

Produksi Protein Apoptin Rekombinan dengan Menggunakan Teknik Kromatografi Kolom Afinitas HisTrap 5 ml = Production of Recombinant Apoptin Protein Using HisTrap FF 5 ml Affinity Column Chromatography Technique

Muhammad Iqbal, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20347850&lokasi=lokal>

Abstrak

Protein apoptin dari virus anemia ayam telah diteliti memiliki potensi yang baik sebagai pendeteksi dini sel kanker. Keberhasilan produksi apoptin yang tidak lagi berupa badan inklusi telah memberikan harapan lebih besar untuk melakukan optimasi produksi protein apoptin rekombinan ini. Sel rekombinan apoptin yang berhasil diproduksi dalam skala besar dengan menggunakan inang *Bacillus subtilis* 168 pOXGW-apop-2His8Arg, pOGW-apop-12His dalam berbagai variasi kondisi kultivasi (konsentrasi substrat penginduksi, laju aerasi, dan laju agitasi) kemudian dipurifikasi menggunakan metode IMAC dalam kolom afinitas (HisTrap FF 5 mL) yang berisi ion logam transisi Ni²⁺ dengan menggunakan instrumen AKTA Prime Plus. Secara rata-rata, hasil purifikasi menunjukkan bahwa elusi apoptin rekombinan terjadi ketika nilai konduktivitas berada pada angka 15,85 mS/cm, dengan konsentrasi imidazole berada pada kisaran nilai 76% - 88% (384,8-442,4 mM), yang terlihat dari grafik gradien elusi. Pengukuran konsentrasi protein apoptin dengan menggunakan metode Bradford menunjukkan bahwa konsentrasi terbesar diperoleh pada sampel dengan sistem agitasi 250 rpm dan laju aerasi 0,5 Nl/menit, dengan besar konsentrasi 0,0507 mg/ml. Hasil purifikasi berhasil dideteksi menggunakan SDS-PAGE 12% dengan hasil pita protein terlihat di area 15 kDa dan 58,5 kDa untuk semua sampel.

.....Apoptin has been known to be having a great potency for cancer detection. The success of apoptin production which is not in inclusion body form anymore has given a bigger hope to optimize its production. Recombinant apoptin cells which was succesful to be cultivated in large scale using *Bacillus subtilis* 168 pOXGW-apop-12His8Arg, pOGW-apop-12His vector in various cultivation condition (aeration rate, agitation rate) then purified using IMAC method in Ni²⁺-loaded affinity column (HisTrap FF 5ml) and proceeded in AKTA Prime Plus instrument. Averagely, purification result showed that the elution of apoptin recombinant protein happened when the conductivity value at 15,85 mS/cm, with imidazole concentration lied around 76%-88% (384,8-442,4 mM), which could be seen from elusion gradient curve. The measurement of apoptin protein concentration using Bradford method showed that the biggest concentration was obtained from the sample with agitation rate 250 rpm and aeration rate 0,5 Nl/min, and the value is 0,0507 mg/ml. Purification yield was succesfully detected using SDS-PAGE 12%, with protein band was seen on 15 kDa and 58,5 kDa area for all samples.