

**OPTIMASI OVEREKSPRESI ANALOG INSULIN (GLARGINE)
REKOMBINAN MENGGUNAKAN SISTEM EKSPRESI
*Pichia pastoris***



Skripsi

**Diajukan ke Fakultas Kedokteran Universitas Andalas sebagai
Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelara Sarjana Ilmu Biomedis**

Dosen Pembimbing:

dr. Aswiyanti Asri, M.Si, Med, Sp.PA(K)

Endah Dwi Hartuti, S.Si., Apt., M.Biomed., Ph.D

Oleh:

Yufva Pramudia Ananda Zr

NIM: 2110342012

**PRODI ILMU BIOMEDIS PROGRAM SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2025**

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF RECOMBINANT OVEREXPRESSION OF INSULIN ANALOGUE (GLARGINE) USING THE *Pichia pastoris* EXPRESSION SYSTEM

By

**Yufva Pramudia Ananda Z.r, Aswiyanti Asri, Endah Dwi Hartuti,
Hasmiwati, Yustini Alioes, Husnil Wardiyah**

Insulin glargine is a long-acting recombinant insulin analog developed to provide better blood glucose control for diabetic patients, with reduced injection frequency and prolonged duration of action. The production of recombinant insulin was optimized in this study to meet the growing global demand while reducing reliance on imports.

*This experimental study examined the effects of various fermentation parameters, including medium types (BMMY vs. $\frac{1}{2}$ BSM), methanol concentrations (2%, 2.5%, 3%), pH levels (4, 5, 6), and incubation durations (up to 144 hours), on the expression of the proinsulin glargine gene in *Pichia pastoris* strain X33. The expression levels were assessed by measuring optical density (OD₆₀₀), determining protein concentration using the Bradford assay, and visualizing protein bands via SDS-PAGE.*

The optimal conditions for recombinant insulin glargine expression were identified as $\frac{1}{2}$ BSM medium with 2% methanol at pH 6, and 96 hours of fermentation. Under these conditions, the highest OD₆₀₀ value (68.27), protein concentration (51.47 mg/L), and the clearest SDS-PAGE band near 6.5 kDa were observed.

*In conclusion, this study confirmed that recombinant insulin glargine expression can be significantly improved through systematic optimization of fermentation parameters in *Pichia pastoris*, thereby supporting its potential application in large-scale biotechnological production.*

Keywords: *Insulin Glargine, *Pichia pastoris*, Recombinant Protein, Fermentation Optimization, SDS-PAGE*

ABSTRAK

OPTIMASI OVEREKSPRESI ANALOG INSULIN (GLARGINE) REKOMBINAN MENGGUNAKAN SISTEM EKSPRESI *Pichia pastoris*

Oleh

Yufva Pramudia Ananda Z.r, Aswiyanti Asri, Endah Dwi Hartuti,
Hasmiwati, Yustini Alioes, Husnil Wardiyah

Insulin glargine merupakan analog insulin rekombinan kerja panjang yang dirancang untuk memberikan kadar insulin basal yang stabil, dengan keunggulan klinis seperti frekuensi injeksi yang lebih rendah dan durasi kerja yang lebih lama. Optimalisasi produksinya menggunakan *Pichia pastoris* diperlukan untuk memenuhi kebutuhan terapi yang terus meningkat sekaligus mengurangi ketergantungan terhadap impor.

Penelitian ini bersifat eksperimental yang mengevaluasi pengaruh berbagai parameter fermentasi jenis media (BMMY vs ½ BSM), konsentrasi metanol (2%, 2,5%, 3%), pH (4, 5, 6), dan waktu inkubasi (hingga 144 jam) terhadap ekspresi proinsulin glargine menggunakan *P. pastoris strain* X33. Ekspresi protein dianalisis melalui pengukuran OD₆₀₀, kuantifikasi protein total dengan metode Bradford, dan visualisasi pita protein melalui SDS-PAGE.

Kondisi optimal untuk produksi insulin glargine rekombinan diperoleh pada media ½ BSM dengan induksi metanol 2%, pH 6, dan waktu inkubasi 96 jam yang memberikan nilai OD₆₀₀ akhir sebesar 68,27, konsentrasi protein sebesar 51,47 mg/L, serta pita protein yang jelas pada kisaran ~6,5 kDa.

Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa optimasi parameter fermentasi secara signifikan meningkatkan produksi insulin glargine dalam *P. pastoris*, sehingga mendukung potensi penerapannya dalam skala bioteknologi yang lebih luas.

Kata Kunci: *Insulin Glargine, Pichia pastoris, Protein Rekombinan, Optimasi Fermentasi, SDS-PAGE*