

**EKSPRESI PROTEIN REKOMBINAN *PEPTIDE YY*  
(PYY) PADA *Escherichia coli***

**Skripsi**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran (S.Ked)



Oleh:

**JUNORETTA HAVIVA ERNANTO**  
**04011281722098**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS SRIWIJAYA**  
**2020**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**EKSPRESI PROTEIN REKOMBINAN *PEPTIDE YY (PYY)* PADA  
*Escherichia coli***

Oleh:


**Junoretta Haviva Ernanto  
04011281722098**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar sarjana kedokteran

Palembang, 11 Januari 2021  
Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

**Pembimbing I  
dr. Ella Amalia, M.Kes  
NIP. 198410142010122007**



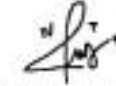
---

**Pembimbing II  
dr. Theodorus, M.Med.Sc  
NIP. 196009151989031005**



---

**Penguji I  
Masayu Farah Diba, S.Si., M.Biomed  
NIP. 199406172019032020**



---

**Penguji II  
dr. Dalilah, M.Kes.  
NIP. 198411212015042001**



---

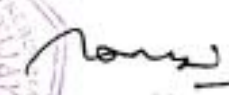
**Mengetahui,**

**Ketua Program Studi  
Pendidikan Dokter**

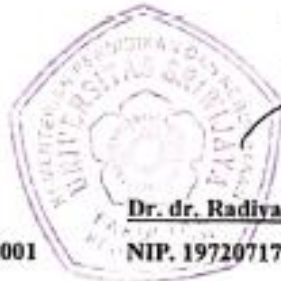


**dr. Susilawati, M.Kes  
NIP. 197802272010122001**

**Wakil Dekan I**



**Dr. dr. Radiyah Umi Partan, Sp.PD-KR, M.Kes  
NIP. 197207172008012007**



## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda-tangan di bawah ini dengan ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, ~~magister dan/atau~~ doktor), baik di Universitas Sriwijaya maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan dan penelitian Saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan verbal Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini Saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka Saya bersedia menerima sanksi akademik atau sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Palembang, 11 Januari 2021  
Yang membuat pernyataan



(Junoretta Haviva Ernanto)

Mengetahui,

Pembimbing I



dr. Ella Amalia, M.Kes  
NIP. 198410142010122007

Pembimbing II



dr. Theodorus, M. Med.Sc  
NIP. 196009151989031005

## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Junoretta Haviva Ernanto  
NIM : 04011281722098  
Program Studi : Pendidikan Dokter Umum  
Fakultas : Kedokteran  
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

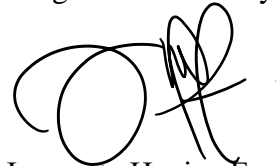
EKSPRESI PROTEIN REKOMBINAN *PEPTIDE* YY (PYY) PADA *Escherichia coli*

Beserta perangkatnya yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya tanpa meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Palembang, 11 Januari 2020

Yang membuat menyatakan,



Junoretta Haviva Ernanto  
NIM. 04011281722098

## ABSTRAK

### EKSPRESI PROTEIN REKOMBINAN *PEPTIDE YY (PYY)* PADA *Escherichia coli*

(Junoretta Haviva Ernanto, Januari 2021, 45 halaman)

**Latar Belakang:** PYY (1-36), polipeptida yang terdiri atas 36 susunan asam amino, diketahui berperan dalam meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel beta melalui aktivasi NPY1R di pankreas sehingga akhirnya mengarah pada keseimbangan glikemik. (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) merupakan PYY(1-36) analog yang resisten terhadap degradasi DPP-IV dan memiliki selektivitas yang tinggi terhadap NPY1R. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi karakteristik konstruksi gen penyandi protein rekombinan (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) beserta prediksi protein homolognya

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan komputasional. Data berupa sekuens asam amino diakses dari Pubmed dan *registry* iGEM. Penelitian ini menggunakan beberapa aplikasi berbasis *website* diantaranya, OptimumGene<sup>TM</sup>, *Predict Protein*, Protein-SOL, dan SWISS-MODEL.

**Hasil:** Konstruksi 1 memiliki karakteristik berupa komposisi struktur sekunder yang terdiri atas  $\alpha$ -helix dan loop, serta nilai kelarutan sebesar 0.5. Sedangkan konstruksi 2, pada komposisi struktur sekundernya terdapat  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -strand dan loop dengan nilai kelarutan sebesar 0.821. Pada pemodelan (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) didapatkan tiga model protein homolog.

**Kesimpulan:** Konstruksi 1 dan 2 memiliki struktur sekunder yang berbeda. Sedangkan, nilai kelarutan konstruksi 2 memiliki nilai yang lebih tinggi. (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) memiliki tiga model protein homolog.

**Kata kunci:** *PYY (1-36)*, *(P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36)*, *protein rekombinan*, *pendekatan komputasional*

## ABSTRACT

### EXPRESSION OF RECOMBINANT PEPTIDE YY (PYY) PROTEIN IN *Escherichia coli*

(Junoretta Haviva Ernanto, Januari 2021, 45 pages)

**Background:** PYY (1-36), a polypeptide consisting of 36 amino acid structures, is known to play a role in increasing the growth and survival of beta cells through NPY1R activation in the pancreas, which ultimately leads to glycemic balance. (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) is a PYY (1-36) analog that is resistant to DPP-IV degradation and has high selectivity to NPY1R. This study aims to identify the characteristics of the (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) recombinant protein-coding gene and its prediction of homologous proteins.

**Methods:** This study is an experimental study with a computational approach. Data in the form of amino acid sequences were accessed from Pubmed and the iGEM registry. This study uses several website-based applications including OptimumGene™, Predict Protein, Protein-SOL, and SWISS-MODEL.

**Results:** Construction 1 was characterized by a secondary structural composition consisting of  $\alpha$ -helix and loop, and a solubility value of 0.5. While construction 2, the secondary structure composition contains  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -strand, and loop with a solubility value of 0.821. In the (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) modelling, three homologous protein models were obtained.

**Conclusion:** Construction 1 and 2 have different secondary structures. Meanwhile, the solubility value of construction 2 has a higher value. (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36) has three homologous protein models.

**Keywords:** PYY (1-36), (P<sup>3</sup>L<sup>31</sup>P<sup>34</sup>)PYY(1-36), recombinant protein, computational approach

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayat penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar sarjana kedokteran (S.Ked) pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pada penulisan skripsi ini banyak pihak yang membantu penulis untuk dapat menyelesaikannya. Oleh karenanya, izinkan penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membimbing, mendukung, meluangkan waktu, dan mencurahkan pikiran serta tenaganya dalam menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada:

1. Kedua orang tua, A. N. Haryanto Futra dan Erna Mufniar atas segala bentuk dukungan yang tiada henti.
2. Kembaran penulis, Senoretta Hanafifa Ernanto yang senantiasa memberikan masukan untuk tetap semangat menyelesaikan skripsi
3. dr. Ella Amalia, M.Kes dan dr. Theodorus M.Med.Sc. sebagai dosen pembimbing yang telah mecurahkan tenaga, pikiran, dan waktu untuk memberikan bimbingan dan nasehat dalam membimbing penulis pada penyusunan skripsi.
4. dr. Dalilah, M.Kes dan Ibu Masayu Farah Diba, S.Si, M.Biomed sebagai dosen penguji skripsi yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi
5. Semua dosen di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya yang telah mengajar, mendidik, dan membimbing penulis selama masa perkuliahan.
6. Seluruh staf Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya yang telah membantu dalam masa perkuliahan
7. Teman seperjuangan, Faisal Farhan Lubis, Irma Yolanda, Devi Maharani, Raden Roro Mutiara Zahrani Rahma, R. A. Mitha Aulia, dan Putri Prameswari yang banyak memberikan ide baru dan masukkan luar biasa untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi.

8. Teman-teman kelas Alpha 2017 serta teman-teman *Medicsteen* Angkatan 2017 atas kenangan, bantuan serta dukungan dalam berjuang bersama-sama untuk meraih gelar sarjana
9. Serta semua pihak yang terlibat namun tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun dari berbagai pihak sangat penulis harapkan untuk perbaikan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi dunia penelitian kedokteran.

Palembang, Januari 2021

Junoretta Haviva Ernanto



## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	iv
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Peptide Tyrosine-tyrosine (PYY).....	5

2.1.1	Karakteristik struktur dan distribusi PYY .....	5
2.1.2	Reseptor PYY.....	7
2.1.3	Peran PYY dalam memodulasi nafsu makan dan penurunan berat badan..	7
2.1.4	Peran PYY dalam meregulasi homeostasis glukosa .....	9
2.1.5	Penelitian terkait ekspresi protein rekombinan PYY .....	10
2.1.6	PYY Analog.....	11
2.2	Teknologi Rekombinan DNA.....	12
2.2.1	Vektor Ekspresi dan Protein Rekombinan .....	15
2.3	Escherichia coli .....	17
2.4	Kerangka Teori.....	19
2.5	Kerangka Konsep .....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>21</b>
3.1	Jenis Penelitian .....	21
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian .....	21
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	21
3.4	Variabel Penelitian .....	21
3.4.1	Variabel Independen .....	21
3.4.2	Variabel Dependen.....	21
3.5	Definisi Operasional.....	22
3.6	Alat dan Bahan .....	24
3.6.1	Alat.....	24
3.6.2	Bahan.....	24
3.7	Cara Kerja.....	24

3.7.1	Konstruksi Protein Rekombinan.....	24
3.7.2	Optimasi Gen Penyandi Protein ( $P^{32}L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36).....	24
3.7.3	Prediksi Karakteristik Protein ( $P^{32}L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36).....	25
3.7.4	Prediksi Struktur Homolog Protein menggunakan SWISS-MODEL.....	25
3.8	Kerangka Operasional.....	26
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>27</b>
4.1	Konstruksi Protein Rekombinan.....	27
4.2	Optimasi Gen Penyandi Protein ( $P^{32}L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36).....	28
4.3	Analisis Karakteristik Protein Rekombinan ( $P^{32}L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36).....	33
4.3.1	Analisis Struktur Sekunder Protein menggunakan <i>Predict Protein</i> .....	33
4.3.2	Analisis Solubilitas Protein ( $P^{32}L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) dengan Protein-SOL..	34
4.4	Analisis Struktur Homolog Protein menggunakan SWISS-MODEL.....	35
4.5	Keterbatasan Penelitian.....	37
<b>BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>38</b>
5.1	Simpulan.....	38
5.2	Saran.....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>43</b>
<b>BIODATA.....</b>		<b>55</b>

## DAFTAR SINGKATAN

A	: Alanin;
CAI	: <i>Codon Adaptation Index</i>
D	: Asam aspartat;
DPP-IV	: <i>Dipeptidyl peptidase-IV</i>
E	: Asam glutamat;
FOC	: <i>Frequency of codon usage</i>
G	: Glisin;
GLP-1	: <i>Glucagon-like polypeptide-1</i>
GMQE	: <i>Global Model Quality Estimation</i>
GOI	: <i>Gene of interest</i>
H	: Histidin;
I	: Isoleusin;
K	: Lisin;
L	: Leusin;
M	: Metionin;
mRNA	: <i>Messenger ribonucleic acid</i>
N	: Asparagin;
NPY	: <i>Neuropeptide Y</i>
NPYR	: <i>Neuropeptide Y receptor</i>
P	: Prolin;
PP	: <i>Pancreatic polypeptide</i>
PP-fold	: <i>Pancreatic polypeptide-fold</i>
PYY	: <i>Peptide tyrosine-tyrosine</i>
Q	: Glutamin;
QSQE	: <i>Quaternary Structure Quality Estimate</i>
R	: Arginin;
S	: Serin;
SUMO	: <i>Small ubiquitin-like modifier</i>

T : Treonin;  
V : Valin;  
Y : Tirosin

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Sekuens Asam Amino PYY(1-36) Analog (Lafferty <i>et al.</i> , 2019).....	12
<b>Tabel 2.</b> Definisi Operasional.....	22
<b>Tabel 3.</b> Perbandingan Struktur Sekunder dan <i>Solvent Accessibility</i> .....	33
<b>Tabel 4.</b> Hasil Analisis Kelarutan oleh Protein-SOL .....	34
<b>Tabel 5.</b> Hasil Analisis SWISS-MODEL .....	37

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Struktur Asam Amino PYY, NPY, dan PP (Ueno <i>et al.</i> , 2008).....	5
<b>Gambar 2.</b> Struktur PYY.....	6
<b>Gambar 3.</b> PYY Memodulasi Nafsu Makan dan Penurunan Berat Badan (Ballantyne, 2006).....	8
<b>Gambar 4.</b> Peran PYY dalam Regulasi Glukosa (Guida <i>et al.</i> , 2017).....	9
<b>Gambar 5.</b> Teknologi Rekombinan DNA (Pham, 2018).....	14
<b>Gambar 6.</b> Komponen Utama Pada Vektor Ekspresi (Rédei, 2008).....	15
<b>Gambar 7.</b> Diagram Transkripsi dan Translasi (Carson <i>et al.</i> , 2012).....	16
<b>Gambar 8.</b> Kerangka Teori.....	19
<b>Gambar 9.</b> Kerangka Konsep.....	20
<b>Gambar 10.</b> Kerangka Operasional.....	26
<b>Gambar 11.</b> (a) Konstruksi 1: <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36); (biru) <i>hexahistidine tag</i> ; (orange) faktor protease Xa; sekuens (P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36). (b) konstruksi <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36).....	27
<b>Gambar 12.</b> (a) Konstruksi 2: SUMO- <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36); (biru) <i>hexahistidine tag</i> ; (merah) SUMO <i>tag</i> ; (orange) faktor protease Xa; (hijau) sekuens (P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36). (b) konstruksi SUMO- <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36).....	28
<b>Gambar 13.</b> Posisi relatif kodon sesudah di optimasi (a) <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36) (b) konstruksi SUMO- <i>his6-tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36).....	29
<b>Gambar 14.</b> Rasio GC dari gen Penetratin (a) <i>his6-tagged</i> (P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36) (b) konstruksi SUMO- <i>tagged</i> (P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36).....	30
<b>Gambar 15.</b> Persentase Distribusi Kodon Penetratin (FOP) (a) <i>his6-tagged</i> (P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36) (b) konstruksi SUMO- <i>tagged</i> -(P <sup>3</sup> L <sup>31</sup> P <sup>34</sup> )PYY(1-36).....	32

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Etik Penelitian.....	43
Lampiran 2. Hasil Output SWISS-MODEL .....	44
Lampiran 3. Hasil Output <i>Predict Protein</i> .....	47
Lampiran 4. Hasil Output Protein-SOL .....	49
Lampiran 5. Surat Izin Penelitian.....	51
Lampiran 6. Surat Keterangan Selesai Penelitian .....	52
Lampiran 7. Lembar Konsultasi Proposal Skripsi .....	53
Lampiran 8. Lembar Konsultasi Skripsi .....	54
Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Similarity Checking (Turnitin) .....	55



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Peptide tyrosin-tyrosin* (PYY) merupakan polipeptida yang terdiri dari 36 asam amino. Polipeptida ini pertama kali diidentifikasi di usus halus babi oleh Tatemoto (Tatemoto and Mutt, 1980). Pada sirkulasi, PYY memiliki dua bentuk molekul yang dominan, yaitu peptida induk yang dikenal dengan PYY (1-36) dan bentuk terpotongnya, PYY (3-36) (Lafferty et al., 2018). PYY (1-36) disekresikan oleh sel-L neuroendokrin di ileum sebagai respon terhadap konsumsi makanan yang kemudian akan didegradasi oleh *dipeptidyl peptidase-IV* (DPP-IV) pada ujung terminal N PYY(1-36), tepatnya di sekuens tirosin-proline, sehingga akan menghasilkan PYY (3-36), entitas utama PYY yang beredar di sirkulasi (Ballantyne, 2006). Sebelumnya, penelitian terfokus pada peran PYY (3-36) yang berkaitan dengan fungsinya dalam meregulasi nafsu makan melalui aktivasi NPYR2 di hipotalamus yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai obat anti-obesitas. Namun, belakangan, penelitian terbaru mengungkapkan efek positif PYY(1-36) terhadap regenerasi dan *survival* sel beta pankreas (Lafferty et al., 2019). Sejalan dengan hal tersebut, penelitian juga mengungkapkan hubungan ablasi selektif pada sel yang mengekspresikan PYY pada tikus dengan kehilangan insulin pankreas yang signifikan dan gangguan morfologi pulau. Selain itu, pemberian analog PYY kerja panjang mengurangi studi hiperglikemia dan kehilangan insulin pada tikus dengan tikus kehilangan sel beta yang diinduksi streptozotocin (Sam et al., 2012).

Namun, rentannya PYY (1-36) terhadap degradasi oleh DPP-IV menyebabkan peneliti mulai melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuat PYY(1-36) analog yang tahan terhadap DPP-IV (Keire et al., 2000) serta memiliki kestabilan dan selektivitas tinggi terhadap NPY1R (Lafferty et al., 2019). Sebuah studi yang dilakukan oleh Lafferty *et al.*, (2019) mengidentifikasi

sebuah analog PYY (1-36), dikenal dengan ( $P^3L^{31}P^{34}$ ) PYY (1-36) yang sepenuhnya resisten terhadap DPP-IV dan diketahui menginduksi proliferasi BRIN BD11 dan 1.1B4 *beta cell lines* (Lafferty *et. al.*, 2019). Namun, saat ini, untuk menghasilkan protein sejenis (hPYY(3-36)) masih bergantung dengan metode *soild-phase peptide synthesis* dengan kisaran biaya beberapa ribu US\$ (Fazen *et al.*, 2012). Oleh karena itu, dengan adanya protein rekombinan ( $P^3L^{31}P^{34}$ ) PYY (1-36) akan menjadi alternatif dengan biaya produksi yang lebih murah.

Pemanfaatan teknologi rekayasa genetika untuk memproduksi protein manusia telah menjadi bagian penting dalam dunia kesehatan. Insulin merupakan protein rekombinan pertama yang dihasilkan menggunakan teknologi rekombinan DNA. Dari perspektif farmasi, percobaan DNA rekombinan yang berhasil ini membuka kemungkinan untuk menghasilkan biomolekul manusia lainnya melalui organisme lain. Dengan ini, alternatif untuk isolasi protein terapeutik dari bahan biologis (jaringan, organ), dalam hal kapasitas produksi dan keamanan, sekarang tersedia (Dingermann, 2008). Meskipun demikian, pemanfaatan teknologi rekombinan sangat bergantung pada *trial and error* untuk menciptakan gen dan lingkungan yang sesuai antara gen ekspresi, vektor ekspresi, dan sistem ekspresi yang tidak jarang juga akan memakan waktu dan biaya.

Efisiensi pada ekspresi protein rekombinan merupakan salah satu masalah utama yang menghambat produksi protein rekombinan dalam jumlah besar. Pengembangan teknologi dalam bidang produksi dan purifikasi protein banyak dilakukan untuk mendapatkan ekspresi protein dengan kualitas dan kuantitas yang baik. Penggunaan *affinity tag* untuk melokalisasi protein target telah umum digunakan. Selain itu, *affinity tag* juga berfungsi untuk memisahkan protein target yang diekspresikan oleh host ekspresi dari protein lainnya yang terdapat didalam host. His tag, biasanya terdiri atas 6 hingga 10 susunan histidine, merupakan salah satu afinitas tag yang sering digunakan.

Selain *affinity tag*, *fussion tag* juga merupakan teknologi yang mulai banyak digunakan untuk meningkatkan ekspresi protein. Penggunaannya akan meningkatkan solubilitas protein rekombinan, terutama pada protein yang sulit diekspresikan. *Small ubiquitin-like modifier* (SUMO), salah satu jenis *fusion tag*, yang umum digunakan. Beberapa keuntungan menggunakan *fusion tag* jenis ini diantaranya melindungi protein ekspresi dari degradasi proteolysis serta meningkatkan *protein folding* pada *E. coli*.

Pada studi ini, peneliti akan mengidentifikasi dua konstruksi gen penyandi ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36). Pada konstruksi satu, peneliti hanya menambahkan *hexahistidine tag* pada susunan gen ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36). Sedangkan pada konstruksi dua, selain menambahkan *hexahistidine tag*, peneliti juga menambahkan SUMO *tag*. Setelah itu, dilakukan evaluasi terhadap struktur protein yang dihasilkan dan solubilitas dari kedua konstruksi protein. Selain itu peneliti juga akan melakukan analisis terhadap struktur homolog ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36). Seluruh penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pendekatan secara komputasional.

## 1.2 Rumusan Masalah

- a. Bagaimana karakteristik konstruksi gen penyandi protein rekombinan ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) berdasarkan eksperimen pendekatan komputasional?
- b. Bagaimana prediksi protein homolog ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) berdasarkan eksperimen pendekatan komputasional?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

- a. Mengetahui karakteristik konstruksi gen penyandi protein rekombinan ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) berdasarkan eksperimen pendekatan komputasional,
- b. Mengetahui prediksi protein homolog ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) berdasarkan eksperimen pendekatan komputasional

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui struktur sekunder konstruksi gen penyandi protein rekombinan ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36)
- b. Mengetahui solubilitas konstruksi gen penyandi protein rekombinan ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36)
- c. Mengetahui prediksi protein homolog ( $P^3L^{31}P^{34}$ )PYY(1-36) berdasarkan eksperimen pendekatan komputasional

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Penelitian ini dapat menjadi sumber referensi di bidang biologi sintesis, terutama pada pemanfaatan pendekatan komputasional pada teknologi rekombinan DNA
2. Penelitian ini dapat menjadi sumber referensi di bidang kesehatan yang berhubungan dengan pemanfaatan teknologi rekombinan DNA untuk menghasilkan terapi berbasis protein manusia.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

1. Menambah pemahaman dan pengetahuan terhadap pemanfaatan alat atau *software* untuk mengkarakterisasi protein.
2. Menambah pemahaman dan pengetahuan terhadap pemanfaatan *Escherichia coli* sebagai sistem ekspresi protein.
3. Menambah pemahaman dan pengetahuan terhadap protein rekombinan yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ballantyne, G.H., 2006. Peptide YY(1-36) and peptide YY(3-36): Part II. Changes after gastrointestinal surgery and bariatric surgery - Part. I. Distribution, release and actions. *Obes. Surg.* 16, 795–803.
- Basi, A., Christopherson, A., Venkateswaran, A., Deshpande, A., Solomon, F., Schaenzler, G., Chiou, H., Lee, J., Stefl, J., Zmuda, J., Vattem, K., O'Hara, M., Raab, N., Burnham, R., Landon, T., 2018. Protein expression handbook Recombinant protein expression and purification technologies 118.
- Benkert, P., Biasini, M., Schwede, T., 2011. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models 27, 343–350.
- Bertoni, M., Kiefer, F., Biasini, M., Bordoli, L., Schwede, T., 2017. Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero- oligomers beyond binary interactions by homology. *Sci. Rep.* 1–15.
- Brautaset, T., Valla, S., 2019. Special issue: Recombinant protein expression in microorganisms. *Microorganisms* 7, 2–3.
- Carballo-Amador M.A., H.M., S., C., R., C., J., W., 2017. Protein-Sol: a web tool for predicting protein solubility from sequence. [WWW Document]. Bioinforma.
- Carson, S., Miller, H.B., Witherow, D.S., 2012. Purification and Digestion of Plasmid (Vector) DNA. *Mol. Biol. Tech.* 11–20.
- Desmarchelier, P., Fegan, N., 2002. *ESCHERICHIA COLI*. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, pp. 948–954.
- Dingermann, T., 2008. Recombinant therapeutic proteins: Production platforms and challenges. *Biotechnol. J.* 3, 90–97.
- Fakruddin, M., Mohammad Mazumdar, R., Bin Mannan, K.S., Chowdhury, A.,

- Hossain, M.N., 2013. Critical Factors Affecting the Success of Cloning, Expression, and Mass Production of Enzymes by Recombinant *E. coli*. ISRN Biotechnol. 2013, 1–7
- Fazen, C.H., Kahkoska, A.R., Doyle, R.P., 2012. Expression and purification of human PYY(3-36) in *Escherichia coli* using a His-tagged small ubiquitin-like modifier fusion. *Protein Expr. Purif.* 85, 51–59.
- GenScript, 2019. Optimum Gene Codon: Optimization Analysis [WWW Document]. GenScript USA Inc.
- Griffiths, A.J., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M., 2000. Making recombinant DNA.
- Gromiha, M.M., 2010. Chapter 1 - Proteins. *Protein Bioinformatics*, Acad. Press 1–27.
- Guida, C., Stephen, S., Guitton, R., Ramracheya, R.D., 2017. The Role of PYY in Pancreatic Islet Physiology and Surgical Control of Diabetes. *Trends Endocrinol. Metab.* xx, 1–11.
- Gupta, V., Sengupta, M., Prakash, J., Tripathy, B.C., 2016. Basic and applied aspects of biotechnology. *Basic Appl. Asp. Biotechnol.* 1–520.
- Gustafsson, C., Govindarajan, S., Minshull, J., 2004. Codon bias and heterologous protein expression. *Trends Biotechnol.* 22, 346–353.
- Hacker, D.L., Wurm, F.M., 2011. *Recombinant Technology*, Second Edition, ed, Comprehensive Biotechnology, Second Edition. Elsevier B.V.
- Keire, D.A., Mannon, P., Kobayashi, M., Walsh, J.H., Solomon, T.E., Reeve, J.R., 2000. Primary structures of PYY, [Pro34]PYY, and PYY-(3-36) confer different conformations and receptor selectivity. *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.* 279, 126–131.
- Kramer, R.M., Shende, V.R., Motl, N., Pace, C.N., Scholtz, J.M., 2012. Toward a

molecular understanding of protein solubility: Increased negative surface charge correlates with increased solubility. *Biophys. J.* 102, 1907–1915.

Lafferty, R.A., Flatt, P.R., Irwin, N., 2018. C-terminal degradation of PYY peptides in plasma abolishes effects on satiety and beta-cell function. *Biochem. Pharmacol.* 158, 95–102.

Lafferty, R.A., Gault, V.A., Flatt, P.R., Irwin, N., 2019. Effects of 2 Novel PYY(1-36) Analogues, (P3L31P34)PYY(1-36) and PYY(1-36)(Lys12PAL), on Pancreatic Beta-Cell Function, Growth, and Survival. *Clin. Med. Insights Endocrinol. Diabetes* 12.

Li, J., Han, Q., Zhang, T., Du, J., Sun, Q., Pang, Y., 2018. Expression of soluble native protein in *Escherichia coli* using a cold-shock SUMO tag-fused expression vector. *Biotechnol. Reports* 19, e00261.

Lozano Terol, G., Gallego-Jara, J., Sola Martínez, R.A., Cánovas Díaz, M., De Diego Puente, T., 2019. Engineering protein production by rationally choosing a carbon and nitrogen source using *E. Coli* BL21 acetate metabolism knockout strains. *Microb. Cell Fact.* 18, 1–19.

Mauro, V.P., Chappell, S.A., 2014. A critical analysis of codon optimization in human therapeutics Optimizing codon usage for increased protein expression. *Trends Mol. Med.* 20, 604–613.

Menzella, H.G., 2011. Comparison of two codon optimization strategies to enhance recombinant protein production in *Escherichia coli*. *Microb. Cell Fact.* 10, 11–15.

Momen, A.H., Harzandi, N., Haddadi, A., Bambai, B., 2020. Implementation of a novel self-induced promoter for the expression of pharmaceutical peptides in *Escherichia coli*: YY(3-36) peptide. *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* 41, 4–7.

- Pham, P. V., 2018. Medical biotechnology: Techniques and applications. *Omi. Technol. Bio-engineering Towar. Improv. Qual. Life* 1, 449–469.
- Price, S.L., Bloom, S.R., 2014. Protein PYY and its role in metabolism. *How Gut Brain Control Metab.* 42, 147–154.
- Rédei, G.P., 2008. Origin of Replication. *Encycl. Genet. Genomics, Proteomics Informatics 2017*, 1406–1406.
- Rosano, G.L., Ceccarelli, E.A., 2014. Recombinant protein expression in *Escherichia coli* : advances and challenges 5, 1–17.
- Rosano, G.L., Morales, E.S., Ceccarelli, E.A., 2019. New tools for recombinant protein production in *Escherichia coli* : A 5-year update 28, 1412–1422.
- Sam, A.H., Gunner, D.J., King, A., Persaud, S.J., Brooks, L., Hostomska, K., Ford, H.E., Liu, B., Ghatei, M.A., Bloom, S.R., Bewick, G.A., 2012. Selective ablation of peptide YY cells in adult mice reveals their role in beta cell survival. *Gastroenterology* 143, 459–468.
- Studer, G., Rempfer, C., Waterhouse, A.M., Gumienny, R., Haas, J., Schwede, T., 2020. Structural bioinformatics QMEANDisCo — distance constraints applied on model quality estimation 36, 1765–1771.
- Tatemoto, K., Mutt, V., 1980. Isolation of two novel candidate hormones using a chemical method for finding naturally occurring polypeptides. *Nature*.
- Ueno, H., Yamaguchi, H., Mizuta, M., Nakazato, M., 2008. The role of PYY in feeding regulation. *Regul. Pept.* 145, 12–16.
- Wang, Q., Mei, C., Zhen, H., Zhu, J., 2012. Codon preference optimization increases prokaryotic cystatin c expression. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012.
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., Beer, T.A.P. De, Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., Schwede, T., 2018.



SWISS-MODEL : homology modelling of protein structures and complexes 46, 296–303.

Xu, C., Dong, J., Tong, C., Gong, X., Wen, Q., Zhuge, Q., 2013. Analysis of synonymous codon usage patterns in seven different citrus species. *Evol. Bioinforma.* 2013, 215–228.

Yan, Y., Orcutt, S.J., Strickler, J.E., 2009. The use of SUMO as a fusion system for protein expression and purification. *Chim. Oggi* 27, 42–47.

