

TESIS

**KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *Open Reading Frame* (ORF)1 DAN ORF2 VIRUS HEPATITIS E PADA BABI ISOLAT LOKAL di INDONESIA SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN**

**PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS**



Oleh :  
**RURY MEGA WAHYUNI**  
NIM 061224453002

**PROGRAM STUDI MAGISTER  
VAKSINOLOGI DAN IMUNOTERAPETIKA  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2016**

**KARAKTERISASI MOLEKULER GEN *Open Reading  
Frame* (ORF)1 DAN ORF2 VIRUS HEPATITIS E  
PADA BABI ISOLAT LOKAL di INDONESIA  
SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN**

**PENELITIAN EKSPLORATIF LABORATORIS**

**TESIS**

**untuk memperoleh gelar Magister  
dalam Program Studi Vaksinologi dan Imunoterapetika  
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga  
Surabaya**

**RURY MEGA WAHYUNI  
NIM 061224453002**

**PROGRAM STUDI MAGISTER  
VAKSINOLOGI DAN IMUNOTERAPETIKA  
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2016**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul :

**Karakterisasi Molekuler Gen *Open Reading Frame* (ORF)1 dan ORF2  
Virus Hepatitis E pada Babi Isolat Lokal di Indonesia  
Sebagai Kandidat Vaksin**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 15 Januari 2016




**Rury Mega Wahyuni**  
NIM. 061224453002

**Lembar Pengesahan**  
TESIS INI TELAH DISETUJUI  
Tanggal 5 Januari 2016

Oleh:

Pembimbing Ketua



**Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, Drh.**

NIP. 195910031987011001

Pembimbing



**Didik Handijatno, Drh., M.S., PhD.**

NIP. 195410181981031001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Vaksinologi dan Imunoterapetika  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



**Didik Handijatno, Drh., M.S., PhD.**

NIP. 195410181981031001

Tesis ini Telah diuji dan dinilai pada

Tanggal: 5 Januari 2016

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc.

Anggota : 1. Prof. Dr. C.A. Nidom, drh., MS  
2. Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, drh.  
3. Prof. Dr. Fedik A. Rantam, drh.  
4. Didik Handijatno, drh, MS., PhD.

Surabaya, 15 Februari 2016

Fakultas Kedokteran Hewan  
Universitas Airlangga  
Dekan,

The image shows a blue circular official stamp of Universitas Airlangga, Faculty of Veterinary Medicine. The stamp contains the text 'UNIVERSITAS AIRLANGGA' and 'FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN'. Overlaid on the stamp is a handwritten signature in black ink.

**Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes**  
NIP. 195601051986011001

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur Kehadirat Allah SWT atas kasih karunia yang telah dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis yang berjudul **“Karakterisasi Molekuler Gen *Open ReadingFrame* (ORF)1 dan ORF2 Virus Hepatitis E pada Babi Isolat Lokal d Indonesia Sebagai Kandidat Vaksin”**, sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih kepada Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., M.Kes atas kesempatan berharga yang diberikan kepada penulis untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Ketua program studi S2 Vaksinologi dan Imunoterapetika, Didik Handijatno, drh, MS., PhD yang senantiasa memberikan bimbingan, motivasi, dukungan moril dan saran kepada penulis selama menempuh pendidikan magister dan penyelesaian penelitian tesis ini.

Proses penyusunan tesis ini tidak terlepas dari peranan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kembali kepada Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam selaku pembimbing pertama, Didik Handijatno, drh, MS., PhD, selaku pembimbing kedua yang telah memberikan komitmen dan dedikasinya yang luar biasa dalam membimbing penulis hingga terselesaikannya penulisan tesis ini.

Kepada Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh., M.Sc., Prof. Dr. C.A. Nidom, drh., MS., dan Dr. A.T. Soelih Estoepangestie, drh., selaku dosen penguji yang

senantiasa memberikan kesediaan untuk memeriksa, menguji dan memberikan masukan dalam penyempurnaan proposal dan tesis.

Seluruh staf pengajar S2 Vaksinologi dan Imunoterapetika Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan yang diberikan kepada penulis selama mengikuti pendidikan di program magister.

Seluruh pimpin dan staf Laboratorium Hepatitis *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga : Prof. Soetjipto, dr., M.S., Ph.D., Prof. Maria Lucia Inge Lusida, dr., MKes., PhD., SpMK, Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD., Takako Utsumi, PhD, Dr. Juniastuti, dr., M.Kes., dr. Priyo Budi Purwono, M.Si, Moch. Amin, S.Si., M.Si, Anittaqwa Istimagfiroh, S.Si., M.Si, drh. Zayyin Dinana, Siti Eriaty Nur Ruslan, B.Sc, dan Nihayatus Sa'adah, S.Si, M.Sc atas bimbingan, bantuan dan motivasinya.

Kepada kedua orang tua, ibunda Hj. Siti Farida Mansyur, ayahanda Drs. H. M. Rochim Wahyudi (Alm.), ibunda mertua Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S, SpMK dan ayahanda mertua dr. Djohar Nuswantoro, M.PH atas kasih sayang, dukungan dan doa yang diberikan tulus kepada penulis. Kepada suami tercinta Pramadhi Dharma, S.Kom terima kasih atas doa, cinta kasih, dukungan dan semangat yang selalu diberikan kepada penulis. Kakak-kakak tersayang Rofidah Hanis Mardhika, SH, drg. Rofinia Anggraini, M. Rochly Wahyudi, A.Md., serta kakak-kakak ipar Joko Kritiono, A.Md, dan R. Adhitya Krisna Mukti, SE. yang telah memberi doa, dukungan dan motivasinya selama ini.

Rekan-rekan seperjuangan selama menempuh pendidikan di Prodi Vaksinologi dan Imunoterapeutika Edy Budi Soesila, drh., Rio Darlis Ahyari,

drh., Amel Hendri, drh., Nora Ertanti, drh., Aristika Dinar Yanti, drh, Hellen Susilowati, S.KM., Lia Nur Aini, drh., Rizki Kriesty, drh., Dwi Kurniati, drh., Rofiqul A'la, drh., Indra, drh., Deya Karsari, drh. M.Si., serta seluruh mahasiswa prodi S2 Vaksinologi dan Imunoterapeutika, terima kasih atas kerjasama dan kekompakkannya.

Sahabat-sahabat tercinta Anastasia Ayu Savitri, drh., Almaedawati Erina, M.Si, drh., Dieta Ria Ricellyna, drh., Sean Young Beatrice, drh., Kristina Widyayanti, drh., Ayu Setiawati, drh., yang selalu mendukung dan mendoakan. Kepada Adiana Mutam Sari, drh, M.Vet., Aditya Yoppi Ro Candra drh., dan Andik Prastiawan, drh, M. Vet terima kasih atas bantuannya selama ini.

Terima kasih kepada semua pihak, serta seluruh teman-teman yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu penulis dalam kelancaran penelitian ini.

Surabaya, Januari 2016

Penulis



## RINGKASAN

**“Karakterisasi Molekuler Gen *Open Reading Frame* (ORF)1 dan ORF2  
Virus Hepatitis E pada Babi Isolat Lokal di Indonesia  
Sebagai Kandidat Vaksin”**

Virus Hepatitis E (VHE) merupakan salah satu penyebab utama infeksi hepatitis akut di seluruh dunia, khususnya pada negara berkembang dimana sanitasi air yang buruk. Angka mortalitas infeksi akut VHE diperkirakan 0.5-3% dari populasi umum dan dapat mencapai 20% pada wanita hamil yang terinfeksi. Virus Hepatitis E ditularkan melalui jalur *faecal-oral* seperti mengkonsumsi daging babi yang mentah atau setengah matang dan air minum yang terkontaminasi tinja. Virus hepatitis E ini terdiri dari empat genotipe. Genotipe 1 dan 2 ditemukan pada manusia, sedangkan genotipe 3 dan 4 dapat ditemukan pada manusia dan babi sehingga dimungkinkan bersifat zoonosis.

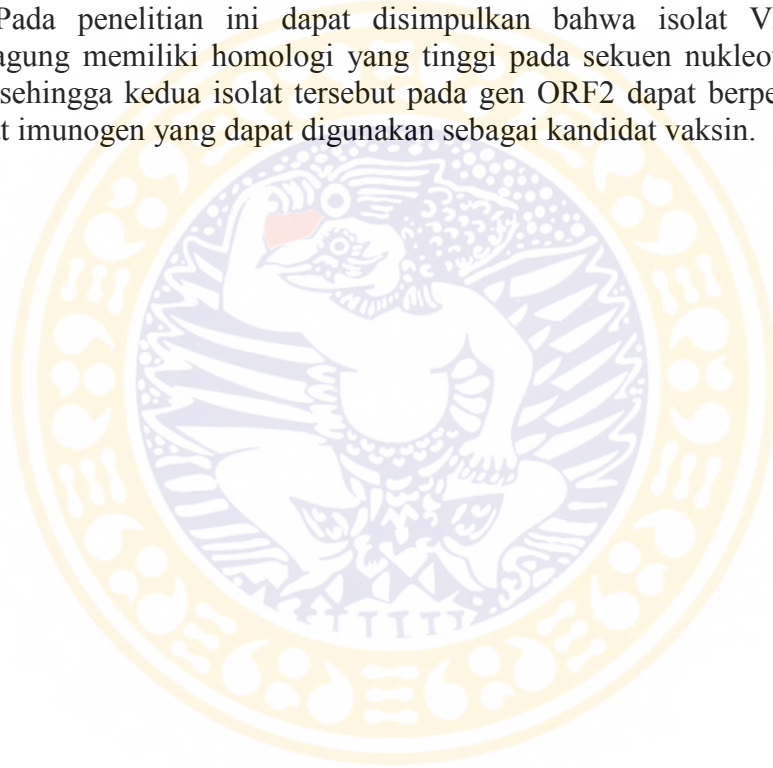
Terbuktinya frekuensi antibodi yang tinggi pada orang yang kontak dengan babi dan hubungan genetik yang dekat antara VHE pada manusia dan babi dari wilayah geografis yang sama akan mendukung penyebaran VHE dengan cara zoonosis. Oleh karena itu, pencegahan infeksi VHE yang tepat saat ini adalah dengan cara vaksinasi. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mencegah transmisi zoonosis infeksi VHE melalui *foodborne* yaitu dengan cara melakukan vaksinasi pada hewan reservoir, yaitu babi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi molekuler dari gen ORF1 dan ORF2 VHE melalui analisis sekuen nukleotida dan asam amino serta prediksi epitop virus hepatitis E isolat lokal (Bali dan Tulungagung).

Sampel berupa serum yang positif serologis virus hepatitis E (VHE) kemudian dilakukan isolasi RNA dengan menggunakan kit, setelah itu dilakukan pemeriksaan *nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR) dengan menggunakan primer yang spesifik pada gen ORF1 dan ORF2. Kemudian hasil positif dari pemeriksaan RT-PCR *second round* selanjutnya disekuensing dengan menggunakan metode *direct sequencing* sehingga diketahui sekuen nukleotida. Sekuen nukleotida selanjutnya diterjemahkan dalam bentuk asam amino. Hasil sekuen nukleotida dan asam amino kemudian di *alignment* menggunakan program GENETYX ver 10. Analisis prediksi epitop sel B dan sel T pada protein gen ORF1 dan ORF2, masing-masing menggunakan *software online* IEDB dan GENETYX ver 10.

Hasil penelitian ini yaitu terdeteksinya fragmen gen ORF1 dan ORF2 dengan panjang 459 bp pada ORF1 dan 458 bp pada ORF2 isolat Bali dan Tulungagung dari hasil amplifikasi *second round nested* RT-PCR. Hasil pohon filogenetik pada gen ORF1 dan ORF2 menunjukkan kedua isolat termasuk dalam genotipe 4. Analisis nukleotida isolat Bali dan Tulungagung pada gen ORF1 dan ORF2 yaitu memiliki homologi sekuen tertinggi sebesar 92% dan 91% dengan

isolat dari Cina (EU676172) pada ORF1. Sedangkan pada gen ORF2, isolat Bali dan Tulungagung sama-sama menunjukkan memiliki homologi sekuen nukleotida tertinggi sebesar 97% dengan isolat dari Bali (AB298179). Sedangkan nilai homologi sekuen nukleotida dan asam amino antara kedua isolat tersebut yaitu 97% homologi nukleotida dan 99% homologi asam amino pada ORF1 dan 98% homologi nukleotida dan 97% homologi asam amino pada ORF2. Hasil analisis prediksi epitop sel B dari masing-masing isolat Bali dan Tulungagung yaitu memiliki 4 dan 5 kandidat epitop sel B pada protein ORF1, serta 6 dan 5 kandidat epitop sel B pada protein ORF2. Hasil analisis epitop sel T pada protein ORF1 menyatakan kedua isolat memiliki kandidat 3 epitop sel T, sedangkan pada protein ORF2 memiliki kandidat 7 dan 6 epitop sel T dari isolat Bali dan Tulungagung.

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat VHE Bali dan Tulungagung memiliki homologi yang tinggi pada sekuen nukleotida dan asam amino, sehingga kedua isolat tersebut pada gen ORF2 dapat berpeluang sebagai kandidat imunogen yang dapat digunakan sebagai kandidat vaksin.



## SUMMARY

### **“Molecular Characterization of Open ReadingFrame (ORF)1 and ORF2 Genes Hepatitis E Virus Among Swine Local Isolates in Indonesia as The Candidate of Vaccines”**

Hepatitis E virus (HEV) is a major cause of acute hepatitis infection worldwide, especially in developing countries where poor sanitation. The mortality rate of acute HEV infection estimated 0.5-3 % of the general population and can increased in infected pregnant woman, with mortality rates of 20%. Hepatitis E Virus is transmitted by the faecal-oral route such as consumption of uncooked or undercooked pork and drinking water contaminated with feces. HEV can be divided into four genotypes. Genotypes 1 and 2 are found in humans, and genotypes 3 and 4 can be found in humans and swine, considered to be zoonotic.

The evidence of the high frequency of antibodies in people who are in contact with a swine and have a close genetic relationship among HEV in humans and swine from the same geographical region will support the transmission of HEV by zoonoses pathways. Therefore, the good prevention of the HEV infection is with vaccination. And one of the ways to prevent transmission of zoonotic infections by foodborne HEV is with vaccination in animal reservoirs, such as swine. The aim of this study is to determine the molecular characterization of the HEV in ORF1 and ORF2 genes by analysis of nucleotide sequences and amino acids and epitopes prediction from HEV local isolates (Bali and Tulungagung).

Hepatitis E Virus positive result by serological test from serum samples, RNA were isolated using RNA kit isolation. The extracted RNA were tested by transcriptase-polymerase chain reaction (RT - PCR) using primer specific to gene of ORF1 and ORF2. Subsequently, the amplified PCR products from the second round RT-PCR were sequenced by direct sequencing method and the nucleotide sequences were translated into amino acids. Both nucleotide and amino acid sequences were aligned using GENETYX ver 10. Analysis of B and T cell epitope prediction from amino acid sequences of protein ORF1 and ORF2 genes were used online software IEDB and GENETYX ver 10, respectively.

The result of this study is fragment of ORF1 and ORF2 genes were detected with a length of 459 bp and 458 bp, respectively from Bali and Tulungagung isolates from the amplified PCR products of the second round RT-PCR. Analysis of phylogenetic tree based on ORF1 and ORF2 revealed that both isolates belonged to genotype 4. Analysis of nucleotide sequences of ORF1 and ORF 2 genes from Bali and Tulungagung isolates showed that 92% and 91% homology with isolates from China (EU676172) in ORF1, while among ORF2 gene from Bali and Tulungagung isolates showed 97% nucleotide sequence homology with isolates from Bali (AB298179). The analysis of HEV nucleotide sequence and amino acid homology among both isolates were 97% nucleotide

sequences homology and 99% amino acid sequences homology in ORF1 and 98% nucleotide sequences homology and 97% amino acid sequences homology in ORF2. The results of the B cell epitope prediction from both isolates, Bali and Tulungagung showed that have 4 and 5 candidate B-cell epitopes on the protein ORF1, as well as 6 and 5 candidate B-cell epitopes on the protein ORF2. Results of the analysis of T cell epitopes in ORF1 protein was both isolates has 3 candidate T cell epitopes, whereas the ORF2 protein had 7 and 6 candidate T cell epitopes of Bali and Tulungagung isolates.

It can be concluded that the HEV Bali and Tulungagung isolates had high homology of nucleotide and amino acid sequences and both isolates in ORF2 genes could be proposed as the new immunogen that needs to be further investigated for use as seed virus candidate for vaccine.



**“Molecular Characterization of Open ReadingFrame (ORF)1 and ORF2  
Genes Hepatitis E Virus Among Swine Local Isolates in Indonesia  
as The Candidate of Vaccines”**

Rury Mega Wahyuni

**ABSTRACT**

The aim of this study was to determine the molecular characterization of the Hepatitis E Virus (HEV) in ORF1 and ORF2 genes by analysis of nucleotide sequences and amino acids and epitopes prediction of HEV local isolates (Bali and Tulungagung).

The serum samples were isolated from local isolates, Bali and Tulungagung, from our previous study. HEV-RNA was detected by RT-PCR using primer specific to gene of ORF1 and ORF2. Amplified PCR products from the second round RT-PCR were sequenced by direct sequencing method and the nucleotide sequences were translated into amino acids. Both nucleotide and amino acid sequences were aligned using GENETYX ver 10. Analysis of B and T cell epitope prediction from amino acid sequences of protein ORF1 and ORF2 genes were used online software IEDB and GENETYX ver 10, respectively.

Fragment of ORF1 and ORF2 genes were detected with a length of 459 bp and 458 bp, respectively from Bali and Tulungagung isolates. Analysis of phylogenetic tree based on ORF1 and ORF2 genes revealed that both isolates belonged to genotype 4. The analysis of HEV nucleotide sequence and amino acid showed that the local isolates have a high homology among both isolates and another isolates from Gen Bank. The ORF2 amino acid sequences of Tulungagung isolates had three unique amino acid substitutions. Based on B and T cell epitopes prediction, protein ORF2 and Bali isolate have more epitopes than protein ORF1 and Tulungagung isolate.

It can be concluded that the HEV of Bali and Tulungagung swine isolates had high homology of nucleotide and amino acid sequences, and can be proposed as candidate of vaccine.

**Key words:** hepatitis E virus, open reading frame (ORF), Indonesia

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG DALAM .....	i
PRASAYARAT GELAR .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
PERSETUJUAN .....	iv
PENETAPAN PANITIA PENGUJI .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
RINGKASAN .....	ix
SUMMARY .....	xi
ABSTRACT .....	xiii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR GAMBAR .....	xviii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG .....	xx
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Permasalahan .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum .....	5
1.3.2 Tujuan Khusus .....	5
1.4 Manfaat Hasil Penelitian .....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis .....	6
1.4.2 Manfaat Praktis .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>7</b>
2.1 Virus Hepatitis E .....	7
2.2 Genom Virus Hepatitis E .....	8
2.2.1 <i>Open Reading Frame 1 (ORF1)</i> .....	8
2.2.2 <i>Open Reading Frame 2 (ORF2)</i> .....	9
2.2.3 <i>Open Reading Frame 3 (ORF3)</i> .....	9
2.3 Genotipe Virus Hepatitis E .....	11
2.4 Siklus Replikasi Virus Hepatitis E .....	13
2.5 Epidemiologi Virus Hepatitis E .....	15
2.6 Transmisi Virus Hepatitis E .....	18
2.7 Patogenesis dan Manifestasi Klinis Virus Hepatitis E .....	20
2.8 Diagnosis Laboratorium Virus Hepatitis E (VHE) .....	21
2.9 Teknologi Vaksin .....	24
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL .....</b>	<b>26</b>

<b>BAB 4 MATERI DAN METODE</b> .....	27
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	27
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian .....	27
4.3 Alat dan Bahan Penelitian .....	27
4.3.1 Alat Penelitian .....	27
4.3.2 Bahan Penelitian .....	28
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	28
4.5 Prosedur Penelitian .....	28
4.5.1 Pemeriksaan RNA VHE Metode PCR .....	28
4.5.2 Purifikasi Hasil PCR .....	31
4.5.3 Sekuensing DNA .....	31
4.5.4 Analisis Data Molekuler dan Prediksi Epitop VHE .....	32
4.6 Bagan Kerangka Operasional .....	33
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN</b> .....	34
5.1 Hasil Amplifikasi Regio Gen ORF1 dan ORF2 VHE dengan <i>Nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i> ..	34
5.2 Analisis Sekuen Nukleotida dan Asam Amino Regio Gen ORF1 Virus Hepatitis E Isolat Lokal .....	36
5.2.1 Hasil Sekuensing Nukleotida Gen ORF1 VHE .....	36
5.2.2 Analisis Homologi Gen ORF1 VHE Isolat Lokal .....	40
5.2.3 Hasil Analisis Filogenetik Gen ORF1 VHE Isolat Lokal ..	41
5.3 Analisis Sekuen Nukleotida dan Asam Amino Regio Gen ORF2 Virus Hepatitis E Isolat Lokal .....	42
5.3.1 Hasil Sekuensing Nukleotida Gen ORF2 VHE .....	42
5.3.2 Analisis Homologi Gen ORF2 VHE Isolat Lokal .....	45
5.3.3 Hasil Analisis Filogenetik Gen ORF2 VHE Isolat Lokal ..	47
5.4 Prediksi Epitop Protein Sel B pada ORF1 dan ORF2 VHE dari Babi Isolat Lokal .....	48
5.5 Prediksi Epitop Protein Sel T pada ORF1 dan ORF2 VHE dari Babi Isolat Lokal .....	49
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	52
6.1 Amplifikasi Regio cDNA Hasil <i>Nested RT-PCR</i> Regio Gen ORF1 dan ORF2 VHE Isolat Lokal .....	53
6.2 Analisis Sekuen Nukleotida dan Asam Amino Regio Gen ORF1 VHE Isolat Lokal .....	55
6.3 Analisis Sekuen Nukleotida dan Asam Amino Regio Gen ORF2 VHE Isolat Lokal .....	57
6.4 Prediksi Epitop Sel B Protein ORF1 dan ORF2 VHE Isolat Lokal ..	58
6.5 Prediksi Epitop Sel T Protein ORF1 dan ORF2 VHE Isolat Lokal ..	60
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	63

7.1 Kesimpulan .....	63
7.2 Saran.....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>69</b>





## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
4.1	Posisi dan sekuen nukleotida dari primer VHE.....	30
5.1	Nilai homologi nukleotida isolat Bali dan Tulungagung pada gen ORF1 terhadap isolat VHE lain dari <i>Gen Bank</i> .....	40
5.2	Nilai homologi asam amino isolat Bali dan Tulungagung pada gen ORF1 terhadap isolat VHE lain dari <i>Gen Bank</i> .....	40
5.3	Nilai homologi nukleotida isolat Bali dan Tulungagung pada gen ORF2 terhadap isolat VHE lain dari <i>Gen Bank</i> .....	46
5.4	Nilai homologi asam amino isolat Bali dan Tulungagung pada gen ORF2 terhadap isolat VHE lain dari <i>Gen Bank</i> .....	46
5.5	Prediksi epitop sel B dari sekuen asam amino VHE ORF1 isolat Babi daerah Bali dan Tulungagung .....	48
5.6	Prediksi epitop sel B dari sekuen asam amino VHE ORF2 isolat Babi daerah Bali dan Tulungagung .....	49
5.7	Prediksi epitop sel T dari sekuen asam amino VHE ORF1 isolat Babi daerah Bali dan Tulungagung .....	50
5.8	Prediksi epitop sel T dari sekuen asam amino VHE ORF2 isolat Babi daerah Bali dan Tulungagung .....	51

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Genom virus hepatitis E .....	10
2.2	Distribusi geografis dari genotipe VHE .....	13
2.3	Siklus replikasi virus hepatitis E .....	15
3.1	Kerangka Konseptual .....	26
4.1	Bagan Kerangka Operasional .....	33
5.1	Hasil elektroforesis <i>second round</i> PCR DNA pada agarose gel elektroforesis .....	35
5.2	Hasil sekuensing nukleotida gen ORF1 VHE dari babi dari isolat Bali dan Tulungagung dengan panjang 408 bp dan 410 bp .....	36
5.3	<i>Multiple alignment</i> susunan nukleotida dari isolat lokal VHE pada gen ORF1 dari Bali dan Tulungagung dibandingkan dengan isolat VHE genotipe 4 lain dari <i>Gen Bank</i> .....	38
5.4	<i>Multiple alignment</i> urutan asam amino dari isolat lokal Bali dan Tulungagung dari gen ORF1 dibandingkan dengan isolat VHE genotipe 4 lain dari <i>Gen Bank</i> .....	39
5.5	Pohon filogenetik berdasarkan susunan nukleotida gen ORF1 isolat Bali dan Tulungagung dipadankan dengan isolat lain dari <i>Gen Bank</i> .....	41
5.6	Hasil sekuensing nukleotida gen ORF2 VHE dari babi dari isolat Bali dan Tulungagung dengan panjang 401 bp dan 395 bp .....	42
5.7	<i>Multiple alignment</i> susunan nukleotida dari isolat lokal VHE pada gen ORF2 dari Bali dan Tulungagung dibandingkan dengan isolat VHE genotipe 4 lain dari <i>Gen Bank</i> .....	44
5.8	<i>Multiple alignment</i> urutan asam amino dari isolat lokal Bali dan Tulungagung dari gen ORF2 dibandingkan dengan isolat VHE genotipe 4 lain dari <i>Gen Bank</i> .....	45
5.9	Pohon filogenetik berdasarkan susunan nukleotida gen ORF2 isolat Bali dan Tulungagung dipadankan dengan isolat lain dari <i>Gen Bank</i> .....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Lokasi primer VHE-ORF1 .....	70
2.	Lokasi primer VHE-ORF2 .....	71
3.	Gambar sarana penelitian .....	72
4.	Hasil elektroforegram sekuen DNA gen ORF1 VHE isolat lokal	74
5.	Hasil elektroforegram sekuen DNA gen ORF2 VHE isolat lokal	75



## SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

°C	= derajat celcius
µl	= microliter
µm	= micrometer
%	= persen
bp	= base pairs
cDNA	= complementary DNA
EIA	= Enzyme Immunoassay
IEM	= Immune Electron Microscopy
IFE	= Immune Fluorescence Microscopy
mRNA	= messenger RNA
nt	= nukleotida
ORF	= Open Reading Frame
PCR	= Polymerase Chain Reaction
PORF	= Protein Open Reading Frame
rpm	= revolution per minutes
RT-PCR	= Reverse Transriptase-PCR
US	= United State
UTR	= Untranslated region
VHE	= Virus Hepatitis E
WHO	= World Health Organization