

**PENENTUAN SIKLUS MAKSIMUM PENGGUNAAN  
KROMATOGRAFI PENUKAR ION DENGAN FASA DIAM  
RESIN DEAE PADA TAHAP PEMURNIAN KRUD HBsAg  
PRODUKSI PT. BIOFARMA**

**SKRIPSI**

**SHELA AGNES ABRAHAM  
A161091**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2020**

**PENENTUAN SIKLUS MAKSIMUM PENGGUNAAN  
KROMATOGRAFI PENUKAR ION DENGAN FASA DIAM  
RESIN DEAE PADA TAHAP PEMURNIAN KRUD HBsAg  
PRODUKSI PT. BIOFARMA**

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**SHELA AGNES ABRAHAM  
A161091**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA  
YAYASAN HAZANAH  
BANDUNG  
2020**

**PENENTUAN SIKLUS MAKSIMUM PENGGUNAAN  
KROMATOGRAFI PENUKAR ION DENGAN FASA DIAM  
RESIN DEAE PADA TAHAP PEMURNIAN KRUD HBsAg  
PRODUKSI PT. BIOFARMA**

**SHELA AGNES ABRAHAM  
161091**

September 2020

Disetujui oleh:

Pembimbing



Dr. Erman Tritama, M.Si

Pembimbing



Syarif Hamdani, M.Si

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Terimakasih kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melancarkan tugas akhir ini sampai selesai....  
Terimakasih kepada kedua orangtua yang membantu dalam berdoa, memberi dukungan dan motivasi.

## ABSTRAK

HBV (*Hepatitis B Virus*) merupakan salah satu penyakit yang mematikan. Infeksi Hepatitis B dapat dicegah dengan vaksin rekombinan Hepatitis B. Tujuan penelitian ini adalah menentukan siklus maksimal penggunaan kromatografi penukar ion dengan fasa diam resin DEAE (Diethylaminoethyl) dalam pemurnian krud HBsAg produksi PT. Biofarma untuk produksi skala besar vaksin HBV. Optimasi metode dilakukan pada tahap kromatografi, sehingga mendapatkan pemisahan yang baik dan yield yang tinggi. Uji Lowry dan uji kadar protein HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) UV 280 nm dilakukan untuk melihat jumlah protein setiap siklusnya. Hasil siklus maksimum kromatografi penukar ion yang didapatkan adalah 16 siklus. Uji Lowry dan uji kadar protein HPLC UV 280 nm memiliki kesamaan yaitu semakin banyak siklus, jumlah protein semakin menurun. Jumlah protein menurun kurang lebih sekitar 24,28%.

**Kata Kunci :** Vaksin HBV, HBsAg, kromatografi penukar ion, uji Lowry.

## **ABSTRACT**

*HBV (Hepatitis B Virus) is one of deadly disease. Hepatitis B infection can be prevented by recombinant Hepatitis B vaccine. The aim of this research is to determine the maximum cycles of ion exchange chromatography with DEAE resin (Diethylaminoethyl) as stationary phase in the purification of HBsAg crude which produced by PT. Biofarma for large-scale production of recombinant HBV vaccines. The optimization of the method is carried out at the chromatography stage, to obtain good separation and high yield of protein target. Lowry test and HPLC (High Performance Liquid Chromatography) UV 280 nm protein content test were carried out to see the amount of protein for each cycle. The maximum cycles of ion exchange chromatography was 16 cycles. The result from Lowry's test and and HPLC protein content test have in common, the more cycles, the lower the protein amount. The amount of protein decreased by approximately 24.28%.*

**Keywords :** *HBV vaccine, HBsAg, ion exchange chromatography, Lowry's test*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur memanjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya dalam penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“PENENTUAN SIKLUS MAKSIMUM PENGGUNAAN KROMATOGRAFI PENUKAR ION DENGAN FASA DIAM RESIN DEAE PADA TAHAP PEMURNIAN KRUD HBsAg PRODUKSI PT. BIOFARMA”**.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing Dr.Erman Tritama, M.Si dan Syarif Hamdani, M.Si. Ucapan terima kasih juga diberikan kepada:

1. Adang Firmansyah, M.Si., Apt., selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. Dewi Astriany, M.Si., Apt., selaku Wakil Ketua I Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia dan Dosen Wali yang senantiasa memberikan bimbingan serta arahan,
3. Revika Rachmaniar, M.Farm., Apt., selaku Ketua Program Studi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
4. Seluruh staf dosen, laboran, administrasi, dan karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
5. Rekan-rekan angkatan 2016 serta semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini.

Skripsi ini masih memiliki banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Semoga tugas akhir ini akan memberikan manfaat bagi pihak-pihak yang berkepentingan

Bandung, September 2020

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>KUTIPAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Kegunaan penelitian .....	3
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Virus Hepatitis.....	4
2.1.1 Virus Hepatitis B .....	4
2.2 Ultrasentrifugasi .....	6
2.3 Kromatografi Penukar Ion / IEC ( <i>Ion Exchange Chromatography</i> ) .....	6
2.3.1 Langkah-langkah dalam preparasi IEC .....	7
2.3.2 Komponen dalam IEC .....	8
2.4 Uji Lowry .....	9
2.5 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC) .....	10
2.5.1 Penetapan Kadar Protein HPLC UV 280 nm .....	11
<b>BAB 3. TATA KERJA</b> .....	<b>13</b>
3.1 Alat .....	13
3.2 Bahan.....	13

3.2.1 Sampel .....	13
3.2.2 Bahan Lainnya .....	13
3.3 Metode Penelitian .....	13
3.3.1 Preparasi Sampel untuk IEC .....	14
3.3.2 Preparasi Resin Diethylaminoethyl (DEAE-650M) pada Kolom XK-16 .....	14
3.3.3 Kromatografi Penukar Ion / IEC ( <i>Ion Exchange Chromatography</i> ) .....	14
3.3.4 Uji Kadar Protein Metode Lowry .....	15
3.3.5 Uji Kadar Protein HPLC UV 280 nm .....	17
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>18</b>
4.1 Preparasi Sampel dan Resin DEAE-650M .....	18
4.2 Kromatografi Penukar Ion .....	18
4.3 Uji Lowry .....	24
4.4 Uji Kadar Protein HPLC UV 280 nm .....	26
<b>BAB 5. SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA .....</b>	<b>27</b>
5.1 Simpulan .....	27
5.2 Alur Penelitian Selanjutnya .....	27
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>28</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>30</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.2 Kurva Kalibrasi .....	16
4.1 Luas Area dan Waktu Retensi Hasil Kromatografi .....	20
4.2 Hasil Uji Lowry Sampel .....	25

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Proses Replikasi HBV.....	5
2.2 Skema Alur Kerja HPLC.....	11
4.1 Grafik Luas Area terhadap Jumlah <i>Inject</i> .....	21
4.2 Kromatogram .....	22
4.3 Grafik Hasil Kurva Kalibrasi Uji Lowry menggunakan BSA .....	25
4.4 Grafik Hasil Uji Kadar Protein Analisis UV 280 nm .....	26

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Kerja Penelitian.....	27
2. Perhitungan.....	28

## DAFTAR PUSTAKA

- Al Awwayly, K.U. 2017. *Protein Pangan dan Aplikasinya*. Malang: UB Press. Hal. 61-62
- Atma Yoni. 2018. *Prinsip Analisis Komponen Pangan Makro dan Mikro Nutrien*. Yogyakarta: Deepublish. Hal. 51-52
- Chen, R.H. Huang, C.J. Newton, B.S. dkk. 2009. "Factors affecting endotoxin removal from recombinant therapeutic proteins by anion exchange chromatography". *Protein Expression and Purification* (64): 76-81.
- Coligan, J., Dun, B., Ploengh, H., Speicher, D., and Wingfield, P. 2007. *Current Protocols in Protein Science Vol.1*. New York: John Wiley & Sons. P: 332-340
- GE Healthcare. 2020. *Ion Exchange Chromatography Principles and Methods*. United States: GE Healthcare. P: 11-12; 14-20
- Huang Yongdong, Bi Jingxiu, Zhang Yan, Zhou Weibin, Li Yan, Zhao Lan, dan Su Zhiguo. 2007. "A highly efficient integrated chromatographic procedure for the purification of recombinant hepatitis B surface antigen from *Hansenula polymorpha*." *Journal Protein Expression and Purification* 56: 301-310.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2001. *Medical Microbiology*. United States: The McGraw-Hill Companies. P: 466-467; 469; 471; 474
- Kementrian Kesehatan RI. 2014. *Situasi dan Analisis Hepatitis*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI. Hal. 1.
- Liang, T.J. 2009. *Hepatitis B: The virus and Disease*. *Hepatology* 49. P. 13-21.
- Li, H.L and Wang, H.M. 2001. "Development of new recombinant hepatitis B surface antigen derived from *Hansenula polymorpha* cell" *Prog. Microbio Immuno Chinese* (29): 47-54.

- M.M, Mohammad Gol, Khatami Maryam, Javidanbardan Amin, N.H, Seyed. 2017. "Enhancing recovery of recombinant hepatitis B surface antigen in lab-scale and large-scale anion-exchange chromatography by optimizing the conductivity of buffers". *Protein Expression and Purification* (141): 25-31
- Price S. A, Wilson LM. 2006. Patofisiologi: *Konsep klinis proses-proses penyakit*. Edisi ke-6. Jakarta: EGC. Hal. 485-490.
- Sherri, T. 2008. "Determination of Melamine and Cyanuric Acid Residue in Infant Formula using LC-MS/MS". *Laboratory Information Bulletin US Food and Drug Administration* (24): No.4421
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R., 2007. *Principles of Instrumental Analysis 6<sup>th</sup> Ed.* Canada: Thomson Brooks/Cole. P: 816-851
- Soemoharjo, Soewignjo. 2008. *Hepatitis virus B Ed.2*. Jakarta: EGC. Hal. 4
- Stephene, J. 1988. "Recombinant versus plasma-derived hepatitis B vaccines: issues of safety immunogenicity and cost-effectiveness" *Vaccine* (6): 299–303.
- Woon Wallace, Leung Fong. 2007. *Centrifugal Separations in Biotechnology*. Hong Kong: The Hong Kong Polytechnic University. P: 8, 32-33
- World Health Organization. 2002. *Hepatitis B*. Department of Communicable Diseases Surveillance and Response.