

## INTISARI

### **EKSPRESI GEN *gag*-CA VIRUS PENYAKIT JEMBRANA DENGAN SISTEM PENGHANTARAN LIPOSOM KATIONIK DAN NANOPARTIKEL KITOSAN SEBAGAI KANDIDAT VAKSIN DNA**

**Lalu Unsun Nidhal**

16/404963/PMU/08850

Salah satu hambatan peningkatan populasi Sapi Bali adalah adanya penyakit infeksius dinamakan penyakit jembrana yang secara spesifik hanya menyerang sapi-sapi Bali. Penyakit ini disebabkan oleh Virus Penyakit Jembrana (VPJ). Bentuk dari upaya pencegahan penyakit ini, maka dikembangkanlah kandidat vaksin DNA dengan menyisipkan gen *gag*-CA VPJ pada vektor pEGFP-C1 dan dikembangkan pula sistem penghantaran menggunakan liposom kationik dan nanopartikel kitosan yang merupakan faktor penting bagi kesuksesan vaksin DNA dalam menginduksi kekebalan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui ekspresi gen *gag*-CA VPJ dengan kedua sistem penghantar tersebut dan efektivitas dari tiap sistem penghantaran tersebut. Ekspresi gen *gag*-CA dengan sistem penghantaran tersebut diuji menggunakan sel HeLa. Gen *gag*-CA VPJ yang telah dikodon optimasi berhasil disintetik dan disisipkan pada pEGFP-C1. Kemudian, DNA rekombinan tersebut dikloning dengan menggunakan *host E.coli* DH5 $\alpha$ . keberhasilan ini dikonfirmasi menggunakan PCR, analisis restriksi dan sekuensing. Plasmid DNA rekombinan berhasil diisolasi dan diformulasi dengan liposom kationik dan nanopartikel kitosan untuk dikarakterisasi dan ditransfeksi pada sel HeLa. Karakterisasi enkapsulasi terbaik dengan uji penghambatan pada gel adalah nanopartikel kitosan dengan rasio massa DNA:kitosan sebesar 1:2 dengan ukuran diameter sekitar 178,0 nm dan potensial zeta +22,5 mV dengan pengukuran menggunakan *Particle Size Analyzer*, sedangkan kompleks liposom kationik dipreparasi menggunakan reagen komersil (Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000). Hasil ekspresi dianalisis menggunakan pengamatan fluoresensi dan *Two-Step RT-PCR* dilanjutkan dengan analisis *Real-Time* PCR. Hasil penelitian menunjukkan desain plasmid DNA rekombinan dengan sistem penghantaran liposom kationik dan nanopartikel kitosan mengekspresikan gen *gag*-CA VPJ. Hal ini dibuktikan dengan berbedanya protein fusi EGFP-Capsid pada sel HeLa yang ditransfeksi dengan kedua sistem tersebut dan nilai *Normalized Expression* terhadap gen *gapdh* pada *Real Time* PCR yaitu 5,36029 untuk sistem penghantar liposom kationik dan 0,00533 untuk sistem penghantar nanopartikel kitosan, didapatkan pula *band* positif dengan sistem penghantaran liposom kationik pada analisa *Western Blot*.

Kata kunci: Virus Penyakit Jembrana, Gen *gag*-CA, Sistem Penghantaran, Liposom Kationik, Nanopartikel Kitosan

## ABSTRACT

### **EXPRESSION OF *gag*-CA GENES OF JEMBRANA DISEASE VIRUS WITH CATIONIC LIPOSOMAL DELIVERY AND CHITOSAN NANOPARTICLES SYSTEMS AS CANDIDATES FOR DNA VACCINE**

**Lalu Unsun Nidhal**

16/404963/PMU/08850

One of the obstacles to the increasing population of Bali Cattle is the presence of infectious diseases called jembrana disease that specifically attacks only the Bali cows. This disease is caused by Jembrana Disease Virus (JDV). Forms of prevention of this disease, a DNA vaccine candidate was developed by inserting the *gag*-CA JDV gene in the pEGFP-C1 vector and a delivery system using cationic liposomes and chitosan nanoparticles, which is an important factor in the success of DNA vaccines in inducing immunity. The purpose of this study is to know the expression of the *gag*-CA gene with these delivery systems and the effectiveness of each delivery system. The expression of the *gag*-CA gene was tested using HeLa cells. The *gag*-CA gene JDV that has been optimized codon is successfully synched and inserted in pEGFP-C1. Then, the recombinant DNA was cloned using the *E.coli* DH5 $\alpha$  host. This success was confirmed using PCR, restriction analysis and sequencing. Recombinant DNA plasmids have been isolated and formulated with cationic liposomes and chitosan nanoparticles to be characterized and transfected on HeLa cells. The best characterization of encapsulation with gel inhibition test was chitosan nanoparticles with ratio mass of DNA with chitosan 1: 2 with diameter size about 178,0 nm and zeta potency +22,5 mV with measurement using Particle Size Analyzer, while cationic liposome complex was prepared using commercial reagents (Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000). The expression results were analyzed using fluorescence observation and Two-Step RT-PCR followed by Real-Time PCR analysis. The results show the design of recombinant DNA plasmids with cationic liposomal and chitosan nanoparticles delivery systems expressing the *gag*-CA gene JDV. This is evidenced by the proliferation of EGFP-Capsid fusion proteins in HeLa cells transfected with both systems and Normalized Expression values against *gapdh* genes in Real Time PCR ie 5.36029 for cationic liposome conducting system and 0.00533 for chitosan nanoparticle delivery system, obtained also a positive band with cationic liposomal delivery system on Western blot analysis.

Keywords: Jembrana Disease Virus, Gen *gag*-CA, Delivery System, Cationic Liposomes, Chitosan Nanoparticles