

INTISARI

EKSPRESI PROTEIN *FUSION* REKOMBINAN VIRUS *NEWCASTLE DISEASE* (ND) DARI PLASMID *Escherichia coli* KLON C1a MENGGUNAKAN KIT AccuRapid™ PROTEIN EXPRESSION

Charisma Nabila Putri

Penyakit *Newcastle Disease* merupakan penyakit sangat menular yang menyerang unggas di Indonesia. *Newcastle disease* disebabkan oleh *strain* virulen dari *avian paramyxovirus type 1* (APMV-1) dari genus *Avulavirus subfamily Paramyxovirinae, family Para-myxoviridae*. Penyakit ini masih menjadi permasalahan utama pada industri peternakan. Penyakit ini menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar karena infeksi virus ini dapat menyebabkan angka kematian hingga 100%. Untuk mengatasi wabah penyakit ND, sudah dilakukan upaya vaksinasi di lingkungan peternak tetapi masih banyak ditemukan kegagalan ditandai dengan masih ditemukannya kejadian penyakit dan titer antibodi yang rendah pasca vaksinasi. Kegagalan program vaksinasi mungkin disebabkan oleh vaksin yang tidak sesuai dengan virus ND yang beredar di lapangan ataupun karena mutasi virus, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengekspresikan protein F rekombinan hasil cloning dari gen F virus ND isolat lokal Indonesia yang nantinya akan dijadikan kandidat vaksin dalam rangka untuk meningkatkan keefektifan vaksinasi virus ND di lapangan.

Konfirmasi plasmid ekspresi pBT7-N-His-Fusion NDV di dalam klon C1a dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 1% dengan pewarnaan *florosafe DNA stain*. Untuk memisahkan antara plasmid dan insert yang didalamnya terdapat gen F, maka dilakukan pemotongan dengan enzim restriksi EcoR1. Enzim EcoR1 dapat memotong plasmid pBT7-N-His-Fusion NDV melalui proses inkubasi 37°C selama tiga jam. Visualisasi pemotongan DNA dilakukan dengan elektroforesis gel agarose 1% dengan pewarnaan *florosafe DNA stain*. Plasmid pBT7-N-His-Fusion NDV diekspresikan menggunakan ekstrak *E. coli* dengan tujuan untuk memperoleh protein F. Produk ekspresi protein divisualisasikan menggunakan SDS – PAGE dan western blot.

Visualisasi plasmid pBT7-N-His-Fusion NDV dengan elektroforesis gel agarose menghasilkan pita dengan ukuran 4643 bp dan pada visualisasi hasil pemotongan dengan enzim EcoR1 pada elektroforesis gel agarose dihasilkan dua pita yaitu dengan ukuran 4001 bp dan 642 bp. Setelah mengalami proses ekspresi protein, terlihat pita pada ukuran 25,6 kDa baik pada hasil SDS – PAGE maupun pada hasil western blot. Produk ekspresi protein tersebut nantinya bisa dilanjutkan pada proses selanjutnya dan bisa dijadikan kandidat vaksin untuk program vaksinasi virus ND.

Kata kunci : *Newcastle Disease*, Protein Fusion, EcoR1, Ekspresi Protein

ABSTRACT

FUSION RECOMBINANT PROTEIN EXPRESSION OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS FROM Escherichia coli-cloned C1a USING AccuRapid™ PROTEIN EXPRESSION KIT

Charisma Nabila Putri

Newcastle Disease is a very contagious disease that occurs to most avian in Indonesia. It is caused by virulent strain of avian paramyxovirus type I (APMV – I) from Avulavirus genus Paramyxovirinae subfamily, Paramyxoviridae family. Currently, the disease is being the main problem of poultry industry. It results a great number of economic loss since the mortality rate increases up to 100%. To prevent Newcastle Disease, vaccination in farm has been done. However, the failure of this prevention still can be found in several farm. It is shown by the finding of disease and the decrease of antibody titer after the vaccination. The failure might be caused by to possibilities, incompatibility between the vaccine and the virus which exists in most farm and virus mutation. Thus, this research aimed to express F recombinant protein that is clon from genes F of local isolate ND virus which can be used as vaccine candidate in order to improve the effectiveness of ND virus vaccination.

Confirmation of NDV pBT7-N-His-Fusion plasmid on C1a clone is done by gel agarose 1 % electrophoresis with staining by using florosafe DNA stain. To separate plasmid and insert that contain genes F, cutting is done with EcoRI restriction enzyme. EcoRI enzyme is able to cut NDV pBT7-N-His-Fusion plasmid through 37°C incubation process during three hours. DNA cutting visualitation is done by gel agarose 1% electrophoresis by using florosafe DNA stain. NDV pBT7-N-His-Fusion plasmid is express by E. coli extract in order to gain F protein. The product of protein expression is visualized by SDS – PAGE and western blot.

NDV pBT7-N-His-Fusion plasmid visualization by gel agarose electrophoresis results 4643 bp band. Moreover, from the visualization of EcoRI enzyme cutting on gel agarose electrophoresis result, the researcher found two bands with different size, 4001 bp and 642 bp. After protein expression process 25,6 kDa band is seen both in the result of SDS – PAGE and western blot. The protein expression product can be proceeded for the next process and it is potential to be the vaccine candidate for ND virus vaccination program.

Keywords : Newcastle Disease, Fusion Protein, EcoRI, Expression Protein