



**OPTIMASI FERMENTASI, PURIFIKASI, DAN
BIOKONVERSI PRO-GLARGIN DALAM PRODUKSI
INSULIN GLARGIN DARI *Pichia pastoris* UNTUK
PENGOBATAN DIABETES DALAM MENDUKUNG
SISTEM KESEHATAN NASIONAL**

GILANG SURYA PRAYOGA 320210301014

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

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

BOGOR 2025

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI

Nama : Gilang Surya Prayoga
NIM : 320210301014
Program Studi : Biologi Militer
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Skripsi : Optimasi Fermentasi, Purifikasi, dan Biokonversi
Pro-glargin dalam Produksi Insulin Glargin dari
Pichia pastoris untuk Pengobatan Diabetes dalam
Mendukung Sistem Kesehatan Pertahanan
Nasional

Pembimbing I,



Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D
PPPK NIP. 198111062023212020
Tanggal: 11 Juli 2025

Pembimbing II,



Dr. Efrida Martius, M.Si
Pembina IV/a NIP. 197303141998032002
Tanggal: 11 Juli 2025

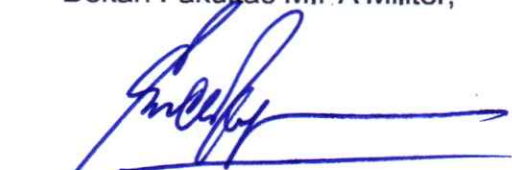
Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi,



Sukanto, S.Si., M.Sc
Letkol Arh NRP. 11970023040672
Tanggal: 11 Agustus 2025

Dekan Fakultas MIPA Militer,



Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si
Pembina Utama Muda IV/c
Tanggal: 12/8-2025

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Nama : Gilang Surya Prayoga
NIM : 320210301014
Program Studi : Biologi Militer
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Judul Skripsi : Optimasi Fermentasi, Purifikasi, dan Biokonversi
Pro-glargin dalam Produksi Insulin Glargin dari
Pichia pastoris untuk Pengobatan Diabetes dalam
Mendukung Sistem Kesehatan Pertahanan
Nasional

No.	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Pembimbing I: Nadya Farah, S.Si., M.Si., Ph.D PPPK NIP. 198111062023212020		11/07/25
2.	Pembimbing II: Dr. Efrida Martius, M.Si Pembina IV/a NIP. 197303141998032002		11/07/25
3.	Penguji I: Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si Penda Tk. I III/b NIP. 199404272022032003		11/07/25
4.	Penguji II: Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si. Penata III/c NIP. 199212022022031002		11/07/25

PERNYATAAN ORISIONALITAS

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, 12 Agustus 2025



Gilang Surya Prayoga

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

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

Nama : Gilang Surya Prayoga
NIM : 320210301014
Program Studi : Biologi
Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam 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:

Optimasi Fermentasi, Purifikasi, dan Biokonversi Pro-glargin dalam Produksi Insulin Glargin dari *Pichia pastoris* untuk Pengobatan Diabetes dalam Mendukung Sistem Kesehatan Pertahanan Nasional

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 : 12 Agustus 2025

Yang menyatakan



Gilang Surya Prayoga

NIM. 320210301014

KATA PENGANTAR

Puji Puji syukur peneliti panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulisan skripsi dengan judul: "Optimasi Fermentasi, Purifikasi, dan Biokonversi Pro-glargin dalam Produksi Insulin Glargin dari *Pichia pastoris* untuk Pengobatan Diabetes dalam Mendukung Sistem Kesehatan Pertahanan Nasional" 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. Ibu Lasmiyati dan Bapak Taufiq selaku orang tua tercinta, Gardawati Tata Utami selaku Kaka tercinta, dan juga Nanda Nabila Syahida dan Gading Suryo Laksono selaku adik tercinta, serta seluruh Saudara yang tiada henti senantiasa memberikan doa, motivasi, dukungan, dan semangat selama saya menempuh pendidikan di Universitas Pertahanan RI hingga menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak Letjen TNI (Purn) Dr. Anton Nugroho, M.M.D.S., M.A., selaku Rektor Universitas Pertahanan Republik Indonesia yang telah mendukung dan memfasilitasi sarana dan prasarana selama kegiatan pembelajaran dan pengasuhan di Universitas Pertahanan;
3. Bapak Dr. Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si selaku Dekan Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan RI yang telah mendukung, memberikan izin, dan memfasilitasi sarana dan prasarana selama kegiatan belajar sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar;
4. Bapak Letkol Arh Sukanto, S.Si., M.Sc selaku Kepala Program Studi

Biologi Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan RI yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan membantu dalam pemenuhan kebutuhan pembelajaran sehingga penulisan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar;

5. Bapak Kolonel Ckm Nurhadiyanta, S.Si., M.Si selaku Kepala Program Studi biologi Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan Republik Indonesia periode 2020-2024 yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan sekaligus sebagai dosen wali yang selalu memotivasi untuk terus berkembang dan berkarya serta membantu penulis dalam melanjutkan penelitian tentang Insulin glargin sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian hingga skripsi dengan baik;
6. Ibu Nadya Farah S.Si., M.Si. Ph.D., selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan ilmu yang sangat berarti utamanya dalam kegiatan pembelajaran agar selalu kritis dan teliti dalam segala hal dan selalu sabar dalam memberikan arahan dan bimbingan serta motivasi untuk selalu melakukan yang terbaik dalam setiap penugasan yang diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan baik;
7. Ibu Dr. Efrida Martius, M.Si. selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan ilmu yang berharga selama pelaksanaan MBKM hingga tugas akhir di BRIN Serpong, dan senantiasa sabar dalam memberikan bimbingan dan arahan serta motivasi untuk selalu berbuat yang terbaik dalam segala hal baik dunia maupun akhirat sehingga penulis selalu termotivasi dan selalu bersemangat dalam menjalani kehidupan ini;
8. Ibu Nabila Swarna Puspa Hermana, S.Si., M.Si, selaku dosen penguji pertama yang telah memberikan masukan dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini serta menjadi motivator saya untuk menuntut ilmu lebih tinggi dan mencari pengalaman di usia muda;
9. Bapak Dr. Miftahul Huda Fendiyanto, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji kedua yang telah memberikan ilmu yang begitu hebat sehingga penulis selalu termotivasi dan bersemangat untuk belajar lebih dalam dan luas

utamanya ilmu biologi, serta selalu memberikan masukan, saran dan arahan yang sangat berharga untuk kehidupan penulis;

10. Seluruh dosen dan civitas akademika Program Studi Biologi Fakultas MIPA Militer Universitas Pertahanan RI yang telah memberikan seluruh ilmunya yang tak terhingga dan membantu, mendukung, serta memfasilitasi penulis dalam kegiatan pembelajaran selama di Universitas Pertahanan sehingga penulis mampu menyelesaikan perkuliahan hingga pada akhir skripsi;
11. Bapak Dudi Hardianto, Ibu Anna Safarrida, Ibu Uli Julia Nasution, dan Kak Munirah selaku peneliti sekaligus guru dan juga pembimbing penulis yang senantiasa berbagi ilmu dan pengalaman yang luar biasa serta selalu memberikan motivasi dan dukungan untuk belajar ilmu biologi lebih tinggi sehingga penulis selalu bersemangat dan antusias dalam menjalankan program MBKM dan Tugas akhir selama di BRIN Serpong;
12. Sahabat dan rekan-rekan seperjuangan Program Studi Biologi Cohort 2 yang sudah kebersamai dan berjuang selama ini hingga akhir perkuliahan ini;
13. Yufva Pramudia Ananda Zukwar, Amelia Anggraeni Pramono, Ismiarti selaku sahabat seperjuangan Insulin Gengs dan juga rekan-rekan Biotek Fams yang sudah kebersamai dan berjuang selama MBKM hingga Tugas akhir serta selalu memberikan dukungan dan motivasi selama penelitian di BRIN Serpong;
14. Rekan-rekan Remaja Masjid Baitul Ilmi selaku sahabat sekaligus teman seperjuangan dunia akhirat yang selalu memberikan dukungan dan motivasi yang sangat berharga serta selalu menjadi penghibur di setiap kondisi sehingga penulis selalu semangat dan bergembira setiap saat;
15. Kaka asuh dan Adik asuh Keluarga Canis Biologi dan Gatot Kaca yang selalu memberikan dukungan dan motivasi selama perkuliahan di UNHAN;

16. Terakhir kepada pria kecil dengan segudang mimpi, harapan dan cita-cita yang besar, yaitu penulis sendiri. Gilang Surya Prayoga. Yang tak pernah berhenti untuk berusaha, bersyukur, dan berdoa di setiap langkah, usaha dan kerja keras dalam menyelesaikan Pendidikan di Universitas Pertahanan Republik Indonesia. Yakin dan Percayalah segala proses, usaha, syukur dan doa mu selama Pendidikan ini akan membuahkan hasil yang terbaik. Semoga Allah SWT selalu membimbing dan menyertaimu di setiap langkah, usaha, dan kerja keras dalam mewujudkan mimpi, harapan, dan cita-cita terbesar mu.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan-kebaikan berbagai pihak atas bantuannya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih kurang sempurna, oleh karena itu dengan kerendahan hati mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini.

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat terhadap pengembangan ilmu pertahanan dan bermanfaat bagi *stakeholders* terkait dalam upaya menjaga sistem pertahanan kedehatan nasional utamanya dalam kemandirian obat.

Bogor, 12 Agustus 2025



Gilang Surya Prayoga

ABSTRAK

OPTIMASI FERMENTASI, PURIFIKASI, DAN BIOKONVERSI PRO-GLARGIN DALAM PRODUKSI INSULIN GLARGIN DARI *Pichia pastoris* UNTUK PENGOBATAN DIABETES DALAM MENDUKUNG SISTEM KESEHATAN NASIONAL

Kematian akibat diabetes di Indonesia terus meningkat, sementara ketergantungan terhadap impor insulin menunjukkan rendahnya kapasitas produksi dalam negeri. Insulin glargin merupakan insulin analog kerja panjang yang telah dikembangkan melalui ekspresi ekstraseluler menggunakan *Pichia pastoris* yang mengandung vektor pPICZ α dengan gen penyandi glargin. Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi produksi dan pemurnian pro-glargin, serta memperoleh glargin aktif secara efisien melalui proses biokonversi menggunakan enzim *trypsin*. Optimasi dilakukan pada media fermentasi dengan penambahan *Pichia Trace Mineral* (PTM), serta proses pemurnian melalui *kation exchange* dengan variasi pH dan laju alir (*flow rate*). Biokonversi juga dioptimalkan melalui penyesuaian pH buffer dan pH reaksi. Hasil menunjukkan bahwa PTM meningkatkan biomassa dan ekspresi pro-glargin, sementara kombinasi pH supernatan 3,8, pH elusi 6, dan *flow rate* 4,6 mL/menit menghasilkan pemurnian optimal. Biokonversi paling efektif terjadi pada pH 8,5 menggunakan buffer Tris 1 M pH 8,5, sehingga enzim *trypsin* dapat bekerja secara maksimal dalam kondisi tersebut. Penelitian ini menunjukkan potensi besar dalam produksi insulin glargin rekombinan secara efisien dan dapat menjadi langkah awal kemandirian Indonesia dalam memproduksi insulin.

Kata Kunci: Biokonversi protein, diabetes melitus, insulin glargin, *Pichia pastoris*, protein rekombinan, purifikasi protein.

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF FERMENTATION, PURIFICATION, AND BIOCONVERSION OF PRO-GLARGIN IN INSULIN GLARGIN PRODUCTION FROM *Pichia pastoris* FOR DIABETES TREATMENT TO SUPPORT THE NATIONAL HEALTH SYSTEM

*The mortality rate due to diabetes in Indonesia continues to rise, while the heavy reliance on imported insulin highlights the country's limited capacity for domestic production. Insulin glargine, a long-acting insulin analog, has been developed through extracellular expression using *Pichia pastoris* containing the pPICZα vector with the glargine gene. This study aims to optimize the production and purification of pro-glargin and to efficiently obtain active glargin through a bioconversion process using the enzyme trypsin. Optimization was carried out in the fermentation medium by adding *Pichia* Trace Mineral (PTM), while purification was conducted using cation exchange chromatography with variations in sample pH, elution pH, and flow rate. The bioconversion process was also optimized by adjusting the buffer and reaction pH. The results showed that PTM enhanced biomass growth and pro-glargin expression. Optimal purification was achieved with a sample pH of 3.8, elution pH of 6, and flow rate of 4.6 mL/min. The most effective bioconversion occurred at pH 8.5 using 1 M Tris buffer, enabling trypsin to function optimally under these conditions. This study demonstrates the strong potential for efficient recombinant insulin glargin production and serves as an initial step toward Indonesia's self-sufficiency in insulin manufacturing.*

Keywords: Bioconversion protein, diabetes mellitus, insulin glargin, *Pichia pastoris*, protein purification, recombinant protein

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
PERNYATAAN ORISIONALITAS.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	v
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	17
1.1 Latar Belakang.....	17
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Landasan Teori.....	5
2.2 Hasil Penelitian Terdahulu.....	15
2.3 Kerangka Berpikir	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	20
3.1 Metode dan Desain Penelitian	20
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	20
3.3 Alat dan bahan.....	22
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.5 Metode Analisis	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Hasil.....	29

4.2 Pembahasan	42
BAB V Kesimpulan dan Saran	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA.....	55
Lampiran	64



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biosinteis Insulin	7
Gambar 2.2 Struktur Human Insulin (A) dan Insulin Glargin (B)	8
Gambar 2.3 Vektor pPICZαA	12
Gambar 2.4 Biokonversi Proinsulin menjadi Insulin.....	14
Gambar 2.5 Kerangka Berpikir.....	19
Gambar 4.1 Pengaruh Media Kultivasi Terhadap Pertumbuhan Sel <i>Pichia pastoris</i>	29
Gambar 4.2 Perbandingan Media ½ BSM dengan Penambahan Mineral (PTM) dan Tanpa Penambahan Mineral Terhadap OD ₆₀₀ dan Konsentrasi Pro-glargin Kultur	30
Gambar 4.3 Analisis SDS-PAGE Hasil Fermentasi pada Media ½ BSM dengan Penambahan Mineral Maupun Tanpa Penambahan Mineral	31
Gambar 4.4 Grafik OD ₂₈₀ Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan pH Supernatan	33
Gambar 4.5 Analisis SDS-PAGE Hasil Purifikasi Pro-glargin pada Tiga Perlakuan pH Supernatan Berbeda	34
Gambar 4.6 Grafik OD ₂₈₀ Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan pH Elusi.....	35
Gambar 4.7 Analisis SDS-PAGE Hasil Purifikasi Pro-glargin pada Tiga Perlakuan pH Elusi Berbeda	36
Gambar 4.8 Grafik OD ₂₈₀ Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan <i>Flow rate</i>	37
Gambar 4.9 Analisis SDS-PAGE Hasil Purifikasi Pro-glargin pada Tiga Perlakuan <i>Flow rate</i> Berbeda	38
Gambar 5.0 Analisis SDS-PAGE Hasil Biokonversi Pro-glargin dengan Pengaturan pH Buffer Tris dan pH Reaksi (A.Bufer Tris 8 dan 8.5 dengan pH reaksi 8, 8.5, dan 9 & B. Buffer Tris pH 9 dengan pH Reaksi 8,8.5, dan 9)	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis inang untuk ekspresi insulin glargin	10
Tabel 2.2 Penelitian Terdahulu	15
Tabel 3.3 Tahap Pelaksanaan dan Jadwal Faktual Pelaksanaan Penelitian	21
Tabel 4.1 Luas Area Pita SDS-PAGE Hasil Fermentasi pada Media $\frac{1}{2}$ BSM dengan Penambahan Mineral Maupun Tanpa Penambahan Mineral	31
Tabel 4.2 Luas Area Pita SDS-PAGE OD280 Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan pH Supernatan.	34
Tabel 4.3 Luas Area Pita SDS-PAGE OD280 Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan pH Elusi	36
Tabel 4.4 Luas Area Pita SDS-PAGE OD280 Hasil Purifikasi Pro-glargin Menggunakan Variasi Perlakuan Pengaturan <i>Flow Rate</i>	38
Tabel 4.5 Analisis SDS-PAGE Hasil Biokonversi Pro-glargin dengan Pengaturan pH Buffer Tris dan pH Reaksi.....	42

DAFTAR SINGKATAN



DM	: Diabetes Melitus
YPD	: <i>Yeast peptone dextrose</i>
YNB	: <i>Yeast nitrogen base</i>
BMGY	: <i>Buffered glycerol-complex medium</i>
BSM	: <i>Basal salt medium</i>
BSA	: <i>Bovine serum albumin</i>
PTM	: <i>Pichia trace mineral</i>
AOX	: <i>Alcohol oxidase</i>
OD	: <i>Optical density</i>
DMF	: <i>Dimethylformamide</i>
PC	: <i>Prohormon covertase</i>
IHM	: <i>Institute for Health Metrics and Evaluation</i>
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
RE	: <i>Retikulum Endoplasma</i>