



Jurnal Sains & Teknologi

Universitas Pendidikan Ganesha

e-ISSN : 2548-8570 p-ISSN : 2303-3142

[Register](#) [Login](#)

[HOME](#) [ABOUT](#) [CURRENT](#) [ARCHIVES](#) [ANNOUNCEMENTS](#)

[SEARCH](#)

JST (Jurnal Sains dan Teknologi)

Volume 2018.3 No. 1 ISSN 2548-8570 | January 1, 2018 | 1-100



Universitas Pendidikan Ganesha
Jember
Jember, Indonesia
www.upg.ac.id

DOAJ
Crossref
Google
Sinta
ORCID
IPI
JST
BPP
JST

About the Journal

Journal title	Jurnal Sains dan Teknologi
Initials	JST
Abbreviation	J. Sains Teknologi
Frequency	Two issues per year
DOI	prefix 10.23887/jst
Print ISSN	2303-3142
Online ISSN	2548-8570
Editor-in-chief	Ni Putu Sri Ayuni
Publisher	Universitas Pendidikan Ganesha
Organizer	LPPM - Undiksha

Jurnal Sains dan Teknologi (JST) is published by Research and Community Service Institution Universitas Pendidikan Ganesha in 2012.

We publish original research papers, review articles and case studies focused on Mathematic, Biology, Physic, Chemistry, Informatic, Electronic and Machine as well as related topics. All papers are peer-reviewed by at least two referees. P-ISSN : [2303-3142](#) E-ISSN : [2548-8570](#)

JST was first published in 2012. Since then, JST has begun to receive high-quality articles in large quantities. Therefore, starting in 2020. JST is accredited by the **Ministry of Research, Technology and Higher Education, Republic of Indonesia**, which is ranked **Second Grade (Peringkat 2, Sinta 2)** from 2020 to 2025 based on **Decree No. 200/M/KPT/2020**.

Editorial Team

Editor in Chief

Ni Putu Sri Ayuni, [Scopus ID: 57201619615] Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Editorial Board

I Wayan Mudianta, Ph.D, [SCOPUS ID: 29867504800] Analis Kimia - Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Dewa Gede Hendra Divayana, [SCOPUS ID: 57194336662] Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

I Made Ardwi Pradnyana, [SCOPUS ID: 57202607891] Sistem Informasi - Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Kadek Yota Ernanda Aryanto, [SCOPUS ID: 36004670300] Manajemen Informatika - Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

I Made Gunamantha., ST, MT., [SCOPUS ID: 54399826400] Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

I Made Dendi Maysanjaya, [SCOPUS ID: 56596781800] Sistem Informasi, Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Gede Aditra Pradnyana, [SCOPUS ID: 57207961986] Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Gede Saindra Santyadiputra, [SCOPUS ID : 57207958333] Pendidikan Teknik Informatika, Universitas Pendidikan Ganesha

Peer Reviewers

Prof. Ir. Zainal Arifin Hasibuan, MLS, PhD., [SCOPUS ID: 14021436900] Fakultas Ilmu Komputer - Universitas Indonesia, Indonesia

Harry Budi Santoso, S.Kom, M.Kom, Ph.D, Lab Digital Library & Distance Learning Fakultas Ilmu Komputer Universitas Indonesia

Rinaldi Munir, [SCOPUS ID: 35176324300] Institut Teknologi Bandung, Indonesia

Dr. I Ketut Eddy Purnama, ST., MT, Teknik Sistem Komputer Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Made Windu Antara Kesiman, [SCOPUS ID: 56912265800] Pendidikan Teknik Informatika - Universitas Pendidikan Ganesha

Dr. Dr. Putu Teta Prihartini Aryanti.,S.T.,M, Chemical Engineering - Jenderal Achmad Yani University

Mr. i nyoman sukajaya, Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Ni Made Satvika Iswari, Universitas Multimedia Nusantara

Nabila Husna Shabrina, S.T., M.T., Universitas Multimedia Nusantara

MB Nugraha, [SCOPUS ID : 57170525400] Program Studi Teknik Elektro - Universitas Multimedia Nusantara

Wella, S.Kom., M.M.S.I, Universitas Multimedia Nusantara

I Gede Mahendra Darmawiguna, [SCOPUS ID : 56912388700] Informatics Education Department, Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Gede Ari Yudasmara, Universitas Pendidikan Ganesha

I Nyoman Tika, Universitas Pendidikan Ganesha, Indonesia

Ida Ayu Putu Suryanti, Ganesha University of Education

Vol. 12 No. 1 (2023)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1>

PUBLISHED: 2023-04-25

ARTICLES

- [Utilization of Chitosan as an Inhibitor to Improve the Corrosion Resistance of Low-Carbon Steel](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51385>

Mega Gemala, Aulia Fajrin, Adhe Arysawan, Roni Saputra, Ihsan Saputra, Sriyanto

1-10

◦ [PDF](#)

- [Self-Spiritual Healing Therapy on Anxiety Conditions in Diabetes Type II in the Lovina Tourism Area](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.59711>

Made Kurnia Widiastuti Giri

11-16

◦ [PDF](#)

- [Chromophoric Dissolved Organic Matter \(CDOM\) and Dissolved Nutrients in Water Sources in North Bali](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.59811>

I Gusti Ngurah Agung Suryaputra

17-22

◦ [PDF](#)

- [Optimasi Proses Fermentasi Senyawa Antijamur Bacillus subtilis CAF3 Terhadap Athelia rolfsii \(Curzi\) C. C. Tu & Kimbr](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51317>

Syukria Ikhsan Zam, Irwan Taslapratama, Yusmar Yusmar, Dewi Febrina

22-29

○ [PDF](#)

- [Wind Speed Regression Model in Forecasting Wave Height in the Shipping Channel Zone](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.50981>

Asmaul Husnah, Abdillah Abdillah, Vera Mandailina, Syaharudin Syaharudin, Saba Mehmood
30-38

○ [PDF](#)

- [Aplikasi E-nose dengan Kemometrik untuk Monitoring Proses Fermentasi Teh Kombucha](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.50994>

Budi Sumanto, Yessi Idianingrum TW, Shafura Humaira, Ratna Lestari Budiani, Muhammad Arrofiq

39-47

○ [PDF](#)

- [GPS-Based Rocket Payload Position Tracking System](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.55069>

Dewa Made Wiharta, Nyoman Putra Sastra, A.A.B. Rama Windhu Putra

48-55

○ [PDF](#)

- [Home Made BIOPLASLITS dengan Analisis Pengaruh Rasio Gliserol dan Selulosa terhadap Kekuatan Tarik, Elongation, dan Ketebalan](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51464>

Dewi Nurulhasni, Suparno Suparno

56-64

○ [PDF](#)

- [The GARCH-X\(1,1\) Model with Exponentially Transformed Exogenous Variables](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.50714>

Didit Nugroho, Obed Dimitrio, Faldy Tita

65-72

○ [PDF](#)

- [Pirolisis Biomassa Limbah Kayu Mahoni dan Plastik Polypropylene](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51857>

Diya Zalfa Aisyah Safitri, Dinar Susilo Wijayanto, Taufik Wisnu Saputra

73-80

○ [PDF](#)

- [Redesign Website Media Pendidikan Keluarga Menggunakan Metode Design Thinking dan Skala Kegunaan Sistem](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.52791>

Egia Rosi Subhiyakto, Mutia Rahmi Pratiwi, Swita Amalia Hapsari

81-94

○ [PDF](#)

- [Optimasi Transformasi Gen CIDR1 \$\alpha\$ -PfEMP1 pada Eschericia coli BL21\(DE3\) dengan Metode Heat-shock](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.53704>

Dicky Dewantoro, Erma Sulistyaningsih, Rosita Dewi

95-101

○ [PDF](#)

- [Perubahan Garis Pantai Selama 20 Tahun \(2001-2021\) dan Prediksi dan Adaptasi Masyarakat Pesisir Tahun 2041](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.53107>

Febrianti Amalia, Zairion Zairion, Agus Saleh Atmadipoera

102-110

○ [PDF](#)

- [Pemilihan Fitur Chi Square Pada Algoritma Naïve Bayes dan Pengaruhnya Terhadap Analisis Sentimen Masyarakat Indonesia Tentang Pembelajaran Tatap Muka Pada Masa Pandemi Covid-19](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51899>

A. Habiba, R. Rizal Isnanto, J. Endro Suseno

111-116

◦ [PDF](#)

- [Mesin Pencuci Biodiesel dari Proses Esterifikasi Dilengkapi dengan Sistem Pendingin](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.52068>

Made Rahmawaty, Hendriko Hendriko, Muhammad Hilmy Fauzan, Edilla Edilla

117-128

◦ [PDF](#)

- [Implementasi Text-Mining untuk Analisis Sentimen pada Twitter dengan Algoritma Support Vector Machine](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.52358>

Aditiya Hermawan, Indrico Jowensen, Junaedi Junaedi; Edy

129-137

◦ [PDF](#)

- [Evaluasi Komprehensif Saluran Drainase di Sepanjang Jalan Terpilih Kota Medan, Sumatera Utara](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.52487>

Hugo S. V. Pasaribu, Nur Sakinah, Hanna Swesy Marbun, Rachmat Mulyana, Syahreza Alvan, Nahesson Panjaitan, Zhili Izzadati Khairuni, M. Faisi Ikhwal, Wisnu Prayogo

138-147

◦ [PDF](#)

- [Alat Ukur Parameter Fisik Inkubator Bayi : Suhu, Kelembaban, Aliran Udara dan Tingkat Kebisingan](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.40855>

Indah Nursyamsi Handayani, Ma'murotun Ma'murotun

148-155

○ [PDF](#)

- [Kinerja Lemari Es dengan Penukar Panas Pipa Ganda Refrigeran Alami \(R1270\)](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.48287>

Kamin Sumardi, Asri Ratnasari

156-165

○ [PDF](#)

- [Hydraulic Retention Time dan Pengaruhnya terhadap Kualitas Biogas dari Kotoran Sapi Menggunakan Digester Anaerobik Tipe Batch Skala Kecil](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.57310>

Nanang Apriandi, Suwarti Suwarti, Wiwik Purwati Widyaningsih, Rani Raharjanti

166-176

○ [PDF](#)

- [Implementasi Sistem Pendukung Kehidupan Kompleks untuk Komunitas Ikan Karang di Oseanarium Silinder](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51533>

Nanda Radhitia Prasetiawan, Ma'muri Ma'muri, Agus Setiawan, Ratna Amalia Kurniasih, Rikha Bramawanto, Usep Mulyadi

177-189

○ [PDF](#)

- [Identifikasi Jamur Penyebab Onikomikosis pada Pedagang Daging Ayam di Pasar Tradisional](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.49203>

Ni Kadek Sintya Mayumi, Nur Habibah, I Nyoman Gede Suyasa

190-199

○ [PDF](#)

- [Kelimpahan Material Magnetik di Pasir Hitam](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.55450>

Dewi Oktofa Rachmawati, Nurfa Risha, Iwan Suswandi

200-209

○ [PDF](#)

- [Desain Mercury Interim Storage untuk Alat Kesehatan Mengandung Merkuri](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51588>

Putri Natari Ratna, Sri Lusiani, M. R. Noor, R. N. Pratama, R. B. Nareswari, S. Zikri

210-218

○ [PDF](#)

- [Elektrolit Polimer Padat dari Pencampuran PVDF-HFP dan PEO serta Modifikasi Filler Sebagai Bahan Dasar Baterai Lithium-Ion](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.45639>

Reyhan Fikri Mushaddaq, Akhmad Aminuddin Bama, Ramlan, Titik Lestariningsih

219-228

○ [PDF](#)

- [Potensi Mikroalga Chlorella sp untuk Menghilangkan Nutrien dari Grey Water pada Sistem Reaktor Biofilm Batch Sequencing](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51431>

Melina Dwi Anggraini, Shinta Elystia, David Andrio

229-241

○ [PDF](#)

- [Effect of Biopotting Quality on Growth and Morphological Quality of Jackfruit Artocarpus Heterophyllus Lamk. Seedlings](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.51161>

Slamet Santosa, Munif Said Hassan, Abdul Hayat Kasim; Rizki A.P. Santosa

242-249

○ [PDF](#)

- [Implementasi Logika Fuzzy pada Penilaian Kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.50057>

Utti Marina Rifanti, Herryawan Pujiharsono, Zein Hanni Pradana

250-260

○ [PDF](#)

- [Perbandingan Model Convolutional Neural Network pada Klasifikasi Wajah Orang Papua dan Etnis Lainnya](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.46861>

Yuni Naomi Yenusi, Suryasatriya Trihandaru, Adi Setiawan

261-268

○ [PDF](#)

- [Pendugaan Sebaran Lindi di Sekitar TPA Bakau Besar Kabupaten Mempawah Menggunakan Metode Potensi Diri](#)

DOI: <https://doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i1.45735>

Muliadi Muliadi, Muhardi Muhardi, Zulfian Zulfian

269-276



Optimasi Transformasi Gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *Escherichia coli* BL21(DE3) dengan Metode Heat-shock

Dicky Dewantoro¹, Erma Sulistyaningsih^{2*}, Rosita Dewi³ 

^{1,2,3}Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Jember, Indonesia

ARTICLE INFO

Article history:

Received November 03, 2022

Revised November 08, 2022

Accepted February 20, 2023

Available online April 25, 2023

Kata Kunci:

CIDR1 α , *E. coli* BL21(DE3), malaria, PfEMP1, transformasi

Keywords:

CIDR1 α , *E. coli* BL21(DE3), malaria, PfEMP1, transformation



This is an open access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.

Copyright © 2023 by Author. Published by Universitas Pendidikan Ganesha.

ABSTRAK

Malaria masih menjadi masalah kesehatan dunia terutama di negara-negara berkembang. Data *World Malaria Report 2020*, kasus malaria di dunia tahun 2019 mencapai 229 juta kasus dengan total kematian mencapai 409.000 jiwa. Kematian tertinggi terjadi pada pasien usia balita yang mencapai 272.000 jiwa. Angka kematian akibat malaria berat di dunia sangat tinggi sehingga perlu berbagai pendekatan penanganan termasuk vaksin malaria. Domain *Cysteine-rich Interdomain Regions 1 α -Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1* (CIDR1 α -PfEMP1) merupakan kandidat vaksin malaria karena berperan penting dalam pathogenesis malaria. Pengembangan vaksin malaria berbasis CIDR1 α -PfEMP1 dilakukan melalui teknologi rekombinan DNA dimana tahapan yang sangat penting adalah transformasi. Tujuan penelitian ini untuk mengoptimasi kondisi transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *Escherichia coli* BL21(DE3) menggunakan metode *heat shock* guna mendapatkan efisiensi transformasi tertinggi. Variable yang dianalisis adalah durasi *heat shock* selama 30, 50, dan 70 detik dan volume *plating* 100 μ L dan 200 μ L. Hasil penelitian menunjukkan efisiensi transformasi tertinggi sebesar $1,9 \times 10^2$ CFU/ μ g dicapai pada kondisi *heat shock* selama 50 detik dan volume *plating* 200 μ L. Ini adalah kondisi optimum transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 yang dapat digunakan untuk penelitian lanjutan guna mengembangkan vaksin malaria.

ABSTRACT

Malaria is still a world health problem, especially in developing countries. Data from the *World Malaria Report 2020*, malaria cases in the world in 2019 reached 229 million cases with a total death of 409,000 people. The highest mortality occurred in patients under five, which reached 272,000 people. The high mortality rate of severe malaria worldwide needs multiple approaches including the malaria vaccine. *Cysteine-rich Interdomain Regions 1 α -Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1* (CIDR1 α -PfEMP1) is a candidate for malaria vaccine due to its important role in malaria pathogenesis. The development of CIDR1 α -PfEMP1-based malaria vaccine is conducted by DNA recombinant technology where transformation is a pivotal step. The study aimed to optimize the transformation of CIDR1 α -PfEMP1 into *Escherichia coli* BL21(DE3) using heat shock method to find out the highest transformation efficiency. The variables were duration of heat shock in 30, 50, and 70 secs and plating volume of 100 μ L and 200 μ L. The results showed that the highest transformation efficiency was 1.9×10^2 CFU/ μ g, it was achieved by 50 secs heat shock and 200 μ L plating volume. This was an optimum transformation condition that can be used further for cloning of CIDR1 α -PfEMP1 gene to develop a malaria vaccine.

1. PEMBAHASAN

Malaria masih menjadi masalah kesehatan dunia terutama di negara-negara berkembang. Data *World Malaria Report 2020*, kasus malaria di dunia tahun 2019 mencapai 229 juta kasus dengan total kematian mencapai 409.000 jiwa. Kematian tertinggi terjadi pada pasien usia balita yang mencapai 272.000 jiwa (WHO., 2020). Prevalensi malaria di Indonesia tahun 2018 mencapai 202.176 kasus dengan penyebab utama adalah *Plasmodium falciparum*. Prevalensi malaria menunjukkan sedikit peningkatan pada tahun 2019, tetapi terdapat penurunan sejak tahun 2020 sampai 2021. Beberapa program pengendalian malaria sesuai rekomendasi WHO antara lain diagnosis dini, terapi yang tepat dan cepat, pengendalian vektor, surveillans dan advokasi telah dilakukan oleh pemerintah Indonesia tetapi tujuan eliminasi malaria masih belum tercapai. Pendekatan penggunaan vaksin malaria sebagai salah satu upaya pencapaian eliminasi malaria belum dilakukan karena tantangan pengembangan vaksin malaria yang kompleks (Riskesdas., 2018; WHO., 2020). Pengembangan vaksin malaria dilakukan dengan menggunakan protein penting dalam proses patogenesis dan progresivitas malaria. Progresivitas malaria yang mengakibatkan kematian pasien sering disebabkan oleh malaria berat dengan manifestasi klinis berupa asidosis metabolik, koma, anemia berat, hipoglikemia, gagal ginjal akut, dan edema paru akut

*Corresponding author.

E-mail addresses: sulistyaningsih.fk@unej.ac.id (Erma Sulistyaningsih)

(Nureye & Assefa, 2020; Wassmer et al., 2015). Patogenesis malaria berat diinduksi oleh mekanisme *cytoadherence*, yaitu adhesi *Infected Red Blood Cell* (IRBC) pada endotel pembuluh darah, dan *rosetting*, kondisi IRBC yang berikatan dengan eritrosit normal lainnya, yang mengakibatkan obstruksi mikrosirkulasi organ vital (Gay et al., 2012; Goel et al., 2015; Lee & Hsueh, 2020; Niang et al., 2014). Mekanisme patogenesis ini diperantarai oleh protein *Plasmodium falciparum Erythrocyte Membrane Protein 1* (PfEMP1). PfEMP1 merupakan suatu protein antigen yang diekspresikan pada permukaan IRBC (Cutts et al., 2017; De Koning-Ward, Dixon, Tilley, & Gilson, 2016). Protein ini memperantarai *cytoadherence* dan *rosetting* melalui pembentukan ikatan dengan berbagai reseptor pada tubuh manusia (Githinji & Bull, 2017; Jensen, Adams, & Hviid, 2020; Jespersen et al., 2016; Mkumbaye et al., 2017). Individu dengan antibodi spesifik terhadap PfEMP1 secara signifikan mengalami penurunan risiko terjadinya malaria simptomatis sehingga PfEMP1 berpotensi menjadi kandidat vaksin malaria. Akan tetapi, pengembangan vaksin malaria berbasis PfEMP1 menghadapi beberapa tantangan, antara lain kompleksitas dan variabilitas struktur PfEMP1 karena protein ini merupakan protein kompleks yang dikode oleh *var gene family*, sekelompok gen yang terdiri dari kurang lebih 60 *var gene* (Bull & Abdi, 2016; Claessens et al., 2014). Tantangan kompleksitas dan variabilitas struktur PfEMP1 dapat dipecahkan dengan menggunakan bagian *conserved* protein ini, yang dapat ditemukan pada *head structure* PfEMP1. Salah satu bagian *conserved head structure* PfEMP1 yang selalu diekspresikan pada setiap variasi struktur PfEMP1 adalah domain ekstraseluler *Cysteine-rich Interdomain Regions 1 α* (CIDR1 α) (Jespersen et al., 2016; Rask, Hansen, Theander, Pedersen, & Lavstsen, 2010). Sekuens gen pengkode CIDR1 α -PfEMP1 dari isolat Indonesia telah diidentifikasi sepanjang 525 bp dan memiliki tingkat similaritas tinggi dengan isolat lain yang menginfeksi manusia & hewan (Dewi, Ratnadewi, Sawitri, Rachmania, & Sulistyaningsih, 2018; Sulistyaningsih, Fitri, Löscher, & Berens-Riha, 2013). Oleh karena itu, domain ini menjadi kandidat potensial untuk pengembangan vaksin malaria yang bersifat universal dalam pencegahan malaria berat.

Saat ini pendekatan pengembangan vaksin sering dilakukan dengan menggunakan teknik rekayasa genetika. Pengembangan vaksin malaria berbasis CIDR1 α -PfEMP1 dilakukan melalui kloning gen dengan salah satu tahapan penting adalah mentransformasikan gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *Escherichia coli* BL21(DE3). Proses ini sangat esensial untuk memasukkan gen target ke dalam sel inang guna mendapatkan klon yang diinginkan. Ada beberapa teknik proses transformasi gen dan teknik yang sering digunakan adalah *heat shock method* karena memiliki prosedur sederhana, murah, serta dapat dilakukan dalam jumlah banyak sekaligus (Ren, Karna, Lee, Yoo, & Na, 2019). Beberapa faktor mempengaruhi keberhasilan transformasi gen. Tingkat keberhasilan proses transformasi diukur dengan menghitung efisiensi transformasi yang dinyatakan dalam satuan CFU/ μ g (Chan, Verma, Lane, & Gan, 2013). Efisiensi transformasi dipengaruhi oleh jenis kation, suhu dan durasi *heat shock*, ukuran DNA yang ditransformasikan, serta volume *plating* kultur bakteri transforman (Rivera, Gomez-Lim, Fernadez, & Loske, 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan pentingnya proses optimasi untuk setiap proses transformasi terutama berkaitan dengan durasi *heat shock* dan volume *plating* kultur bakteri transforman (Chan et al., 2013; Rahimzadeh, Sadeghizadeh, Najafi, Arab, & Mobasheri, 2016; Singh, Yadav, Ma, & Amoah, 2010; Zhou et al., 2018). Tujuan penelitian ini adalah melakukan optimasi proses transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *E. coli* BL21(DE3) untuk melakukan kloning gen rekombinan CIDR1 α -PfEMP1 menggunakan metode *heat shock*. Variabel proses transformasi yang digunakan adalah durasi *heat shock* dan volume *plating* sedangkan indikator keberhasilan transformasi adalah nilai efisiensi transformasi tertinggi. Kondisi optimum transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 sangat penting dalam tahapan pengembangan vaksin malaria terutama yang berbasis protein rekombinan.

2. METODE

Penelitian dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (CDAST) Universitas Jember dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada bulan Januari-Maret 2021. Penelitian ini telah memperoleh perizinan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan Nomor: 1.114./H25.1.11/KE/2017 dan 1.506/H25.1.11/KE/2021. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave*, *water bath*, *spectrophotometry*, *Laminar Air Flow* (LAF), *incubator*, *shaker incubator*, *Hitachi CF15RXII centrifuge*, *horizontal electrophoresis*, dan *ultraviolet transluminator*. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *E. coli* BL21(DE3) dari *Thermofisher Scientific*, plasmid kontrol pUC19 (*Thermofisher*), plasmid klon pET-30a-CIDR1 α , *Super Optimal broth with Catabolite repression* (SOC) medium (*Thermofisher*), *Lactose Broth* (LB) medium (*Merck*), *Agar Bacto* (*Merck*), kanamisin & ampicilin (*Thermofisher*), *Zyppy Plasmid Miniprep Kit* (*Zymo Research*), enzim endonuklease *BamHI* dan *XhoI* (*Thermofisher*), *agarose gel* (*Thermofisher*), *DNA Ladder CSL-mDNA-1Kb* (*Cleaver Scientific*), dan *ethidium bromide* (*Thermofisher*). Pembuatan sel kompeten *E. coli* BL21(DE3) (*Thermofisher Scientific*)

dilakukan dengan metode CaCl_2 (Mandel & Higa, 1970). Empat *tube E. coli* BL21(DE3) (6×10^8 CFU/mL) digunakan pada transformasi plasmid klon pET-30a-CIDR1 α dan plasmid kontrol pUC19 menggunakan metode *heat shock* sesuai protokol transformasi (*ThermoFisher Scientific*) dengan modifikasi durasi *heat shock* dan volume *plating* kultur bakteri transforman. Sebanyak 1 μL pUC19 (10 pg/ μL) ditransformasikan pada *tube* 1 dengan pemberian *heat shock* 42°C selama 30 detik. Sebanyak 1,5 μL pET-30a-CIDR1 α (100 ng/ μL) ditransformasikan pada *tube* 2, 3, dan 4 dengan pemberian *heat shock* 42°C selama 30, 50, dan 70 detik berturut-turut (Chan et al., 2013; Dewi et al., 2018; Rahimzadeh et al., 2016; Singh et al., 2010; Zhou et al., 2018). Bakteri transforman dikultur pada media LB-agar selektif dengan penambahan antibiotik ampicilin dan kanamisin menggunakan dua volume *plating* (100 μL & 200 μL) sesuai protokol *ThermoFisher Scientific*. Kultur bakteri transforman diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Koloni bakteri transforman dihitung dengan *colony counter* dan dikonversi menjadi nilai efisiensi transformasi menggunakan rumus pada protokol transformasi *ThermoFisher Scientific* sebagai berikut:

$$\text{Efisiensi Transformasi (CFU}/\mu\text{g}) = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{DNA rekombinan (pg)}} \times \frac{1 \times 10^6 \text{ pg}}{\mu\text{g}} \times \frac{300 \mu\text{L}}{\text{Volume Plating}}$$

Konfirmasi kloning dilakukan pada empat koloni bakteri transforman dari media LB-agar kanamisin dengan nilai efisiensi transformasi tertinggi. Isolasi plasmid klon pET-30a-CIDR1 α dilakukan sesuai protokol *Zyppy Plasmid Miniprep Kit* (*Zymo Research*). Sebagian plasmid klon hasil isolasi dipotong pada satu titik restriksi menggunakan *BamHI* (*ThermoFisher Scientific*) dan sebagian lainnya dipotong pada dua titik restriksi menggunakan *BamHI* (*ThermoFisher Scientific*) dan *XhoI* (*ThermoFisher Scientific*). Plasmid klon hasil isolasi dan hasil pemotongan secara enzimatik divisualisasikan menggunakan *agarose gel DNA electrophoresis* 1%.

3. HASIL DAN BAHASAN

Hasil

Bakteri *E. coli* BL21(DE3) hasil transformasi plasmid klon pET-30a-CIDR1 α dan plasmid kontrol pUC19 kemudian dikultur pada media LB-agar selektif. Hasil perhitungan koloni bakteri transforman pada media LB-agar kemudian dikonversi menjadi nilai efisiensi transformasi dan diurutkan dari nilai tertinggi hingga terendah, hal ini dapat dilihat pada [Tabel 1](#).

Tabel 1. Nilai Efisiensi Transformasi

No	Bakteri Transforman	Jumlah Koloni	Efisiensi Transformasi
1	<i>Tube</i> 1, <i>plating</i> 200 μL	298	$4,47 \times 10^7$ CFU/ μg
2	<i>Tube</i> 1, <i>plating</i> 100 μL	136	$4,08 \times 10^7$ CFU/ μg
3	<i>Tube</i> 2, <i>plating</i> 200 μL	5	5×10 CFU/ μg
4	<i>Tube</i> 2, <i>plating</i> 100 μL	1	2×10 CFU/ μg
5	<i>Tube</i> 3, <i>plating</i> 200 μL	19	$1,9 \times 10^2$ CFU/ μg
6	<i>Tube</i> 3, <i>plating</i> 100 μL	2	4×10 CFU/ μg
7	<i>Tube</i> 4, <i>plating</i> 200 μL	0	0 CFU/ μg
8	<i>Tube</i> 4, <i>plating</i> 100 μL	0	0 CFU/ μg

Keterangan:

Tube 1: pUC19, *heat shock* 30 detik

Tube 2: pET-30a-CIDR1 α , *heat shock* 30 detik

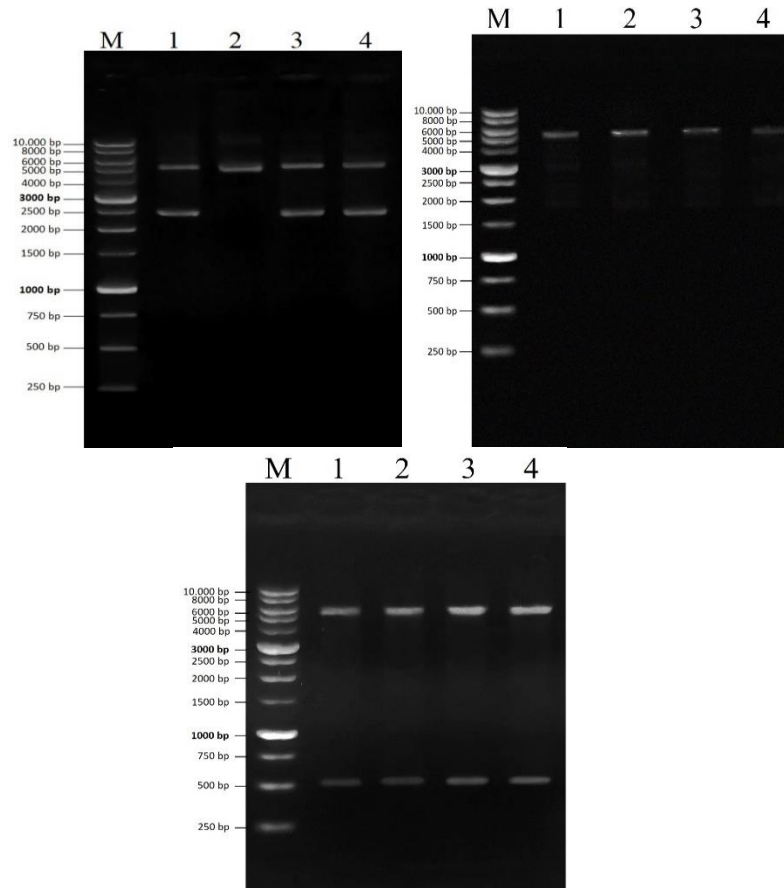
Tube 3: pET-30a-CIDR1 α , *heat shock* 50 detik

Tube 4: pET-30a-CIDR1 α , *heat shock* 70 detik

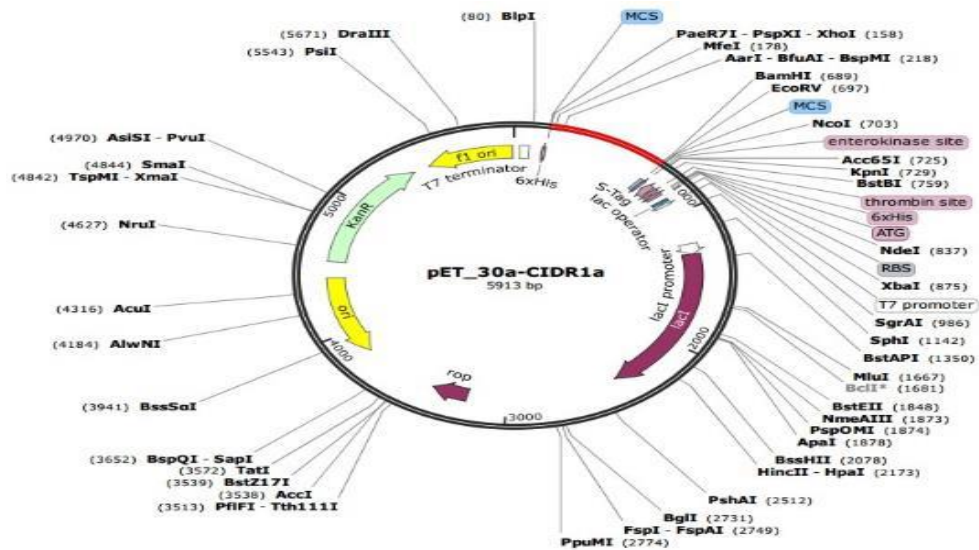
Konfirmasi Kloning

Konfirmasi kloning dilakukan pada empat koloni bakteri transforman dari media LB-agar kanamisin dengan nilai efisiensi transformasi tertinggi. Visualisasi *electrophoresis* plasmid klon hasil isolasi yang terdapat pada [Gambar 2a](#), menunjukkan keberadaan pET-30a-CIDR1 α berupa *band* DNA pada *lane* 1, 2, 3 dan 4. Pada *lane* 2 didapatkan visualisasi *single band*, sedangkan pada *lane* 1, 3, dan 4 didapatkan visualisasi *double band*. Visualisasi hasil *electrophoresis* plasmid klon dengan pemotongan satu enzim terlihat pada [Gambar 2b](#), menunjukkan *band* DNA dengan ukuran ± 5900 bp pada *lane* 1, 2, 3

dan 4 yang sesuai dengan ukuran pET-30a-CIDR1α (5913 bp). Sebagian plasmid klon juga dipotong pada dua titik restriksi menggunakan enzim restriksi *Bam*HI (Thermofisher Scientific) dan *Xho*I (Thermofisher Scientific) dengan tujuan memisahkan plasmid pET-30a dengan gen CIDR1α sesuai map pET-30a-CIDR1α. Visualisasi hasil *electrophoresis*, yang dapat diamati pada Gambar 2c menunjukkan keberadaan dua band DNA berukuran ±5400 (plasmid pET-30a) dan ±525 bp (CIDR1α) pada seluruh lane. Untuk Map DNA rekombinan pET-30a-CIDR1α. Konfirmasi kloning dilakukan restriksi DNA rekombinan pada titik pemotongan *Bam*HI (689 bp) dan *Xh*OI (158 bp) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Visualisasi Hasil Konfirmasi Kloning dengan *Electrophoresis* pada Agarose Gel 1%



Gambar 3. Map DNA Rekombinan pET-30a-CIDR1α.

Pembahasan

Transformasi gen adalah proses introduksi atau memasukkan gen target dari satu organisme ke organisme lain yang memungkinkan munculnya sifat gen yang dibawa ke dalam organisme baru tersebut. Proses ini sangat krusial dalam rekayasa genetika. Tingkat keberhasilan proses transformasi dapat diukur dengan nilai efisiensi transformasi (Rahimzadeh et al., 2016). Pada penelitian ini variabel transformasi dari metode *heat-shock* yang diuji adalah durasi *heat-shock* dan volume *plating*. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan nilai efisiensi transformasi akibat perlakuan yang berbeda. Perbedaan nilai efisiensi transformasi pada masing-masing perlakuan menunjukkan adanya pengaruh durasi *heat shock* dan volume *plating* terhadap efisiensi transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *E. coli* BL21(DE3). Hasil tersebut didukung penelitian sebelumnya yang menyatakan nilai efisiensi transformasi dipengaruhi durasi *heat shock* dan volume *plating* (Chai & Kong, 2017; Kelechi et al., 2021)

Durasi *heat shock* sangat menentukan keberhasilan transformasi. Durasi *heat shock* yang terlalu singkat menyebabkan kurang terbukanya membran sel dengan baik sehingga DNA eksogen tidak dapat masuk ke dalam sel dengan maksimal, akan tetapi pemberian *heat shock* yang terlalu lama juga dapat menyebabkan *stress* dan kerusakan membran sel bakteri (Singh et al., 2010). Efisiensi transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *E. coli* BL21(DE3) paling optimum didapatkan pada kombinasi *heat shock* selama 50 detik dan volume *plating* 200 μ L dengan nilai efisiensi transformasi mencapai $1,9 \times 10^2$ CFU/ μ g. Nilai efisiensi tersebut lebih tinggi daripada kondisi *heat shock* 30 detik dan volume *plating* 200 μ L yang hanya mencapai 5×10 CFU/ μ g. Pada pemberian *heat shock* 70 detik tidak didapatkan pertumbuhan bakteri pada volume *plating* 200 μ L ataupun 100 μ L. Paparan *heat shock* 70 detik telah menyebabkan *stress* dan kerusakan membran sel *E. coli* BL21(DE3) sehingga bakteri mengalami kematian. Hasil tersebut didukung beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan nilai efisiensi transformasi terbaik pada *E. coli* didapatkan pada durasi *heat shock* 30-50 detik dan mulai menurun pada pemberian *heat shock* lebih dari 60 detik (Singh et al., 2010; Wang et al., 2020).

Faktor lain yang mempengaruhi nilai efisiensi transformasi adalah volume *plating* kultur bakteri transforman. Semakin besar volume *plating* maka semakin banyak bakteri transforman yang dikultur pada media, akan tetapi apabila densitas koloni terlalu tinggi juga dapat menurunkan pertumbuhan bakteri akibat adanya kompetisi dalam mendapatkan nutrisi. Pada penelitian ini digunakan dua volume *plating* (100 μ L dan 200 μ L) pada masing-masing perlakuan sesuai protokol *ThermoFisher Scientific*. Hasil penelitian menunjukkan nilai efisiensi transformasi yang lebih tinggi pada volume *plating* 200 μ L daripada 100 μ L, sesuai dengan teori yang menyatakan jumlah koloni sebanding dengan volume *plating*. Penelitian ini menunjukkan nilai efisiensi transformasi gen CIDR1 α yang paling optimum didapatkan pada kombinasi durasi paparan *heat shock* 50 detik dan volume *plating* 200 μ L dengan nilai efisiensi transformasi $1,9 \times 10^2$ CFU/ μ g, sedangkan nilai efisiensi transformasi kontrol (pUC19) sebesar $4,47 \times 10^7$ CFU/ μ g. Perbedaan nilai efisiensi transformasi kontrol dan perlakuan disebabkan oleh perbedaan ukuran pET-30a-CIDR1 α (5913 bp) dan pUC19 (2686 bp), Plasmid klon pET-30a-CIDR1 α yang berukuran dua kali lipat plasmid kontrol pUC19 lebih sulit menembus membran sel sehingga memiliki nilai efisiensi transformasi yang lebih rendah, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa penurunan nilai efisiensi transformasi terjadi seiring dengan peningkatan ukuran DNA yang ditransformasikan (Inoue, H., & Okayama, n.d.; Kuo, Walker, Schroder, & Belland, 2014).

Hasil konfirmasi kloning melalui visualisasi *electrophoresis* (tanpa restriksi enzim) menunjukkan keberadaan pET-30a-CIDR1 α berupa *single band* DNA dengan ukuran yang sesuai pET-30a-CIDR1 α (5900 bp) dan *double band* DNA dengan ukuran yang lebih pendek. Visualisasi *double band* tersebut terjadi akibat konformasi plasmid klon pET-30a-CIDR1 α yang berbentuk *circular supercoiled* DNA, dimana *circular supercoiled* DNA dapat divisualisasi dengan ukuran band yang lebih pendek dari ukuran yang sebenarnya akibat konformasi DNA pada *agarose gel* yang menyebabkan *circular supercoiled* DNA bergerak lebih cepat dibanding *linear* DNA (Cebrián et al., 2015; Stellwagen & Stellwagen, 2009). Keberadaan *circular supercoiled* DNA dapat menyebabkan bias karena ukuran *band* yang terbentuk tidak sesuai dengan ukuran yang sebenarnya. Oleh sebab itu, dilakukan pemotongan plasmid klon pada satu titik restriksi menggunakan enzim restriksi *Bam*HI (*ThermoFisher Scientific*) guna mengubah bentuk plasmid klon yang *circular* menjadi *linear*. Visualisasi hasil *electrophoresis* plasmid klon dengan pemotongan satu enzim menunjukkan *band* DNA dengan ukuran ± 5900 bp pada seluruh *lane* yang sesuai dengan ukuran pET-30a-CIDR1 α (5913 bp). Sebagian plasmid klon juga dipotong pada dua titik restriksi menggunakan enzim restriksi *Bam*HI (*ThermoFisher Scientific*) dan *Xho*I (*ThermoFisher Scientific*) dengan tujuan tujuan memisahkan plasmid pET-30a dengan gen CIDR1 α sesuai *map* pET-30a-CIDR1 α (Gambar 3). Visualisasi hasil *electrophoresis* dengan restriksi dua enzim (*Bam*HI & *Xho*I) menunjukkan keberadaan dua *band* DNA berukuran ± 5400 (plasmid pET-30a) dan ± 525 bp (CIDR1 α) pada seluruh *lane*. Hasil tersebut mengonfirmasi bahwa koloni rekombinan mengandung *insert gene* CIDR1 α -PfEMP1.

4. SIMPULAN

Kondisi optimum transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 pada *E. coli* BL21(DE3) menggunakan metode *heat shock* dicapai pada kombinasi durasi paparan *heat shock* 50 detik dan volume *plating* bakteri transforman 200 μ L yang menghasilkan nilai efisiensi transformasi tertinggi sebesar $1,9 \times 10^2$ CFU/ μ g. Kondisi optimum transformasi ini dapat digunakan untuk penelitian lanjutan biomolekuler dalam rangka pengembangan vaksin malaria.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai oleh Hibah internal Universitas Jember tahun 2020 melalui skema Hibah Kelompok Riset Malaria Fakultas Kedokteran Universitas Jember No. 2757/UN25.3.1/LT/2020.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Bull, P. C., & Abdi, A. I. (2016). The role of PfEMP1 as targets of naturally acquired immunity to childhood malaria: Prospects for a vaccine. *Parasitology*, 143(2), 171–186. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001274>.
- Cebrián, J., Kadomatsu-Hermosa, M. J., Castán, A., Martínez, V., Parra, C., Fernández-Nestosa, M. J., ... Schwartzman, J. B. (2015). Electrophoretic mobility of supercoiled, catenated and knotted DNA molecules. *Nucleic Acids Res*, 43(4), e24. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1255>.
- Chai, C. S., & Kong, S.-C. (2017). Professional learning for 21st century education. *Journal of Computers in Education*, 4(1), 1–4. <https://doi.org/10.1007/s40692-016-0069-y>.
- Chan, W. T., Verma, C. S., Lane, D. P., & Gan, S. K. E. (2013). A comparison and optimization of methods and factors affecting the transformation of *Escherichia coli*. *Biosci Rep*, 33(6), e00086. <https://doi.org/10.1042/BSR20130098>.
- Claessens, A., Hamilton, W. L., Kekre, M., Otto, T. D., Faizullabhoj, A., Rayner, J. C., & Kwiatkowski, D. (2014). Generation of Antigenic Diversity in *Plasmodium falciparum* by Structured Rearrangement of Var Genes During Mitosis. *PLoS Genet*, 10(12), e1004812. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004812>.
- Cutts, E. E., Laasch, N., Reiter, D. M., Trenker, R., Slater, L. M., Stansfeld, P. J., & Vakonakis, I. (2017). Structural analysis of *P. falciparum* KAHRP and PfEMP1 complexes with host erythrocyte spectrin suggests a model for cytoadherent knob protrusions. *PLoS Pathog*, 13(8), e1006552. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006552>.
- De Koning-Ward, T. F., Dixon, M. W. A., Tilley, L., & Gilson, P. R. (2016). *Plasmodium* species: Master renovators of their host cells. *Nat Rev Microbiol*, 14(8), 494–507. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.79>.
- Dewi, R., Ratnadewi, A. A. I., Sawitri, W. D., Rachmania, S., & Sulistyarningsih, E. (2018). Cloning, sequence analysis, and expression of CIDR1 α -pfEMP1 from Indonesian *Plasmodium falciparum* isolate. *Curr Top Peptide Prot Res*, 19, 95-104. Retrieved from http://www.researchtrends.net/tia/article_pdf.asp?in=0&vn=19&tid=26&aid=6269.
- Gay, F., Zougbédé, S., N'Dilimabaka, N., Rebollo, A., Mazier, D., & Moreno, A. (2012). Cerebral malaria: What is known and what is on research. <https://doi.org/>. *Rev Neurol (Paris)*, 166(3), 239-256. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2012.01.582>.
- Githinji, G., & Bull, P. C. (2017). A re-assessment of gene-tag classification approaches for describing var gene expression patterns during human *Plasmodium falciparum* malaria parasite infections. *Wellcome Open Res*, 2, 86. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.12053.1>.
- Goel, S., Palmkvist, M., Moll, K., Joannin, N., Lara, P. R., Akhouri, R., ... Wahlgren, M. (2015). RIFINs are adhesins implicated in severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Nat Med* 21(4); 21(4), 314-317. <https://doi.org/10.1038/nm.3812>.
- Inoue, H., H., N., & Okayama, H. (n.d.). High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene*, 96(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90336-P](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90336-P).
- Jensen, A. R., Adams, Y., & Hviid, L. (2020). Cerebral *Plasmodium falciparum* malaria: The role of PfEMP1 in its pathogenesis and immunity, and PfEMP1-based vaccines to prevent it. *Immunol Rev*, 293(1), 230-252. <https://doi.org/10.1111/imr.12807>.
- Jespersen, J. S., Wang, C. W., Mkumbaye, S. I., Minja, D. T., Petersen, B., Turner, L., ... Lavstsen, T. (2016). *Plasmodium falciparum* var genes expressed in children with severe malaria encode CIDR α 1 domains. *EMBO Mol Med*, 8(8), 839–850. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606188>.
- Kelechi, A. H., Alsharif, M. H., Oluwole, D. A., Achimugu, P., Ubadike, O., Nebhen, J., ... Uthansakul, P. (2021). The Recent Advancement in Unmanned Aerial Vehicle Tracking Antenna: A Review. *Sensors*,

- 21(6), 5662. <https://doi.org/10.3390/s21165662>.
- Kuo, Y. C., Walker, A. E., Schroder, K. E. E., & Belland, B. R. (2014). "Interaction, Internet Self-Efficacy, and Self-Regulated Learning as Predictors of Student Satisfaction in Online Education Courses. *Internet and Higher Education*, 20, 35–50. <https://doi.org/10.1016/j.jiheduc.2013.10.001>.
- Lee, P.-I., & Hsueh, P.-R. (2020). Lee, P. I., & Hsueh, P. R. (2020). Emerging Threats From Zoonotic Coronaviruses-From SARS And MERS To 2019-Ncov. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection.*, 53(3), 365–367. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.02.001>.
- Mkumbaye, S. I., Wang, C. W., Lyimo, E., Jespersen, J. S., Manjurano, A., Mosha, J., ... Lavstsen, T. (2017). The severity of Plasmodium falciparum infection is associated with transcript levels of var genes encoding endothelial protein C receptor-binding P. falciparum erythrocyte membrane protein 1. *Infect Immun*, 85(4), e00841. <https://doi.org/10.1128/IAI.00841-16>.
- Niang, M., Bei, A. K., Madnani, K. G., Pelly, S., Dankwa, S., Kanjee, U., ... Preiser, P. R. (2014). The variant STEVOR protein of Plasmodium falciparum is a red cell binding protein important for merozoite invasion and rosetting HHS Public Access. *Ell Host Microbe*, C16(1), 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2014.06.004>.
- Nureye, D., & Assefa, S. (2020). Old and Recent Advances in Life Cycle, Pathogenesis, Diagnosis, Prevention, and Treatment of Malaria Including Perspectives in Ethiopia. *Hindawi Sci World J*, 2020:, 1295381. <https://doi.org/10.1155/2020/1295381>.
- Rahimzadeh, M., Sadeghizadeh, M., Najafi, F., Arab, S. S., & Mobasheri, H. (2016). Impact of heat shock on bacterial transformation efficiency. *Mol Biol Res Commun*, 5(4), 257-261. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5326489/pdf/mbr-5-257.pdf>.
- Rask, T. S., Hansen, D. A., Theander, T. G., Pedersen, A. G., & Lavstsen, T. (2010). Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 diversity in seven genomes - divide and conquer. *PLoS Comput Biol*, 6(9), e1000933. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000933>.
- Ren, J., Karna, S., Lee, H. M., Yoo, S. M., & Na, D. (2019). Artificial transformation methodologies for improving the efficiency of plasmid DNA transformation and simplifying its use. *Appl Microbiol Biotechnol*, 103(23–24), 9205–9215. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10173-x>.
- Riskesdas. (2018). *Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Rivera, A. L., Gomez-Lim, M., Fernadez, F., & Loske, A. M. (2014). Genetic Transformation of Cells using Physical Methods. *J Genet Syndr Gene Ther*, 5, 4. <https://doi.org/10.4172/2157-7412.1000237>.
- Singh, M., Yadav, A., Ma, X., & Amoah, E. (2010). Plasmid DNA transformation in Escherichia Coli: effect of heat shock temperature, duration, and cold incubation of CaCl₂ treated cells. *Int J Biotechnol Biochem*, 6(4), 561-568. Retrieved from <http://www.ripublication.com/ijbb.htm>.
- Stellwagen, N. C., & Stellwagen, E. (2009). Effect of the matrix on DNA electrophoretic mobility. *J Chromatogr A*, 1216(10), 1917-1929. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.11.090>.
- Sulistyaningsih, E., Fitri, L. E., Löscher, T., & Berens-Riha, N. (2013). Diversity of the var gene family of Indonesian Plasmodium falciparum isolates. <https://doi.org/>. *Malar J*, 12(80). <https://doi.org/10.1186/1475-2875-12-80>.
- Wang, Y., Wang, X., Yu, L., Tian, Y., Li, S., Leng, F., ... Chen, J. (2020). Effects of Sr²⁺ on the preparation of Escherichia coli DH5 α competent cells and plasmid transformation. *PeerJ*, 8, e9480. <https://doi.org/10.7717/peerj.9480>.
- Wassmer, S. C., Taylor, T. E., Rathod, P. K., Mishra, S. K., Mohanty, S., Herrera, M. A., ... Smith, J. . (2015). Investigating the Pathogenesis of Severe Malaria: A Multidisciplinary and Cross-Geographical Approach. <https://doi.org/>. *Am J Trop Med Hyg*, 93((3 Suppl)), 42–56. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0841>.
- WHO. (2020). *World Malaria Report 2020*. World Health Organization.
- Zhou, J., Li, X., Xia, J., Wen, Y., Zhou, J., Yu, Z., & Tian, B. (2018). The role of temperature and bivalent ions in preparing competent Escherichia coli. *3 Biotech*, 8(5), 222. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1243-x>.