

ABSTRAK

Judul : Optimasi Ekspresi Prekursor *Human* Insulin dengan Penambahan Co-Substrat Sorbitol pada *Host Pichia pastoris* X-33
Nama : Tassa Nureka Permatasari
Program Studi : Farmasi

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dan dapat menyebabkan kerusakan pada organ tubuh. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS), prevalensi diabetes di Indonesia dilaporkan terus meningkat setiap tahunnya seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dan bertambahnya usia. *Human* Insulin (HI) rekombinan merupakan terapi lini pertama untuk pasien diabetes melitus tipe 1 yang diproduksi melalui teknologi DNA rekombinan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sorbitol sebagai Co-Substrat dan pengaruh metode aerasi dengan dua jenis *flask* (*baffled flask* dan *erlenmeyer flask*) terhadap ekspresi protein prekursor *human* insulin. Proses prekultur menggunakan media BMGY (*Buffered glycerol complex medium*) sedangkan proses optimasi kondisi fermentasi menggunakan media BSMM (*Methanol basal salt medium*) dengan 3% metanol. Proses optimasi fermentasi menggunakan rancangan percobaan dengan *Pichia pastoris* klon HF7 dan WT menggunakan *baffled flask* dan *erlenmeyer flask* dengan beberapa konsentrasi sorbitol yang berbeda yaitu 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 g/L. Data SDS-PAGE dianalisis menggunakan aplikasi *ImageJ*. Data penelitian (pengukuran nilai OD₆₀₀, berat sel basah (WCW), berat sel kering (DCW), serta hasil *ImageJ*) dianalisis dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 29. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi sorbitol sebesar 30 g/L sebagai Co-Substrat dengan menggunakan *erlenmeyer flask* pada proses fermentasi *Pichia pastoris* klon HF7 dapat meningkatkan ekspresi protein prekursor *human* insulin sebesar 1,303 kali lipat dibandingkan dengan tanpa penambahan sorbitol.

Kata kunci:

Co-Substrat Sorbitol; Diabetes Mellitus; *Pichia pastoris* ; Prekursor *Human* Insulin

ABSTRACT

Title : Optimization of Human Insulin Precursor Expression with Addition of Sorbitol Co-Substrate in Host *Pichia pastoris* X-33
Name : Tassa Nureka Permatasari
Study Program : Pharmacy

Diabetes Mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by hyperglycemia and can cause damage to organs. Based on Basic Health Research (RISKESDAS), the prevalence of diabetes in Indonesia is reported to continue to grow yearly as the population increases and ages. Recombinant Human Insulin (HI) is a first-line therapy for type 1 diabetes mellitus patients produced through recombinant DNA technology. This study aims to determine the effects of sorbitol concentration as a Co-Substrate and the impact of aeration methods with two kinds of flasks (baffled flask and erlenmeyer flask) on the expression of human insulin precursor proteins. The preculture process used BMGY (Buffered glycerol complex medium), while the fermentation condition optimization process used BSMM (Methanol basal salt medium) media with 3% methanol. The fermentation optimization process used an experimental design with *Pichia pastoris* HF7 and WT clones using a baffled flask and erlenmeyer flask with several different sorbitol concentrations of 0, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 g/L, respectively. The SDS-PAGE data was analyzed using the *ImageJ* application. The research data (OD₆₀₀ value measurement, wet cell weight (WCW), dry cell weight (DCW), and *ImageJ* results) was analyzed using SPSS app version 29. The results show that administering a sorbitol concentration of 30 g/L as a Co-Substrate using an erlenmeyer flask in the fermentation process of *Pichia pastoris* HF7 clone could increase human insulin precursor protein expression 1,303 times higher than without sorbitol addition.

Keywords:

Co-Substrate Sorbitol; Diabetes Mellitus; *Pichia pastoris*; Human Insulin Precursor