

**EKSPRESI *SINGLE CHAIN FRAGMENT VARIABLE* ANTI-NS1
VIRUS DENGUE SEROTIPE 2 DENGAN VARIASI
KONSENTRASI *ISOPROPYL- β -D-THIOGALACTOPYRANOSIDE*
(IPTG) DAN SUHU DALAM MEDIA LURIA BERTANI**

SKRIPSI

**SHERLYNDA FEBRIANI AJI KUSUMA
A183039**



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

**EKSPRESI *SINGLE CHAIN FRAGMENT VARIABLE* ANTI-NS1
VIRUS DENGUE SEROTIPE 2 DENGAN VARIASI
KONSENTRASI *ISOPROPYL- β -D-THIOGALACTOPYRANOSIDE*
(IPTG) DAN SUHU DALAM MEDIA LURIA BERTANI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SHERLYNDA FEBRIANI AJI KUSUMA
A183039**



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

**EKSPRESI *SINGLE CHAIN FRAGMENT VARIABLE* ANTI-NS1
VIRUS DENGUE SEROTIPE 2 DENGAN VARIASI
KONSENTRASI *ISOPROPYL- β -D-THIOGALACTOPYRANOSIDE*
(IPTG) DAN SUHU DALAM MEDIA LURIA BERTANI**

SKRIPSI

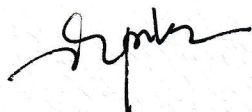
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SHERLYNDA FEBRIANI AJI KUSUMA
A183039**

September 2020

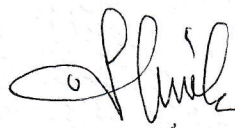
Disetujui oleh :

Pembimbing



apt. Dewi Astriany, M.Si

Pembimbing



Shinta Kusumawadani, M.Si

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

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua Orang tua saya, adik serta seluruh pihak terkait yang telah membantu, mendukung, dan mendoakan kelancaran penulisan hingga terselesaikannya skripsi ini.

ABSTRAK

Non-structural protein 1 (NS1) merupakan glikoprotein yang diekspresikan pada permukaan sel terinfeksi virus dengue dan dapat dideteksi sejak hari pertama demam, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai penanda dalam meramalkan pasien yang mengalami demam berdarah. Antigen NS1 dapat dideteksi menggunakan antibodi yang spesifik terhadap NS1. Pada penelitian ini diproduksi fragmen antibodi anti-NS1 dalam bentuk *single chain fragment variable* (scFv-anti NS1). ScFv dapat diproduksi menggunakan sistem ekspresi bakteri *Escherichia coli* menggunakan *Isopropyl-β-D-thiogalactopyranoside* (IPTG) sebagai penginduksi. Tujuan dari penelitian adalah memperoleh konsentrasi IPTG dan suhu yang optimal pada ekspresi scFv dalam media Luria Bertani (LB). Karakterisasi scFv hasil ekspresi menggunakan metode SDS-PAGE menunjukkan pita protein pada 35 kDa pada konsentrasi IPTG 0,1 dan 0,5 mM pada suhu 28°C; 0,5 dan 1,0 mM pada suhu 30°C; serta 1,0 mM pada suhu 37°C. Konsentrasi IPTG 0,5 mM pada suhu 28°C merupakan konsentrasi optimum dalam ekspresi scFv-anti NS1 virus dengue serotip 2 dalam media Luria Bertani.

Kata kunci : NS1, dengue, *single chain fragment variable* (scFv), IPTG, suhu, media Luria Bertani

ABSTRACT

Non-structural protein 1 (NS1) is a glycoprotein that expressed on the surface of dengue virus-infected cells and can be detected from the first day of fever, so it has the potential to be used as a marker in predicting patients with dengue fever. NS1 antigen can be detected using specific antibodies to NS1. In this study, anti-NS1 antibody fragments were produced in the form of a single chain fragment variable (scFv-anti NS1). ScFv can be produced using Escherichia coli bacterial expression system using Isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside (IPTG) as an inducer. The aim of the study was to obtain the optimal IPTG concentration and temperature for the expression of scFv in Luria Bertani (LB) medium. Characterization of the scFv results using the SDS-PAGE method showed protein bands at 35 kDa at IPTG concentrations of 0.1 and 0.5 mM at 28°C; 0.5 and 1.0 mM at 30°C; 1.0 mM at 37°C. IPTG concentration of 0.5 mM at 28° C was the optimum concentration in the expression of scFv-anti NS1 dengue virus serotype 2 in the Luria Bertani medium.

Keywords: *NS1, dengue, single chain fragment variable (scFv), IPTG, temperature, Luria Bertani medium*

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala berkah rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“Ekspresi *Single Chain Fragment Variable* Anti-NS1 Virus Dengue Serotip 2 dengan Variasi Konsentrasi *Isopropyl-β-D-Thiogalactopyranoside* (IPTG) dan Suhu dalam Media Luria Bertani”**. dibawah bimbingan apt. Dewi Astriany, M.Si dan ibu Shinta Kusumawardani, M.Si, yang merupakan syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana pada Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Pada kesempatan kali ini, dengan keikhlasan hati, penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. apt. Adang Firmansyah, M.Si., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. apt. Revika Rachmaniar, M. Farm., selaku Ketua Program Studi,
3. apt. Debby Tristiyanti, M. Farm., selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis,
4. Seluruh staf dosen, staf administrasi, peneliti, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia dan Pusat Riset Bioteknologi Molekuler dan Bioinformatika Universitas Padjajaran
5. Keluarga Konversi 2018 yang telah memberikan inspirasi dan kegembiraan selama penulis berkuliah di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

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. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Bandung, September 2020

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| KUTIPAN | iii |
| LEMBAR PERSEMBAHAN | iv |
| ABSTRAK | v |
| ABSTRACT | vi |
| KATA PENGANTAR..... | vii |
| DAFTAR ISI..... | viii |
| DAFTAR TABEL | x |
| DAFTAR GAMBAR..... | xi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Identifikasi Masalah..... | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 2 |
| 1.4 Kegunaan Penelitian | 2 |
| 1.5 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1 Penyakit Demam Berdarah di Indonesia | 4 |
| 2.2 Virus Dengue | 4 |
| 2.3 Infeksi Virus Dengue | 6 |
| 2.4 Mekanisme Infeksi Dengue | 7 |
| 2.5 <i>Single Chain Fragment Variable</i> | 7 |
| 2.6 Media Luria Bertani..... | 8 |
| 2.7 Plasmid..... | 9 |
| 2.8 Ekspresi Gen pada Sel Prokariot | 10 |
| 2.9 Elektroforesis Gel | 12 |
| BAB III TATA KERJA | 13 |
| 3.1 Alat..... | 13 |

| | |
|--|-----------|
| 3.2 Bahan | 13 |
| 3.3 Metode Penelitian | 13 |
| 3.3.1 Pembuatan Prekultur | 13 |
| 3.3.2 Pembuatan Kultur scFv terbiotinilasi | 13 |
| 3.3.3 Ekspresi scFv Rekombinan | 14 |
| 3.3.4 Elektroforesis SDS-PAGE | 14 |
| BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN..... | 16 |
| 4.1 Pembuatan Prekultur | 16 |
| 4.2 Pembuatan Kultur ScFv terbiotinilasi..... | 16 |
| 4.3 Ekspresi ScFv Rekombinan | 18 |
| 4.4 Elektroforesis SDS-PAGE..... | 19 |
| BAB V SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA..... | 31 |
| 5.1 Simpulan | 31 |
| 5.2 Alur Penelitian Selanjutnya | 31 |
| DAFTAR PUSTAKA | 32 |
| LAMPIRAN..... | 38 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 4.1 Bobot pelet hasil sentrifugasi | 19 |
| 4.2 Interpretasi Keberadaan SCFV-BAD pada SDS-PAGE | 29 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 2. 1 Struktur Flavivirus | 5 |
| 2. 2 Struktur Antibodi | 8 |
| 2. 3 Plasmid pET - 21b..... | 10 |
| 2. 4 Operon Laktosa | 11 |
| 4. 1 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 28° C, Tanpa IPTG. S1: Sampling setelah nilai OD tercapai, S2: Setelah inkubasi 18 jam, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: Supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS | 20 |
| 4. 2 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 28° C, Konsentrasi IPTG 0,1 mM dan 0,5 mM. S1: Sampling setelah nilai OD tercapai, S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: Supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS..... | 21 |
| 4. 3 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 28° C, Konsentrasi IPTG 0,5 mM dan 1 mM. S1: Sampling setelah nilai OD tercapai, S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: Supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS | 22 |
| 4. 4 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 30° C, Tanpa IPTG dan dengan penambahan IPTG 0,1 mM. S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: Supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS..... | 23 |
| 4. 5 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 30° C, Konsentrasi IPTG 0,1 mM dan 0,5 mM. S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: Supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS | 24 |
| 4. 6 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 30° C, Konsentrasi IPTG 0,1 mM dan 0,5 mM. S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS | 25 |
| 4. 7 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 37° C, Tanpa IPTG dan dengan penambahan IPTG 0,1 mM. S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS..... | 26 |
| 4. 8 Visualisasi SDS-PAGE Gel Suhu 37° C, Konsentrasi IPTG 0,1 mM dan 0,5 mM. S2: Setelah induksi, S3: Supernatan setelah sentrifugasi, S4: Setelah sonikasi, SS: supernatan hasil sonikasi yang disentrifugasi, SS1: Sampling SS | 27 |

4. 9 Visualisasi SDS-PAGE Sampel pelet pada suhu 28° C, 30° C, dengan kondisi tanpa induksi IPTG, serta konsentrasi IPTG 0,1 mM; 0,5 mM; dan 1 mM... 28
4. 10 Visualisasi SDS-PAGE Sampel pelet pada suhu 37° C, dengan kondisi tanpa induksi IPTG, serta konsentrasi IPTG 0,1 mM; 0,5 mM; dan 1 mM 28

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1 ALUR PENELITIAN..... | 38 |
| 2. PEMBUATAN MEDIA DAN LARUTAN | 40 |
| 3. PROSEDUR PEMBUATAN LARUTAN SDS-PAGE..... | 44 |

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, U.F. 2010. Manajemen Demam Berdarah Berbasis Wilayah. Dalam *Buletin Jendela Epidemiologi* (Agustus, Volume 2). Jakarta. 15-20.
- Ahmad, Z.A, Swee Keong Yeap, Abdul Manaf Ali, Wan Yong Ho, Noorjahan Banu Mohamed Alitheen, dan Muhajir Hamid. 2012. ScFv Antibody: Principles and Clinical Application. *Clinical and Developmental Immunology Volume 2012*. Hindawi Publishing Corporation. Doi:10.1155/2012/980250.
- Al-Halabi, Laila., dan Meyer, T. 2010. In Vivo Biotinylated scFv Fragments. *Antibody Engineering*. Vol (2). 219-266.
- Al-Tubuly, A.A. 2000. SDS-PAGE and Western Blotting. *Methods in Molecular Medicine, Diagnostic and Therapeutic Antibodies*. Humana Press Vol.40.
- Analyst. 2018. Biotinylated Single-Chain Variable Fragment-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Glycocholic Acid. *Royal Society of Chemistry*. 143. 2057-2065.
- Andersen, D. C., dan Reily, D. E. 2004. Production Technologies for monoclonal Antibodies and Their Fragments. *Science Direct*. 15:456-462.
- Amin, H.Z dan S. Sungkar. 2013. Perkembangan Mutakhir Vaksin Demam Berdarah Dengue. *Elektronik Jurnal Kesehatan Indonesia*. 1(03):226-233.
- Aryati dan P. Wardhani. 2010. Profil Virus Dengue di Surabaya Tahun 2008-2009. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 17(1):21-24.
- Aryati, Soetjipto, Soedjoko Hariadhi, Fedik Rantam, Soegeng Soegijanto. 2006. Profil serotipe virus dengue di Indonesia tahun 2003-2005. *Majalah Kedokteran Tropis Indonesia (MKTI)*.17(1): 72–80.
- Aryati. 2012. Analisis Filogenetik Dengue di Indonesia. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 18(02): 111-116.
- Aryati. 2017. *Buku Ajar Demam Berdarah Dengue Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Bahena, J. M. Vasquez., Estrada, Vega J.W., Hernandes, Santiago J., Ortega-Lopez, L. B., Flores-Cotera, M. C., Montes-Horcasitas, M.E., *et al.* 2006. Expression and Improved Production of The Soluble Extracellular Invertase from

- Zymomonas mobilis* in *Escherichia coli*. *Enzyme and Microbial Technology*. 40. 61-66.
- Balmaseda, A., S. N. Hammond, dan Perez. 2006. Serotype- Specific Differences in Clinical Manifestation of Dengue. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 74: 449-456l.
- Bollag, D. M., Rozycki, M. D., Edelstein, S. J. 2000. *Protein Methods Second Edition*. New York: Wiley-Liss Inc.
- Campbell, N.A dan J.B. Reece. 2010. *Biologi* (diterjemahkan oleh: Damaring Tyas Wulandari). Jakarta: Penerbit Erlangga. 8(1):380-400.
- Fulcrand, G., Dages, S., Zhi, X., Chapagain, P., Gerstman, B.S., Dunlap, D. & Leng, F. 2016. A critical signal regulating the basal expression of the lac operon in *Escherichia coli*. *Scientific Reports*. 6(19243) : 1–12.
- Gadgil, M., Kapur, V., dan Hu, W. 2005. Transcriptional Response of *Escherichia coli* to Temperature Shift. *Biotechnol.Prog*. 21, 689-699.
- Gaffar, S., Aji, S.M.N., Hartati, Y.W., Ishmayana, S., Subroto, T. 2017. Ekspresi Fragmen Antibodi Rekombinan, Anti BNP-scFv dalam Periplasma Inang *Escherichia coli* untuk Deteksi Gagal Jantung. *Molekul*. 12(1): 30-36.
- Harapan, H., Michie, A., Mudatsir, M., Sasmono., R. T., Imrie, A. 2019. Epidemiology Of Dengue Hemorrhagic Fever In Indonesia: Analysis Of Five Decades Data From The National Disease Surveillance. *BMC Research Notes*. (2019) 12:350.
- Herdady, M.R dan R. Mustarichie. 2018. Perkembangan dan Potensi Vaksin DBD dari Berbagai Negara. *Farmaka*. 16 (3):106-115.
- Hulseweh, B. 2018. Single-chain Fragment Variable (scFv) with Medical Potential. *Medical Research and Innovations (MRI)* ISSN: 2514-3700. 2(3): 1-2.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Kasus DBD Terus Bertambah, Masyarakat di Himbau Maksimalkan PSN*. Direktorat Jerdral P2P, diakses melalui: <http://p2p.kemkes.go.id>. 23 Februari 2020.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. *Kesiapsiagaan Menghadapi Peningkatan Kejadian Demam Berdarah Dengue Tahun 2019*. Direktorat Jerdral P2P, diakses melalui: <http://p2p.kemkes.go.id>. 13 Oktober 2019.
- Lescar, J dan S. Lok. 2014. The Structural Biology of Dengue Virus. *Dengue and Dengue Hemorrhagic fever 2nd Edition*. 2: 365-376

- Losen, M., Frolich, B., Pohl, M., dan Buchs, J. 2004. Effect of Oxygen Limitation and Medium Composition on *Escherichia coli* Fermentation in Shake-flask Cultures. *Biotechnol.Prog.* 20, 1062-1068. Doi:10.1021/bp034282t.
- Marini, G., Luchese, M. D., Argondizzo, A. P. C., de Goes, A. C. M. A., Galler, R., Alves, T. L. M., *et al.* 2014. Experimental design approach in recombinant protein expression: determining medium composition and induction conditions for expression of pneumolysin from *Streptococcus pneumoniae* in *Escherichia coli* and preliminary purification process. *BMC Biotechnology*, 14(1), pp. 1–13.
- Medina, M. B., Uknalis, J. and Tu, S. (2011) *Effects Of Sugar Addition In Luria Bertani (Lb) Media On Escherichia Coli O157 : H7*, 31, pp. 386–394. doi: 10.1111/j.1745-4565.2011.00311.x.
- Messens, J., dan Collet, J. F., 2006. Pathways of Disulfide Bond Formation in *Escherichia coli*. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 38, 1050-1062. doi: 10.1016/j.biocel.2005.12.011
- Mcbrien, D. C. H., & Moses, V. 1966. *Effect of Isopropylthiogalactoside on Induction of the Galactose Operon by D-Fucose in a Lactose Deletion Mutant of Escherichia coli*, 91(3), 1391–1392.
- Nor, S., Ramanan, R. N., Tan, J. S., Rahim, R. A., Abdullah, M. P., Ariff, A. B. 2010. Screening for the optimal induction parameters for periplasmic producing interferon- 2b in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 9(38), pp. 6345–6354.
- Noor, R.I., Aryati., Puspa Wardhani. 2012. Keterkaitan Antigen NS1 Infeksi Virus Dengue dengan Serotipe Virus Dengue. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 18(02):87-91.
- Oktaviani, E., Ekaningtiaas, M. 2019. Analisis Protein Isolat Bakteri *Escherichia coli* BL21 Menggunakan *Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE). *Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains (PENBIOS)*. 4(1).1-7.
- Ou, J., Wang, L., Ding X., Du, J., Zhang, Y., Chen, H., *et al.* 2004. Stationary phase protein overproduction is fundamental capability of *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 314, 174-180.
- Palmer, I. dan Wingfield, P. T. 2004. Preparation and Extraction of Insoluble (Inclusion-Body) Proteins from *Escherichia coli*. *NIH Public Access*. 1–25. doi: 10.1002/0471140864.ps0603s38

- Peng, L., Xu, Z., Fang, X., Wang, F., Cen, P. High-Level Expression of Soluble Human b-defensin-2 in *Escherichia coli*. *Process Biochem.* 2004:2199-205.
- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press.
- Poungpair, O., Bangphoomi, K., Chaowalit, P., Sawasdee, N., Saokaew, N., Choowongkomon, K., *et al.* 2014. Generation of Human Single-Chain Variable Fragment Antibodies Specific to Dengue Virus Non-Structural Protein 1 that Interfere with The Virus Infectious Cycle. *Landes Bioscience. Volume 6 issue 2.* <http://dx.doi.org/10.4161/mabs.27874>.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga. 108-115.
- Pratiwi, R. D. 2019. Optimasi Ekspresi Human Epidermal Growth Factor (h-EGF) Rekombinan. *Chimica et Natura Acta.* 7(2), 91–97. <https://doi.org/https://doi.org/10.24198/cna.v7.n2.23824>.
- Puspitaningrum, R., C. Adhiyanto., Solihin. 2018. *Genetika Molekuler dan Aplikasinya*. Yogyakarta: Deepublish Publisher.
- Raafat, N., Stuart D. Blackshell., dan Richard J. Maude. 2019. A Review of Dengue Diagnostics and Implications for Surveillance and Control. *Tropical Medicine and Hygiene.* 113:653-660.
- Roudsari, M. F., Tehrani, A. A., dan Maghsoudi, N. 2016. Comparison of Three *Escherichia coli* Strains in Recombinant Production of Retaplase. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology.* 8(1). 16-22.
- Rosano, G.L dan E.A. Ceccarelli. 2014. Recombinant Protein Expression in *Escherichia coli* Advances and Challenges. *Frontiers in Microbiology.* Vol:5.
- Sambrook, J dan D.W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York (US):* Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sezonov G, Joseleau-Petit D, D'Ari R. 2007. *Escherichia coli* physiology in Luria-Bertani broth. *J Bacteriol.* 8746-8749.doi:0.1128/JB.01368-07.
- Silaban, S., Simorangkir, M., Maksum, I. P., Subroto, T., Hasan, K. 2013. Pengaruh Suhu pada Ekspresi Pretrombin-2 Manusia Rekombinan di *Escherichia coli* ER2566. *Jurnal Sains Indonesia.* 42(2). 25-30.
- Singh, A., Upadhyay, V., Upadhyay, A. K., Singh, S. M., Panda, A. K. 2015. Protein Recovery from Inclusion Bodies of *Escherichia coli* using Mild Solubilization Process. *Microbial Cell Factories.* 14(41). 1-10.

- Sørensen, H. P., & Mortensen, K. K. 2005. Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in *Escherichia coli*, 115, 113–128. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2004.08.004>
- Srivastava, P., Bhattacharaya, P., Pandey, G., Mukherjee, K. J. 2005. Overexpression and purification of recombinant human interferon alpha2b in *Escherichia coli*. *Protein Exp. Purif.* 41: 313-322.
- Sukandar, E.Y., Retnosari Andrajati., Joseph I. Sigit., I Ketut Adnyana., Adji Prayitno Setiadi., Kusnandar. 2011. *ISO Farmakoterapi 2*. Jakarta: Penerbit Ikatan Apoteker Indonesia. 182-189.
- Sukowati, S, 2010. Masalah Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) dan Pengendaliannya di Indonesia. Dalam *Buletin Jendela Epidemiologi* (Agustus, Volume 2). Jakarta. 26-30.
- Suroso, C. T. 2004. *Informasi Produk PanBio Dengue Fever Rapid Strip IgG dan IgM. Edisi ke-2*. Jakarta: PT. Pasific Biotekindo Intralab. 3-16.
- Sung, C., S. Kumar., S.G. Vasudevan. 2014. Dengue Drug Development. *Dengue and Dengue Hemorrhagic fever 2nd Edition.* 2: 293-321.
- Tegel, H. 2013. Proteome Wide Protein Production. *Doctoral disertation*. KTH Royal Institute of Technology.
- Thenawidjaja, M., W.T. Ismaya., D.S. Retroningrum. 2017. *Protein: Serial Biokimia Mudah dan Menggungah*. Jakarta: PT Grasindo.
- Valente, C. A., Monteiro, G. A., Cabral, J. M., Fevereiro, M., Prazeres, D. M. 2006. Optimization of the primary recovery of human interferon alpha2b from *Escherichia coli* inclusion bodies. *Protein Exp. Purif.* 45: 226-34.
- Vaughn, D. W., Green, S., Kalayanarooj, S., Innis, B. L., Nimmanitya, S., Suntayakom, S., *et al.* 2000. *Dengue Viremia Titer, Antibody Response Pattern, and Virus Serotype Correlate with Disease Severity*. *JID* 2000;181 (January):2-9
- Vidhya, V.R dan N. Palaniappan. 2019. Role of NS1 In Early Detection of Dengue during Epidemics. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 8 (4): 229-236.
- Wahala, W.M.P.B dan A.M. de Silva. 2011. The Human Antibody Response to Dengue Virus Infection. *Viruses.* 3(12):2374-2395.

- Weisser, N dan J.C. Hall. 2009. Applications of Single-Chain Variabel Fragment Antibodies In Therapeutics And Diagnostics. *Biotechnnnology Advances*. 27:502-520.
- Werin, B. 2019. *Optimising IPTG and Lactose Induction of Recombinant Expression with Flow-based Online Analysis*. Master Thesis: Departement of Biotechnology Lund University, Sweden.
- World Health Organization. 2009. *Dengue Guidelines for Diagnosis Treatment, Prevention and Control*. France: WHO Press.
- World Health Organization. 2012. *Global Strategy for Dengue Prevention and Control 2012-2020*. France: WHO Press.
- Yacoub, S., Farrar, J. 2015. Dengue Viral Infection. *Manson's Tropical Infection Diseases (Twenty-third Edition)*. 2(15): 162-170.
- Yao, H., Fang M, Zhao W., Fuqin Duan., Lhui Lin., Cuihua Chen., Huiyu Guo. 2002. *Identification of Genentic Variation Among Dengue Virus DEN-4 Isolates with Heteroduplex Analysis*. *Dengue Buletin vol.26*. hlm.118-124.
- Yuningsih, R. 2019. Pemberdayaan Masyarakat dalam Penanggulangan Kejadian Luar Biasa Demam Berdarah Dengue. *Info Singkat, Kajian Singkat Terhadap Isu Aktual dan Strategis*. 11(03): 13-18.
- Yuwono, T. 2005. *Biology Molecular*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Zihadia. 2007. "Epidemiologi dan Diagnosis Dengue di Indonesia". Dalam *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. IV No.3, Desember 2007. ISSN: 1693-9883. Jakarta.