



## INTISARI

Virus Hepatitis B menyebabkan penyakit pada manusia seperti kanker hati, Indonesia merupakan salah satu negara dengan endemisitas tinggi, Hepatitis B dengan penyebaran yang paling banyak yaitu HBV-SB3. Berdasarkan permasalahan tersebut, pentingnya dibuat vaksin DNA dengan cara pendekatan teknologi DNA Rekombinan. Salah satu cara memperbanyak teknologi DNA Rekombinan yaitu dengan transformasi pada bakteri *Escherichia coli* DH5 $\alpha$ . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keberhasilan transformasi gen *HBcAg* virus Hepatitis B menggunakan vektor pEGFP-N1 pada *host cells* *E. coli* DH5 $\alpha$  dan untuk mengetahui ekspresi gen *HBcAg* dari virus Hepatitis B dengan sistem penghantaran *Lipofectamine* 3000 pada sel HeLa. Metode dalam penelitian ini adalah optimasi kodon dan transformasi plasmid DNA rekombinan pada pEGFP-N1 dan kloning rekombinan yang terbagi menjadi dua tahap yaitu, tahap pertama pembuatan sel kompeten dan tahap kedua transformasi plasmid DNA rekombinan, isolasi plasmid DNA rekombinan, restriksi plasmid, PCR plasmid, sekuensing, transfeksi kultur sel HeLa dan pengamatan fluoresensi pada protein EGFP-*HBcAg*. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah Gen *HBcAg* berhasil dikloning dan ditransformasi pada *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  (pEGFP-N1-*HBcAg*). Berdasarkan hasil PCR bakteri transforman *E. coli* DH5 $\alpha$  berhasil membawa plasmid pEGFP-N1-*HBcAg* dengan panjang 152 bp. Plasmid hasil restriksi menunjukkan terbentuk dua pita band masing – masing berukuran 4733 bp dan 564 bp. Hasil sekuensing yang dianalisa dengan *BioEdit* menunjukkan plasmid rekombinan terdapat satu perbedaan asam basa, tetapi tidak merubah struktur susunan asam amino. Hasil transfeksi kultur sel HeLa menunjukkan terdapat pendaran hijau (fluoresen) pada perlakuan liposom kationik (*Lipofectamine* 3000). Hasil *Real Time PCR* menunjukkan bahwa liposom kationik *Lipofectamine* 3000 volume 3,8  $\mu$ l memiliki ekspresi yang paling tinggi. Kesimpulan pada penelitian ini, yaitu transformasi vektor pEGFP-N1 berhasil dilakukan pada *host cells* *E. coli* DH5 $\alpha$  yang dikonfirmasi dengan PCR koloni dengan panjang 152 bp dan ekspresi gen *HBcAg* dari virus Hepatitis B dengan penghantaran *Lipofectamine* 3000 pada sel HeLa berhasil dilakukan, sehingga dapat digunakan sebagai kandidat vaksin DNA.

**Kata kunci:** Gen *HBcAg* *Lipofectamine* 3000, Transfeksi, Vaksin DNA, Virus Hepatitis B



## ABSTRACT

Hepatitis B virus causes diseases in humans such as liver cancer, Indonesia is a country with high endemicity, Hepatitis B with the most spread, namely HBV-SB3. Based on these problems, it is important to make DNA vaccines using the Recombinant DNA technology approach. One way to reproduce Recombinant DNA technology is by transforming the *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  bacteria. The aims of this study were to determine the successful transformation of the Hepatitis B virus *HBcAg* gene using the pEGFP-N1 vector in *E. coli* DH5 $\alpha$  host cells and to determine the expression of the *HBcAg* gene from Hepatitis B virus with the *Lipofectamine* 3000 delivery system in HeLa cells. The methods in this study were codon optimization and transformation of recombinant DNA plasmids in pEGFP-N1 and recombinant cloning which was divided into two stages, namely, the first stage of making competent cells and the second stage of transformation of recombinant DNA plasmids, isolation of recombinant DNA plasmids, restriction plasmids, plasmid PCR, sequencing, transfection of HeLa cell culture and fluorescence observation on EGFP-*HBcAg* protein. The results obtained in this study were that the *HBcAg* gene was successfully cloned and transformed in *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  (pEGFP-N1-*HBcAg*). Based on the results of the PCR transformant bacteria *E. coli* DH5 $\alpha$  managed to carry the plasmid pEGFP-N1-*HBcAg* with a length of 152 bp. The restriction plasmid showed the formation of two bands of 4733 bp and 564 bp respectively. The sequencing results analyzed with *BioEdit* showed that the recombinant plasmid had one acid-base difference, but did not change the amino acid structure. The results of transfection of HeLa cell culture showed that there was a green glow (fluorescent) in the cationic liposome treatment (*Lipofectamine* 3000). Real Time PCR results showed that *Lipofectamine* 3000 3.8  $\mu$ l cationic liposome had the highest expression. The conclusion of this study is that transformation of the pEGFP-N1 vector was successfully carried out on *E. coli* DH5 $\alpha$  host cells which was confirmed by colony PCR with a length of 152 bp and the expression of the *HBcAg* gene from Hepatitis B virus by delivery of *Lipofectamine* 3000 to HeLa cells was successful, so that it can be used as a DNA vaccine candidate.

**Keywords:** DNA Vaccine, *HBcAg* gene, *Lipofectamine* 3000, Transfection, Hepatitis B Virus