



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
INTISARI	viii
ABSTRACT	ix
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Keaslian Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. <i>Koi herpesvirus</i> (KHV)	5
2.1.1. Karakteristik KHV	5
2.1.2. Genetika KHV	6
2.1.3. Dampak Ikan yang Terinfeksi KHV	9
2.1.4. Pengendalian Penyakit KHV	10
2.2. Vaksin Rekombinan	11
2.2.1. Kloning Gen.....	11
2.2.2. Ekspresi Gen.....	13
2.2.3. Purifikasi Protein Rekombinan.....	16
2.3. Landasan Teori.....	16
2.4. Hipotesis	18
III. METODE PENELITIAN	
3.1. Bahan dan Alat	19
3.2. Pelaksanaan Penelitian	21
3.3. Cara kerja	21
3.3.1. Desain Primer Spesifik Gen ORF138 KHV	21
3.3.2. Ekstraksi DNA Genom KHV.....	22
3.3.3. Amplifikasi Gen ORF138 dan Purifikasi Produk PCR dari Gel Agarose	23
3.3.4. Kloning Gen ORF138 dan Transformasi pada <i>E.coli</i> DH5 α	24
3.3.4.1.Pemotongan Vektor Ekspresi (pET-28a).....	24
3.3.4.2. Pemotongan DNA produk PCR.....	24
3.3.4.3. Ligasi dan Transformasi	25
3.3.4.4. Seleksi pET-28a Rekombinan	26



3.3.4.5. Sekuensing dan Analisis Data.....	27
3.3.5. Produksi dan Optimasi Protein ORF138 KHV	28
3.3.5.1. Transformasi pET-28a Rekombinan pada <i>E.coli</i> BL21cd.....	28
3.3.5.2. Induksi Protein ORF138 KHV dengan IPTG	28
3.3.5.3. Pengecekan Solubilitas Protein ORF138 KHV	30
3.3.5.4. Optimasi produksi protein:optical Density (OD), Waktu Inkubasi dan Konsentrasi IPTG.....	30
3.3.6. Purifikasi Protein ORF138 KHV dengan Ni-NTA Agarose.....	31
3.3.7. Alur Penelitian	33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Desain Primer Spesifik ORF138 KHV	34
4.2. Amplifikasi Gen ORF138 KHV	36
4.3. Kloning Gen ORF138 KHV pada Plasmid pET-28a.....	37
4.4. Sekuensing dan Analisis Data.....	39
4.5. Analisis Ekspresi Protein Rekombinan ORF138 KHV	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	54
5.2. Saran	54
VI. DAFTAR PUSTAKA	



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis ORF genom KHV dan Fungsinya	8
Tabel 2. Analisis Homologi Gen ORF138 KHV Menggunakan Program BLAST dengan Data yang ada pada <i>Genebank</i>	41
Tabel 3. Prediksi epitop sel T dengan Pemodelan <i>human leucocyte antigen</i> (HLA) yaitu HLA-A*0201, HLA-A*0202, HLA-A*0203, dan HLA-A*0205	43
Tabel 4. Prediksi Epitop Sel B Berdasarkan <i>Flexibility Scale</i> , <i>Accessibility</i> dan <i>Antigenic Scale</i>	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur <i>Koi herpesvirus</i>	5
Gambar 2. Gejala ikan yang terserang KHV	9
Gambar 3. Peta vektor ekspresi plasmid pET-28a(+).	15
Gambar 4. Sistem ekspresi gen dengan induksi IPTG pada <i>E.coli</i> BL21cd	15
Gambar 5. Alur penelitian.....	33
Gambar 6. Struktur asam amino ORF138 KHV	35
Gambar 7. Hasil visualisasi gel agarose 1%	36
Gambar 8. Hasil transformasi pET-28a-ORF138 KHV ke <i>E.coli</i> DH5 α	38
Gambar 9. Hasil pemotongan plasmid pET28a dengan enzim <i>EcoRI</i> dan <i>HindIII</i>	39
Gambar 10. Hasil sekuensing menggunakan primer T7 promoter dan T7 terminator	40
Gambar 11. <i>Alignment</i> asam amino ORF138 dengan KHV strain Jepang, Israel dan Amerika	42
Gambar 12. Peta prediksi posisi sel limposit T pada protein ORF138 berdasarkan analisis nHLAPred	44
Gambar 13. Peta pemetaan posisi epitop limposit sel B pad protein ORF138 KHV	46
Gambar 14. Induksi IPTG protein ORF138 KHV	48
Gambar 15. Optimasi OD dan waktu induksi IPTG	49
Gambar 16. Optimasi konsentrasi IPTG	50
Gambar 17. Solubilitas protein ORF138 KHV	51
Gambar 18. Purifikasi Ni-NTA agarose.....	52