REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENDAFTARAN CIPTAAN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia, berdasarkan Undang-Undang Nomor 19 Tahun 2002 tentang Hak Cipta yaitu Undang-Undang tentang perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra (tidak melindungi hak kekayaan intelektual lainnya), dengan ini menerangkan bahwa hal-hal tersebut di bawah ini telah terdaftar dalam Daftar Umum Ciptaan:

I.	Nomor dan tanggal permohonan	:	C00201403804, 07 Oktober 2014
II.	Pencipta		
	Nama	:	**1. Dr. IMAN PERMANA MAKSUM, M.Si.;** **2. SARONOM SILABAN, M.Pd.;** **3. Dr. SHABARNI GAFFAR, M.Si.;** **4. KHOMAINI HASAN, Ph.D.;** **5. Dr. SUTARYA ENUS, dr., SpM(K)., M.Kes.;** **6. Prof. Dr. TOTO SUBROTO, MS.;** **7. Prof. Dr. SOETIJOSO SOEMITRO**
	Alamat	:	Jalan Sarimanis Blok 13 No.82, Kel. Sarijadi Kec. Sukasari, Bandung, Jawa Barat.
	Kewarganegaraan	:	Indonesia
III.	Pemegang Hak Cipta		
	Nama	:	**UNIVERSITAS PADJADJARAN**
	Alamat	:	Jalan Raya Bandung-Sumedang Km.21 Kec. Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat.
	Kewarganegaraan	:	-
IV.	Jenis Ciptaan	:	Buku
V.	Judul Ciptaan	:	**PENGEMBANGAN PRODUKSI TROMBIN REKOMBINAN SEBAGAI KOMPONEN LEM FIBRIN PENGGANTI JAHITAN PADA BEDAH MATA: KAJIAN DESAIN DAN EKSPRESI GEN PADA Escherichia coli**
VI.	Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia	:	21 November 2013, di Bandung
VII.	Jangka waktu perlindungan	:	Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak pertama kali diumumkan.
VIII.	Nomor pendaftaran	:	070284

Pendaftaran Ciptaan dalam Daftar Umum Ciptaan tidak mengandung arti sebagai pengesahan atas isi, arti, maksud, atau bentuk dari Ciptaan yang didaftar, Direktorat Jenderal yang menyelenggarakan pendaftaran Ciptaan tidak bertanggung jawab atas isi, arti, maksud, atau bentuk dari Ciptaan yang terdaftar. (Pasal 36 dan Penjelasan Pasal 36 Undang-undang Nomor 19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta)

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
REPUBLIK INDONESIA
DIREKTUR JENDERAL HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.
DIREKTUR HAK CIPTA, DESAIN INDUSTRI,
DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU, DAN RAHASIA DAGANG

Yuslisar Ningsih, S.H., M.H.
NIP. 195511291982032001

HKI. 2-01-000000222

Bidang Kajian Unggulan: Kesehatan dan Obat-obatan

BUKU HASIL PENELITIAN

PENGEMBANGAN PRODUKSI TROMBIN REKOMBINAN SEBAGAI KOMPONEN LEM FIBRIN PENGGANTI JAHITAN PADA BEDAH MATA : KAJIAN DESAIN DAN EKSPRESI GEN PADA *Escherichia coli*

KETUA TIM PENELITI:

Dr. Iman Permana Maksum, M.Si (NIDN 0013077103)

ANGGOTA PENELITI:

Prof. Dr. Toto Subroto (NIDN 0001095905)
Dr. Shabarni Gaffar (NIDN 0025047105)
Prof. Dr. Ir. Linawati, MSc (NIDN 0028056208)
Dr. Sutarya Enus, dr. Sp.M(K), M.Kes (NIP 19490227197603001)
Prof. Dr. Soetijoso Soemitro (NIDN 0008084303)

UNIVERSITAS PADJADJARAN

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21

PRAKATA

Puji dan syukur kami panjatkan ke hadirat Ilahi Rabbi, karena Buku Hasil Penelitian yang berjudul "Pengembangan produksi trombin rekombinan sebagai komponen lem fibrin pengganti jahitan pada bedah mata: Kajian Desain Dan Ekspresi Gen Pada ***Escherichia coli"*** telah selesai disusun.

Selama tiga tahun penelitian telah dihasilkan teknologi produksi trombin rekombinan yang mencakup konstruksi dan pengembangan galur, proses hulu dan proses hilir sehingga diperoleh galur unggul yang dapat memproduksi trombin rekombinan sebagai komponen lem fibrin.

Terima kasih sebesar-besarnya kami sampaikan kepada DP2M Dikti yang telah membantu pendanaan sehingga penelitian ini dapat terlaksana, dan semua pihak yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian dan penyusunan buku ini.

RINGKASAN

Penelitian berjangka waktu tiga tahun ini bertujuan untuk menghasilkan teknologi produksi trombin manusia rekombinan yang secara teknoekonomi memadai, selanjutnya produk trombin dapat digunakan dalam lem fibrin otologus yang aman dan nyaman. **Pada tahun pertama dan kedua** maka protokol produksi pretrombin-2 (PT2) manusia telah berhasil dioptimasi, menggunakan: (i) kodon PT2 untuk gen sintetik yang sesuai *E. coli* dan *P. pastoris*; (ii) pTWIN1 yang memiliki promoter T7 dan sistem pemurnian intein; (iii) inang yang memiliki chaperon yang dapat bekerja pada suhu rendah. Protokol tersebut telah menghasilkan ekspresi PT2 dalam bentuk protein fusi terlarut di *E. coli* galur BL21(DE3) ArcticExpress. Selanjutnya, optimasi ekspresi pada *E. coli* BL21(DE3) ArcticExpress untuk meningkatkan kelarutan protein fusi telah dicapai menggunakan konsentrasi IPTG 0,1 mM, suhu inkubasi 12°C. Pemurnian PT2 yang dimediasi intein menghasilkan pita 27 dan 35 kDa yang masing-masing menunjukkan intein dan PT2. Pada sistem *P. pastoris* telah berhasil dilakukan transformasi plasmid pPICZα yang membawa gen pretrombin-2 dan optimasi ekspresi pada *P. pastoris* galur GS115 dan SMD1168 yang defisien protease.**Tujuan penelitian pada tahun ketiga** adalah melakukan uji aktivitas trombin sebagai protease serin dan sebagai pembentuk bekuan fibrin pada jaringan mata hewan yang sudah disayat, peningkatan skala produksi, dan aplikasi trombin sebagai komponen lem fibrin pada hewan percobaan. **Hasil penelitian** menunjukkan bahwa (i) Trombin rekombinan baik yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* (struktur tanpa glikosilasi) maupun *Pichia pastoris* (struktur terglikosilasi) keduanya aktif dan mampu berfungsi sebagai komponen lem fibrin. (ii) Ekspresi protein fusi CBD-Intein-PT2 telah berhasil dilakukan dalam bentuk terlarut oleh *E. coli* BL21(DE3) ArcticExpress maupun dalam bentuk badan inklusi oleh *E. coli* BL21(DE3). Walaupun jumlah mg protein fusi dalam bentuk badan inklusi oleh *E. coli* BL21(DE3) jauh lebih besar dibandingkan protein fusi terlarut oleh *E.coli* BL21(DE3) ArcticExpress, pemurnian lebih lanjut menggunakan sistem intein untuk protein terlarut lebih efektif dibandingkan sistem pelarutan badan inklusi diikuti renaturasinya. (iii). Ekspresi protein PT2 oleh *P. pastoris* SMD1168 yang defisien protease telah menghasilkan protein rekombinan PT2 terlarut dalam jumlah mg, jauh lebih besar dibandingkan kedua galur *E. coli.* Optimasi metode pemurnian lebih lanjut sedang dikembangkan. (iv). Kultivasi sel dengan densitas tinggi galur unggul *E. coli* BL21(DE3) ArcticExpress yang mengemban protein fusi CBD-Intein-PT2 telah dilakukan. Selanjutnya kajian tekno-ekonominya menunjukkan bahwa untuk menghasilkan 1 unit trombin rekombinan (tanpa memasukan harga ekarin) dibutuhkan biaya Rp. 574, masih lebih murah dibandingkan trombin manusia standar (Sigma) seharga Rp. 26000 per unit.

Kata kunci: trombin rekombinan, lem fibrin, *E.coli* BL21(DE3) ArcticExpress, *E. coli* BL21(DE3), *P. pastoris* SMD1168, kultivasi sel densitas tinggi, kajian tekno-ekonomi.