

Optimasi induksi metanol dan waktu inkubasi gen envelope 2 (E2) virus Chikungunya menggunakan vektor pPICZaA pada pichia pastoris-X33 = Optimization of incubation times and methanol induction of Chikungunya virus Envelope 2 (E2) gene expression using pPICZaA plasmid as a vector in pichia pastoris-X33

Choirul Ikhsan, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20517969&lokasi=lokal>

Abstrak

Chikungunya merupakan penyakit menular yang bersifat re-emerging dan ditransmisikan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* & *Aedes albopictus*. Penyakit yang disebabkan virus chikungunya ini memiliki manifestasi klinis non-spesifik sehingga dibutuhkan metode diagnosis yang cepat dan akurat. Protein E2 yang dikode oleh gen E2 virus chikungunya berpotensi digunakan dalam proses diagnosis penyakit chikungunya. Protein rekombinan E2 diekspresikan pada inang *Pichia pastoris*-X33 Mut+ koloni B4, F, dan N. Penelitian ini bertujuan menghasilkan protein rekombinan E2 serta didapatkan waktu inkubasi dan konsentrasi induksi metanol optimum pada sistem ekspresi *Pichia pastoris*. Hasil penelitian ini digunakan sebagai bahan dasar produksi antibodi monoklonal yang akan digunakan dalam pengembangan perangkat diagnostik penyakit chikungunya. Metode yang digunakan pada adalah inokulasi *Pichia pastoris* pada medium MM dan MD. Induksi koloni pada medium BMGY dan BMMY selama 24, 48, dan 72 jam inkubasi. Koloni diinduksi dengan metanol murni dengan variasi konsentrasi akhir 0,5%, 1%, dan 2%. Verifikasi ekspresi protein melalui SDS-PAGE dan Western blot. Hasil penelitian menunjukkan koloni *Pichia pastoris* yang membawa gen pPICZaA-E2 dapat mengekspresikan protein E2 berukuran 35-38 pada koloni pada setiap variasi induksi dan waktu inkubasi. Waktu inkubasi terbaik adalah 72 jam dan induksi metnaol akhir terbaik adalah 0,5%

.....Chikungunya is known as an infectious disease that re-emerging and transmitted by *Aedes aegypti* & *Aedes albopictus* mosquitoes. This chikungunya infectious has non-specific clinical manifestation so it requires a rapid and accurate diagnostic method for its detection. Envelope 2 (E2) protein coded by E2 gene in the genome of the virus has potential to be used for diagnosis. B4, F and N colonies of *Pichia pastoris* X33 Mut+ used as the expression system. This research is aimed to obtain E2 recombinant protein, then to obtain the optimum of incubation times and methanol induction. This result used as a basic material for monoclonal antibody production in chikungunya rapid diagnostic test kit development. The method used in the expression of E2 recombinant protein in *Pichia pastoris* host cells was *Pichia pastoris* inoculation on MM and MD medium. Colony induction on BMGY and BMMY medium for 24, 48, and 72 hours of incubation. Colonies were induced with pure methanol with various final concentrations of 0,5%, 1%, and 2%. Verification of protein expression through SDS-PAGE and Western blot. The results showed that *Pichia pastoris* colonies carrying the pPICZaA-E2 gene were able to express 35—38 kDa. Protein E2 on SDS-PAGE results indicating that E2 protein was successfully expressed on each induction and times. The optimum incubation time is 72 hours and 0,5 % methanol induction