



UNIVERSITAS PERTAHANAN RI

**EKSPRESI, PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI PROTEIN
CHIMERIC L1L2 Human papillomavirus 52 PADA INANG
Escherichia coli BL21 DE3 SKALA *FLASK* UNTUK
MENDUKUNG KEMANDIRIAN PRODUKSI VAKSIN**

CORRINA LAILATUL FADJRI 320200301009

**Skripsi yang Ditulis untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam
Mendapatkan Gelar Sarjana**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM MILITER
PROGRAM STUDI BIOLOGI**

BOGOR 2024

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Corrina Lailatul Fadri
NIM : 320200301009
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Militer
Judul Skripsi : Ekspresi, Purifikasi dan Karakterisasi Protein
Chimeric L1L2 Human papillomavirus 52 pada
Inang *Escherichia coli* BL21 DE3 Skala *Flask*
untuk Mendukung Kemandirian Produksi
Vaksin

Dosen Pembimbing I,



Nabila Swarna Puspa H., S.Si., M.Si.
Penda Tk. I III/b NIP.199404272022032003
Tanggal: 26 Juli 2024

Dosen Pembimbing II,



Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si.
Pembina Tk. I IV/b NIP.197704122005021001
Tanggal: 26 Juli 2024

Mengetahui,

Kepala Program Studi Biologi,



Nurhadiyanta, S.Si., M.Si.
Kolonel Ckm NRP.32987
Tanggal: 26 Juli 2024

Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal:

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Corrina Lailatul Fadjri
NIM : 320200301009
Program Studi : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Militer
Judul Skripsi : Ekspresi, Purifikasi dan Karakterisasi Protein
Chimeric L1L2 Human papillomavirus 52 pada
Inang *Escherichia coli* BL21 DE3 Skala *Flask*
untuk Mendukung Kemandirian Produksi
Vaksin

No	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1	Dosen Pembimbing I: Nabila Swarna Puspa H., S.Si., M.Si. Penda Tk. I III/b NIP.199404272022032003		26 Juli 2024
2	Dosen Pembimbing II: Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si. Pembina Tk. I IV/b NIP. 197704122005021001		26 Juli 2024
3	Dosen Penguji I: Nurhadiyanta S.Si., M.Si. Kolonel Ckm NRP.32987		26 Juli 2024
4	Dosen Penguji II: Dr. Nastiti Intan P. S., S.Si., M.Ked.Trop. Peneliti Ahli Muda III/c NIP. 199306202024032001		26 Juli 2024

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau bagian karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan jenjang apapun di suatu Perguruan Tinggi; dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat istilah, frasa, kalimat, paragraf, subbab atau bab dari karya yang pernah ditulis atau diterbitkan; kecuali yang secara tertulis diajukan dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Referensi.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa terdapat plagiat dalam skripsi ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan/undang-undang yang berlaku.

Bogor, 26 Juli 2024



Corrina Lailatul Fadji

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Pertahanan Republik Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Corrina Lailatul Fadjri
NIM : 320200301009
Program Studi : Sarjana Biologi
Fakultas : FMIPA Militer
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Pertahanan Republik Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Ekspresi, Purifikasi dan Karakterisasi Protein *Chimeric L1L2 Human papillomavirus 52* pada Inang *Escherichia coli* BL21 DE3 Skala *Flask* untuk Mendukung Kemandirian Produksi Vaksin

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Pertahanan Republik Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Bogor
Pada tanggal : 24 Juli 2024
Yang menyatakan


Corrina Lailatul Fadjri
NIM. 320200301023

KATA PENGANTAR

Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: “Ekspresi, Purifikasi dan Karakterisasi Protein *Chimeric L1L2 Human papillomavirus 52* pada Inang *Escherichia coli* BL21 DE3 Skala *Flask* untuk Mendukung Kemandirian Produksi Vaksin” dapat diselesaikan.

Penyusunan skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan RI.

Penyusunan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, pada kesempatan ini Kadet Mahasiswa mengucapkan terima kasih kepada:

1. Letnan Jenderal TNI Jonni Mahroza, Ph.D., selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
2. Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia
3. Kolonel Ckm Nurhadyanta, S.Si., M.Si., selaku Kepala Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia sekaligus sebagai Dosen Penguji Pertama dalam ujian skripsi pada karya ilmiah ini.
4. Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Pertama yang telah memberikan bimbingan, dukungan, saran, dan masukan selama proses penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan arahan dan kesempatan kepada penulis untuk bergabung dalam pengerjaan topik penelitian vaksin HPV 52 di Kelompok Riset Protein Rekombinan Virus, Badan Riset Inovasi

Nasional Cibinong.

6. Dr. Nastiti Intan Permata Sari, S.Si., M.Ked.Trop., selaku Dosen Penguji Kedua yang telah memberikan masukan dan saran konstruktif kepada penulis dalam pelaksanaan ujian skripsi.
7. Dr.rer.nat. Mo Awwanah, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan nasihat dan arahan kepada penulis selama menjadi Kadet Mahasiswa.
8. Seluruh Dosen Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah membantu dan mendidik penulis selama menjadi Kadet Mahasiswa.
9. Staf Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah membantu penulis dalam pengurusan berkas penelitian dan penyusunan skripsi.
10. Staf Kelompok Riset Protein Rekombinan Virus, Pusat Riset Rekayasa Genetika, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional Cibinong yang telah membantu penulis selama kegiatan penelitian.
11. Orang tua penulis yaitu Bambang Supriyadi, S.H. dan Dra. Siti Murtiningsih, kakak penulis yaitu Alfian Adi Prabowo, S.Ak. dan Idham Buana Rhapsodi, S.H. yang senantiasa mendukung penulis selama menempuh pendidikan dan penelitian di Universitas Pertahanan Republik Indonesia.
12. Rekan dan senior Kelompok Riset Protein Rekombinan Virus yang selalu membantu dan memberikan dukungan dan bantuan selama penulis melakukan penelitian di Badan Riset Inovasi Nasional Cibinong.
13. Rekan-rekan Program Studi Biologi Angkatan 2020 Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang senantiasa memberikan motivasi dan apresiasi selama perkuliahan.

14. Adik asuh Kadet Mahasiswa Biologi dan Resimen Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang senantiasa memberikan dukungan dengan tulus.

Semoga Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan-kebaikan berbagai pihak atas bantuannya.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati mengharapkan kritik dan saran yang konstruktif demi kesempurnaan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap pengembangan ilmu pertahanan dan bermanfaat bagi *stakeholder* terkait dalam meningkatkan upaya kemandirian produksi vaksin profilaksis HPV berbasis protein rekombinan virus.



Bogor, 24 Juli 2024

Corrina Lailatul Fadjri

ABSTRAK

EKSPRESI, PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI PROTEIN *CHIMERIC* L1L2 *Human papillomavirus* 52 PADA INANG *Escherichia coli* BL21 DE3 SKALA *FLASK* UNTUK Mendukung KEMANDIRIAN PRODUKSI VAKSIN

Kanker serviks adalah pertumbuhan sel abnormal tidak terkendali pada leher rahim yang merupakan kasus terbanyak ke-2 menyerang perempuan Indonesia. Data tahun 2022 menunjukkan terdapat sekitar 660.000 kasus infeksi dan 350.000 kasus kematian di seluruh dunia akibat kanker serviks. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi HR-HPV kelas 1 dan 2 dari genus *Alphapapillomavirus* onkogenik pada manusia. Tipe 16, 18 dan 52 paling banyak ditemukan di Indonesia. Tipe 52 mempunyai prevalensi paling tinggi virus onkogenik berbahaya. Pencegahan penularan penyakit dapat dilakukan melalui program vaksinasi. Produk vaksin HPV 52 belum tersedia di Indonesia. Vaksin impor berbasis protein kapsid rekombinan L1 yang memiliki spektrum perlindungan terbatas. Protein L2 diketahui memiliki epitop yang dapat memicu respon imun sehingga vaksin berbasis protein *chimeric* L1L2 sangat potensial untuk memberikan spektrum perlindungan lebih luas terutama terhadap HPV 52. Tujuan penelitian ini adalah mengoptimasi produksi protein *chimeric* L1L2 HPV 52 rekombinan dengan sistem ekspresi *Escherichia coli* BL21 DE3 skala *flask* untuk mendukung kemandirian vaksin. Prosedur menerapkan metode deskriptif kualitatif dengan desain penelitian eksperimen. Optimasi ekspresi dengan temperatur inkubasi pasca induksi 20°C menghasilkan protein terlarut yang paling tinggi. Purifikasi paling optimal dilakukan menggunakan *wash buffer* dengan imidazole 40 mM. Formulasi pemotongan SUMO belum mendapatkan hasil yang signifikan meskipun kromatografi HPLC telah menunjukkan kurva dengan satu puncak. Protein *chimeric* L1L2 berhasil diekspresikan menggunakan media kultur *Luria bertani* kanamisin dan diinduksi IPTG pada fase awal eksponensial. Purifikasi protein L1L2 dilakukan dengan metode IMAC Ni-NTA yang melibatkan proses *bind*, *wash* dan *elute*. Karakterisasi dilakukan menggunakan metode SDS-PAGE dan WB.

Kata kunci: HPV 52, protein *chimeric* L1L2

ABSTRACT

EXPRESSION, PURIFICATION AND CHARACTERIZATION CHIMERIC PROTEIN L1L2 Human papillomavirus 52 IN HOST *Escherichia coli* BL21 DE3 FLASK SCALE TO SUPPORT VACCINE PRODUCTION INDEPENDENCE

Cervical cancer is the uncontrolled growth of abnormal cells in the cervix which is the 2nd most common case affecting Indonesian women. Data for 2022 shows there are about 660,000 cases of infection and 350,000 cases of death worldwide due to cervical cancer. The disease is caused by HR-HPV class 1 and 2 infections of the oncogenic Alphapapillomavirus genus in humans. Types 16, 18 and 52 are most commonly found in Indonesia. Type 52 has the highest prevalence of dangerous oncogenic viruses. Prevention of disease transmission can be done through vaccination programs. HPV 52 vaccine products are not yet available in Indonesia. The imported vaccine is based on recombinant capsid protein L1 which has a limited protection spectrum. The L2 protein is known to have epitopes that can trigger an immune response so that the L1L2 chimeric protein-based vaccine has the potential to provide a broader spectrum of protection, especially against HPV 52. The purpose of this study was to optimize the production of recombinant L1L2 HPV 52 chimeric protein with a flask-scale *Escherichia coli* BL21 DE3 expression system to support vaccine independence. The procedure applied a qualitative descriptive method with an experimental research design. Expression optimization with a post-induction incubation temperature of 20°C produced the highest soluble protein. The most optimal purification was done using wash buffer with 40 mM imidazole. SUMO truncation formulation has not obtained significant results although HPLC chromatography has shown a curve with one peak. L1L2 chimeric protein was successfully expressed using kanamycin-treated and IPTG-induced luria culture medium in early exponential phase. Purification of L1L2 protein was performed by IMAC Ni-NTA method involving bind, wash and elute process. Characterization was performed using SDS-PAGE and WB methods.

Keywords: HPV 52, chimeric protein L1L2

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Landasan Teori.....	7
2.2 Hasil Penelitian Terdahulu	19
2.3 Kerangka Berpikir	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Metode dan Desain Penelitian.....	24

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.3 Alat dan Bahan	26
3.4 Prosedur Penelitian.....	27
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil	34
4.2 Pembahasan	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN.....	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Filogeni <i>Papillomavirus</i>	8
Gambar 2. 2 Genom HPV sirkuler	9
Gambar 2. 3 Peta konstruksi plasmid pada <i>Escherichia coli</i> BL21 DE3 ..	12
Gambar 2. 4 Struktur tiga dimensi VLPs HPV 52 dengan <i>cryo-EM</i>	13
Gambar 2. 5 Klasifikasi <i>Human Papillomavirus</i>	14
Gambar 2. 6 Distribusi diameter VLPs L1 dari berbagai tipe HPV	15
Gambar 2. 7 Interaksi epitop sel B dengan sel imun	16
Gambar 2. 8 Kerangka berpikir penelitian	23
Gambar 4. 1 Koloni <i>Escherichia coli</i> BL21 DE3 pada media padat	32
Gambar 4. 2 Hasil elektroforesis single digest plasmid	33
Gambar 4. 3 Kurva pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> BL21 DE3	34
Gambar 4. 4 Profil SDS-PAGE ekspresi protein <i>chimeric</i> L1L2	35
Gambar 4. 5 Profil SDS-PAGE pengaruh IPTG dan temperatur	36
Gambar 4. 6 Profil SDS-PAGE optimasi purifikasi protein L1L2	37
Gambar 4. 7 Profil WB optimasi purifikasi protein <i>chimeric</i> L1L2	38
Gambar 4. 8 Kurva standar hasil kuantifikasi protein <i>chimeric</i> L1L2	39
Gambar 4. 9 Profil SDS-PAGE optimasi pemotongan SUMO	40
Gambar 4. 10 Kromatogram sampel protein elusi L1L2	41

DAFTAR TABEL

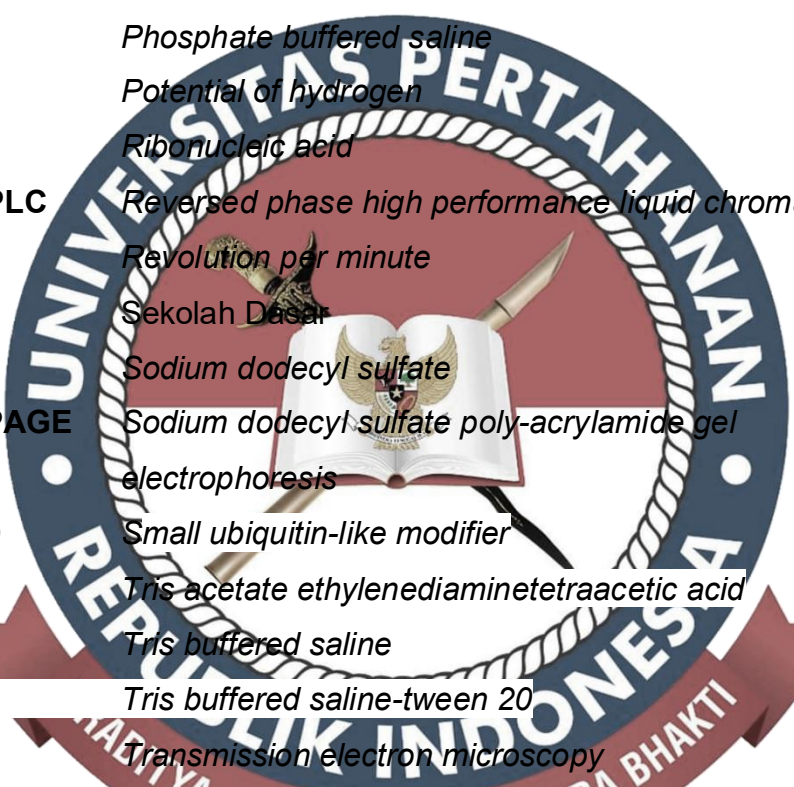
Tabel 2. 1 Klasifikasi <i>Human Papillomavirus</i>	8
Tabel 2. 2 Fungsi gen pengkode protein pada <i>Human papillomavirus</i>	9
Tabel 2. 3 Kategori HPV Berdasarkan Risiko Onkogenik menurut <i>The International Agency for Research on Cancer (IARC)</i>	17
Tabel 3. 2 Rencana Jadwal Penelitian	22
Tabel 4. 1 Hasil Eksperimen Terdahulu yang dilakukan Peneliti	38



DAFTAR SINGKATAN

%	Persen (perseratus)
°C	Derajat Celsius
µg	Mikrogram
µL	Mikroliter
AIDS	<i>Acquired immunodeficiency syndrome</i>
APS	<i>Ammonium persulfate</i>
BCA	<i>Bicinchoninic acid assay</i>
BIAS	Bulan Imunisasi Anak Sekolah
bp	<i>Base pairs</i>
BRIN	Badan Riset dan Inovasi Nasional
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
BSC	<i>Biological safety cabinet</i>
BSL	<i>Bio-safety level</i>
CBB	<i>Coomassie brilliant blue</i>
Cryo-EM	<i>Cryo-electron microscopy</i>
ddH₂O	<i>Double-distilled water</i>
DIVA	<i>Differentiating Infected from Vaccinated Animals</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
ER	<i>Early region</i>
EtOH	<i>Etanol</i>
g	Gram
HCl	<i>Hidroklorida</i>
HCL	Hydrochloric acid
His	<i>Histidine</i>
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
HPV	<i>Human papillomavirus</i>
HR-HPV	<i>High risk Human papillomavirus</i>

IARC	<i>The International Agency for Research on Cancer</i>
IgG	<i>Immunoglobulin G</i>
IMAC	<i>Immobilized metal affinity chromatography</i>
IMS	Infeksi menular seksual
IPTG	Isopropil β -D-1-tiogalaktopiranosida
Kb	<i>Kilobyte</i>
KCL	Kalium klorida
kDa	<i>Kilodalton</i>
Kemenkes	Kementerian Kesehatan
KH₂PO₄	Monopotasium fosfat
kHz	<i>Kilohertz</i>
KST	Kawasan Sains Teknologi
LAFC	<i>Laminar air flow cabinet</i>
LB	<i>Luria bertani</i>
LBA	<i>Luria bertani agar</i>
LCR	<i>Long control region</i>
LR	<i>Late region</i>
LR-HPV	<i>Low risk Human papillomavirus</i>
LSL	Lelaki seks lelaki
M	<i>Molar</i>
mA	<i>Miliampere</i>
mAU	<i>Milli absorbance unit</i>
Mg	<i>Miligram</i>
mL	<i>Mililiter</i>
mM	<i>Milimolar</i>
mm	<i>Millimeter</i>
MWCO	<i>Molecular weight cut off</i>
Na₂HPO₄	<i>Sodium phosphate dibasic</i>
NaCl	Natrium klorida
NaOH	Natrium hidroksida
NBT/BCIP	<i>5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate/nitro blue tetrazolium</i>



NFW	<i>Nuclease-free water</i>
Ni-NTA	<i>Nickel-nitrilotriacetic</i>
NIP	<i>Program Immunisasi Nasional</i>
nm	<i>Nanometer</i>
OD	<i>Optical density</i>
ompT	<i>Outer membrane protease T</i>
ORF	<i>Open reading frame</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
pH	<i>Potential of hydrogen</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
RP-HPLC	<i>Reversed phase high performance liquid chromatography</i>
rpm	<i>Revolution per minute</i>
SD	<i>Sekolah Dasar</i>
SDS	<i>Sodium dodecyl sulfate</i>
SDS-PAGE	<i>Sodium dodecyl sulfate poly-acrylamide gel electrophoresis</i>
SUMO	<i>Small ubiquitin-like modifier</i>
TAE	<i>Tris acetate ethylenediaminetetraacetic acid</i>
TBS	<i>Tris buffered saline</i>
TBS-T	<i>Tris buffered saline-tween 20</i>
TEM	<i>Transmission electron microscopy</i>
TEMED	<i>N'-tetramethylethylenediamine</i>
URR	<i>Upstream regulatory region</i>
UV-VIS	<i>Ultraviolet-visible</i>
V	<i>Volt</i>
VLPs	<i>Virus-like particles</i>
WB	<i>Western blotting</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
WR	<i>Working reagent</i>