

INTISARI

OPTIMASI FORMULA KANDIDAT VAKSIN DNA (*env-Tm*) PENYAKIT JEMBRANA BERBASIS KITOSAN DAN *Poly(D-L-lactic co-glicolide acid)*

Indra Lesmana Rahayu
17/419976/PMU/09187

Kendala yang dihadapi industri ternak daging, khususnya sapi Bali adalah penyebaran Penyakit Jembrana (PJ) yang disebabkan oleh Virus Penyakit Jembrana (VPJ), sehingga diperlukan pencegahan yang lebih efektif dan efisien seperti penggunaan vaksin DNA. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengoptimasi formula kandidat vaksin DNA yang mengandung gen *env-Tm* berbasis kitosan dan *poly(D-L-lactic co-glicolide acid)*. Konstruksi pEGFP-C1-*env-Tm* VPJ (pTm) diformulasikan dengan kitosan berat molekul rendah (L) dan sedang (M) pada konsentrasi 0,01%, 0,02%, 0,04%, dan 0,06%, rasio (R) DNA:kitosan (wt/wt) 1:0,5-1:3 serta PLGA konsentrasi 2,5%, 4%, dan 5%, dengan konsentrasi PVA 1% dan 2%, R DNA:PLGA (% wt/% wt) 0,5%, 1%, dan 1,5%. Kompleks nanopartikel tersebut kemudian di-*screening* berdasarkan uji *retardation assay*, ketahanan terhadap DNase I, dan uji sitotoksik terhadap sel HeLa. Kompleks terbaik dan efisien, diukur distribusi ukuran partikel dan morfologi, potensial zeta, %EE dan %LC. Kompleks tersebut kemudian ditransfeksikan terhadap sel HeLa untuk diamati fluoresens hijau dan dianalisis ekspresi tingkat mRNA pada waktu inkubasi transfeksi 48 jam dan 96 jam menggunakan *real time* PCR dan diuji statistik menggunakan *univariate ANOVA* dengan uji lanjutan (*post hoc*) *Tukey*. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pTm/K(L) 0,02% R 1:1 merupakan formulasi berbasis kitosan yang terbaik dan efisien. Formulasi berbasis PLGA terbaik dan efisien adalah pTm/PLGA 4% PVA 2% R 1,5%. Rata-rata ukuran kompleks tersebut 21,7 nm dengan nilai potensial zeta -50,4 mV, %EE 78,55%±0,90% dan %LC 35,46%±1,49%. Hasil positif fluoresens hijau pada HeLa dengan waktu inkubasi transfeksi 48 jam dan 96 jam. Hasil *normalized expression* tingkat mRNA menunjukkan bahwa sel HeLa yang ditransfeksi kompleks tersebut dapat mengekspresikan gen *env-Tm* VPJ dengan nilai 0,86364 dan *relative normalized expression* terhadap kontrol (pTm saja/tanpa agen penghantar) bernilai 2.502,6545 kali (*up regulated*). Hasil uji statistik setiap formulasi terhadap kontrol, formulasi berbasis kitosan, dan formulasi berbasis PLGA selain formulasi terbaik dan efisien dalam penelitian ini menunjukkan bahwa *normalized expression* berbeda signifikan ($p \leq 0,01$). Kesimpulan dalam penelitian ini adalah formulasi terbaik kandidat vaksin DNA berbasis kitosan dan PLGA adalah pTm/K(L) 0,02% R 1:1 dan pTm/PLGA 4% PVA 2% R 1,5% dapat secara efektif menghantarkan pTm, sehingga dapat dijadikan sebagai formulasi kandidat vaksin DNA Penyakit Jembrana berbasis kitosan dan PLGA.

Kata kunci: Virus Penyakit Jembrana, Gen *env-Tm*, Vaksin DNA, PLGA, Kitosan

ABSTRACT

FORMULA OPTIMIZATION OF DNA VACCINE (*env-Tm*) CANDIDATE IN JEMBRANA DISEASE BASED ON CHITOSAN AND Poly(D-L-lactic co-glicolide acid)

Indra Lesmana Rahayu
PMU/419976/PMU/09187

The obstacle faced by the cattle industry, especially Bali cattle is the spread of Jembrana Disease (JD) caused by the Jembrana Disease Virus (JDV), so more effective and efficient prevention is needed such as the use of DNA vaccines. The aim of this study is to optimize the DNA vaccine candidate formula containing the *env-Tm* gene based on chitosan and poly(D-L-lactic co-glicolide acid). The pEGFP-C1-*env-Tm* JDV (pTm) construct was formulated with low (L) and medium (M) chitosan molecular weights at concentrations of 0.01%, 0.02%, 0.04%, and 0.06%, DNA:chitosan ratio (R) (wt/wt) 1:0.5-1:3 and PLGA concentrations of 2.5%, 4%, and 5%, PVA concentrations of 1% and 2%, R DNA:PLGA (%wt/%wt) 0.5%, 1% and 1.5%. The nanoparticle complex is then screened based on a retardation assay test, resistance to DNase I, and cytotoxic testing of HeLa cells. The best and efficient complex, measured the particle size distribution and morphology, zeta potential, %EE and %LC. The complex is then transfected against HeLa cells for green fluorescence to be observed and an experimental level of mRNA is analyzed at 48 hours and 96 hours of transfection incubation using real time PCR and statistically tested using univariate ANOVA with Tukey's post hoc test. The results showed that pTm/K(L) 0.02% is the best and efficient chitosan-based formula. The best efficient and efficient PLGA-based formula is pTm/PLGA 4% PVA 2% R 1.5%. The average size of the complex is 21.7 nm with a potential zeta value of -50.4 mV, %EE 78.55% ± 0.90% and %LC 35.46% ± 1.49%. Positive results of green fluorescence on HeLa at 48 hours and 96 hours of transfection incubation time. The results of the normalized expression of the mRNA level showed that the HeLa cells transfected by the complex could express the *env-Tm* VPJ gene with a value of 0.86364 and the relative normalized expression of the control (pTm only/without the delivery agent) is 2,502.6545 (up regulated). The statistical test results of each formulation on control, chitosan-based formulation, and PLGA-based formulation in addition to the best and efficient formulation in this study showed that normalized expressions were significantly different ($p \leq 0.01$). The conclusion in this study is the best formulation of DNA vaccine candidate based on chitosan and PLGA is pTm/K(L) 0.02% R 1:1 and pTm/PLGA 4% PVA 2% R 1.5% can effectively deliver pTm, so it can be used as a formulation DNA vaccine candidate of Jembrana Disease based on chitosan and PLGA.

Keywords: Jembrana Diseases Virus, *env-Tm* Gene, DNA Vaccines, PLGA, Chitosan