

INTISARI

Penyakit Mulut dan Kuku (PMK) yang disebabkan oleh virus FMDV telah menyebar di Indonesia pada tahun 2022, mengakibatkan kerugian ekonomi dan dampak negatif pada sektor peternakan. Untuk mengatasi PMK, vaksin DNA rekombinan menjadi alternatif yang menjanjikan dengan potensi yang lebih baik dibandingkan vaksin konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mengekspresikan gen *VP1 serotype O* FMDV pada sel HeLa menggunakan vektor pEGFP-N1 dan sistem penghantaran berbasis fosfolipid, yaitu Lipofectamine™ 3000. Optimasi kodon dilakukan untuk menyesuaikan tingkat preferensi kodon pada organisme target yaitu mamalia. Sekuen hasil optimasi menunjukkan peningkatan nilai CAI dari 0,67 menjadi 0,98 yang kemudian digunakan untuk konstruksi pEGFP-N1-VP1. pEGFP-N1-VP1 ditransformasikan pada *E. coli* DH5 α , dengan hasil transformasi yang signifikan. PCR koloni menunjukkan keberhasilan amplifikasi gen VP1 dengan ukuran 199 bp. Isolasi plasmid berhasil dilakukan dengan konsentrasi DNA sebesar 2106,68 ng/ μ l, menandakan isolasi plasmid dalam jumlah yang cukup dan kemurnian yang tinggi. Kesesuaian sekuens dikonfirmasi dengan sekuensing, dimana tingkat kemiripan sekuens sebesar 100%. Analisis ekspresi tingkat RNA dengan *real-time* PCR dan metode Livak dan Schmittgen menunjukkan peningkatan ekspresi gen *VP1* pada sel HeLa yang telah ditransfeksi dengan plasmid pEGFP-N1-VP1 sebesar 516,25 kali dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil ini menunjukkan keberhasilan transfeksi dan ekspresi gen *VP1*. Secara keseluruhan, penelitian ini berhasil mengoptimalkan ekspresi gen *VP1* pada sel HeLa dengan sistem penghantaran fosfolipid, yaitu Lipofectamine™ 3000.

Kata kunci: pEGFP-N1-VP1, Vaksin DNA, Lipofectamine™ 3000, transfeksi, ekspresi

ABSTRACT

Foot-and-mouth disease (FMD), caused by the Foot-and-mouth disease virus (FMDV), spread across Indonesia in 2022, leading to significant economic losses and negative impacts on the livestock sector. To combat FMD, recombinant DNA vaccines present a promising alternative with potentially superior efficacy compared to conventional vaccines. This study aims to express the *VP1* gene of the FMDV serotype O in HeLa cells using the pEGFP-N1 vector and a lipid-based delivery system, Lipofectamine™ 3000. Codon optimization was performed to align codon preference with the mammalian host system. The optimized sequence showed an increase in the Codon Adaptation Index (CAI) from 0.67 to 0.98, which was subsequently used to construct pEGFP-N1-VP1. Transformation of pEGFP-N1-VP1 into *E. coli* DH5 α yielded significant results. Colony PCR confirmed successful amplification of the *VP1* gene with a size of 199 bp. Plasmid isolation yielded a DNA concentration of 2106.68 ng/ μ l, indicating sufficient quantity and high purity of the plasmid. Sequencing analysis confirmed a sequence similarity of 100%. RNA expression analysis using real-time PCR and the Livak and Schmittgen method demonstrated a 516.25-fold increase in *VP1* gene expression in HeLa cells transfected with pEGFP-N1-VP1 compared to the negative control. These results confirm the successful transfection and expression of the *VP1* gene. Overall, this study successfully optimized the expression of the *VP1* gene in HeLa cells using the lipid-based delivery system Lipofectamine™ 3000.

Keywords: pEGFP-N1-VP1, DNA Vaccine, Lipofectamine™ 3000, transfection, expression