

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL TERHADAP
KESTABILAN ANTIBODI SCFV 6D4B10 ANTI-NS1 DENV
DENGAN KONSTRUK VL-*LINKER*-VH-BAD**

SKRIPSI

**PRISKILA KELLY ANGELIKA
A 183 031**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2020**

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL TERHADAP
KESTABILAN ANTIBODI SCFV 6D4B10 ANTI-NS1 DENV
DENGAN KONSTRUK VL-*LINKER*-VH-BAD**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**PRISKILA KELLY ANGELIKA
A 183 031**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2020**

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKUL TERHADAP
KESTABILAN ANTIBODI SCFV 6D4B10 ANTI-NS1 DENV
DENGAN KONSTRUK VL-*LINKER*-VH-BAD**

**PRISKILA KELLY ANGELIKA
A 183 031**

September 2020

Disetujui oleh :

Pembimbing



Dewi Astriany, M.Si., Apt.

Pembimbing



Muhammad Yusuf, M.Si., Ph.D.

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

PERSEMBAHAN

Skripsi ini ditulis sebagai ucapan syukur atas talenta dan berkat yang selalu Tuhan Yesus limpahkan pada saya, sebagai persembahan kepada kedua orang tua yang senantiasa membawa nama saya dalam setiap doa mereka, sebagai ucapan terima kasih kepada rekan-rekan yang selalu membimbing, menemani, dan memberikan semangat dalam setiap kata yang dapat saya tuliskan.

ABSTRAK

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi virus *dengue* (DENV) yang dibawa oleh vektor nyamuk *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus*. Sebagai negara tropis, Indonesia mengalami kasus kematian dan jumlah pasien yang tinggi akibat penyakit ini. Namun sayangnya, pengobatan imunoterapi anti-DENV yang spesifik masih belum tersedia. Tahapan diagnosis yang cepat dan interpretasi yang tepat menjadi dasar yang penting dalam pengobatan demam berdarah. Dengan perkembangan teknologi antibodi, ditemukan molekul *single-chain variable Fragment* (scFv) 6D4B10 memiliki potensi anti-DENV spesifik, sehingga dapat berperan sebagai komponen diagnostik untuk deteksi DENV berbasis antibodi. Adapun penelitian ini mengarah pada kajian kestabilan scFv 6D4B10 yang dirancang dengan penambahan *linker* dan *Biotin Acceptor Domain* (BAD) guna meningkatkan kualitas struktur VL-VH dari scFv pada media deteksi. Studi *in-silico* scFv dimulai dengan pemodelan dan optimasi struktur protein menggunakan aplikasi *Modeller* 9.23, evaluasi model, hingga simulasi dinamika molekul dengan aplikasi *Amber* 16 dan *Amber tools* 17. Sedangkan visualisasi dan analisis hasil simulasi dinamika molekul menggunakan *Visual Molecular Dynamics*. Pemodelan scFv natif dan scFv-BAD berbasis homologi menggunakan templat protein 4F9L memberikan hasil evaluasi stereokimia yang baik pada plot Ramachandran dan *Z-score* pada ProSA. Grafik RMSD menyatakan bahwa struktur BAD pada scFv mulai stabil pada waktu 45 ns dan nilai RMSF BAD hingga 20,4409 Å. Sedangkan visualisasi hasil simulasi dinamika molekul menyatakan bahwa struktur *linker* maupun BAD tidak mengganggu sisi pengikatan scFv.

Kata kunci : Demam Berdarah Dengue, *Homology modelling*, ScFv 6D4B10, *Linker*, BAD, Simulasi Dinamika Molekul.

ABSTRACT

Dengue Haemorrhagic Fever (DHF) is a dengue virus infection disease (DENV) carried by the mosquito vector Aedes aegypti or Aedes albopictus. As a tropical country, Indonesia faces high cases of death and number of patients due to this disease. Unfortunately, specific anti-DENV immunotherapy treatment is still not available. Rapid diagnosis and proper interpretation are important bases in the treatment of dengue fever. With the development of antibody technology, it was found that the 6D4B10 single-chain variable Fragment (scFv) molecule has specific anti-DENV potential, so that it can act as a diagnostic component for antibody-based DENV detection. This research leads to a study of the stability of scFv 6D4B10 which is designed with the addition of linker and Biotin Acceptor Domain (BAD) to improve the quality of the VL-VH structure of scFv in the detection medium. The in-silico study begins with modelling and optimization of protein structure using Modeller 9.23 application, model evaluation, and molecular dynamics simulations using Amber 18 and Amber tools 17 application. Meanwhile, visualization and analysis of molecular dynamics simulation results using Visual Molecular Dynamics. Homology modeling using 4F9L protein template gave good stereochemical evaluation results on the Ramachandran plot and Z-score on ProSA. RMSD graph shows that the BAD structure on scFv begins to stabilize at 45 ns and RMSF value of BAD was up to 20,4409 Å. Meanwhile, the visualization results states that neither the linker nor BAD interfere with the binding site of scFv.

Keywords : *Dengue Haemorrhagic Fever, Homology modelling, ScFv 6D4B10, Linker, BAD, Molecular Dynamic Simulations.*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa berkat kasih karunia-Nya yang Ia limpahkan, penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “**Simulasi Dinamika Molekul Terhadap Kestabilan Antibodi Scfv 6d4b10 Anti-NS1 DENV Dengan Konstruksi VL-Linker-VH-BAD**” dengan baik dan tepat waktu. Laporan disusun berdasarkan data selama penulis melaksanakan praktik *in-silico* di Pusat Riset Bioteknologi Molekular dan Bioinformatika Universitas Padjajaran dari tanggal 1 Juli hingga 10 September 2020. Adapun penulisan laporan ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Studi Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Selama penyusunan Laporan Tugas Akhir ini, penulis mendapatkan banyak dukungan doa, motivasi, dan bimbingan. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis hendak mengucapkan banyak terima kasih kepada Dewi Astriany, M.Si., Apt. dan Muhammad Yusuf, M.Si., Ph.D. selaku pembimbing yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan arahan selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan juga kepada :

1. Adang Firmansyah, M.Si., Apt., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
2. Revika Rachmaniar, M. Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
3. Deby Tristiyanti, S.Si., M.Farm., Apt., sebagai dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan selama dua tahun masa perkuliahan.
4. Seluruh dosen pengajar staf laboratorium, dan karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan dan pengalaman kepada penulis.
5. Pimpinan, seluruh apoteker, analis Laboratorium *Research and Development* PT. Meprofarm *Pharmaceutical Industries* Bandung.
6. Staf Laboratorium Komputasi Riset Bioteknologi molekular dan Bioinformatika Universitas Padjajaran.

7. Rekan-rekan Konversi 2018 Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah bekerja sama, memberikan dorongan dan semangat kepada penulis selama masa perkuliahan dalam 4 semester yang singkat ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan Laporan Tugas Akhir ini yang penulis tidak dapat sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Laporan Tugas Akhir ini masih harus disempurnakan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak guna penyempurnaan isi maupun penulisan di masa mendatang. Semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri maupun semua pihak yang membacanya.

Bandung, 10 September 2020

Priskila Kelly Angelika

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Identifikasi Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.5. Waktu dan Tempat Penelititan	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Virus Dengue.....	5
2.2. Fragmen antibodi <i>Single-chain Fragment variable (scFv)</i>	10
2.3. Bioinformatika.....	13
2.4. Pemodelan Homologi	17
2.5. Simulasi Dinamika Molekul.....	19
BAB III TATA KERJA	21
3.1. Alat	21
3.2. Bahan.....	21
3.3. Metode Penelitian	21
3.3.1. Pencarian Templat Menggunakan BLAST.....	21
3.3.2. Pemodelan ScFv Menggunakan Modeller 9.23.....	22

3.3.3. Evaluasi Hasil Pemodelan ScFv	22
3.3.4. Simulasi Dinamika Molekul pada ScFv Natif dan ScFv-BAD	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1. Pencarian Templat Menggunakan BLAST	24
4.2. Pemodelan ScFv Menggunakan Modeller 9.23.....	26
4.3. Evaluasi Hasil Pemodelan ScFv	30
4.4. Simulasi Dinamika Molekul pada ScFv Natif dan ScFv-BAD	34
BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA	40
5.1. Simpulan.....	40
5.2. Alur Penelitian Selanjutnya	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN 1.....	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Genom virus dengue mengkode 3 struktur (<i>capsid</i> [C], <i>membrane</i> [M], dan <i>envelope</i> [E] dan 7 non-struktural protein (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, dan NS5) (Guzman <i>et al.</i> , 2010).....	5
2.2. Siklus hidup vektor nyamuk <i>Aedes aegypti</i> , sekitar 3-4 hari setelah makan darah, nyamuk betina menghasilkan rata-rata 100–200 telur (Carneiro & Santos, 2017)	6
2.3. Langkah-langkah utama untuk infeksi arbovirus dalam vektor: (1) arthropoda terpapar dan menjadi terinfeksi saat menelan darah dari inang <i>viremic</i> ; (2) infeksi sel epitel pada midgut oleh partikel virus yang tertelan, dengan demikian terjadi replikasi virus dan menyebar dalam epitel midgut; (3) penyebaran dan amplifikasi virus dari midgut ke jaringan sekunder; (4) infeksi kelenjar ludah; dan (5) pelepasan virus ke saluran saliva transmisi horizontal, yang dapat menyebabkan inokulasi menjadi inang vertebrata yang tidak terinfeksi pada saat <i>refeeding</i> (Carneiro & Santos, 2017).....	7
2.4. Peta persebaran infeksi DENV 1-4 dari 2000-2013 di seluruh dunia (Messina, 2014).....	10
2.5. Epitop adalah situs dalam antigen yang mengikat reseptor antigen. Antigen besar seperti protein bisa mengandung lebih dari satu epitop (ditunjukkan merah dan biru) dan dengan demikian dapat mengikat antibodi yang berbeda (ditunjukkan disini dengan warna yang sama sebagai epitop yang mereka ikat). Antibodi umumnya mengenali epitop di permukaan dari antigen (Janeway, 2001).....	11
2.6. Pembelahan antibodi menjadi Fab dan Fac menggunakan enzim papain. Fab terdiri dari dua sisi pengikatan antigen yang identik	12
2.7. Model antibodi yang menunjukkan komposisi subunit dan distribusi domain sepanjang rantai polipeptida. Antibodi <i>single chain Fragment variable</i> (scFv) yang dihasilkan dari teknologi antibodi rekombinan ditampilkan dengan menggunakan ikatan atau jembatan glisin-serin antara rantai VH dan VL (Ahmad <i>et.al.</i> , 2012)	13

2.8.	Tampilan laman http://www.rscb.org/pdb	14
2.9.	Tampilan laman BLAST, terdapat dua pilihan utama data utama, sekuens asam amino / protein atau sekuens nukleotida / materi genetik.	16
2.10.	Tahapan pemodelan homologi (Pitman & Menz, 2006)	18
4.1.	Hasil <i>alignment</i> templat dengan (a) scFv natif dan scFv-BAD (b)	25
4.2.	Data PDB kode 4F9L sebagai templat dengan resolusi X-Ray 3,1404 Å	26
4.3.	Hasil <i>superimpose</i> (a) model scFv natif (rantai berwarna hijau tua dan <i>linker</i> berwarna merah) dengan templat (rantai berwarna biru); (b) model scFv-BAD (berwarna hijau muda dengan <i>linker</i> dan BAD berwarna merah)	27
4.4.	Grafik Nilai DOPE Model templat, scFv nativ, dan scFv-BAD	29
4.5.	Hasil analisis Plot Ramachandran (a) scFv natif (b) scFv-BAD	30
4.6.	Hasil analisis Plot Ramachandran terhadap model scFv natif (a) dan scFv-BAD (b) yang sudah dioptimasi	32
4.7.	Hasil analisis <i>Z-score</i> pada (a) templat, (b) scFv natif, (c) scFv-BAD ..	34
4.8.	Grafik RMSD (a) dan RMSF (b) hasil simulasi dinamika molekul	36
4.9.	<i>Superimpose</i> model scFv natif selama simulasi (bagian dalam lingkaran merah menunjukkan <i>linker</i>)	38
4.10.	<i>Superimpose</i> model scFv-BAD selama simulasi (bagian dalam lingkaran merah menunjukkan BAD)	38
4.11.	Model scFv-BAD sebelum simulasi berlangsung	39
4.12.	Model scFv-BAD setelah simulasi	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Pencarian Templat.....	45
2. Nilai DOPE Model scFv 6D4B10	46

DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Daftar Istilah

- BAD** : *Biotin Acceptor Domain*, protein yang melekatkan biotin pada fragmen antibodi
- Conjugate gradient* : Kumpulan perintah pada komputer (algoritma) penyelesaian persamaan linear tertentu untuk menemukan minimum lokal dengan pengulangan
- Cut off* : Jarak terjauh interaksi van der Waals yang diperhitungkan dalam perhitungan komputer
- Dinamika molekul : Teknik simulasi komputer yang mengamati pergerakan molekul yang saling berinteraksi untuk memperoleh sifat sistem yang dikaji
- DENV** : *Dengue Virus*, virus yang menyebabkan penyakit Demam Berdarah
- DOPE** : *Discrete Optimized Energy*, besarnya energi struktur model 3D yang menentukan kualitas model
- Homology modelling* : Metode pemodelan struktur 3D molekul dengan menggunakan templat dengan tingkat kesamaan tertentu
- Identity* : Persentase jumlah asam amino yang sama pada dua sekuens protein
- In-silico* : Studi untuk memahami proses biologis dengan simulasi komputer
- Linker* : Jembatan antara rantai berat dan ringan scFv terdiri atas 10-25 asam amino
- Natif : Keadaan awal tanpa penambahan atau perubahan struktur lain
- Restraint* : Tahanan gaya
- ScFv** : *Single chain Fragment variable*, domain pengikatan antigen fungsional terkecil dari antibodi, terdiri atas rantai ringan dan berat dihubungkan dengan peptida fleksibel (sekitar 30 kDa)

Sekuens	: Urutan
<i>Sequence alignment</i>	: Proses penjajaran dua sekuens asam amino dengan derajat kesamaan tertentu
<i>Steepest descent</i>	: Algoritma optimasi orde pertama untuk menemukan minimum lokal dari suatu fungsi
Templat	: Cetakan
Trajektori	: Urutan foto dalam simulasi dinamika suatu sistem molekul yang mewakili koordinat atom dari periode waktu tertentu
VH	: <i>Variable Heavy</i> , variabel rantai berat dari domain pengikatan antigen pada antibodi
VL	: <i>Variable Light</i> , variabel rantai ringan dari domain pengikatan antigen pada antibodi
<i>Z-score</i>	: Nilai analisis model protein dengan protein hasil eksperimen

Daftar Singkatan

BDS	: <i>Biovia Discovery Studio</i>
BLAST	: <i>Basic Local Alignment Search Tools</i>
CPU	: <i>Central Processing Unit</i>
DBD	: Demam Berdarah Dengue
GPU	: <i>Graphical Processing Unit</i>
NCBI	: <i>National Center fo Biotechnology</i>
NMR	: <i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NS	: Nonstruktural, merujuk pada protein yang dihasilkan DENV
PDB	: <i>Protein Data Bank</i> , repositori data biologis
ProSA	: <i>Protein Structure Analysis</i> , program berbasis <i>web</i> untuk validasi struktur protein
PSI	: <i>Position Specific Iterated</i>
RAM	: <i>Random Access Memory</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
RMSF	: <i>Root Mean Square Fluctuation</i>

VMD : *Visual Molecular Dynamic*

Daftar Lambang

Å : Angstrom
GB : *Giga byte*
GHz : *Giga hertz*
ns : Nanosekon
ps : Pikosekon

Daftar Asam Amino

Alanin	Ala	A
Sistein	Cys	C
Asam Aspartat	Asp	D
Asam Glutamat	Glu	E
Fenilalanin	Phe	F
Glisin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleusin	Ile	I
Lisin	Lys	K
Leusin	Leu	L
Metionin	Met	M
Asparagin	Asn	N
Prolin	Pro	P
Glutamin	Gln	Q
Arginin	Arg	R
Serin	Ser	S
Treonin	Thr	T
Valin	Val	V
Triptofan	Trp	W
Tirosin	Tyr	Y

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Z.A., Swee Keong Yeap, Abdul M. A., Wan Yong Ho, Noorjahan B. M. A., & Muhajir H. 2012. "ScFv antibody : principles and clinical application". *Clinical And Development Immunology* 12 (01) : 1-15.
- Allen, M. P. 2004. Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *Computational Software Matter* 23:1-28.
- Angela, C.W.C, Yee Sie Choong, & Theam Soon Lim. 2016. "Phage display-derived antibodies : application of recombinant antibodies for diagnostics." *Intech* 07 : 107-135.
- Angle, M.H.S. 2013. "Transmisi transovarial virus dengue pada nyamuk betina *Aedes spp*". *Jurnal Biomedik* 5 (01) : 26-31.
- Apte-Sengupta, S.; Sirohi, D.; Kuhn, R.J. 2014. "Coupling of replication and assembly in flaviviruses". *Curr. Opin. Virol* 14 (9): 134–142.
- Avirutnan, P., Fuchs, A., Hauhart, R.E., Somnuk, P., Youn, S., & Diamond, M.S., 2010. "Antagonism of the complement component C4 by flavivirus nonstructural protein NS1. *The Journal of Experimental Medicine* 207 (4) : 793–806.
- Baroroh, U. 2018. "Desain struktur mutan α -amilase *Saccharomycopsis fibuligera* R64 untuk meningkatkan adsorptivitasnya terhadap substrat dengan menggunakan metode bioinformatika." *Tesis*. Jurusan Bioteknologi. Bandung: Universitas Padjajaran. Hal. 21; 25-26.
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., & Bourne.P. E. 2000. "The protein data bank". *Nucleic acid Res.* 28(01) : 235-242.
- Bhatt, S., Gething, P.W., Brady, O.J., Messina, J.P., Farlow, A.W., & Moyes, C.L. 2013. "The global distribution and burden of dengue". *Nature* 496 (7446) : 504-515.
- Brady, O.J., Gething, P.W., Bhatt, S., Messina, J.P., Brownstein, J.S., & Hoen, A.G. 2012. "Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus". *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 6 (8) : 1760.
- Candra, A. 2010. "Demam berdarah dengue: epidemiologi, patogenesis, dan faktor risiko penularan." *Aspirator*. 2 (02) : 110-119.
- Coultrier, S.M., Couty, S., Tersikg, A., Marguerat, L., Crivelli, V., Pugnueres, M., Mani, J.C., Leisinger, H.J., Mach, J.P., & Deperthes, D. 2000. "Streptabody, a high avidity molecule made by tetramerization of in vivo biotinylated, phage-

- display-selected scFv fragments on streptavidin". *Permaon Molecular Immunology*. 37 : 1067-1077.
- Dwivedi, V.D., Tripathi, I.P., Tripathi, R.C., Bharadwaj, S., & Mishra, S.K. 2017. "Genomics, Proteomics and Evolution of Dengue Virus". *Briefings in Functional Genomics* 16 (4) : 217-227.
- Edi. 2017. "Bioinformatika : Komputer + Statistika + Matematika + Biologi". *Jurnal Times*. 6 (1) : 23-25
- Gelanev, T. & Hunsperger E. 2018. "Development and characterization of serotype-specific monoclonal antibodies against the dengue virus-4 (DENV-4) non-structural protein (NS1)". *Virol J*. 15 (1):1-12.
- Guzman, M.G. & Vazquez, S. 2010. "The complexity of antibody-dependent enhancement of dengue virus infection". *Viruses*.
- Guzman, M.G. and Harris, E., 2015. "Dengue". *The Lancet* 385 (9966) : 453–65.
- Halstead, S.B. 2008. "Dengue virus-mosquito interactions". *Annual Review of Entomology* 53 :273–91.
- Irianto, K. 2018. *Biologi Molekuler*. Alfabeta. Bandung.
- Janeway, C. A., P. Travers, M. Walport. 2001. *Immunobiology* 5th edition. Garland Publishing.
- Jones, M.L., Legge, F.S., Lebani, K., Mahler, S.M., Young, P.R., Watterson, D., Treutlein, H.R., & Zeng, J. Computational identification of antibody epitopes on the dengue virus NS1 protein. *Molecules*. 2017.
- Karyanti, M.R. & Hadinegoro, S.R. 2016. "Perubahan Epidemiologi Demam Berdarah Dengue Di Indonesia". *Sari Pediatri*.
- Kementerian Kesehatan RI. 2010. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2009*. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
- Kementerian Kesehatan RI. 2018. *Profil Kesehatan Indonesia. 2017*. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
- Laskowski, R., MacArthur, M., Moss, D. & Thornton, J. 1993. "PROCHECK : a program to check the stereochemical quality of protein structures". *Journal of Crystallography* 26(2):283-291.
- Luscombe, N. M., Greenbaum, D., & Gerstein, M. 2001. "Review : what is bioinformatics ? an introduction and overview." *Yearbook of Medical Bioinformatics* 83-100.

- Masyeni, S., Yohan, B., Somia, I.K.A., Myint, K.S.A., & Sasmono, R.T. 2018 “Dengue infection in international travellers visiting Bali, Indonesia”. *Journal of Travel Medicine*.
- Messina, Jane P., Oliver J.B., Thomas W.S, Chenting Z., David M.P., Kirsten A.D., Samir B., Leah K, Rosalind E.H., Katherine E.B., Cameron P. S, dan Simon I.H. 2014. “Global spread of dengue virus types : mapping the 70 year history”. *Trends in Microbiology* 22(05) : 138-146.
- Monnier, P.P., Vigouroux, R.J., & Tassew, N.G. 2013. “In vivo application of single chain Fv (variable domain) (scFv) fragments”. *Antibodies* 02 (13) : 193-208.
- Muchtaridi & M. Yusuf. 2018. Teori dan Praktek Penambatan Molekul (*Molecular Docking*). Unpad Press. Bandung.
- Mura, C. & McAnany, C.E. 2014. “An introduction to biomolecular simulations and docking.” *Molecular Simulation* 40 (10-11): 732-764.
- Muttaqin, F.Z., Pratama, M.F., & Kurniawan, F. 2019. “Molecular docking and molecular dynamic studies of stilbene derivative compounds as sirtuin-3 (sirt3) histone deacetylase inhibitor on melanoma skin cancer and their toxicities prediction”. *Journal of Pharmacopolium* 02(02) : 112-121.
- Nishiura, H. & Halstead, S. B. 2007. Natural history of Dengue Virus DENV–1 and DENV-4 infections: reanalysis of classic studies. *The Journal of Infectious Diseases* (195):1007–1013.
- Noor R.I, Aryati, & Wardhani P. 2015. Kerkaitan Antigen NS1 Infeksi Virus Dengue Dengan Serotipe Virus Dengue. *J Indonesia* 21(3):261-265.
- Pieper, U., Eswar, N., Braberg, H., Madhusudhan, M. S., Davis, F. P., Stuart, A. C., Mirkovic, N., Rossi, A., Marti-Renom, M. A., Fiser, A., Webb, B., Greenblatt, D., Huang, C. C., Ferrin, T. E., & Sali, A. 2004. “MODBASE, a database of annotated comparative protein structure models, and associated resources”. 1 (32): 217-222.
- Pitman, M. R. & Menz, R. I. 2006. “Methods for protein homology modelling”. *Elsevier* 6 (01): 37-59
- Poungpair, O., Kunan B, Prapaipit C., Nunghathai S., Nichapatr S. Kiattwee C., Wanpen C., & Pa-thai Y. 2014. “Generation of human single-chain variable fragment antibodies specific to dengue virus non-structural protein 1 that interfere with the virus infectious cycle”. *mAbs Landes Bioscience* 6 (2) : 474-482.
- Puerta-Guardo, H., Mosso, C., Medina, F., Liprandi, F., Ludert, J.E., & del Angel, R.M. 2010. “Antibody dependent enhancement of dengue virus infection in

- U937 cells requires cholesterol-rich membrane microdomains”. *Journal of General Virology* 91 (2) : 394–403.
- Sari, Y.I.P., 2019. “Studi *In Silico* Antibodi dan Antigen Virus Dengue Serotipe 2 Indonesia Untuk Pengembangan Agen Diagnostik Demam Berdarah”. *Skripsi Jurusan Farmasi*. Bandung : Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Hal 34-35.
- Schwede, T., Sali, A., Eswar, N., Peitsch, M.C. 2008. *Protein Structure Modelling In Computational Structural Biology* World Scientific Publishing. Singapore.
- Sellahewa, K.H. 2013. “Pathogenesis of Dengue Haemorrhagic Fever and Its Impact on Case Management”. *ISRN Infectious Diseases* : 1–6.
- Shen, M. & Sali, A. 2006. “Statistical potential for assesment and prediction of protein structures”. *Protein Science*. 15:2507-2524.
- Thongrunkiat, S., Maneekan, P., Wasinpiyamongkol, L., dan Prummongkol, S. 2011. “Prospective field study of transovarial denguevirus transmission by two different forms of *Aedes aegypti* in an urban area of Bangkok, Thailand”. *Journal of Vector Ecology*. 36 (1) : 147–52.
- Wahala, W.M.P.B. & de Silva, A.M. 2011. “The human antibody response to dengue virus infection”. *Viruses*. 3 (12) : 2374–95.
- WHO. 2009. “Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control”. Geneva : World Health Organization.
- Wowor, M. F. 2011. “Deteksi Dini Demam Berdarah Dengue Dengan Pemeriksaan Antigen NS1”. *Jurnal Biomedik JBM* 3(1) : 1-9.