

**PERBANYAKAN PLASMID EKSPRESI PENYANDI GEN
ANTIBODI SCFV-FC ANTI-HER2 DALAM *Escherichia coli*
DAN TRANSFORMASINYA PADA *Komagataella phaffii***

FATIA NURSYABANI



**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Perbanyakan Plasmid Ekspresi Penyandi Gen Antibodi scFv-Fc anti-HER2 dalam *Escherichia coli* dan Transformasinya pada *Komagataella phaffii*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2025

Fatia Nursyabani
G8401211025



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ABSTRAK

FATIA NURSYABANI. Perbanyakan Plasmid Ekspresi Penyandi Gen Antibodi scFv-Fc anti-HER2 dalam *Escherichia coli* dan Transformasinya pada *Komagataella phaffii*. Dibimbing oleh POPI ASRI KURNIATIN dan ASRUL MUHAMAD FUAD.

Pengembangan antibodi rekombinan scFv-Fc anti-HER2 merupakan alternatif terapeutik untuk kanker payudara HER2+. Format antibodi ini memiliki keunggulan yaitu seluruh domain penyusunnya tersusun dalam satu struktur gen yang ringkas, sehingga memungkinkan ekspresi gen yang efisien dalam sel inang non-mamalia seperti yeast. Penelitian ini bertujuan memperbanyak plasmid ekspresi penyandi gen antibodi scFv-Fc anti-HER2 dalam *Escherichia coli* dan mentransformasikannya ke yeast *Komagataella phaffii* sebagai sistem ekspresi eukariotik. Plasmid pJ912-anti-HER2 berhasil diperbanyak melalui transformasi pada *E. coli* DH5 α dengan metode kejut panas dan diperoleh konsentrasi cukup tinggi dengan kemurnian yang baik pada rasio A_{260/280} dan A_{260/230}. Transformasi pJ912-anti-HER2 ke *K. phaffii* melalui metode kejut listrik menghasilkan koloni transforman putatif dengan efisiensi transformasi yang masih rendah. Keberhasilan integrasi plasmid menunjukkan potensi sistem ini untuk produksi antibodi rekombinan secara efisien dan ekonomis.

Kata kunci: Antibodi rekombinan, *Escherichia coli*, HER2, *Komagataella phaffii*, scFv-Fc.

ABSTRACT

FATIA NURSYABANI. Propagation of scFv-Fc anti-HER2 Antibody Gene Encoding Expression Plasmid in *Escherichia coli* and Its Transformation in *Komagataella phaffii*. Supervised by POPI ASRI KURNIATIN and ASRUL MUHAMAD FUAD.

The development of recombinant scFv-Fc anti-HER2 antibodies is a therapeutic alternative for HER2+ breast cancer. This antibody format has the advantage that all the constituent domains are arranged in one compact gene structure, allowing efficient gene expression in non-mammalian host cells such as yeast. This study aims to propagate the scFv-Fc anti-HER2 gene expression plasmid in *Escherichia coli* and transform it into *Komagataella phaffii* yeast as a eukaryotic expression system. Plasmid pJ912-anti-HER2 was successfully amplified through transformation in *E. coli* DH5 α using the heat shock method and obtained a sufficiently high concentration with good purity at the A_{260/280} and A_{260/230} ratios. Transformation of pJ912-anti-HER2 into *K. phaffii* using the electroporation method produced putative transformant colonies with low transformation efficiency. The successful integration of plasmids shows the potential of this system for efficient and economical production of recombinant antibodies.

Keywords: *Escherichia coli*, HER2, *Komagataella phaffii*, recombinant antibody, scFv-Fc.



@Hak cipta milik IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**PERBANYAKAN PLASMID EKSPRESI PENYANDI GEN
ANTIBODI SCFV-FC ANTI-HER2 DALAM *Escherichia coli*
DAN TRANSFORMASINYA PADA *Komagataella phaffii***

FATIA NURSYABANI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

- 1 Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D.
- 2 Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si.

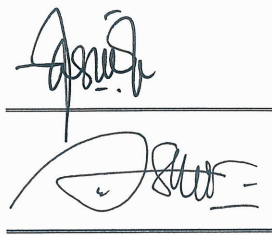
Judul Skripsi : Perbanyak Plasmid Ekspresi Penyandi Gen Antibodi scFv-Fc anti-HER2 dalam *Escherichia coli* dan Transformasinya pada *Komagataella phaffii*

Nama : Fatia Nursyabani
NIM : G8401211025

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Departemen Biokimia:
Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP 197709152005012002



Tanggal Ujian:
29 Juli 2025

Tanggal Lulus:



IPB University

IPB University
— Bogor Indonesia —

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan November 2024 sampai bulan Mei 2025 ini ialah rekayasa genetik, dengan judul “Perbanyak Plasmid Ekspresi Penyandi Gen Antibodi scFv-Fc anti-HER2 dalam *Escherichia coli* dan Transformasinya pada *Komagataella phaffii*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Popi Asri Kurniatin, S.Si., Apt., M.Si. dan Dr. Asrul Muhamad Fuad, M.Si. yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Nino Akbar Adisaputro sebagai teman dan rekan kerja dalam penelitian ini. Selanjutnya, penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Riset Rekayasa Genetika BRIN atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian di Laboratorium Genomik. Rasa syukur dan terima kasih yang mendalam juga penulis sampaikan kepada bapak, mamah, dan seluruh anggota keluarga atas dukungan moral dan doa yang tiada henti. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rachel Maryam Maulida Umar atas segala bantuan dan kebersamaannya dalam menemani penulis selama proses penyusunan karya tulis ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada sahabat seperjuangan sejak masa PPKU, Farah Fathia Tsuraya, yang senantiasa menjadi teman belajar, tempat berbagi cerita, dan teman dalam suka maupun duka. Tak lupa, penulis mengucapkan terima kasih kepada rekan-rekan KKN-T Inovasi IPB di Desa Panembangan, serta kepada kelompok pejuang skripsi—Fatiha, Arum, Adit, Nikma, dan Dewi—yang telah memberikan semangat, dukungan, dan bantuan selama perjalanan penulis sebagai mahasiswa Departemen Biokimia, IPB University, hingga terselesaikannya karya tulis ini.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2025

Fatia Nursyabani



- 

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	iv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 HER2 dalam Kanker Payudara	4
2.2 Antibodi Rekombinan	7
2.3 Peran <i>Escherichia coli</i> dalam Perbanyakan Plasmid	8
2.4 Sistem Ekspresi <i>Komagataella phaffii</i>	10
2.5 Transformasi ke Inang <i>Komagatella phaffii</i>	12
2.6 Plasmid pJ912-anti-HER2	13
III METODE	15
3.1 Waktu dan Tempat	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.3 Prosedur Kerja	15
IV HASIL	20
4.1 Ekstraksi pJ912-anti-HER2	20
4.2 Transforman <i>E. coli</i> DH5 α pJ912-anti-HER2	20
4.3 Isolasi dan Purifikasi pJ912-anti-HER2	21
4.4 Linearisasi pJ912-anti-HER2	22
4.5 Transforman <i>K. phaffii</i> GS10 pJ912-anti-HER2	24
V PEMBAHASAN	26
5.1 Ekstraksi pJ912-anti-HER2 dari <i>filter paper</i>	26
5.2 Transforman <i>E. coli</i> DH5 α pJ912-anti-HER2	26
5.3 Isolasi dan Purifikasi pJ912-anti-HER2	29
5.4 Linearisasi pJ912-anti-HER2	31
5.5 Transforman <i>K. phaffii</i> GS10 pJ912-anti-HER2	32
VI SIMPULAN DAN SARAN	35
6.1 Simpulan	35
6.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	41
RIWAYAT HIDUP	47

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

1	Kuantifikasi pJ912-anti-HER2 hasil ekstraksi <i>filter paper</i>	20
2	Kuantifikasi pJ912-anti-HER2 hasil purifikasi skala menengah	21
3	Kuantifikasi pJ912-anti-HER2 linear hasil purifikasi	22

DAFTAR GAMBAR

1	Struktur HER2	4
2	Diagram jalur pensinyalan HER2	5
3	Disregulasi HER2	6
4	Format berbagai jenis antibodi rekombinan	7
5	Jalur metabolisme metanol <i>K. phaffii</i>	12
6	Inseri gen pada lokus AXO1	13
7	Plasmid pJ912-anti-HER2	14
8	Transformasi pJ912- anti-HER2 pada <i>E. coli</i> DH5 α	21
9	Elektroforegram isolasi plasmid pJ912-anti-HER2	22
10	Elektroforegram purifikasi plasmid pJ912-anti-HER2	22
11	Elektroforegram linearisasi pJ912-anti-HER2	23
12	Transformasi pJ912-anti-HER2 pada <i>K. phaffii</i> GS10	24
13	Uji sensitivitas koloni <i>K. phaffii</i> GS10 terhadap zeocin setelah transformasi	25
14	Proses elektroporasi dan mekanisme rekombinasi homolog pada <i>K. phaffii</i>	34

DAFTAR LAMPIRAN

1	Diagram alir penelitian	42
2	Efisiensi transformasi pada <i>E. coli</i> DH5	43
3	Analisis <i>yield</i> DNA sebelum dan sesudah restriksi	43
4	Komposisi media	43
5	Preparasi reagen	45