63
Ringkasan.....	66
<i>Summary</i>	71

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Analisis homologi ORF007L menggunakan program BLAST dengan database yang ada pada genbank	45
Tabel 2. Prediksi epitop sel B dengan metode Kolaskar and Tangaonkar (1990)	47
Tabel 3. Prediksi epitop sel B dengan metode <i>Emini surface accessibilty</i> (1985)	47
Tabel 4. Prediksi epitop Linier sel B dengan metode <i>Ellipro</i> (2008).....	48
Tabel 5. Prediksi epitop sel T dengan metode QM, ANN, dan SVM (2003)	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Ilustrasi <i>Megalocytivirus</i>	7
Gambar 2. Peta vektor pET-32.....	14
Gambar 3. Purifikasi secara umum protein dengan tag histidine.....	15
Gambar 4. Interaksi antara residu yang berdekatan dengan 6xHis tag dan matriks Ni-NTA.....	17
Gambar 5. <i>Multiple sequence alignment</i> gen ORF 008L OSGIV, ORF 008L RBIV dan ORF 007L ISKNV	38
Gambar 6. Konstruksi Plasmid Rekombinan pET32-ORF 007L.....	39
Gambar 7. Visualisasi Gel Agarose 1%	40
Gambar 8. Transformasi Plasmid Rekombinan	42
Gambar 9. Visualisasi Gel Agarose Hasil Pemotongan Plasmid dengan Enzim <i>EcoRI</i> dan <i>EcoRV</i>	43
Gambar 10. Sekuen insert gen ORF 007L ISKNV	44
Gambar 11. Sekuen asam amino ORF 007L ISKNV.....	45
Gambar 12. <i>Multiple sequence alignment</i> protein dengan program Clustal Omega (1.2.1).....	46
Gambar 13. Peta epitop sel B pada <i>multiple sequence alignment</i> asam amino.....	51
Gambar 14. Peta epitop sel T pada <i>multiple sequence alignment</i> asam amino.....	52
Gambar 15. Regulasi ekspresi pada inang ekspresi	54
Gambar 16. Induksi IPTG protein ORF 007L ISKNV	55
Gambar 17. Solubilitas Protein ORF 007L ISKNV	56
Gambar 18. Optimasi OD dan Waktu Induksi IPTG	58
Gambar 19. Optimasi konsentrasi IPTG	59
Gambar 20. Purifikasi Protein ORF 007L ISKNV dengan Ni-NTA agarose	60