

Potensi Nanopartikel *Poly-Lactic Acid* sebagai Agen Penghantaran Kandidat Vaksin DNA Penyakit Mulut dan Kuku (pEGFP-N1-VP1)

Intisari

Penyakit Mulut dan Kuku merupakan penyakit virus ternak menular yang menurunkan produktivitas hewan ternak serta menimbulkan kerugian ekonomi. Penanganan utama PMK di Indonesia mencakup program vaksinasi. Gen *VP1* dari virus PMK memiliki sekuens epitope yang krusial untuk menginduksi antibodi netralisasi, sehingga gen *VP1* dipilih sebagai gen target pada pengembangan vaksin DNA untuk PMK. Penggunaan nanopartikel *Poly-Lactic Acid* (PLA) yang bersifat biodegradabel untuk menghantarkan vaksin DNA bertujuan meningkatkan ketahanan DNA dari degradasi enzim nuklease dalam tubuh dan faktor lainnya dalam pengembangan vaksin DNA PMK. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui formulasi terbaik untuk membentuk kompleks nanopartikel PLA-plasmid DNA serta mengetahui ekspresi dari gen *VP1* pada sel mamalia. Vektor plasmid yang digunakan dalam penelitian ini adalah plasmid DNA dengan tag protein fluoresens EGFP-N1 (pEGFP-N1) untuk dapat mengonfirmasi ekspresi gen melalui pendaran fluoresens. Kloning plasmid DNA terinsersi gen *VP1* yang didapatkan dari GenBank dan telah dioptimasi dilakukan menggunakan sel bakteri *E. coli* DH5 α . Plasmid DNA diisolasi untuk diformulasikan dengan nanopartikel PLA (0,01-0,04%) menggunakan metode *water-in-oil-in-water* (w/o/w). *Polyvinyl Alcohol* (PVA) 1% dan 2% digunakan sebagai *emulsifier* dalam metode ini. Karakterisasi kompleks nanopartikel PLA-plasmid DNA meliputi efisiensi enkapsulasi, stabilitas, *Particle Size Analyzer* (PSA), serta pengaruh terhadap viabilitas sel. Keberhasilan penghantaran nanopartikel PLA serta ekspresi gen *VP1* pada sel mamalia dikonfirmasi dengan adanya pendaran fluoresens yang dibaca dengan mikroskop konfokal. PLA 0,04% dengan PVA 2% menghasilkan formulasi yang paling stabil. Penghantaran gen *VP1* menggunakan nanopartikel PLA berhasil menaikkan ekspresi gen *VP1* sebesar 9,31 kali pada sel HeLa sebagai model sel mamalia.

Kata kunci: gen *VP1*, nanopartikel, PLA, PMK, vaksin DNA

Potential of Poly-Lactic Acid Nanoparticles as Delivery Agents for DNA Vaccine Candidates for Foot and Mouth Disease (pEGFP-N1-VP1)

Abstract

Vaccination is a primary treatment to overcoming Foot and Mouth Disease that reducing livestock productivity and causing economic losses. Viral Protein 1 (VP1) gene from Foot and Mouth Disease Virus has crucial epitope sequence for neutralizing antibody induction. This became the main reason for choosing VP1 as target gene in DNA vaccine development. The use of biodegradable Poly-Lactic Acid (PLA) nanoparticles as delivery agent aims to avoid DNA from degradation by nuclease enzymes in the body and other factors. This research is to find out the best formulation to form PLA-DNA plasmid nanoparticle complexes and to ascertain the expression of the VP1 gene in mammalian cells. In this study, pEGFP-N1 was used as vector plasmid with fluorescent tag protein to confirm gene expression through fluorescence. The formulation method of PLA-DNA nanoparticle complexes was using water-in oil-in water (w/o/w) method. Polyvinyl alcohol (PVA) with 1% and 2% concentration was used as emulsifier in this method. PLA with 0,04% concentration using PVA 2% (1:4) bring out the most stable formulation. The complexes of PLA-DNA plasmid nanoparticles are not toxic to cells. Delivery of VP1 gene using PLA nanoparticles succeeded in increasing VP1 gene expression by 9,31-fold in HeLa cells as a mammalian cell model.

Keywords: *DNA vaccine; foot and mouth disease; nanoparticle; poly-lactic acid; viral protein 1*