

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI PROTEIN REKOMBINAN L1 HPV 52 MENGGUNAKAN FERMENTASI KONTINYU DENGAN INANG YEAST METILOTROFIK *Hansenula polymorpha*

MAHARANI DEWI PUSPA NAGARI



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



- 

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Produksi dan Karakterisasi Protein Rekombinan L1 HPV 52 Menggunakan Fermentasi Kontinyu dengan Inang *Yeast* Metilotrofik *Hansenula polymorpha*” 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 serta Badan Riset dan Inovasi Nasional.

Bogor, Mei 2025

Maharani Dewi Puspa Nagari
G8401211061

- 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

MAHARANI DEWI PUSPA NAGARI. Produksi dan Karakterisasi Protein Rekombinan L1 HPV 52 Menggunakan Fermentasi Kontinyu dengan Inang Yeast Metilotrofik *Hansenula polymorpha*. Dibimbing oleh MEGA SAFITHRI dan AI HERTATI.

Prevalensi kanker serviks secara global menempati urutan keempat terbanyak, salah satunya di Indonesia dengan prevalensi tertinggi disebabkan infeksi *Human papillomavirus* (HPV) 52. Pengembangan vaksin berbasis protein rekombinan kapsid mayor L1 HPV 52 dengan menggunakan sistem ekspresi yeast melalui metode fermentasi kontinyu belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan memproduksi, memurnikan, dan mengkarakterisasi protein rekombinan L1 HPV 52 menggunakan metode fermentasi kontinyu dengan inang yeast *Hansenula polymorpha*. Proses fermentasi dilakukan dengan bioreaktor 1 L, dilanjutkan dengan lisis sel, purifikasi menggunakan *Fast Protein Liquid Chromatography* (FPLC), serta karakterisasi melalui *Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), dan uji protein total *bicinchoninic acid* (BCA). Hasil SDS-PAGE belum menunjukkan keberadaan pita protein L1, sehingga dikonfirmasi dengan ELISA. Keseluruhan konsentrasi protein L1 HPV 52 diperoleh sebesar 0,0456 µg/mL, dengan *recovery yield* setelah purifikasi berkisar antara 0,94–5,58%. Rendahnya nilai *recovery yield* diduga disebabkan oleh agregasi protein serta lemahnya interaksi protein dengan resin kolom.

Kata kunci: Bioreaktor, fermentasi kontinyu, L1 HPV 52, yeast rekombinan

ABSTRACT

MAHARANI DEWI PUSPA NAGARI. Production and Characterization of L1 HPV 52 Recombinant Protein Using Continuous Fermentation in the Methylophilic Yeast Host *Hansenula polymorpha*. Supervised by MEGA SAFITHRI and AI HERTATI.

The prevalence of cervical cancer globally ranks fourth, one of which is in Indonesia with the highest prevalence caused by *Human papillomavirus* (HPV) 52 infection. The development of a vaccine based on L1 major capsid recombinant protein of HPV 52 using yeast expression system through continuous fermentation method has not been widely done. This study aimed to produce, purify, and characterize L1 HPV 52 recombinant protein using a continuous fermentation method with the yeast host, *Hansenula polymorpha*. The fermentation process was carried out with a 1 L bioreactor, followed by cell lysis, purification using Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC), and characterization through Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and total protein bicinchoninic acid (BCA) assay. SDS-PAGE results did not show the presence of L1 protein bands, so it was confirmed by ELISA. The overall concentration of L1 protein HPV 52 obtained was 0.0456 µg/mL, with recovery yield after purification ranging from 0.94-5.58%. The low recovery yield value is thought to be caused by protein aggregation and weak protein interaction with column resin.

Keywords: Bioreactor, continuous fermentation, L1 HPV 52, recombinant yeast



@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.

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI PROTEIN REKOMBINAN L1 HPV 52 MENGGUNAKAN FERMENTASI KONTINYU DENGAN INANG YEAST METILOTROFIK *Hansenula polymorpha*

MAHARANI DEWI PUSPA NAGARI

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 Prof. Dr. Dra. Laksmi Ambarsari, M.S.
- 2 Prof. Dr. drh. Hasim, DEA

Judul Skripsi : Produksi dan Karakterisasi Protein Rekombinan L1 HPV 52 Menggunakan Fermentasi Kontinyu dengan Inang *Yeast Metilotrofik Hansenula polymorpha*

Nama : Maharani Dewi Puspa Nagari

NIM : G8401211061

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.

NIP. 197709152005012002



Pembimbing 2:

Apt. Ai Hertati, M.Si., Ph.D.

NIP. 198003072005022004



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:

Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M. Si.

NIP. 197709152005012002



Tanggal Ujian:
2 Juni 2025

Tanggal Lulus:



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan 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.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Penelitian berjudul “Produksi dan Karakterisasi Protein Rekombinan L1 HPV 52 Menggunakan Fermentasi Kontinyu dengan Inang *Yeast* Metilotrofik *Hansenula polymorpha*” dilaksanakan sejak September 2024 hingga April 2025. Terima kasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si. dan Apt. Ai Hertati, M.Si., Ph.D. selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan bimbingan, perhatian, dan kesempatan yang sangat berharga bagi penulis.

Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada orang tua dan adik atas semua doa dan dukungan yang sangat berarti. Selain itu, penulis juga berterima kasih kepada staf Kelompok Riset Protein Rekombinan Virus BRIN (Bu Nur, Bu dr. Ela, Pak Herman, Pak Apon, dan Kak Icha) yang selalu membantu selama penelitian, semua rekan-rekan mahasiswa RGTDP terutama Debora yang telah banyak membantu, teman-teman Ketik (Kania, Reza, Jasmine, Nadine, Yana, Rifda, dan Imel) yang selalu memberikan semangat, serta teman-teman di Biokimia yang telah memberikan dukungan serta doa, yang mana tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyampaikan permohonan maaf jika terdapat kesalahan dalam penulisan. Kritik dan saran yang membangun dari pembaca senantiasa penulis harapkan demi kebaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pihak yang membutuhkan, pembaca pada umumnya, dan perkembangan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2025

Maharani Dewi Puspa Nagari



@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.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Human papillomavirus</i> (HPV)	3
2.2 Protein Kapsid L1	4
2.3 Kultivasi	6
2.4 <i>Yeast Metilotrofik Hansenula polymorpha</i>	7
2.5 Lisis Protein L1 HPV 52	9
2.6 Purifikasi Protein L1 HPV 52	9
2.7 Karakterisasi Protein L1 HPV 52	10
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Prosedur Kerja	11
IV HASIL	17
4.1 Pertumbuhan <i>Hansenula polymorpha</i>	17
4.2 Genom dan Konfirmasi Gen L1 HPV 52	18
4.3 Protein Rekombinan L1 HPV 52 Murni	20
4.4 Karakteristik dan Kuantitas Protein Rekombinan L1 HPV 52	21
V PEMBAHASAN	24
5.1 Pertumbuhan <i>Hansenula polymorpha</i>	24
5.2 Genom dan Gen L1 HPV 52	26
5.3 Protein Rekombinan L1 HPV 52 Murni	28
5.4 Karakteristik dan Kuantitas Protein Rekombinan L1 HPV 52	28
VI SIMPULAN DAN SARAN	31
6.1 Simpulan	31
6.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	40
RIWAYAT HIDUP	50



DAFTAR TABEL

1	Peran protein pada HPV	4
2	Perhitungan pertumbuhan sel hidup <i>H. polymorpha</i>	18
3	<i>Flowthrough</i> dan puncak absorbansi elusi selama proses purifikasi	21
4	Kuantitas protein total dan L1 HPV 52	23

DAFTAR GAMBAR

1	Peta genom HPV	4
2	Analisis TEM protein L1	5
3	Skema diagram fermentasi kontinyu	6
4	Keunggulan <i>H. polymorpha</i> sebagai <i>yeast</i> untuk produksi protein rekombinan	8
5	Kurva pertumbuhan fermentasi <i>fed-batch</i>	17
6	Kurva pertumbuhan fermentasi kontinyu	17
7	Koloni pada media YPD	19
8	Elektroforegram hasil isolasi genom	19
9	Elektroforegram hasil PCR gen MOX deteksi gen L1 HPV 52	20
10	Karakteristik L1 HPV 52 menggunakan SDS-PAGE	22
11	Peta plasmid pHIPZ4_L1HPV52	27

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	41
2	Kurva pertumbuhan <i>wet-cell weight</i> (WCW) dan <i>dry-cell weight</i> (DCW) fermentasi <i>fed-batch</i>	42
3	Kurva pertumbuhan <i>wet-cell weight</i> (WCW) dan <i>dry-cell weight</i> (DCW) fermentasi kontinyu	42
4	Perhitungan <i>Total Plate Count</i> (TPC)	42
5	Kromatogram hasil purifikasi ÄKTAprime plus dengan kolom <i>Cation Exchange</i> . (A) ekuilibrasi, (B) <i>flowthrough</i> , dan (C) elusi	43
6	Kurva standar L1 HPV 52 ELISA	45
7	Penentuan konsentrasi L1 HPV 52	46
8	Kurva standar <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA) uji total protein BCA	46
9	Penentuan konsentrasi total protein	47
10	Perhitungan nilai <i>recovery yield</i>	48
11	Peta plasmid pHIPZ4_L1HPV52	49