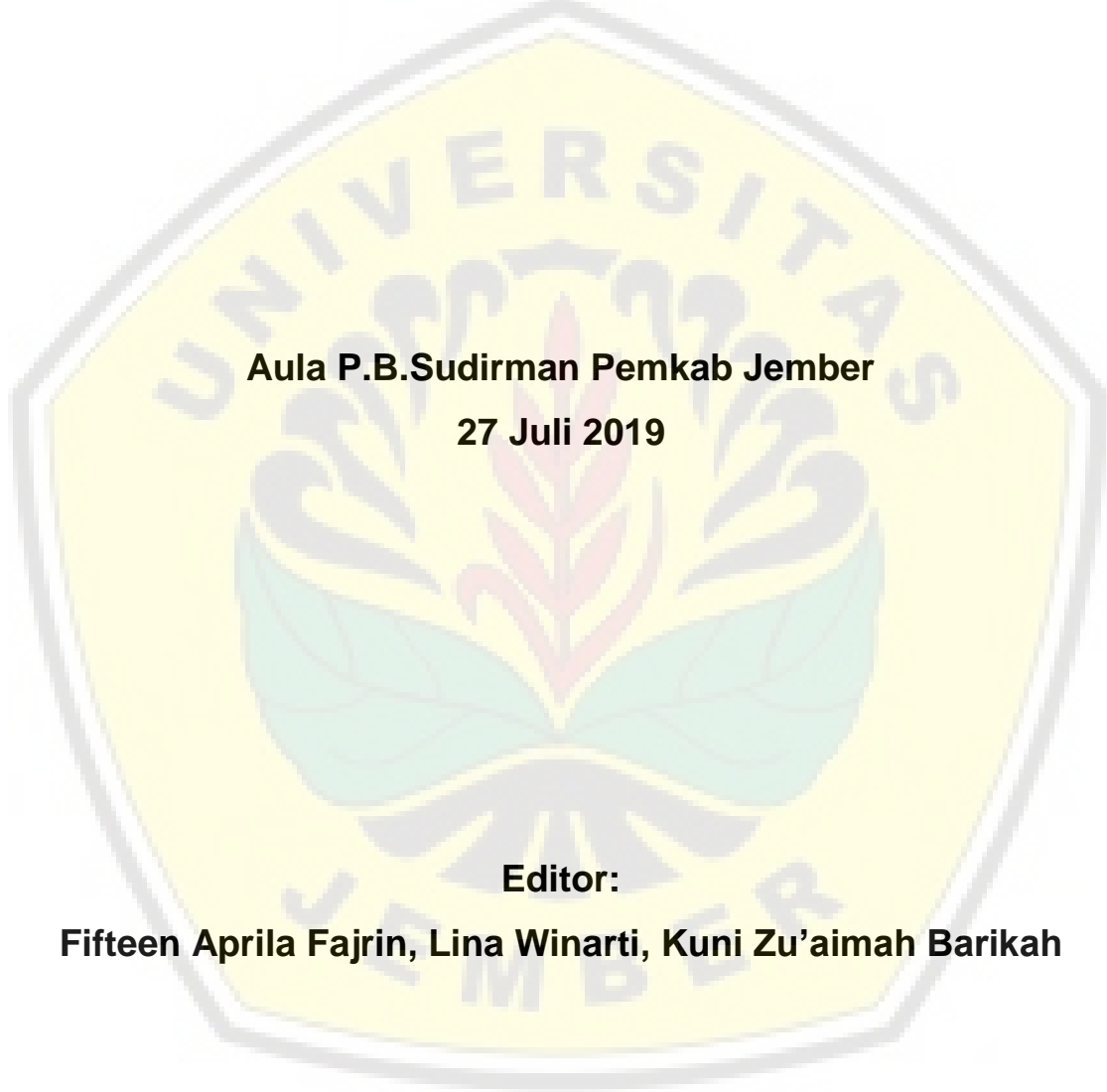


PROSIDING

**RAKERDA, SEMINAR, PRESENTASI ILMIAH/POSTER DAN
PELATIHAN 2019**

**“Peningkatan Profesionalisme dalam Menjalankan Praktik
Kefarmasian di Era 4.0”**



Aula P.B.Sudirman Pemkab Jember

27 Juli 2019

Editor:

Fifteen Aprila Fajrin, Lina Winarti, Kuni Zu'aimah Barikah

**UPT PENERBITAN
UNIVERSITAS JEMBER**



PROSIDING

**RAKERDA, SEMINAR, PRESENTASI ILMIAH/POSTER DAN
PELATIHAN 2019**

**“Peningkatan Profesionalisme dalam Menjalankan Praktik
Kefarmasian di Era 4.0”**

Editor:

Fifteen Aprila Fajrin, Lina Winarti, Kuni Zu'aimah Barikah

ISBN:

Layout dan Desain Sampul :

Muhammad Qusairi

Penerbit : UPT Penerbitan Universitas Jember

Alamat Penerbit:

Jalan Kalimantan 37

Jember 68121

Telp. 0331-330224, Voip.0319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Distributor:

Jember University Press

Jalan Kalimantan No.37 Jember

Telp. 0331-330224, Voip.0319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang. Dilarang memperbanyak tanpa ijin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, *photoprint*, maupun *microfilm*.

PANITIA PENYELENGGARA

Penanggung Jawab : Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

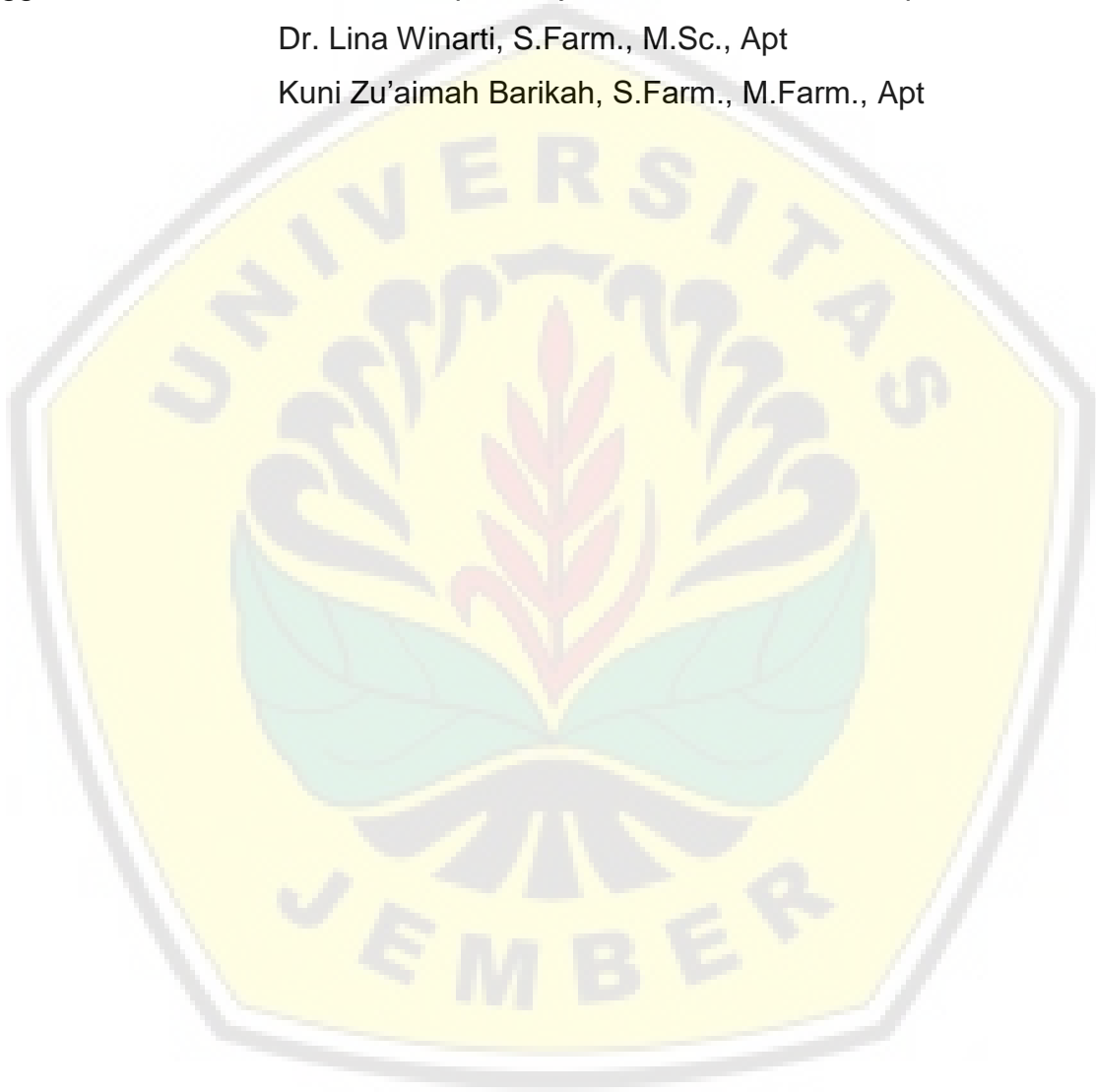
Ketua : Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt.

Sekretaris : Nia Kristringrum, S.Farm., M.Farm., Apt.

Anggota : Dr. Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt

Dr. Lina Winarti, S.Farm., M.Sc., Apt

Kuni Zu'aimah Barikah, S.Farm., M.Farm., Apt



SUSUNAN ACARA

Waktu	Susunan Acara
07.00-08.00	Registrasi Peserta
08.00-09.00	<ol style="list-style-type: none"> 1. Menyanyikan Lagu Indonesia Raya 2. Menyanyikan Hymne IAI 3. Pembukaan 4. Sambutan Ketua PC IAI Jember 5. Sambutan Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember 6. Sambutan Ketua PD IAI Jawa Timur
09.00-10.00	Pembukaan Kegiatan dan Keynote Speaker oleh Bupati Jember (dr. Faida, MMR)
10.00-10.15	Promosi Sponsor oleh PT.Menarini INdria Laboratories
10.15-12.00	Seminar Sesi 1 (Diskusi Panel 3 Pembicara) <ol style="list-style-type: none"> 1. Danang Tjandra Atmadja, MM., Apt. (Business Area Manager Kimia Farma Apotek Jember) Topik : Tantangan Praktik Kefarmasian di Era 4.0 2. Drs. Muhammad Yahya, Sp.FRS., Apt. (Apoteker Praktisi RSUD dr. Soetomo Surabaya) 3. Dr. Sugiyartono, M.S., Apt (Ketua MEDAI Daerah IAI Jawa Timur) Topik : Etik Sebagai Pengendali Praktik Kefarmasian di Era 4.0
12.00-13.00	ISHOMA dan Presentasi Poster
13.00-15.00	Seminar Sesi 2 Dra. Tritunggal Hariyanti, Apt., MBA (Manager Kosmetik PT.Kimia Farma) dan dr. Lula Kamar., M.Sc Topik : Cara Memilih Produk Kosmetik yang Aman untuk Kulit dan <i>Defeating Aging for a Healthy Beauty Skin</i>
15.00-15.30	Presentasi Poster
15.30-selesai	Penutupan

SAMBUTAN DEKAN FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS JEMBER

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Selamat pagi dan salam sejahtera bagi kita semua

Yang kami hormati

- Bupati Kabupaten Jember Ibu dokter Farida Magister Manajemen Rumah Sakit
- Ketua PD IAI Jawa Timur Bpk Doktor Abdul Rahem Apt
- Yang kami hormati Para pemateri, Bapak Sugiyarto, Bapak Danang Tjandra, Bapak Muhammad Yahya, Ibu Tritunggal Hariyani, dan juga dokter lula kamal
- Ketua PC IAI Jember Bapak Andar Rajito, Sfarm Apt

Serta Bapak dan Ibu peserta seminar yang berbahagia

Pertama-tama marilah kita panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya, pada hari ini kita dapat berkumpul di sini untuk bersama-sama mengikuti acara Rakerda PD IAI Jawa Timur dan Seminar Nasional dengan tema: "Peningkatan profesionalisme Apoteker dalam Menjalankan Praktek Kefarmasian di Era 4.0".

Rakerda PD IAI Jawa Timur dan Seminar Nasional ini merupakan kolaborasi IAI PD Jatim dengan Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk menggabungkan kegiatan rakerda dengan seminar nasional kefarmasian. Kalau biasanya fakultas farmasi berkolaborasi dengan PC IAI kali ini dengan PD IAI. Terima kasih atas kerjasamanya.

Bapak, Ibu dan hadirin yang berbahagia

Seperti yang telah kita ketahui kemajuan dan perkembangan dalam bidang teknologi informasi, menjadi tantangan dalam pelayanan dunia kesehatan. Tantangan yang akan dihadapi di era revolusi industri 4.0 memerlukan persiapan pribadi dan profesionalitas para apoteker. Inovasi teknologi harus dapat kita manfaatkan untuk mengatasi problematika yang dihadapi di bidang kesehatan khususnya bidang kefarmasian. Oleh karena itu, dengan diadakannya Seminar Nasional ini kami harapkan akan dapat dijadikan sebagai wahana bagi para apoteker dalam bertukar pikiran dan berdiskusi dengan para pemateri yang mumpuni dibidangnya tentang bagaimana meningkatkan profesionalisme Apoteker dalam Menjalankan Praktek Kefarmasian di Era 4.0.

Tujuan kedua dari kegiatan ini adalah menjalin silaturahmi sejawat apoteker. Pada kegiatan seminar dan rakerda IAI seperti ini umumnya menjadi ajang temu kangen/reuni teman ataupun sahabat lama. Semoga kegiatan ini dapat meningkatkan silaturahmi sejawat apoteker yang dapat memepererat kebersamaan para apoteker.

Terima kasih kami sampaikan kepada para pemateri yang sudah berkenan berbagi wawasan dan pengalaman di seminar ini.

Terima kasih kasih juga kami sampaikan kepada Bupati Jember Ibu Faida yang sudah memfasilitasi kami untuk dapat menggunakan aula pemda Jember untuk kegiatan ini. Fakultas Farmasi Universitas Jember juga banyak disuport oleh pemda khususnya oleh RSUD DR Subandi dan Puskesmas di Jember serta Intalasi Farmasi Kabupaten dalam pembelajaran di profesi apoteker. Terima kasih dukungan dan bantuannya, Kalau boleh usul kalau bisa apoteker di puskesmasnya di tambah karena kita kesulitan mencari puskesmas di Jember yang ada apotekernya untuk dijadikan tempat magang. Kami berharap di Jember bisa seperti di Surabaya atau di Sidoarjo yang hampir semua puskesmasnya ada apoteker nya. Semoga kedepan apoteker di puskesmas di Jember bisa bertambah.

Terima kasih juga kami sampaikan kepada panitia rakerda dan seminar yang telah bekerja keras menyiapkan kegiatan ini

Terima kasih juga kami sampaikan pada para sponsor yang mendukung kegiatan ini

Sebelum menutup sambutan ini, kami menyampaikan permohonan maaf apabila dalam penyelenggaraan rakerda dan seminar nasional ini ada kekurangan ataupun ada hal-hal yang kurang menyenangkan.

Akhir kata, selamat mengikuti seminar nasional dan rangkaian kegiatan rakerda PD IAI

Semoga apa yang kita lakukan dalam kegiatan ini bermanfaat bagi kemajuan profesi apoteker di masa mendatang. Amin ya rabbal 'alamin

Terima kasih atas perhatiannya, wabillahitaufik walhidayah.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas terselenggaranya RAKERDA, SEMINAR, PRESENTASI ILMIAH/POSTER DAN PELATIHAN 2019 pada hari Sabtu, 27 Juli 2019 di Aula PB. Sudirman Pemkab Jember. Seminar ini diselenggarakan atas kerja sama antara Fakultas Farmasi Universitas Jember dan Ikatan Apoteker Indonesia Cabang Jember.

Seminar ini mengusung tema “Peningkatan Profesionalisme dalam Menjalankan Praktik Kefarmasian di Era 4.0” dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas praktek kefarmasian di tengah perubahan jaman yang semakin pesat.

Semoga acara yang Kami adakan dapat bermanfaat bagi semua pihak dan kami ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah berperan dalam suksesnya acara seminar ini.

Jember, Agustus 2019

Panitia

DAFTAR ISI

Halaman Depan	i
Panitia Penyelenggara	iii
Susunan Acara	iv
Sambutan Dekan	v
Kata Pengantar	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Poster	ix



DAFTAR NAMA POSTER

Kode Poster	Judul	Halaman
SN-IAIUJ-01	Identifikasi <i>Medication Error</i> Obat Hipertensi Saat Masuk Rumah Sakit dengan Rekonsiliasi pada Pasien Hipertensi. Shinta Mayasari, Suharjono, Sugeng Budi Rahardjo, Prihwanto Budi	1-16
SN-IAIUJ-02	Pengaruh Pemberian Perasan Buah Strawberry (<i>Fragaria virginiana Duchesne</i>) Terhadap Perubahan Kadar Asam Urat Penderita Hiperurisemia. Zora Olivia, Oktalina Dwiki Aryanti	17-23
SN-IAIUJ-03	Pengembangan Obat Antihiperurisemia dari Ekstrak Daun Jamblang (<i>Syzygium cumini L.</i>) yang Tumbuh di Taman Nasional Meru Betiri Jember. Dewi Dianasari, Siti Muslichah	24-33
SN-IAIUJ-04	Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan dalam Preparasi Hollow Microspheres Ranitidin Hidroklorida Lusia Oktora Ruma Kumala Sari, Eka Deddy Irawan, Riska Fauriyah	34-48
SN-IAIUJ-05	Optimasi Jumlah Etil Selulosa dan Kecepatan Pengadukan dalam Preparasi Hollow Microspheres Kaptopril Eka Deddy Irawan, Taffana Windy Hananta, Dwi Nurahmanto	49-65
SN-IAIUJ-06	Pengaruh Propilen Glikol dan Menthol sebagai Enhancer Terhadap Sifat Fisik Serta Indeks Iritasi Kulit dalam Sediaan Emulgel Meloksikam Asa Falahi, Dewi Riskha N	66-70
SN-IAIUJ-09	Evaluasi Piktogram Kefarmasian Pada Pasien TBC Di Rumah Sakit Paru : Tinjauan Terhadap Aturan Minum Obat Diyan A.R, Nur H.F	71-77
SN-IAIUJ-10	Formulasi Nutraseutikal Sediaan Gummy Candies Ekstrak Buah Naga (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dengan Variasi Konsentrasi Gelatin sebagai Gelling Agent Dewi Rashati Mikhania C.E	78-84
SN-IAIUJ-12	Desain Gen Penyandi Secretory Leukocyte Protease Inhibitor untuk Ekspresi Tinggi pada <i>E. coli</i> Secara <i>in Silico</i> Evi Umayah Ulfa, Elly Munadziroh, Ni Nyoman Tri	85-93

	Puspaningsih	
SN-IAIUJ-13	Aktivitas Antioksidan dan Kadar Fenol Total Daun Benalu (<i>Scurrula ferruginea</i> (Jack.) Dans.) pada Inang Apel Manalagi (<i>Malus sylvestris</i> (L.) Mill.) Nia Kristiningrum, Nur Laily Khomsiah, Endah Puspitasari	94-102
SN-IAIUJ-15	Pengaruh Vitamin C Dan Paparan Sinar UV Terhadap Efektivitas In Vitro Lotion Tabir Surya <i>Benzophenone-3</i> Dan <i>Octyl Methoxycinnamate</i> Dengan Kombinasi Vitamin E Sebagai Fotoprotektor Lidya Ameliana, Novia Kristanti, Lusia Oktora Ruma Kumala Sari	103-113
SN-IAIUJ-16	Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Trenggulun (<i>Protium javanicum</i> Burm.F) Secara In Vitro Lestyo Wulandari, Ainun Nihayah, Ari Satia Nugraha	114-121
SN-IAIUJ-17	Penentuan Kandungan Kafein dalam Teh Komersial Menggunakan KLT-Densitometri dan Validasi Metode Lestyo Wulandari, Yuni Retnaningtyas, Galuh Okta Trianto, Yoshinta Debby	122-131
SN-IAIUJ-18	Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kayu Secang (<i>Caesalpinia sappan</i> L.) pada Tikus yang Diinduksi Aloksan Diana Holiday, Ika Puspita Dewi, Nur Huda, Noer Sidqi Muhammadiy	132-140
SN-IAIUJ-19	Uji Aktivitas Ekstrak Daun Maja (<i>Aegle Marmelos</i> L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Profil Lipid Tikus Diabetes Akibat Induksi Aloksan Diana Holiday, Fifteen Aprila Fajrin, Siti Muslichah	141-148
SN-IAIUJ-21	Eksplorasi Pengetahuan Suku Tengger Kecamatan Tosari, Kabupaten Pasuruan tentang Tumbuhan Obat untuk Pengobatan Demam Balita Indah Yulia Ningsih, Putri Sakinah, Antonius N. W. Pratama	149-161
SN-IAIUJ-22	Penambangan Molekul Antihiperlipidemia dari Tumbuhan di Indonesia Indah Purnama Sary, Lilla Nur Firli, Muhammad Habiburrohman, Bawon Triatmoko, Antonius Nugraha Widhi Pratama, Dwi Koko Pratoko, Ari Satia Nugraha	162-166
SN-IAIUJ-23	Optimasi Kecepatan Dan Lama Pengadukan Dalam Preparasi Mucoadhesive Microspheres Amoksisilin Trihidrat	167-179

	Lina Winarti, Nurul Aini Damayanti, Lusya Oktora Ruma Kumala Sari	
SN-IAIUJ-24	Perbandingan Biaya Riil Terhadap Tarif INA-CBG's Tindakan Hemodialisis Pasien Gagal Ginjal Kronis Rawat Jalan di RSUD Dr. Abdoer Rahem Situbondo Emas Rachmawati, Rosyida Fatimatuz Zahra, Ika Norcahyanti	180-190
SN-IAIUJ-25	Toksitas Akut Kombinasi Ekstrak Daun Jati Belanda Dan Kelopak Bunga Rosella Nuri, Putu Argianti Meyta Sari, Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih	191-197
SN-IAIUJ-26	Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Anak Rawat Inap di RSUD Ngudi Waluyo Wlingi Blitar dengan Metode ATC/DDD Ika Norcahyanti, Sinta Rachmawati, Hilma Imaniar	198-211
SN-IAIUJ-28	Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Pada Herba Apu-Apu (<i>Pistia Stratiotes</i>) Yang Tumbuh Di Kabupaten Jember Dewi Dianasari, Maulidya Barikatul Iftitah	212-219
SN-IAIUJ-30	Optimasi Kombinasi Surfaktan Tween 80 Dan Span 80 Pada Sediaan Transdermal Nanoemulsi Ibuprofen Dengan <i>Design Factorial</i> Dwi Nurahmanto, Ni Made Ayu Kartini Dewi, Lina Winarti	220-231
SN-IAIUJ-32	Kepuasan Pasien Terhadap Pelayanan Resep di Instalasi Farmasi Rawat Jalan RSUD dr. R. Koesma Tuban Sinta Rachmawati, Cathleya Restu Pramesti Prasadriani, Emas Rachmawati	232-243
SN-IAIUJ-35	Formulasi Dan Uji Aktivitas Tabir Surya Sediaan <i>Cream</i> Ekstrak Batang Pohon Pisang Kepok (<i>Mussa paradisiaca</i> L.) Desy Dwi Jayanti, Iswandi, Andri Priyoherianto, Cikra Ikhda N.H.S.	244-250

Desain Gen Penyandi Secretory Leukocyte Protease Inhibitor untuk Ekspresi Tinggi pada *E. coli* Secara *in Silico*

Evi Umayah Ulfa¹, Elly Munadzirah², Ni Nyoman Tri Puspaningsih^{3*}

¹Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember

²Departemen Material Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga

³Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga

Email : evi.farmasi@unej.ac.id

Korespondensi : ninyoman-t-p@fst.unair.ac.id

ABSTRAK

Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) merupakan protein dengan ukuran 11,7 kDa yang berperan untuk melindungi jaringan dari kerusakan akibat protease yang dihasilkan oleh neutrofil secara berlebihan. SLPI juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga proses penyembuhan luka lebih cepat akibat minimnya kontaminasi bakteri. Tujuan penelitian ini adalah melakukan desain gen SLPI untuk ekspresi tinggi di *E.coli* melalui optimasi kodon dan analisisnya secara *in silico*. Urutan asam amino SLPI asal membran amnion dari GenBank di translasi balik sesuai dengan kodon preferensi di *E.coli* menggunakan perangkat lunak *Codon Optimization Tool*. Hasil optimasi kodon dianalisis menggunakan *Rare Codon Analysis* (Genscript). Hasil analisis sekuens nukleotida SLPI menunjukkan nilai CAI gen *SLPI* sebelum dan sesudah optimasi secara berturut turut adalah 0,6 dan 0,9. Nilai persen GC gen *SLPI* sesudah optimasi adalah 54,57%, sedangkan sebelum optimasi sebesar 52,42%. Hasil distribusi kodon menunjukkan, 71% kodon pada sekuens SLPI hasil optimasi yang memiliki frekuensi tinggi (FOP), sedangkan yang tidak dioptimasi memberikan nilai FOP 30%. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa gen *SLPI* sintetik kemungkinan akan diekspresikan tinggi di inang *E.coli*.

Kata Kunci : gen *SLPI*, SLPI, Kodon preferensi, *E.coli*

PENDAHULUAN

Penyembuhan luka merupakan proses yang kompleks yang melibatkan berbagai sel lain, sitokin, faktor pertumbuhan, protease dan komponen matriks ekstraselular yang berperan dalam restorasi integritas jaringan yang rusak. Ada beberapa tahap proses penyembuhan luka yaitu aktivasi hemostatis, inflamasi, proliferasi, dan reepitelisasi (Grab and Smith, 2007). Pada fase inflamasi terjadi akumulasi neutrofil yang melepaskan berbagai protease, seperti elastase, *cathepsin G*, dan protease 3. Fungsi utama dari protease ini adalah menghancurkan dan menurunkan mikroba, namun protease juga dapat mendegradasi protein matriks ekstraseluler seperti elastin, fibronektin, laminin dan kolagen IV. Aksi protease diseimbangkan oleh α 1-antitripsin yang diproduksi oleh neutrofil (Wilgus *et al*, 2013). Proteolisis yang berlebihan akibat serin

protease dapat memperlama proses penyembuhan luka. Kondisi infeksi pada luka dapat mengakibatkan terjadinya proteolisis berlebihan karena bakteri menghasilkan protease dan adanya bakteri memicu neutrofil untuk menghasilkan protease (Mc Carty and Pervica, 2013). Untuk mempercepat penyembuhan luka diperlukan zat aktif yang mampu menghambat proses proteolisis dari serin protease. Ada banyak zat yang telah diketahui sebagai inhibitor protease, salah satunya yaitu *Secretory Leukocyte Protease Inhibitor* (SLPI).

SLPI merupakan protein non-glikosilasi yang memiliki berat molekul sebesar 11,7 kDa. Domain pada SLPI yang berfungsi untuk mengikat dan menghambat protease yaitu domain C-terminal. Sementara domain yang menstabilkan kompleks protease-inhibitor, memediasi pengikatan heparin, serta yang berperan sebagai anti-bakteri dan anti-fungal adalah domain N-terminal. Domain C-terminal terdapat pada residu 53 hingga 107 dan memiliki sisi pengikat protease pada residu 67 hingga 74. Sedangkan domain N-terminal terdapat pada residu 1 hingga 51. Antar domain C-terminal dan N-terminal dihubungkan oleh empat ikatan disulfida intramolekuler yang menyebabkan SLPI memiliki struktur protein yang kompak (Koizumi *et al.*, 2008).

SLPI melindungi jaringan dari degradasi protease melalui pembentukan kompleks reversibel dengan enzim serin protease yang dilepaskan oleh neutrofil selama proses inflamasi (Doumas *et al.* 2005; Li *et al.*, 2010). Penelitian Ashcroft *et al.* (2000) menunjukkan mencit yang kekurangan SLPI akan mengalami peningkatan inflamasi akibat degradasi jaringan oleh enzim serin protease sehingga proses penyembuhan lukanya lebih lama dibandingkan mencit normal. Selain aktivitasnya sebagai anti-protease dan anti-inflamasi, SLPI juga diketahui memiliki aktivitas anti-bakteri, anti-jamur serta anti virus (Doumas *et al.*, 2005).

Untuk tujuan aplikasi di bidang kesehatan dan komersialisasinya perlu dilakukan produksi SLPI rekombinan dengan tehnik rekayasa genetika. Produksi protein rekombinan dapat menggunakan inang prokariot (*Eschericia coli*) atau inang eukariot seperti ragi (*Sacharomyces cerevisiae* dan *Pichia pastoris*), serangga atau sel mamalia. Dalam aplikasinya, inang *E. coli* lebih banyak digunakan untuk produksi protein rekombinan karena pertumbuhan cepat, mudah penanganannya dan ekonomis, dan tingkat ekspresi yang tinggi (Glick and Pastenak, 2010). Meskipun disukai, inang *E.coli* juga memiliki kelemahan yaitu tidak mampu melakukan modifikasi paska translasi dan protein bisa teragregasi membentuk badan inklusi yang tidak aktif (Glick and Pastenak, 2010).

Ekspresi suatu protein heterolog memerlukan kesamaan penggunaan kodon antara inang dengan gen target. Perbedaan penggunaan kodon dapat mengakibatkan rendahnya ekspresi protein heterolog karena terhambatnya proses translasi (Sorensen & Mortensen., 2005, Gustafsson *et al.*, 2004). Prediksi keberhasilan ekspresi protein heterolog dapat dilakukan secara *in silico* menggunakan perangkat lunak *rare codon analysis*. Perubahan kodon agar memiliki preferensi tinggi dengan kodon pada *E. coli* dapat dilakukan dengan perangkat lunak *codon optimization tools*. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan desain gen penyandi SLPI untuk ekspresi tinggi di *E.coli* melalui optimasi kodon dan analisisnya secara *in silico*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan : perangkat lunak SignalP3.0, *Codon Optimization Tool* (www.genscript.com), *Rare Codon Analysis* (www.genscript.com), sekuens asam amino SLPI (*GenBank*, kode akses : EU116331).

Tahapan penelitian meliputi prediksi peptida sinyal dengan SignalP 3.0, Optimasi kodon dengan Codon optimization tool (genscript), Analisis sekuens nukleotida teroptimasi dengan perangkat lunak Rare Codon Analysis.

Prediksi Peptida Sinyal

Sekuens asam amino SLPI dari membran amnion manusia sepanjang 165 asam amino diperoleh dari gen bank NCBI (Kode Akses EU116331). Sebanyak 32 asam amino di ujung C dihilangkan karena merupakan asam amino dari plasmid pET101D_{TOPO}. Keberadaan peptida sinyal dari SLPI di konfirmasi dengan metode *Hidden Markov Model* (HMM) dan *Neural Network* (NN) menggunakan perangkat lunak SignalP 3.0.

Desain dan optimasi kodon gen penyandi SLPI

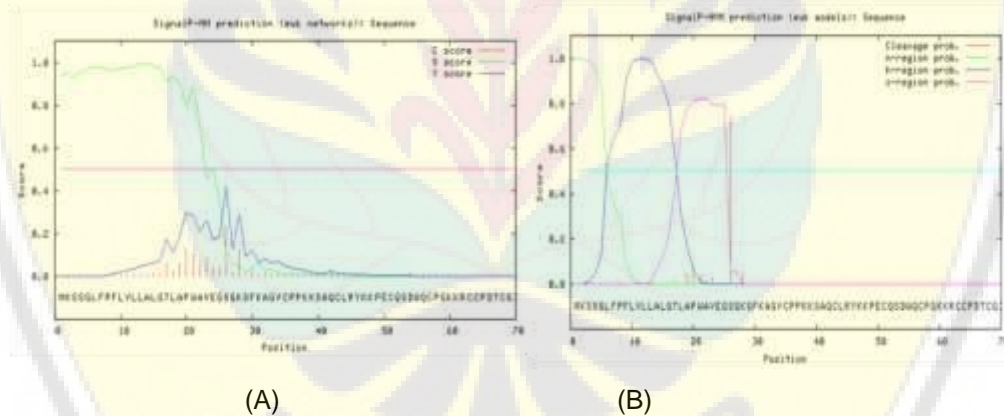
Optimasi kodon daerah pengkode gen SLPI dilakukan menggunakan perangkat lunak yang disediakan oleh Genscript-*Codon Optimization Tools*. Urutan asam amino SLPI matang (SLPI yang telah dihilangkan peptida sinyalnya) ditranslasi balik sesuai dengan kodon preferensi di *E.coli*. Parameter yang diadjustment yaitu codon usage bias, Konten GC, Sisi restriksi enzim yang mungkin akan mengganggu kloning.

Analisis hasil optimasi kodon

Urutan nukleotida gen penyandi SLPI sebelum optimasi (*wild type*) dan sesudah optimasi dianalisis secara *in silico* menggunakan *Rare Codon Analysis* (https://www.genscript.com/cgi-bin/tools/rare_codon_analysis). Paramater yang dinilai adalah *codon adaptation index* (CAI), konten GC, dan Frekuensi Distribusi Kodon (CFD).

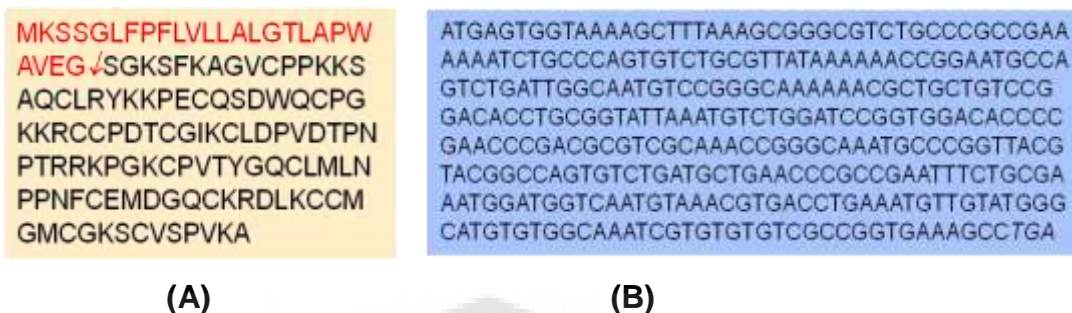
HASIL DAN PEMBAHASAN

SLPI merupakan protein yang bekerja menghambat secara kuat berbagai serin protease yang dihasilkan oleh neutrofil seperti elastase, cathepsin G, dan protease 3 (Wilgus *et al.*, 2013). Protein ini banyak diekspresikan oleh sel epitel saluran pernafasan, intestinal, membran amnion dan sel sel inflamasi dalam bentuk protein sekretori. Untuk mengetahui posisi pemotongan signal peptidase, perlu dilakukan analisis *in silico* menggunakan SignalP 3.0 menggunakan metode HMM dan NN (Nielsen *et al.*, 1997).



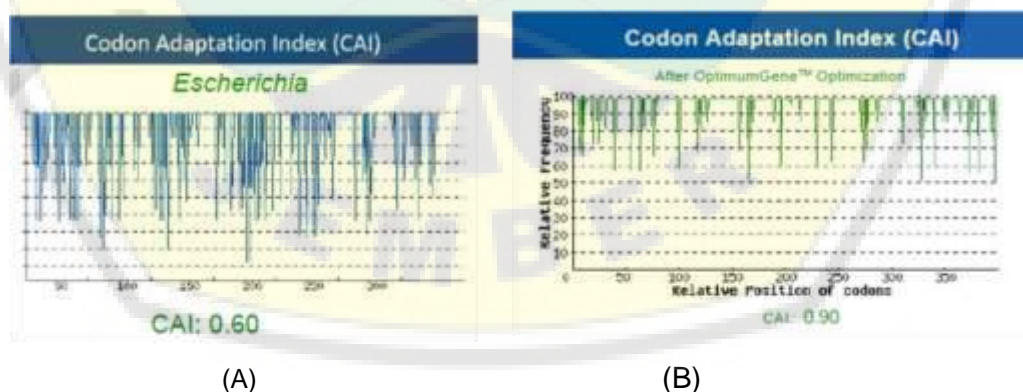
Gambar 1. Hasil analisis prediksi peptida sinyal menggunakan SignalP 3.0. (A) Metode *Hidden Markov Model*. (B) Metode *Neural Network*

Hasil analisis menggunakan metode HMM maupun metode NN memberikan hasil sama, bahwa pemotongan oleh signal peptidase terjadi antara asam amino G¹⁹ dan asan asam amino S²⁰ (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa peptida sinyal dari SLPI adalah asam amino posisi 1-19 dari ujung N (Gambar 2).



Gambar 2. Urutan asam amino SLPI dan hasil optimasi kodon SLPI matang. (A) urutan asam amino SLPI. Peptida sinyal (warna merah), asam amino SLPI matang (warna hitam), (✓) Sisi pemotongan signal peptidase. (B) Urutan nukleotida hasil optimasi kodon

Peptida sinyal merupakan peptida pada ujung N yang berfungsi untuk membantu translokasi-kotranslasional SLPI ke dalam lumen retikulum endoplasma (RE). Peptida sinyal akan dikenali oleh molekul *signal recognition particle* (SRP), diarahkan ke translokon yang ada pada membran RE dan masuk ke dalam lumen RE. Didalam lumen RE, peptida sinyal akan dipotong oleh signal peptidase dan protein matang akan disekresikan keluar sel setelah melewati RE dan badan golgi (Owji *et al.*, 2018). Berdasarkan Gambar 2A, jumlah asam amino SLPI matang adalah 107 asam amino yang dimulai dengan Serin (S²⁰) hingga Alanin (A¹³²).



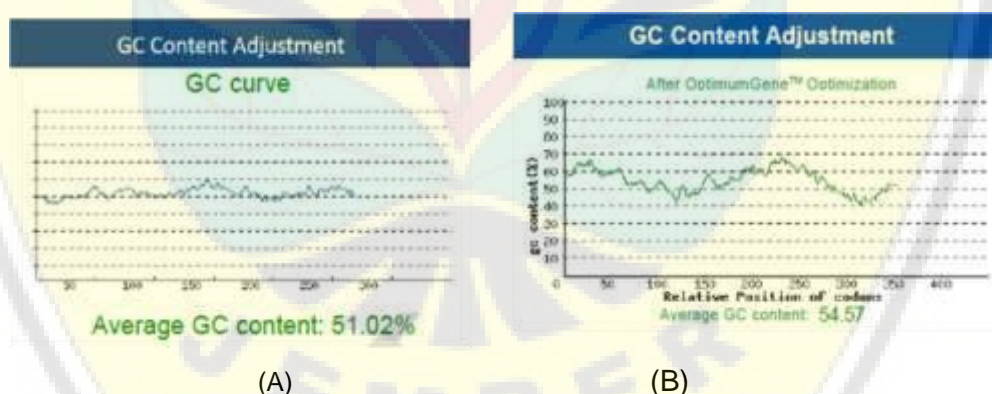
Gambar 3. Hasil Nilai CAI, Konten GC dan CFD gen SLPI sebelum optimasi (*wild type*) (A) dan sesudah optimasi (sintetik)

Pada proses sintesis protein, seluruh asam amino kecuali metionin dan triptofan dikode oleh beberapa kodon. Berbagai studi menunjukkan bahwa frekwensi penggunaan kodon yang berbeda antara bakteri, tumbuhan maupun manusia. Perbedaan frekwensi penggunaan kodon dapat menurunkan efisiensi ekspresi protein karena rendahnya penerjemahan mRNA, dan terhentinya proses

pemanjangan polipeptida saat translasi (Calderone *et al.*, 1996; Goldman *et al.*, 1995). Nilai CAI, konten GC dan CFD dapat digunakan untuk menilai efisiensi ekspresi protein heterolog.

Hasil analisis menunjukkan nilai CAI gen SLPI sebelum optimasi (*wild type*) yaitu 0,60 yang berada diluar nilai ideal untuk ekspresi di *E.coli*. Nilai GC rata-rata sebesar 51,02% dan nilai frekuensi kodon optimal (FOP) yaitu 30% yang juga berada diluar nilai ideal (Gambar 3A, 4A, 5A). Berdasarkan hasil analisis *Rare Codon* dapat disimpulkan, tingkat ekspresi gen *SLPI* wild type di *E.coli* diperkirakan rendah. Penelitian Munadzirah (2017) membuktikan tingkat ekspresi gen *SLPI* wild type di *E.coli* rendah (< 1mg/L kultur).

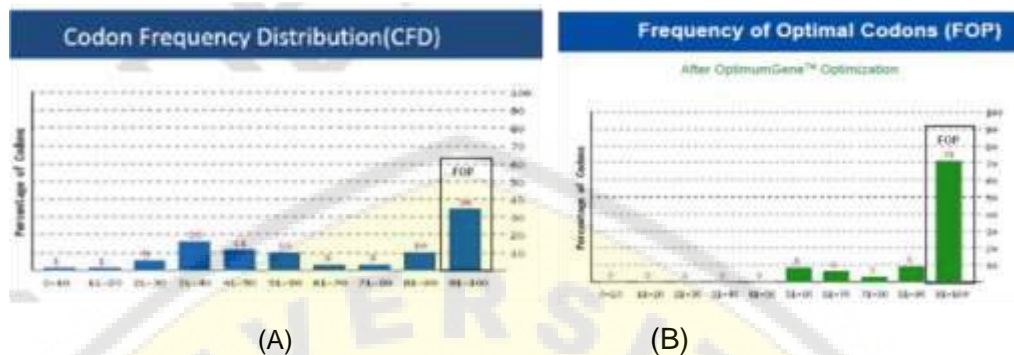
Strategi untuk meningkatkan ekspresi suatu protein heterolog adalah dengan melakukan optimasi kodon disesuaikan dengan inang yang digunakan. Urutan asam amino SLPI matang ditranslasi balik menjadi urutan nukleotida dengan proses pengaturan kodon sehingga memiliki preferensi tinggi untuk diekspresikan di *E.coli*. Urutan nukleotida hasil optimasi kodon dapat dilihat pada Gambar 2B.



Gambar 4. Hasil Analisis konten GC gen SLPI sebelum optimasi (*wild type*) (A) dan sesudah optimasi (sintetik) (B).

Hasil analisis *rare codon* menunjukkan nilai CAI gen SLPI sintetik meningkat menjadi 0.90 (Gambar 3B). CAI adalah indeks kemiripan preferensi penggunaan kodon dari suatu gen terhadap kodon organisme tertentu dalam hal ini adalah *E. coli*. Nilai CAI > 0,8 menunjukkan gen bagus diekspresikan di inang tersebut. Nilai rata-rata konten GC gen SLPI sintetik sudah sesuai dengan nilai ideal yaitu 54,57% dan tidak ada puncak diluar 30%-70% (Gambar 4B). Nilai konten GC yang tinggi (>70%) dapat menurunkan efisiensi dan menghambat translasi,

sedangkan nilai konten GC yang rendah (<30%) dapat mengakibatkan terlambatnya proses elongasi transkripsi (Gustafson *et.al.*, 2004).



Gambar 5. Hasil Analisis Frekwensi Distribusi Kodon (CFD) gen SLPI sebelum optimasi (*wild type*) (A) dan sesudah optimasi (sintetik) (B).

Hasil analisis frekwensi distribusi kodon frekuensi kodon diperoleh nilai FOP (*frequency of optimal codon*) gen SLPI sintetik meningkat menjadi 71 % dan tidak ada nilai kodon < 30 (Gambar 5B). Nilai FOP kurang dari 30% dapat menurunkan efisiensi ekspresi protein (Kernain *et al.*, 2017). Berdasarkan nilai CAI, FOP maupun konten GC dapat disimpulkan bahwa fusi gen *SLPI* sintetik memiliki probabilitas ekspresi di *E.coli* lebih baik dari pada gen *SLPI wild type*. Penelitian tentang peningkatan level ekspresi protein heterolog di *E.coli* melalui optimasi kodon telah banyak dilakukan diantaranya interleukin-2 yang meningkat 16 kali, interleukin 18 meningkat 5 kali, Troponin T meningkat 40 kali, glutathion transferase meningkat 140 kali (Gustafson *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Gen *SLPI wild type* memiliki preferensi kodon yang berbeda dengan *E. coli* sehingga perlu dilakukan optimasi kodon.
2. Hasil analisis kodon secara *in silico* menunjukkan gen *SLPI* sintetik memiliki probabilitas yang tinggi untuk diekspresikan di *E. coli* dibandingkan dengan gen *SLPI wild type*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan Terimakasih disampaikan kepada Fakultas Farmasi Universitas Jember atas fasilitas yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashcroft, G.S., Lei, K., Jin, W., Longenecker, G., Kulkarni, A.B., Wild, G.T., Donz, H.H., McGrady, G., Song, X.Y., Wahl, S.M. 2000. Secretory Leukocyte Protease Inhibitor Mediates Non Redundant Functions Necessary for Normal Wound Healing. *Journal of Natural Medicines*. Vol. 6.:1147-53.
- Calderone, T.L., Stevens, R.D., Oas T.G. 1996. High-level misincorporation of lysine for arginine at AGA codons in a fusion protein expressed in *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology*. Vol. 262(4):407-12.
- Doumas, S., Kolokotronis, A., Stefanopoulos, P. 2005. Anti-inflammatory and Antimicrobial Roles of Secretory Leukocyte Inhibitor. *Infection and Immunity*. Vol.73(3) :1271-74.
- Glick, BR., Pastenak, JJ., Patten, C.L. 2010. *Molecular biotechnology : principles and applications of recombinant DNA*, 4th Ed, ASM Press : 240-53.
- Goldman, E., Rosenberg, A.H., Zubay, G., Studier, F.W. 1996. Consecutive low-usage leucine codons block translation only when near the 5' end of a message in *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology*. Vol. 245(5):467-73.
- Grab and Smith's. 2007. *Plastic Surgery*. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins. New York.
- Gustafsson, C., Govindarajan, S., Minshull J. 2004. Codon bias and heterologous protein Expression. *TRENDS in Biotechnology*. Vol.22 (7) :346-53.
- Kernain, D., Samad, M.A., Shamsuddin, S. 2017. Rare codon content of boris affects the recombinant proteins expression in a codon bias-adjusted *Escherichia coli* strains. *Internal Medicine Journal*. Vol. 24:451-4.
- Koizumi, M., Fujino, A., Fukushima K, Kamimura, T., Kamimura, M.T. 2008. Complex of human neutrophil elastase with 1/2SLPI. *Journal of Synchrotron Radiation*. Vol.15: 308-11.
- Li, Z., Moy, Gomez, S.R., Franz, A.H., Lincereghino, J., Lincereghino, G.P. 2010. An Improved Method for Enhanced Production and Biological Activity of Human Secretory Leukocyte Protease Inhibitor (SLPI) in *Pichia pastoris*. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. Vol. 402 : 519-24.
- Mc.Carty, S.M., Percival, S.L., 2013. Proteases and Delayed Wound Healing, *Adv Wound Care (New Rochelle)*. Vol. 2(8): 438-47.
- Munadzirah, E., Purnamasari, S., Puspaningsih, N.N.T., Soetjipto, Rubianto, M., Tirtamaya, I.W. 2017. Generation of a soluble and active recombinant human secretory leukocyte protease inhibitor. *Biotechnology Applied*. Vol. 34: 2231-34.
- Nielsen, H., Engelbrecht, J., Brunak, S., Heijne, G.V. 1997. A neural network method for identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and

prediction of their cleavage sites. *International Journal of Neural System*. Vol 8:581–99.

Owji, H., Nezafat, N., Negah daripour, M., Hajiebrahimi, A., Ghasemi, Y. 2018. A Comprehensive Review of Signal Peptides: Structure, Roles, and Applications. *European Journal of Cell Biology*. Vol 97(6):422-41.

Sorensen, H.P; Mortensen., K.K. 2005. Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*. Vol 115:113–28

Wilgus, T.A., Roy S., Mc Daniel, J. 2013. Neutrophils and Wound Repair: Positive Actions and Negative Reactions. [*Advanced in Wound Care \(New Rochelle\)*](#). Vol 2(7): 379–88.

