

**ANALISIS *BOVINE SERUM ALBUMIN* SEBAGAI STANDAR  
PENENTUAN KADAR *SINGLE CHAIN FRAGMENT VARIABLE* ANTI-  
NS1 VIRUS DENGUE MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI *FOURIER TRANSFORM INFRARED***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SILVIA MUTIARA HIDAYAH**

**A 171 098**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA**

**YAYASAN HAZANAH**

**BANDUNG**

**2021**

**ANALISIS *BOVINE SERUM ALBUMIN* SEBAGAI STANDAR  
PENENTUAN KADAR *SINGLE CHAIN FRAGMENT VARIABLE* ANTI-  
NS1 VIRUS DENGUE MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI *FOURIER TRANSFORM INFRARED***

**SILVIA MUTIARA HIDAYAH**

**A 171 098**

Juli 2021

Disetujui Oleh:

Pembimbing



Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si.

Pembimbing



apt. Melvia Sundalian, M.Si.



## KUTIPAN

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

*Skripsi ini saya persembahkan sepenuhnya kepada kedua orang tua hebat dalam hidup saya, ayah dan mamah. Keduanyalah yang membuat segalanya menjadi mungkin sehingga saya bisa sampai pada tahap ini.*

*Terimakasih atas segala pengorbanan, kasih sayang, dukungan, nasihat dan doa baik yang tidak pernah berhenti kalian berikan kepada saya. Saya selamanya bersyukur dengan keberadaan kalian sebagai orang tua.*



## ABSTRAK

Demam Berdarah Dengue merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus dengue. Gejala awal infeksi virus dengue tidak khas sehingga sering terjadi keterlambatan diagnosis. Protein NS1 merupakan glikoprotein yang disekresikan oleh sel yang terinfeksi oleh virus dan mampu dideteksi sejak hari pertama infeksi virus dengue terjadi. *Single chain Fragment variable* adalah bagian dari antibodi yang memiliki sifat yang sama dengan antibodi keseluruhan karena scFv merupakan tempat terikatnya antigen pada antibodi. Salah satu fragmen antibodi yang dikembangkan untuk mendeteksi antigen virus dengue adalah scFv anti NS1. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengevaluasi beberapa parameter validasi analisis kualitatif dan kuantitatif *Bovine Serum Albumin* sebagai standar untuk analisis penentuan kadar scFv-anti NS1 virus dengue menggunakan metode spektrofotometri *Fourier Transform Infrared*. Metode ini meliputi validasi yang ditetapkan berdasarkan parameter selektivitas, linearitas, presisi, dan akurasi. Berdasarkan hasil validasi didapatkan selektivitas *Bovine Serum Albumin* memiliki gugus fungsi C-O ester, N-H amina dan NH<sub>2</sub> amina sekunder, linearitas dengan koefisien regresi linier 0,996 pada konsentrasi 1-5%, presisi dengan nilai RSD <2% dan akurasi pada rentang 92-102%, hasil penetapan kadar *Bovine Serum Albumin* menunjukkan bahwa metode ini memenuhi persyaratan parameter validasi.

**Kata kunci :** *single chain Fragment variable* (scFv), NS1, dengue, FTIR

## ABSTRACT

*Dengue Hemorrhagic Fever is an infectious disease caused by the dengue virus. The initial symptoms of dengue virus infection are not typical so that diagnosis is often delayed. NS1 protein is a glycoprotein secreted by virus-infected cells and can be detected from the first day of dengue virus infection. Single chain Fragment variable is part of the antibody that has the same properties as the whole antibody because scFv is the binding site for the antigen to the antibody. One of the antibody fragments developed to detect dengue virus antigen is scFv anti NS1. The purpose of this study was to evaluate several validation parameters of qualitative and quantitative analysis of Bovine Serum Albumin as a standard for the analysis of determining levels of scFv-anti NS1 dengue virus using the Fourier Transform Infrared spectrophotometric method. This method includes validation that is defined based on the parameters of selectivity, linearity, precision, and accuracy. Based on the validation results, the selectivity of Bovine Serum Albumin has functional groups CO ester, NH amine and NH<sub>2</sub> secondary amine, linearity with a linear regression coefficient of 0.996 at a concentration of 1-5%, precision with RSD value <2% and accuracy in the range 92-102%, The results of assay of Bovine Serum Albumin indicate that this method meets the requirements of the validation parameters.*

**Keywords:** *single chain Fragment variable (scFv), NS1, dengue, FTIR*



## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim.*

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena berkat segala rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul ***Analisis Bovine Serum Albumin Sebagai Standar Penentuan Kadar Single Chain Fragment Variabel Anti-NS1 Virus Dengue menggunakan Metode Spektrofotometri Fourier Transform Infrared.*** Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. apt. Dewi Astriany, M.Si., dan Bapak apt. Melvia Sundalian, M.Si. atas bimbingan, nasihat, dukungan serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M.Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. apt. Revika Rachmaniar, M.Farm., selaku Ketua Program Studi S1 Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
3. apt. Yola Desnera P, M.Farm., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
4. Staf dosen, administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
5. Ayah, Mamah, dan adik-adik yang telah memberi semangat, doa dan cinta serta menemani penulis di saat-saat sulit selama penelitian dan penyusunan skripsi.
6. Serta sahabat-sahabat terdekat yang sudah memberi dukungan dan bantuan kepada penulis selama menempuh perkuliahan.
7. Rekan-rekan seperjuangan kelas reguler pagi B dan mahasiswa angkatan 2017 yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama penulis kuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
8. Untuk diri sendiri, terimakasih sudah mau bertahan sampai detik ini, terimakasih atas semua usaha dan upayanya, terimakasih untuk usaha berproses menjadi lebih baik, terimakasih juga sudah mau berusaha menyadarkan diri bahwa diri sendiri ternyata tidak seburuk itu.

9. Dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan perhatiannya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang.

Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat bagi masyarakat luas, institusi pendidikan, dan khususnya penulis sendiri.

Bandung, Agustus 2021

Penulis



## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	i
KUTIPAN .....	i
ABSTRAK .....	iv
<i>ABSTRACT</i> .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Kegunaan Penelitian .....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Demam Berdarah .....	4
2.1.1 Patofisiologi Demam Berdarah Dengue .....	5
2.1.2 Patogenesis Demam Berdarah .....	6
2.2 Virus Dengue .....	6
2.3 Antigen dan Antibodi .....	7
2.4 Protein NS1 Virus Dengue .....	7
2.5 <i>Single chain Fragment variable</i> (scFv) .....	8
2.6 Spektroskopi .....	9
2.7 Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	9

BAB III	ALAT, BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	14
3.1	Alat Penelitian .....	14
3.2	Bahan Penelitian.....	14
3.3	Metode penelitian .....	14
3.3.1	Analisis Spektrofotometri FTIR .....	14
3.3.2	Pembuatan Kurva Kalibrasi.....	14
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	15
4.1	Validasi Metode Analisis .....	16
4.1.1	Selektivitas .....	17
4.1.2	Linearitas .....	18
4.1.3	Presisi .....	19
4.1.4	Akurasi .....	19
BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA .....	20
5.1	Simpulan.....	20
5.2	Alur Penelitian Selanjutnya.....	20
DAFTAR PUSTAKA	.....	21
LAMPIRAN	.....	24



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Identifikasi gugus fungsi pada inframerah.....	13
Tabel 4.1 Penentuan Presisi .....	19
Tabel 4.3 Penentuan Akurasi.....	19

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Model antibodi dan bagian ScFv yang terdiri dari <i>variable heavy</i> (VH) dan <i>variable light</i> (VL) yang dihubungkan oleh peptida fleksibel.....	9
Gambar 2.2 Komponen utama dalam spektrofotometer FTIR .....	10
Gambar 4.1 Spektrum FTIR <i>Bovine Serum Albumin</i> .....	17
Gambar 4.2 Kurva Baku antara Konsentrasi VS Absorbansi.....	18



## DAFTAR PUSTAKA

- Abrosimova K.V., Shulenina O.V., Paston S.V. 2016. "study of secondary structure of bovine serum albumin and ovalbumin". *Journal of Physics*. 1742-6596
- Achmadi, U.F. 2010. Manajemen Demam Berdarah Berbasis Wilayah. Dalam *Buletin Jendela Epidemiologi* (Agustus, Volume 2). Jakarta 15-20
- Adams, M.J., 2004, *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*, Edition 2. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Ahmad, Z. A., Yeap S. K., Ali, A. M., Ho, W.Y, Alitheen, N.B. M., dan Muhajir Hamid. 2012. "ScFv Antibody: Principle and clinical application". *Clin Dev Immunol*. Hal. 1-15
- Alcon, A., Talarmin., Falconar, A. K. I. Deubel, V., and Flamand, M. 2002. "Enzyme Linked Immunosorbent Assay to dengue virus type 1 nonstruktural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease of patients experiencing primary or secondary infections" *Microbial. J. Clin.* 40 (2): 376-381.
- Bessoff, K., Beltran, M., Vergne E, Hunsperger E. 2007. "Evaluation of a commercial NS-1 antigen capture ELISA for the diagnosis of acute dengue infection." *Am J Trop Meh Hyg.* 77(5): 217-218.
- Candra, A. 2010. *Demam berdarah Dengue. Epidemiologi, Patogenesis, dan Faktor Risiko Penularan*. Aspirator Volume 2 (2): Hal. 110 - 119.
- Davies, D. R., and Metzger, H. 1983. "Structural basis of antibody function" *Annual Review of Immunology*. 1:87-11.
- Dowd, S. E., Halonen, M.J., dan Marier, R. M. 2009."Immunological Methods", *Environmental Microbiology*. Hal. 225-241
- Giwangkara S, EG., 2006. *Aplikasi Logika Syaraf Fuzzy Pada Analisis Sidik Jari Minyak Bumi Menggunakan Spektrofotometer Infra Merah Transformasi Fourier (FTIR)*. Sekolah Tinggi Energi dan Mineral, Cepu – JawaTengah.
- Harmita. 2004. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Majalah ilmu kefarmasian*. 1 (3): 117-135.
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. 205-211.
- Hart, H., Caine, L.E. and Hart. D.J. 2003. *Kimia Organik*, Edisi Kesebelas. Erlangga. Jakarta.

- Hastuti, O. 2008. *Demam Berdarah Dengue Penyakit dan Cara Pencegahannya*. Yogyakarta : Kanisius.
- Herdady, M.R dan R. Mustarichie. 2018. Perkembangan dan Potensi Vaksin DBD dari Berbagai Negara. *Farmaka*. 16(3):106-115.
- Ida, M., Aliya, N, H., Gia, A, f., Ida, A., Mutakin dan Muchtaridi. 2019. *Modifikasi Metode Ekstraksi Pada Penetapan Kadar Suspensi Simentikon Dengan Metode FTIR*. Halaman 125-133.
- Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. 2001. *Immunobiology*. Edisi 5. New York: Garland Publishing. h. 337, 448.
- Kementrian Kesehatan RI. 2010. Demam Berdarah Dengue di Indonesia Tahun 1968-2009. *Buletin Jendela Epidemiologi* 2010. 2: 1-14 Kementrian Kesehatan RI Jakarta.
- Kunare, I. 2007 "Dengue Hemorrhagic Fever with Special Emphasis on Immunopathogenesis" *Comparative Immunology, Microbiology & Infections Disease*. 30:329-340.
- Rafaat, N., Stuart D. Blackshell., and Richard J. Maude. 2019. A Review of Dengue Diagnostics and Implications for Surveillance and Control. *Tropical Medicine and Hygiene*. 113:653-660
- Rohaeti E, Heryant R, Rafi M, Wahyuningrum A, dan Darusman LK. 2011. Prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) menggunakan kombinasi *spektroskopi* IR dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *Jurnal Kimia*. 5(2).
- Rohimmahtunnissa, A., Saly, A, A., Rodatul, J., Susi, K., dan Firdayani. 2019. *Pengembangan dan validasi analisis kuantitatif Natrium seftriakson dengan menggunakan metod FTIR-ATR*. Halaman 83-90.
- Rohman, A. And Che Man, Y. (2010). FTIR Spectroscopy combined with chemometrics for analysis of lard in the mixtures with body fat of lamb, cow, and chicken. *Int. J. Food Chemistry*. 129, p.583-588
- Rohman, Abdul. 2014. *Spektrofotometri Inframerah dan kemometri untuk analisis Farmasi*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- Rudhanto, D. S., 2009. "Pengkondisian Sinyal Pada Rancang Bangun *Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared)*." *PhD Thesis, Department of Physics, Diponegoro University*.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty
- Satari, H. I., dan Meiliasari, M. 2004. *Demam Berdarah*. Jakarta : Puspa Swara.



- Scaturro, P., Cortese, M., Chatel-Chaix, L., Fischl, W., Bartenschlager, R. 2015. "Dengue virus non-structural protein 1 modulates infectious particle production via interaction with the structural proteins". *Plos pathogens*. 1:32.
- Shen, Z., Mernaugh, R., Yan, H., Yu, L., Zhang, Y., et al. 2005. "Engineered Recombinant Protein Expression in *Escheria coli*". *Journal of Biotechnology*. 11;113-128
- Soegijanto, S. 2005. *Patogenesisa dan Perubahan Patofisiologi Infeksi Virus Dengue*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamental and Applications*. Philadelphia: Saunders College Publishung.
- Sukowati, S. 2010. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue dan Pengendaliannya di Indonesia, Vol 2. *Buletin Jendela Epidemiologi*. 25-27.
- Tajima, S., Takasaki, T. Kurane, I. 2008 "Characterization of Asn130-to-Ala mutant of dengue type 1 virus NS1 protein, Virus Genes". *Springer Science Business Media*. 36(2):323-329
- Utami, B. 2008 "Pemanfaatan antibodi dalam diagnosis demam berdarah dengue". *Jurnal Ekologi Kesehatan*. 7(3): 795-802
- Vidhya, V.R dan N. Palaniappan. 2019. Role of NS1 In Early Detection of Dengue during Epidemics. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 8(4): 229-236
- Vyas,.M. 2013. Medline.Plus..<http://www.nih.gov/medlineplus/ency/article/001374.html>
- World Health Organization. 2004. *Pencegahan dan Pengendalian Dengue dan Demam Berdarah Dengue*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.