

**KLONING DAN EKSPRESI GEN PENYANDI MEROZOITE
SURFACE PROTEIN 1 *Plasmodium falciparum* (PfMSP1-19kDa) PADA
Escherichia coli STRAIN BL21 (DE3)**

Tanti Rahayu
16/403159/PKU/15977

Intisari

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang masih menjadi tantangan kesehatan dunia, terutama di negara tropis dan subtropis dengan estimasi 212 juta kasus dan 429.000 kematian pada tahun 2015 (WHO, 2016). Angka kematian tertinggi masih disebabkan oleh infeksi *Plasmodium falciparum* dibandingkan spesies *Plasmodium* lain. Infeksi spesies *Plasmodium* dapat memicu produksi antibodi spesifik dalam waktu 2 minggu setelah infeksi, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam deteksi malaria secara serologi. Deteksi serologi malaria dapat digunakan untuk mendeteksi adanya seroprevalensi malaria pada daerah yang mikroendemik. Salah satu jenis antigen yang dianggap berpotensi untuk memicu respon imun terhadap *P. falciparum* yaitu PfMSP-1₁₉ yang disebut sebagai kandidat vaksin terhadap fase eritrosit *P. falciparum*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai produksi antigen PfMSP-1₁₉ untuk pengembangan serodiagnosis secara lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan kloning dan ekspresi gen penyandi *merozoit surface protein 1 19 kDa* dari *Plasmodium falciparum* (PfMSP-1₁₉) pada *Escherichia coli* strain BL21 (DE3), sebagai studi awal pengembangan antigen PfMSP-1₁₉ di Indonesia. Metode penelitian ini meliputi; amplifikasi gen *Pfmsp1-19* dilanjutkan dengan kloning gen pada plasmid pET SUMO vektor kemudian analisis DNA insert dengan metode sekuensing. Ekspresi gen rekombinan dilakukan pada *E. coli* strain BL21 (DE3) diinduksi dengan IPTG. Kultivasi protein rekombinan dianalisis menggunakan teknik SDS PAGE dan western blotting.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kloning gen *Pfmsp1-19* berhasil dilakukan, dengan diperoleh 10 koloni positif mengandung plasmid rekombinan pET SUMO-Pfmsp1-19. Berdasarkan analisis sekuensing DNA plasmid dari koloni positif diperoleh 2 koloni memiliki orientasi dan urutan sekuen yang sesuai dengan database NCBI. Hasil ekspresi tidak terdeteksi dengan analisis SDS PAGE, sedangkan analisis western blotting dengan antibodi antiHis tag menunjukkan band positif non spesifik pada ukuran sekitar 34 kDa. Band protein yang diinginkan seharusnya terdeteksi pada ukuran sekitar 23 kDa.

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa gen *Pfmsp1-19* dapat dikloning pada pET SUMO vektor akan tetapi tidak terekspresi secara optimal pada *E. coli* BL21 (DE3).

Kata kunci: Kloning, Ekspresi, PfMSP-1₁₉, *Plasmodium falciparum*, *Escherichia coli* BL21 (DE3)

CLONING AND EXPRESSION OF *Plasmodium falciparum* MEROZOITE SURFACE PROTEIN 1 GENE (Pfmsp1-19kDa) IN *Escherichia coli* STRAIN BL21 (DE3)

Tanti Rahayu
16/403159 / PKU / 15977

Abstract

Malaria is one of the most common infectious diseases in the world, especially in tropical and subtropical countries with an estimated 212 million cases and 429,000 deaths by 2015 (WHO, 2016). The highest mortality rate is still due to *Plasmodium falciparum* infection compared to other *Plasmodium* species. *Plasmodium* species infections trigger the production of specific antibodies within 2 weeks after infection, so they can be used as a basis for serological detection of malaria. Serological detection of malaria can be used to detect malaria seroprevalence in microendemic areas. One type of antigen that has the potential to trigger an immune response to *P. falciparum* is PfMSP-1₁₉ which is referred to as a vaccine candidate against the erythrocyte phase of *P. falciparum*. Therefore research about the production of PfMSP-1₁₉ antigen is necessary for further development of serodiagnoses.

The aim of this study was to clone and express the encoding gene *merozoite surface protein 1* 19 kDa from *Plasmodium falciparum* (PfMSP-119) on *Escherichia coli* strain BL21 (DE3), as the initial study of PfMSP-119 antigen development in Indonesia. Methods of this research include; Pfmsp1-19 gene amplification was followed by cloning of genes on plasmid pET SUMO vectors then DNA insert was analysed by sequencing method. Recombinant gene expression was performed on the *E. coli* strain BL21 (DE3) induced with IPTG. Recombinant protein was analyzed using SDS PAGE and western blotting techniques.

The results showed that cloning of Pfmsp1-19 gene was successfully performed, with 10 positive colonies containing recombinant plasmid pET SUMO-Pfmsp1-19. Based on plasmid DNA sequencing analysis from positive colony, 2 colonies have orientation and sequence in accordance with NCBI database. The expression results were not detected by SDS PAGE analysis, while the western blotting analysis with antiHis tag antibody showed positive bands at the size of about 34 kDa. The desired protein band should be detected at a size of about 23 kDa.

Based on the research it can be concluded that the Pfmsp1-19 gene was successfully cloned in pET SUMO vector but it was not well expressed in *E. coli* BL21(DE3) sel.

Keywords: Cloning, Expression, PfMSP-119, *Plasmodium falciparum*, *Escherichia coli* BL21 (DE3)