



INTISARI

Penyakit hepatitis B merupakan suatu penyakit yang berbahaya, yang disebabkan oleh infeksi virus. Virus hepatitis B (HBV) merupakan virus DNA yang menyebabkan penyakit hepatitis B pada manusia. Vaksin DNA dibuat dengan memasukkan DNA atau gen yang dapat menyandikan protein imunogenik ke dalam vektor ekspresi pada eukariotik. Gen struktural HBV yang digunakan sebagai sumber untuk vaksin salah satunya adalah dengan gen *HBcAg* (subgenotipe HBV/BB3). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efektifitas plasmid pEGFP-C1 sebagai vektor ekspresi DNA rekombinan untuk gen *HBcAg* dan mengetahui ekspresi gen *HBcAg* virus HBV pada sel HeLa dengan penghantaran Lipofectamine 3000. Penelitian ini diawali dengan kloning molekuler bakteri *E. coli* DH5 α , bakteri

E. coli DH5 α disiapkan menjadi sel kompeten, selanjutnya plasmid yang mengandung gen *HBcAg* ditransformasikan pada sel inang *E. coli* DH5 α dengan metode heat shock, kemudian hasil dari transformasi dievaluasi dengan adanya koloni *E. coli* DH5 α pada media agar LB yang mengandung kanamisin, selanjutnya dilakukan isolasi plasmid DNA rekombinan, restriksi plasmid DNA rekombinan, PCR isolasi plasmid DNA rekombinan menggunakan mini prep kit dan maxi prep kit, kemudian dilakukan sekuensing menggunakan layanan jasa PT. Genetika Science. Selanjutnya dilakukan transfeksi pada sel HeLa dengan urutan perlakuan sebagai berikut: 1) Sel HeLa tanpa transfeksi (kontrol negatif); 2) Sel HeLa transfeksi dengan plasmid (kontrol negatif); 3) transfeksi menggunakan Lipofectamine 3000 dengan volume gradien 1,9 μ l dan 3,8 μ l. Selanjutnya dilakukan uji qPCR untuk melihat ekspresi penghantaran Lipofectamine 3000. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa transformasi plasmid pEGFP-C1 yang mengandung gen *HBcAg* pada bakteri *E. coli* DH5 α berhasil dilakukan, ditandai dengan tumbuhnya koloni bakteri *E. coli* DH5 α pada media LB agar yang mengandung antibiotik kanamisin. Visualisasi pada gel agarosa menunjukkan bahwa plasmid pembawa gen *HBcAg* dapat ditransformasikan pada sel bakteri *E. coli* DH5 α . Hasil data yang diperoleh dari sekuensing dianalisis menggunakan software ClustalW, kemudian untuk mengetahui ekspresi dari penghantaran Lipofectamine 3000 dilakukan uji qPCR dan hasil yang diperoleh dari Ekspresi gen *HBcAg* hepatitis B pada sel HeLa dengan penghantaran Lipofectamine 3000 didapatkan hasil pada pengamatan dengan mikroskop konfokal yakni pada perlakuan dengan Lipofectamine 3000 hasil yang didapatkan sel berpendar hijau (fluoresensi) pada perlakuan volume bergradien 1,9 μ l dan 3,8 μ l sehinggamenandakan dapat terekspresi.

Key: Transformasi, E. coli DH5 α , Lipofectamine 3000, Transfeksi, Sel HeLa



ABSTRACT

Hepatitis B is a dangerous disease, which can be caused by a viral infection. Hepatitis B virus (HBV) is a DNA virus that can cause hepatitis in humans. DNA vaccines are made by inserting DNA or genes that can encode immunogenic proteins into eukaryotic expression vectors. One of the HBV structural genes used as a source for vaccines is the *HBcAg* gene (HBV/B subgenotype B3). The aims of this study were to determine the effectiveness of the pEGFP-C1 plasmid as a recombinant DNA expression vector for the *HBcAg* gene and to determine the expression of the *HBcAg* gene for HBV virus in HeLa cells with Lipofectamine 3000 delivery. This research began with molecular cloning of *E. coli* DH5 α bacteria, *E. coli* bacteria DH5 α was prepared to become competent cells, then the plasmid containing the *HBcAg* gene was transformed into *E. coli* DH5 α host cells by the heat shock method, then the results of the transformation were evaluated by the presence of *E. coli* DH5 α colonies on LB agar media containing kanamycin, then plasmid DNA was isolated recombinant DNA, restriction plasmid DNA recombinant, PCR isolation of recombinant DNA plasmid using the mini prep kit and maxi prep kit, then sequencing was carried out using the services of PT. ScienceGenetics. Then transfected HeLa cells with the following treatment order: 1) HeLa cells without transfection (negative control) 2) HeLa cells transfected with plasmid (negative control) 3) transfections using Lipofectamine 3000 with a gradient volume of 1.9 μ l and 3.8 μ l. The qPCR test was then carried out to strengthen the effectiveness of Lipofectamine 3000 delivery. The results of this study indicated that the transformation of the pEGFP-C1 plasmid containing the *HBcAg* gene to *E. coli* DH5 α bacteria was successfully carried out, marked by the growth of *E. coli* DH5 α colonies on LB agar containing antibiotics. kanamycin. Visualization on the agarose gel showed that the plasmid carrying the *HBcAg* gene could be transformed into *E. coli* DH5 α bacterial cells. The results of the data obtained from the sequencing were analyzed using ClustalW software, then to determine the expression of Lipofectamine 3000 delivery a qPCR test was carried out and the results obtained from the expression of the hepatitis B *HBcAg* gene in HeLa cells with Lipofectamine 3000 delivery were obtained from observations with a confocal microscope, namely in treatment with Lipofectamine 3000 the results obtained were green fluorescent cells (fluorescence) in the gradient volume treatment of 1.9 μ l and 3.8 μ l so that it indicated that it could be expressed.

Key: Transformation, *E. coli* DH5 α , Lipofectamine 3000, Transfection