

## INTISARI

### Evaluasi pEGFP-env-tm JDV sebagai Kandidat Vaksin DNA Penyakit Jembrana dengan Sistem Penghantaran Liposom dan Nanopartikel Kitosan

Januar Ishak

16/404961/PMU/08848

Pengembangan vaksin Penyakit Jembrana memiliki arti penting dalam mencegah kerugian industri ternak sapi Bali di Indonesia. Sistem penghantaran menjadi faktor penting bagi kesuksesan vaksin dalam menginduksi kekebalan. Penelitian ini bertujuan untuk mendesain vaksin DNA Jembrana baru berisi gen *env-tm* JDV pada pEGFP-C1 serta menguji keberhasilan penghantarannya pada sel menggunakan liposom kationik dan nanopartikel kitosan. Kloning vektor vaksin DNA pEGFP-env-tm JDV telah berhasil dilakukan pada *E. coli* DH5 $\alpha$  dan dikonfirmasi dengan PCR, analisis restriksi dan sekuensing. Plasmid pEGFP-env-tm JDV yang telah diperbanyak diformulasikan sebagai nanopartikel kitosan/DNA dan dikarakterisasi secara fisiokimia. Nanopartikel dengan rasio massa DNA: kitosan sebesar 1:2 memiliki diameter rerata 236 nm dan potensial zeta +17,9 mV dengan pengukuran menggunakan *Particle Size Analyzer*. Kompleks liposom-DNA dipreparasi menggunakan reagen Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000. Dua jenis kompleks tersebut ditransfeksikan ke sel HeLa sebagai model penghantaran *in vitro* sel eukariot. Penghantaran dengan liposom dan kitosan menunjukkan adanya pendaran protein fusi EGFP-Env-TM di bawah mikroskop konfokal dan adanya mRNA spesifik protein fusi EGFP-Env-TM melalui deteksi RT-PCR. Hasil *real-time* PCR menunjukkan bahwa penghantaran dengan liposom menghasilkan ekspresi mRNA spesifik sekitar 80 kali lipat lebih besar jika dibandingkan nanopartikel kitosan. Jadi, liposom dan nanopartikel kitosan berhasil menghantarkan plasmid pEGFP-env-tm JDV ke dalam sel HeLa dan terbukti dapat diekspresikan pada tingkat RNA. Liposom memiliki efektivitas penghantaran yang lebih tinggi jika dibandingkan nanopartikel kitosan.

**Kata kunci:** Penyakit Jembrana, gen *env-tm* JDV, pEGFP-C1, Liposom, Nanopartikel kitosan

## ABSTRACT

### Evaluation of pEGFP-env-tm JDV as DNA Vaccine Candidate against Jembrana Disease using Liposomal dan Chitosan Nanoparticle Delivery Systems

Januar Ishak

16/404961/PMU/08848

The development of Jembrana disease vaccine has an important meaning in preventing the loss of Bali cattle industry in Indonesia. Delivery systems are an important factor in the success of vaccines in inducing immunity. This study aims to design a new Jembrana DNA vaccine encoding the *env-tm* JDV gene in pEGFP-C1 and test the success of its delivery in cells using liposome and chitosan nanoparticles. Cloning of the vector vaccine DNA pEGFP-env-tm JDV DNA vaccine has been successfully performed on *E. coli* DH5 $\alpha$  and confirmed by PCR, restriction analysis and sequencing. The propagated pEGFP-env-tm JDV plasmids are formulated as DNA/chitosan nanoparticles and physiochemically characterized. Nanoparticles with a 1:2 mass ratio of DNA and chitosan had a mean diameter of 236 nm and zeta potential +17.9 mV with measurement using Particle Size Analyzer. The liposome-DNA complex was prepared using Lipofectamine<sup>TM</sup> 3000 reagent. The two complexes were transfected to the HeLa cell line as *in vitro* model of eukaryotic cells. Transfection using Liposomes and chitosan nanoparticles showed the presence of luminescence of EGFP-Env-TM fusion proteins under a microscope and the presence of specific mRNAs of EGFP-Env-TM fusion proteins in HeLa. The real-time PCR analysis showed that the delivery with liposomes resulted in a specific mRNA expression about eighty times more when compared with delivery using chitosan nanoparticles. Thus, liposomes and chitosan nanoparticles can deliver pEGFP-env-tm JDV into HeLa cells and be expressed into mRNA. Delivery using liposome has higher transfection efficiency than delivery using chitosan nanoparticle.

**Keywords:** Jembrana Disease, *env-tm* JDV gene, pEGFP-C1, liposome, chitosan Nanoparticle