

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus merupakan salah satu penyakit yang mengganggu kesehatan masyarakat di Indonesia. Menurut *Institute for Health Metrics and Evaluation* (IHM) *Global Burden of Diseases* tahun 2021, diabetes termasuk ke dalam 7 dari 10 penyakit yang menyebabkan kematian terbesar di Indonesia. Prevalensi diabetes di Indonesia diperkirakan meningkat dari 18.69 juta kasus di 2020 (9.19%) menjadi 40.7 juta kasus 16.09% di 2025 (16.09%). Kematian akibat diabetes diprediksi akan meningkat di 2020 dari 433.752 ribu kasus menjadi 944.468 ribu kasus di 2045 (Wahidin et al., 2024). Diabetes Melitus terjadi akibat kadar glukosa yang berlebih di dalam pembuluh darah yang apabila terakumulasi dalam jangka panjang dapat mengakibatkan kerusakan organ dan sistem tubuh (Hardianto et al., 2020). Tingkat kematian yang tinggi akibat diabetes dapat mengganggu sistem kesehatan nasional yang merupakan jaringan yang saling bertaut dalam mendukung upaya pemberdayaan nilai strategis kesehatan nasional.

Indonesia saat ini masih belum bisa memenuhi kebutuhan akan insulin dalam jumlah besar. Indonesia masih harus mengimpor insulin dari luar negeri untuk memenuhi kebutuhan insulin dalam negeri. Berdasarkan data importasi Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) tahun 2021, insulin masuk ke dalam 3 obat dari 20 obat yang paling banyak diimpor di Indonesia dengan nilai impor sebesar Rp. 3.6478 Triliun (40.2%) dari total impor obat tahun 2021 yaitu Rp.9.0588 Triliun. Hal ini menunjukkan kurangnya Indonesia dalam memproduksi obat secara mandiri. Akibatnya, harga obat dalam negeri menjadi lebih tinggi dan masyarakat cenderung lebih memilih membeli obat dari luar negeri yang harganya jauh lebih murah 3-5 kali lipat dibanding harga obat dalam negeri.

Insulin glargin menjadi salah satu solusi dalam terapi pengobatan

diabetes. Insulin glargin merupakan insulin yang telah mengalami modifikasi spesifik yang mencakup penambahan dua residu *arginin* (Arg) pada ujung rantai peptida B30 sehingga bermuatan positif, dan substitusi *asparagin* (Asn) menjadi *Glysin* (Gly) pada rantai peptida A20, sehingga terjadi perubahan titik isoelektrik molekul insulin dan mengubah pH dari 5.4 (*human insulin*) menjadi pH 6.7 (insulin glargin), akibatnya menjadi lambat larut dalam lingkungan pH jaringan subkutan tetapi lebih larut jika kondisi sedikit asam (Hardianto et al., 2023). Glargin memiliki masa pelepasan 90 menit dan durasi atau lama kerja 24 jam dibanding dengan *human insulin* yang hanya 6-8 jam sehingga dalam sehari perlu dilakukan tiga kali injeksi sesuai dengan kebutuhan (Hardianto et al., 2023).

Produksi insulin glargin ini perlu dioptimalkan untuk mendapatkan produk yang stabil dan berkualitas. Penelitian ini diawali dengan pencarian literatur penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya untuk melakukan optimasi proses produksi insulin glargin dengan bantuan *Pichia pastoris*, dimulai dari produksi pro-glargin melalui proses fermentasi oleh *Pichia pastoris* secara ekstraseluler, purifikasi pro-glargin dari pengotornya, sampai biokonversi hasil purifikasi pro-glargin menjadi glargin aktif, sehingga didapatkan produksi insulin glargin aktif yang maksimal dengan langkah-langkah dan metode yang efektif dan efisien serta biaya yang seminimal mungkin.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apa media kultivasi yang efektif dan efisien terhadap pertumbuhan sel *Pichia pastoris* pada tahap kultivasi?
- 2) Bagaimana pengaruh penambahan *pichia trace mineral* (PTM) terhadap pertumbuhan sel *Pichia pastoris* dan konsentrasi pro-glargin pada tahap fermentasi?

- 3) Berapa pH supernatan dan pH buffer elusi yang efektif dan efisien terhadap jumlah protein pada hasil elusi pada tahap purifikasi?
- 4) Berapa laju alir (*flow rate*) yang efektif dan efisien terhadap jumlah protein pada hasil elusi pada tahap purifikasi?
- 5) Bagaimana kombinasi pH buffer tris dan pH reaksi yang efektif dan efisien terhadap kerja enzim *trypsin* pada proses biokonversi pro-glargin menjadi galrgine aktif?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Menganalisis pengaruh media kultivasi terhadap pertumbuhan sel *Pichia pastoris* pada tahap kultivasi,
- 2) Menganalisis pengaruh penambahan *pichia trace mineral* (PTM) terhadap pertumbuhan sel *Pichia pastoris* dan ekspresi konsentrasi pro-glargin pada tahap fermentasi,
- 3) Menganalisis pengaruh pH supernatan dan pH buffer elusi terhadap hasil elusi yang dihasilkan pada tahap purifikasi,
- 4) Menganalisis pengaruh laju alir (*flow rate*) terhadap jumlah protein pada elusi yang dihasilkan pada tahap purifikasi,
- 5) Menganalisis pengaruh pH buffer Tris dan pH reaksi terhadap kerja enzim *trypsin* dalam reaksi biokonversi pro-glargin menjadi glargin aktif .

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

- 1) Optimalisasi ekspresi protein rekombinan, khususnya produksi insulin glargin secara ekstraseluler menggunakan *Pichia pastoris* sebagai sistem ekspresi yang efisien dan ekonomis.
- 2) Strategi pemurnian protein, melalui pendekatan optimasi pH dan laju alir (*flow rate*) pada teknik *ion exchange chromatography* untuk memperoleh pro-glargin dengan tingkat kemurnian yang tinggi.

- 3) Optimasi reaksi enzimatik dalam biokonversi protein, dengan meninjau pengaruh pH buffer dan pH reaksi terhadap aktivitas enzim *trypsin* dalam konversi pro-glargin menjadi glargin aktif.

1.4.2 Manfaat Praktis

- 1) Menjadi alternatif produksi insulin tanpa mengambil dari organ tubuh organisme lain seperti babi, sapi, dll.
- 2) Menjadi solusi dalam produksi insulin glargin yang efektif dan efisien dengan hasil yang aman dan biaya rendah.
- 3) Memberikan arah produksi insulin berbasis bioteknologi dengan bantuan mikroorganisme yang berkelanjutan di masa depan.

