ISC-2021

CERTIFICATE OF PARTICIPATION

Dewi Astriany

as Oral Presenter

in the 5th International Seminar on Chemistry (ISC-2021)
"Chemistry for Global Challenges"
on 27-28 October 2021

Jatinangor, 28 October 2021

Chairperson of the Organizing Committee	President of Indonesian Chemical Society	Scientific Committee
Prof. Dr. Iman Permana Maksum	Dr. Mohamad Rafi	Prof. Dr. Koichi Fukase

Organized by:
Department of Chemistry
Faculty of Mathematics & Natural Sciences
Universitas Padjadjaran

Sponsored by:
Zimmer & Peacock
PT. Medquest Mitra Global

Supported by:

Optimasi Ekspresi ScFv-BAD Anti-NS1 Virus Dengue pada *Escherichia coli* Origami menggunakan *Response Surface Method*

Dewi Astriany[1,2]*, Syulastri Effendi[2], Iman Permana Maksum[2], Dessy Natalia[3], Toto Subroto[2,4]

[1]Department of Pharmacy, Indonesian School of Pharmacy, Bandung, Indonesia
[2]Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padjadjaran University, Sumedang, Indonesia
[3]Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bandung Institute of Technology, Bandung, Indonesia
[4]Research Center of Molecular Biotechnology and Bioinformatics, Padjadjaran University Bandung, Indonesia
e-mail: dewiastriany@gmail.com

Abstrak

Dengue adalah salah satu penyakit menular, yang menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia, yang disebabkan oleh keempat serotipe virus dengue. Manifestasi klinis infeksi dengue sulit dibedakan dengan penyakit infeksi lainnya. Uji diagnostik infeksi virus dengue yang cepat dan akurat sangat diperlukan untuk konfirmasi penyakit dan penanganan pasien yang tepat. NS1 adalah glikoprotein yang paling imunogenik dan lestari, disekresikan ke dalam aliran darah. Oleh karena itu, pemeriksaan antigen dari virus dengue NS1 telah diidentifikasi sebagai salah satu penanda spesifik dalam uji diagnostik laboratorium, yang dapat digunakan untuk mendeteksi infeksi dengue primer atau sekunder pada stadium awal. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum ekspresi protein fusi scFv-BAD rekombinan untuk deteksi antigen NS1 virus dengue menggunakan *Response Surface Method*. Ekspresi protein diinduksi oleh berbagai konsentrasi IPTG (0,1, 0,5, dan 1 mM) pada beberapa suhu selama 18 jam dalam medium Luria Bertani dengan penambahan biotin. ScFv terbiotinilasi rekombinan yang dimurnikan dikarakterisasi dengan metode SDS-PAGE, Western blot, dan ELISA menggunakan HRP terkonjugasi streptavidin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein fusi scFv-BAD rekombinan sebagian berada dalam bentuk terlarut dan sebagian berupa badan inklusi. Analisis *Central Composite Design* menunjukkan bahwa konsentrasi IPTG yang sesuai untuk memproduksi protein scFv rekombinan adalah 0,5 mM pada suhu 28 ºC pada media Luria Bertani.

Kata kunci: virus dengue; antigen NS1; protein fusi scFv-BAD; biotinilasi, *E. coli* Origami

Pendahuluan

Dengue merupakan salah satu penyakit infeksi yang hingga saat ini masih menjadi masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Penyakit ini disebabkan oleh keempat serotipe virus dengue. Manifestasi klinis infeksi akibat virus dengue dapat berupa demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD), hingga *Dengue Shock Syndrome* (DSS) yang dapat menyebabkan kematian. Oleh karena itu diperlukan teknik diagnosis yang cepat dan akurat agar pasien dapat ditangani segera sehingga tidak berlanjut pada kondisi yang lebih parah (Bhatt et al., 2013).

Diagnosis infeksi virus dengue yang cepat dan interpretasi yang tepat menjadi dasar yang penting dalam penanganan penyakit dengue. Pengujian laboratorium yang digunakan untuk diagnosis baru dapat dilakukan setelah lima hari setelah infeksi karena antibodi IgG atau IgM baru terbentuk (Dewi *et al*., 2012). Dibandingkan dengan tes laboratorium, deteksi dini virus dengan menggunakan protein non-struktural 1 (NS1) dapat lebih cepat mendeteksi infeksi akibat virus dengue karena akan mulai muncul di hari pertama infeksi. Deteksi yang cepat untuk infeksi virus dengue dapat menghindarkan keadaan yang lebih parah dan untuk membedakan secara akurat infeksi dengue dari penyakit demam akut lainnya (Gelanew dan Hunsperger, 2018).

Protein NS1 adalah glikoprotein dengan berat molekul sekitar 46-50 kDa yang disekresikan oleh sel mamalia yang terinfeksi virus. Protein NS1 yang bertindak sebagai kofaktor untuk replikasi virus dapat ditemukan sebagai protein terlarut atau terikat pada protein membran. Kedua bentuk protein tersebut bersifat imunogenik *(Scaturro et al., 2015; Tajima et al*., 2008). NS1 merupakan protein yang sangat lestari, sehingga dapat digunakan sebagai komponen diagnostik untuk deteksi dini dengue (Muller *et al*., 2017).

NS1 juga merupakan glikoprotein yang paling lestari di antara glikoprotein non-struktural lainnya dan juga memiliki epitop spesifik yang dapat membedakan virus dengue dengan flavivirus lainnya (Gelanew & Hunsperger, 2018). Protein NS1 bersifat paling imunogenik diantara protein non-

struktural lain (Bessoff *et al.,* 2007). Protein NS1 adalah glikoprotein yang diproduksi di retikulum endoplasma sebagai monomer yang hidrofilik. Saat berada di badan golgi, NS1 akan mengalami glikosilasi menjadi homodimer yang bersifat hidrofobik untuk dibawa ke membran plasma untuk kemudian disekresikan ke peredaran darah (Scaturro et al., 2015). Oleh karena itu, pemeriksaan antigen dari NS1 dapat digunakan untuk deteksi dini yang spesifik terhadap infeksi virus dengue (Gelanew & Hunsperger, 2018; Lima et al., 2010).

Alat diagnostik yang dapat mendeteksi antigen dari berbagai serotipe virus dengue yang ada di Indonesia menjadi sangat penting untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit yang diakibatkan infeksi dengue. Telah banyak kit diagnostik komersial berbasis antibodi monoklonal yang tersedia untuk mendeteksi NS1 DENV yang diketahui memiliki keterbatasan pada spesifisitas bahkan sensitivitasnya (Aryati et al., 2013). Gelanew dan Hunsperger (2018) telah berhasil mengisolasi antibodi monoklonal 6D4B10 dan 8A6F2 yang dapat digunakan sebagai komponen deteksi antigen NS1 tetapi belum ada penelitian mengenai interaksi antara antibodi monoklonal tersebut dengan antigen NS1 virus dengue galur Indonesia.

Produksi monoklonal antibodi yang memerlukan waklu lama dan biaya besar telah mendorong banyak peneliti untuk mengembangkan teknologi pembuatan *single chain Fragment variable* (scFv). Ukuran scFv lebih kecil (~30 kDa) dari antibodi utuh (150 kDa) tetapi mampu mengenali antigen sama seperti antibodi utuh. ScFv memiliki profil farmakokinetik yang lebih baik dibandingkan antibodi monoklonal induknya serta lebih mudah diproduksi dalam jumlah besar dengan biaya lebih murah (Monnier et al., 2013). Pembuatan scFv sebagai protein rekombinan pada inang *E. coli* jauh lebih mudah dan murah. Sebagai protein rekombinan, scFv dapat didesain secara rasional dengan pendekatan *in silico* untuk dapat mengikat antigen secara kuat dan spesifik (Nelson, 2010). Sampai saat ini, penggunaan scFv sebagai komponen kit diagnostik untuk mendeteksi antigen NS1 virus dengue galur Indonesia belum dikembangkan.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk memperoleh fragmen antibodi dalam bentuk protein fusi scFv-BAD melalui pendekatan *in silico* kemudian dianalisis interaksinya terhadap antigen NS1 virus dengue galur Indonesia agar dapat diperoleh informasi untuk merancang gen sintetik penyandi protein fusi scFv-BAD. Gen sintetik tersebut kemudian diekspresikan dalam sistem *E. coli* Origami untuk menghasilkan protein fusi scFv-BAD rekombinan. Protein rekombinan yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi menggunakan metode SDS-PAGE, *Western blot*, dan ELISA untuk mengetahui afinitas pengikatannya terhadap antigen NS1 virus dengue. Protein fusi scFv-BAD rekombinan ini dapat digunakan sebagai salah satu kandidat komponen kit deteksi antigen virus dengue.

Penelitian ini menjawab beberapa permasalahan terkait komponen kit deteksi dengue, yaitu apakah protein fusi fragmen variabel rantai tunggal dengan BAD (scFv-BAD) memiliki afinitas pengikatan terhadap antigen NS1 virus dengue galur Indonesia secara *in silico*, apakah gen sintetik penyandi scFv-BAD dalam plasmid pET21b(+) dapat diekspresikan pada sel inang *Escherichia coli* Origami, apakah parameter suhu dan konsentrasi IPTG dapat mempengaruhi tingkat ekspresi protein fusi scFv-BAD rekombinan, apakah protein fusi scFv-BAD rekombinan dapat dibiotinilasi dalam sistem ekspresi *E. coli* Origami, dan apakah protein fusi scFv-BAD rekombinan memiliki afinitas pengikatan terhadap antigen NS1 virus dengue.

Bahan dan Metode

Bahan-bahan penelitian yang digunakan untuk ekspresi protein rekombinan fusi scFv-BAD antara lain: plasmid [[pET21-scFv-BAD] (Genscript), NS1 Dengue Virus serotipe 2 rekombinan (Abcam), sel kompeten *Escherichia coli* Origami B(DE3) (Novagen), media pertumbuhan sel (Luria Bertani, *Terrific Broth*, *Super Broth*), antibiotik ampisilin (Sigma-aldrich), isopropil-β-D-tiogalaktopiranosida/IPTG (Thermo Scientific), biotin (Sigma-aldrich), enzim restriksi *Nde*I dan *Bam*H1, kit isolasi plasmid QIAPrep Spin Miniprep (Qiagen), QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen), *Midori Green,* QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen), bisakrilamid (Bio Basic), *Amonium Persulfate*/APS (*Bio Basic*), *tetramethylethylenediamine/*TEMED (Bio-Rad), *ammonium peroxodisulfate* (APS), *Coomassie Briliant Blue* (Sigma-aldrich),; *Sodium dodecyl sulfate* (SDS) (Merck), agarose, *silver stain (ProteoSilver™ Plus Silver Stain Kit), Phosphate Buffered Saline* (PBS), marka protein (PeqGOLD *Prestained Protein Marker* VIII; Thermoscientific *unstained marker*), Blue/Orange *Loading Dye*, 1 kb DNA *Ladder*, *Bovine Serum Albumin* (bioPLUS), TALON *Metal Affinity Resin*, membran *polyvinyl difloride* (PVDF), *magnetic beads*, reagen deteksi Mix ECL Prime Solution (Bio-Rad), *Streptavidin conjugated to HRP* (Biorad), substrat SIGMAFAST OPD (*o-phenylenediamine dihydrochloride*), hydrogen peroksida, H_2SO_4 2 M dan bahan-bahan lain yang diperlukan dalam penelitian protein rekombinan.

Ekspresi gen fusi scfv-BAD. Gen scFv disubklon ke dalam vektor pET21b(+) menggunakan endonuklease restriksi *Bam*HI dan *Nde*I. Plasmid ditransformasi ke dalam sel kompeten *Escherichia coli* Origami B(DE3). Ekspresi protein diinduksi dengan berbagai konsentrasi IPTG (0,1; 0,5; 1 mM) pada beberapa suhu inkubasi selama 18 jam dalam media Luria Bertani yang ditambahkan biotin. Sel

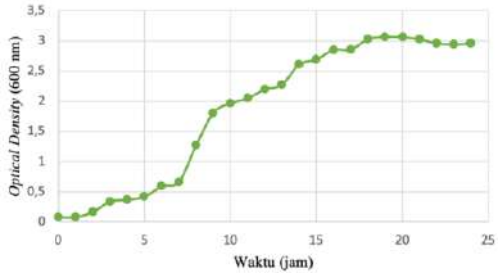
dipanen, dipecah dengan sonikasi, kemudian campuran dimurnikan dengan kromatografi kolom afinitas, dan dianalisis menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE. Analisis statistik *Central Composite Design* (CCD) dilakukan untuk mengevaluasi faktor-faktor yang mempengaruhi ekspresi gen fusi scFv-BAD.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada Gambar 1, fase lag terjadi hingga jam ke-2 serta fase eksponensial mulai jam ke-2 hingga jam ke-18. Waktu optimum induksi dapat dilakukan pada pertengahan fase eksponensial dimana kecepatan pertumbuhan sel terjadi paling tinggi sehingga diharapkan translasi protein maksimal, dan protein rekombinan dapat diekspresikan dalam jumlah yang banyak (Ou *et al*., 2004; Vásquez-Bahena *et al*., 2006).

Bakteri yang digunakan sebagai inang ekspresi pada penelitian ini adalah *Escerichia coli* Origami B(DE3). Bakteri tersebut sebelumnya telah terlebih dahulu melalui proses transformasi plasmid pET21b(+) yang dikontruksikan dengan gen target fusi scFv-BAD. Proses pembuatan prekultur dibuat dengan cara menginokulasikan sejumlah stok gliserol ke dalam media LB cair yang telah ditambahkan antibiotik ampisilin.

Protein fusi scFv-BAD diekspresikan pada media Luria Bertani (LB) menggunakan IPTG dengan konsentrasi masing-masing 0,1; 0,5; 1 mM untuk menginduksi ekspresi protein. Koloni tunggal transforman yang membawa plasmid rekombinan pET21b-scFv-BAD ditumbuhkan dalam media LB yang mengandung biotin dan ampisilin pada suhu 28, 30, dan 37 ºC selama 18 jam dengan kecepatan 200 rpm.



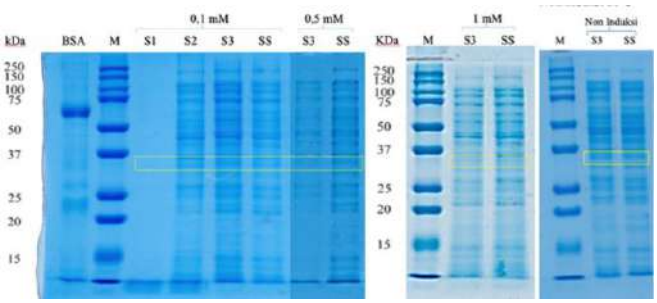
Gambar 1 Kurva pertumbuhan transforman *E. coli* Origami B(DE3) [pET21-scFv-BAD] pada media Luria Bertani.

Pada penelitian ini, bobot molekul protein fusi scFv-BAD secara teoritis yang dihasilkan oleh inang *E. coli* dengan vektor plasmid pET-21b adalah 35,42 kDa. Karakterisasi protein fusi scFv-BAD hasil ekspresi dilakukan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE.

Tabel 1 Bobot pelet kultur *E. coli* Origami pada media Luria Bertani yang ditumbuhkan selama 18 jam

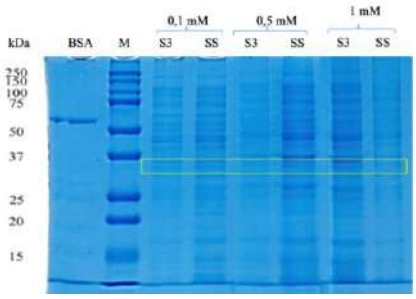
Suhu (ºC)	Bobot Pelet (mg)			
	Tanpa Induksi	Induksi IPTG		
		0,1 mM	0,5 mM	1 mM
28	52,1	24,9	44,6	31
30	70	85	64	64
37	76	64	94	48

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa pada kondisi ekspresi suhu 28 ºC dalam media LB, protein fusi scFv-BAD dapat terekspresi pada kultur tanpa induksi dan dengan induksi IPTG konsentrasi terendah, yakni 0,1 mM dalam waktu 18 jam. Ekspresi protein yang terjadi tanpa penginduksi menandakan terjadinya *leaky expression* atau ekspresi level basal (Pratiwi, 2019). Ekspresi level basal terjadi apabila konformasi tetramer repressor *lac* berubah dan terlepas dari operator *lac* sehingga promotor T7 aktif untuk mengekspresikan protein target. *Leaky expression* dapat terjadi karena represi promotor tidak efisien, sehingga transkripsi akan terus berlangsung walaupun tidak diberikan induksi. Promotor seperti ini tidak dapat digunakan untuk ekspresi gen yang mungkin toksik terhadap pertumbuhan *E. coli* (Fulcrand *et al.*, 2016). Kemungkinan terjadinya *leaky expression* ini harus diverifikasi dengan memastikan apakah protein tersebut adalah protein target misalnya dengan melakukan elektroforesis terhadap kontrol negatif (*E. coli* tanpa plasmid pembawa gen target) atau dengan metode *Western blot* terhadap fraksi terlarut dan tidak terlarut. Untuk mencegah terjadinya *leaky expression* dapat dilakukan beberapa cara misalnya menumbuhkan sel pada media dengan glukosa atau gliserol dalam konsentrasi kecil sebelum ditambahkan IPTG, atau mengganti penginduksi dengan arabinosa.



Gambar 2 Elektroforegram SDS-PAGE sampel pada suhu 28 ºC, dengan induksi IPTG konsentrasi 0,1; 0,5; 1 mM dan tanpa induksi (BSA: *Bovine Serum Albumin*, M: *Marker*, S1: sebelum induksi, S2: setelah induksi, S3: fraksi intrasel, SS: supernatan).

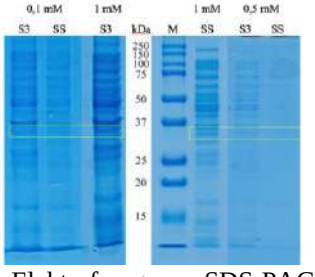
Pada penambahan konsentrasi IPTG 0,1 mM, terlihat pita protein muncul pada sekitar 35 kDa yang menandakan keberadaan protein target yaitu fusi scFv-BAD. Pita sampel SS merupakan supernatan hasil sentrifugasi sampel yang telah disonikasi, menunjukan bahwa protein dapat terekspresi secara intraseluler.



Gambar 3 Elektroforegram SDS-PAGE sampel pada suhu 30 ºC, dengan induksi IPTG konsentrasi 0,1; 0,5; 1 mM (S3: fraksi intrasel, SS: supernatan).

Ekspresi protein pada kondisi suhu 30 ºC tanpa penginduksi IPTG dan dengan penambahan IPTG 0,1 mM, tidak memperlihatkan adanya pita protein pada kondisi terlarut (Gambar 3). Pita protein fusi scFv-BAD terlihat cukup tebal pada kondisi sel setelah mengalami lisis (S4). Hal ini dapat mengindikasikan keberadaan protein terbentuk secara intraselular. Meskipun demikian, pita tidak terlihat pada kondisi setelah mengalami sonikasi (SS), menandakan proses ekspresi berlangsung. Namun dengan tidak terlihatnya pita protein pada supernatan menandakan bahwa protein berada pada keadaan tidak terlarut.

Pada kondisi induksi IPTG sebesar 0,5 mM dengan suhu inkubasi 30 ºC menunjukkan bahwa pita protein berada pada kondisi setelah sel mengalami lisis (S4) serta pada larutan supernatan yang menandakan protein target diekspresikan secara intraseluler. Pada konsentrasi 0,5 mM menunjukkan pita protein berada pada fase terlarut, sedangkan pada konsentrasi 1 mM menunjukkan pita protein berada setelah lisis, yang menandakan protein berada pada intrasel.



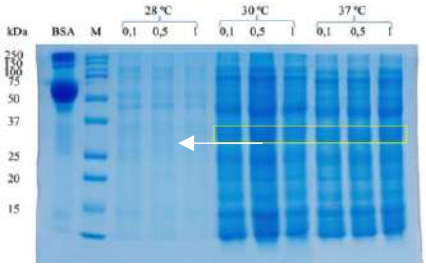
Gambar 4 Elektroforegram SDS-PAGE sampel pada suhu 37 ºC, dengan induksi IPTG konsentrasi 0,1; 0,5; 1 mM (M: *Marker*, S3: fraksi intrasel, SS: supernatan).

Pada kondisi ekspresi suhu 37 ºC, tidak terlihat pita protein dari sampel supernatan (Gambar 4). Suhu 37 ºC merupakan suhu yang optimum untuk pertumbuhan bakteri *E. coli* pada penambahan penginduksi IPTG konsentrasi 0,1 mM, dimana pita protein terlihat berada pada kondisi sel setelah mengalami lisis. Pada kondisi ekspresi dengan peningkatan suhu memungkinkan bakteri mengalami metabolisme yang lebih cepat. Kebutuhan sumber karbon adanya menjadi penting, mengingat media LB merupakan media standar dalam proses ekspresi protein rekombinan, serta memiliki sedikit sumber karbon bila dibandingkan dengan media tumbuh lainnya (Gaciarz *et al.*, 2017).

Pada kondisi ekspresi dengan penambahan IPTG 0,5 mM, terlihat bahwa pita protein tidak dihasilkan dalam bentuk terlarut. Pada kondisi penambahan IPTG sebesar 1 mM, menggambarkan adanya pita protein setelah sampel melalui proses lisis menggunakan sonikator, tetapi konsentrasi lebih rendah diperlihatkan pada supernatan yang diperoleh. Hal tersebut dapat menjadi indikasi terbentuknya badan inklusi yang menyebabkan protein tidak larut. Untuk memastikan hal tersebut, fraksi tidak terlarut dianalisis menggunakan SDS-PAGE dengan terlebih dahulu dipreparasi menggunakan urea dan pemanasan agar dapat berubah menjadi bentuk terlarut.

Untuk membuktikan keberadaan protein yang berada dalam bentuk badan inklusi, fraksi tidak terlarut yang diperoleh dari hasil sentrifugasi setelah mengalami proses sonikasi, dipreparasi menggunakan larutan urea dan kemudian dipanaskan pada suhu 95 ºC selama 15 menit.

Berdasarkan hasil elektroforesis SDS-PAGE dari fraksi tidak terlarut, menunjukkan bahwa pada kondisi suhu 28 ºC tidak ditemukan adanya pita protein (Gambar 5). Keberadaan protein tidak terlarut terdapat pada kondisi suhu 30 dan 37 ºC. Hal ini sejalan dengan hasil elektroforesis sampel terlarut, dimana tidak teramatinya pita protein target pada kondisi suhu 30 dan 37 ºC.



Gambar 5 Elektroforegram SDS-PAGE fraksi tidak terlarut pada suhu 28, 30 dan 37 ºC, dengan induksi IPTG konsentrasi 0,1; 0,5; 1 mM (BSA: *Bovine Serum Albumin*, M: *Marker*).

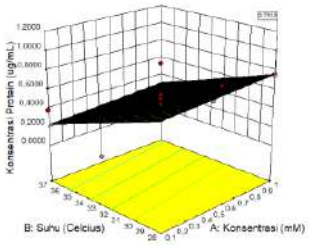
Penurunan suhu dapat menurunkan laju ekspresi sehingga mencegah terbentuknya badan inklusi karena tersedia lebih banyak waktu untuk

proses pelipatan (Marini *et al*., 2014). Penggunaan suhu tinggi selama proses ekspresi protein, serta induksi konsentrasi tinggi di bawah sistem promotor yang kuat seringkali mengakibatkan ekspresi protein yang diinginkan berada pada laju translasi yang tinggi. Hal ini menyebabkan habisnya sistem kendali mutu protein bakteri dan sebagian protein terlipat serta yang mengalami salah pelipatan pada akhirnya bersatu membentuk badan inklusi (Singh *et al*., 2015).

Untuk mengetahui kondisi kultur optimum pada ekspresi protein scFv-BAD rekombinan, digunakan *Response Surface Method* (RSM). Nilai faktor signifikansi dioptimasi menggunakan *Central Composite Design* (CCD), difokuskan untuk memperoleh respon konsentrasi protein yang maksimum dan optimal dengan adanya pengaruh suhu dan konsentrasi IPTG pada kultur. Model CCD yang dipilih terdiri dari dua faktor, yaitu konsentrasi IPTG dan suhu inkubasi pada tiga level. Ekspresi dari protein rekombinan adalah respon yang diukur dalam eksperimen. Dari kombinasi secara acak, didapatkan tiga belas perlakuan yang dilakukan metode ekspresinya sesuai desain yang telah ditentukan. Kadar protein rekombinan dihitung berdasarkan persamaan regresi linier standar BSA dengan koefisien determinasi 0,9982. Model yang diperoleh berdasarkan hasil analisis adalah $Y = 0{,}4961 + 0{,}03586X_1 - 0{,}23134\ 5X_2$, dimana Y = konsentrasi protein, X_1 = konsentrasi IPTG, dan X_2 = suhu inkubasi. Berdasarkan persamaan regresi tersebut, faktor suhu memiliki pengaruh yang signifikan terhadap respon konsentrasi protein. Hal tersebut diperoleh dari nilai *slope* faktor suhu yang cukup signifikan. Hasil analisis varians (ANOVA) untuk desain yang digunakan menunjukkan bahwa model CCD yang signifikan disarankan sesuai data yang diperoleh adalah model linear karena nilai probabilitas (P-value) < 0,05, yaitu 0,0287.

Interaksi antar variabel yaitu pengaruh dari konsentrasi IPTG dan suhu terhadap ekspresi protein rekombinan ditunjukkan dalam bentuk plot kontur permukaan. Berdasarkan pada plot kontur permukaan tersebut, parameter konsentrasi IPTG tidak berpengaruh signifikan terhadap respon konsentrasi protein, sedangkan untuk parameter suhu inkubasi sangat berpengaruh pada respon, dimana semakin tinggi suhu inkubasi akan semakin rendah respon yang diperoleh (Gambar 6). Optimasi lebih lanjut dapat dilakukan dengan penambahan parameter waktu panen sehingga diperoleh konsentrasi scFv yang lebih optimum.

Ekspresi protein fusi scFv-BAD selanjutnya dilakukan dalam 250 mL medium LB dengan penambahan biotin dan ampisilin. Kultur diinduksi dengan IPTG 0,5 mM dilanjutkan inkubasi pada suhu 28 ºC selama 18 jam dan kecepatan 200 rpm. Hasil ekspresi menunjukkan adanya pita protein dengan bobot molekul 35 kDa pada fraksi supernatan hasil sonikasi kultur. Fraksi ini kemudian digunakan untuk tahap pemurnian selanjutnya.



Gambar 6 Grafik plot kontur permukaan tiga dimensi dari interaksi variabel terhadap respon ekspresi protein fusi scFv-BAD melalui desain *Response Surface Method*.

Berbagai parameter dapat berpengaruh pada ekspresi dan kelarutan protein rekombinan yang diproduksi, diantaranya adalah sekuens kodon, pemilihan vektor ekspresi dan inang, serta faktor lingkungan. Kesesuaian antara sistem ekspresi dan inang sangat penting untuk mengekspresikan protein rekombinan dalam bentuk terlarut. Pada penelitian ini digunakan vektor pET-21b(+) yang telah secara luas digunakan untuk memproduksi protein rekombinan terlarut dalam jumlah yang banyak, salah satunya karena vektor ini membawa promotor T7 (Smith *et al*., 2012).

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa gen sintetik penyandi scFv-BAD yang disisipkan pada plasmid pET21b(+) dapat diekspresikan pada sel inang *E. coli* Origami dan menghasilkan protein fusi scFv-BAD rekombinan dengan bobot molekul 35 kDa. Parameter suhu dan konsentrasi IPTG mempengaruhi tingkat ekspresi protein fusi scFv-BAD, dimana kondisi optimum yang diperoleh dengan menggunakan analisis statistik *Central Composite Design* (CCD) adalah ekspresi pada suhu 28 ºC dan konsentrasi IPTG 0,5 mM yang menghasilkan protein target dengan konsentrasi 2,7 µg/mL.

Daftar Pustaka

Aryati, A., Trimarsanto, H., Yohan, B., Wardhani, P., Fahri, S., & Sasmono, R. T. (2013). Performance of commercial dengue NS1 ELISA and molecular analysis of NS1 gene of dengue viruses obtained during surveillance in Indonesia. *BMC Infectious Diseases*, *13*(1), 1–11.

Bessoff, K., Beltran, M., Vergne, E., & Hunsperger, E. (2007). Evaluation of a commercial NS-1 antigen capture ELISA for the diagnosis of acute dengue infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *77*(5), 217–218.

Bhatt, S., Gething, P. W., Brady, O. J., Messina, J. P., Farlow, A. W., Moyes, C. L., Drake, J. M., Brownstein, J. S., Hoen, A. G., Sankoh, O., Myers, M. F., George, D. B., Jaenisch, T., William Wint, G. R., Simmons, C. P., Scott, T. W., Farrar, J. J., & Hay, S. I. (2013). The global distribution and burden of dengue. *Nature*, *496*(7446), 504–507.

Dewi, B. E., Fithriyah, F., Rukmana, A., Paisal, P., Larasati, D., & Mirawati Sudiro, T. (2012). Cloning and Expression of Nonstructural Protein NS1 of Dengue Virus Serotype 2. *Microbiology*, *6*(1), 15–22.

Fulcrand, G., Dages, S., Zhi, X., Chapagain, P., Gerstman, B. S., Dunlap, D., & Leng, F. (2016). DNA supercoiling, a critical signal regulating the basal expression of the lac operon in Escherichia coli. *Scientific Reports*, *6*(19243), 1–12.

Gaciarz, A., Khatri, N. K., Velez-Suberbie, M. L., Saaranen, M. J., Uchida, Y., Keshavarz-Moore, E., & Ruddock, L. W. (2017). Efficient soluble expression of disulfide bonded proteins in the cytoplasm of Escherichia coli in fed-batch fermentations on chemically defined minimal media. *Microbial Cell Factories*, *16*(1), 1–12.

Gelanew, T., & Hunsperger, E. (2018). Development and characterization of serotype-specific monoclonal antibodies against the dengue virus-4 (DENV-4) non-structural protein (NS1). *Virology Journal*, *15*(1), 1–12.

Lima, M. da R. Q., Nogueira, R. M. R., Schatzmayr, H. G., & dos Santos, F. B. (2010). Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *4*(7), 1–8.

Marini, G., Luchese, M. D., Argondizzo, A. P. C., de Góes, A. C. M. A., Galler, R., Alves, T. L. M., Medeiros, M. A., & Larentis, A. L. (2014). Experimental design approach in recombinant protein expression: Determining medium composition and induction conditions for expression of pneumolysin from Streptococcus pneumoniae in Escherichia coli and preliminary purification process. *BMC Biotechnology*, *14*(1), 1–13.

Monnier, P., Vigouroux, R., & Tassew, N. (2013). In Vivo Applications of Single Chain Fv (Variable Domain) (scFv) Fragments. *Antibodies*, *2*(4), 193–208.

Muller, D. A., Depelsenaire, A. C. I., & Young, P. R. (2017). Clinical and laboratory diagnosis of dengue virus infection. *Journal of Infectious Diseases*, *215*(Suppl 2), S89–S95.

Nelson, A. L. (2010). Antibody fragments: Hope and hype. *MAbs*, *2*(1), 77–83.

Ou, J., Wang, L., Ding, X., Du, J., Zhang, Y., Chen, H., & Xu, A. (2004). Stationary phase protein overproduction is a fundamental capability of Escherichia coli. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *314*(1), 174–180.

Pratiwi, R. D. (2019). Optimasi Ekspresi Human Epidermal Growth Factor (h-EGF) Rekombinan dalam Escherichia coli BL21(DE3) dengan Variasi Media dan Konsentrasi Penginduksi. *Chimica et Natura Acta*, *7*(2), 91–97.

Scaturro, P., Cortese, M., Chatel-Chaix, L., Fischl, W., & Bartenschlager, R. (2015). Dengue Virus Non-structural Protein 1 Modulates Infectious Particle Production via Interaction with the Structural Proteins. *PLoS Pathogens*, *11*(11), 1–32.

Singh, A., Upadhyay, V., Upadhyay, A. K., Singh, S. M., & Panda, A. K. (2015). Protein recovery from inclusion bodies of Escherichia coli using mild solubilization process. *Microbial Cell Factories*, *14*(1), 1–10.

Smith, L. E., Yang, J., Goodman, L., Huang, X., Huang, R., Dressman, J., Morris, J., Silva, R. A. G. D., Davidson, W. S., & Cavigiolio, G. (2012). High yield expression and purification of recombinant human apolipoprotein A-II in Escherichia coli. *Journal of Lipid Research*, *53*(8), 1708–1715.

Tajima, S., Takasaki, T., & Kurane, I. (2008). Characterization of Asn130-to-Ala mutant of dengue type 1 virus NS1 protein. *Virus Genes*, *36*(2), 323–329.

Vásquez-Bahena, J. M., Vega-Estrada, J., Santiago-Hernández, J. A., Ortega-López, J., Flores-Cotera, L. B., Montes-Horcasitas, M. C., & Hidalgo-Lara, M. E. (2006). Expression and improved production of the soluble extracellular invertase from Zymomonas mobilis in Escherichia coli. *Enzyme and Microbial Technology*, *40*(1), 61–66.

THE 5TH INTERNATIONAL SEMINAR ON CHEMISTRY

ISC-2021

27-28 OCTOBER 2021 VIA zoom

CHEMISTRY FOR GLOBAL CHALLENGES

PROGRAM & ABSTRACT

Organized by:

Department of Chemistry
Faculty of Mathematics & Natural Sciences
Universitas Padjadjaran

The 5th International Seminar on Chemistry 2021

"Chemistry for Global Challenges"

Program and Abstracts

27-28 October 2021

Organized by

Department of Chemistry
Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Padjadjaran

in cooperation with

Indonesian Chemical Society

Contents

Welcoming Address by the Organizing Committee
Opening remarks by Chairperson of Indonesian Chemical Society
Opening remarks by Rector of Universitas Padjadjaran
Committees
Schedule of the 5th International Seminar on Chemistry 2021
Room distribution for Oral Presentation
Distribution for Poster Presentation
Regulation for Presentation
Abstracts of Plenary Lecture
Abstracts of Invited Lecture
Abstracts of Oral Presentation
Abstracts of Poster Presentation
Sponsors

Welcoming Address by the Organizing Committee

Honorable Rector of Universitas Padjadjaran
Distinguished invited speakers, participants, ladies and gentlemen,

It is our great pleasure to welcome all the honorable guests, the distinguished guest and all the participants to the 5th International Seminar on Chemistry (ISC) 2021. The current ISC is the 5th event organized by our Department, which supposedly organized last year. However, due to the Covid-19 pandemic, we have to re-arrange the event to this year. This seminar is presenting competent invited speakers from various international institution with varying research expertise in chemical sciences, representing main fields in chemical studies.

Chemistry study from atomic, molecular, and cellular level can solve many problems. Many recent chemical researches appear every day and there are more interests on basic chemical research that have potential practical application. This seminar will offer a comprehensive understanding on how basic chemical sciences can be developed to various practical applications, which can be found in everyday life to overcome global issues in chemistry-related fields. It will cover topics, not only associated with innovation in developing established and novel synthetic pathways for organic and inorganic compounds, but also on acquiring insights in the fundamental properties of natural products and biomolecules relevant for industrial and biomedical applications. The ultimate goal is to achieve elegant solutions of hazards-free, waste-free, energy efficient chemical processes of non-toxic products without sacrificing efficacy of function fulfilling the green chemistry principles, which become global concerns. This is why we select the topic of this meeting as "Chemistry for Global Challenges".

We hope this seminar will bring communication and cooperation in educational and research activities with the support and collaboration of Indonesian Chemical Society, non-governmental organizations, research institutions and scientific associations both in Indonesia and overseas.

As a chairperson, we are very proud to report that today, the international seminar is attended by more than 100 participants, coming from Indonesia, Yaman, France and Netherland. We invite Indonesian invited speaker, and foreign invited speakers coming from Australia, France, Germany, Japan, Malaysia, The Netherlands, Sweden, and Turkey. There are 75 papers to be presented orally and 28 papers presented by poster/video covering wide-variety subjects of chemistry and its application. We hope this event will open scientific discussions of the new findings in chemistry to overcome global challenges and followed by better understandings, formal and non-formal cooperation and also opportunities to explore further collaboration among participants.

We would like to express our appreciation to all invited speakers, and contributed lecturers who are willing to share their knowledge, experiences, and advices in this event. We thank our sponsor for their support to this event. Finally, we would also like to thank Rector of Universitas Padjadjaran for her support to this seminar. We hope you will enjoy a pleasant and valuable seminar at Universitas Padjadjaran.

Chairperson,

Prof. Dr. Iman Permana Maksum

Congratulatory Speech by the President of the Indonesian Chemical Society

Honorable Rector of Universitas Padjadjaran
Honorable Speaker and Participants
Ladies and Gentlemen

Assalamualaikum Wr Wb
Good morning

Praise and gratitude towards Allah SWT, who has given His Grace, so that we are all here to attend the 5th International Seminar on Chemistry 2021. On behalf of the Indonesian Chemical Society, I would like to congratulate the organizing committee and Department of Chemistry FMIPA Universitas Padjajaran for organizing this fifth-time scientific meeting even though we could not meet offline because of the pandemic.

With the theme of the seminar, "Chemistry for Global Challenges" and also in this disruptive era, reflects our belief that many future challenges in the world will need involvement of chemistry and chemist. Also, chemistry will play an important role and contribute significantly to science and technology's sustainable development with other disciplines. Therefore, this seminar has special importance for us, primarily as it shows our endeavor in chemical research and development, appropriate for our unique demands, and secondly as it provides means to exchange information and experiences.

The Indonesian Chemical Society is delighted to see all of you, students, young and experienced scientists from Indonesia and other countries, come and gather at this conference. You will share your expertise and knowledge, discuss recent research results, brainstorm ideas, and motivate others to promote and enhance scientific knowledge and competency in chemistry and related fields. It will contribute to our society's continual development because we can create more bonds, collaboration, and networking.

Finally, I thank and welcome all of you to this conference. I would like to express my gratitude and hope you will have a good atmosphere conference and fruitful meeting.

Thank you.

Wassalamualaikum Wr Wb

Dr. Mohamad Rafi
President of the Indonesian Chemical Society 2021

Opening remarks by Rector of Universitas Padjadjaran

Honorable invited speakers, participants, organizing committee
Distinguished ladies and gentlemen

First of all, on behalf of Universitas Padjadjaran (Unpad), allow me to welcome all guests, friends, and participants of this seminar. I am very honored to be the host of this event. This event is a triennial event and the seminar this year is the 5th event organized by the department of Chemistry, Unpad. Therefore, let me give high appreciation to the organizing committee that worked very hard so that this event can be executed eventhough we are still in the pandemic condition. I am hoping that in the future, there will be more events like this without pandemic, so that we can meet in person. Through this type of event, I hope Unpad can be recognized in the international communities

The seminar theme this year is "Chemistry for Global Chellenges". Many global issues need attention from scientiests, researchers, academics, and policy makers related to, among others, health, environment, poverty, energy, and food security issues. I believe, many global challenges in our life need involvement of chemistry and chemists, because chemistry has a very important role in creating quality of life. Therefore, this seminar becomes crucial in developing and sharing, among participants, about processes that can be done to achieve better quality of life and to solve global problems.

Knowing that committee has selected outstanding speakers from various prestigious institutions, I believe that all of the participants will enjoy the discussion of issues covered by the topic of this seminar. I believe that the results will be beneficial for all of us. Therefore, on behalf of Unpad, again I would like to express my gratitude to all invited speakers who will share their knowledge and experiences to all participants. My appreciation also goes to all of the presenters, participants and sponsors, and last but not least my deep thanks to all of the organizing committee for their efforts to make this seminar happened.

I wish you all will enjoy a scientific event.

Prof. Rina Indiastuti

Rector of Universitas Padjadjaran

Committees

Steering committee

Prof. Dr. Rina Indiastuti, S.E., M.SIE. (Rector of Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Iman Rahayu (Dean of Faculty of Mathematics and Natural Sciences)
Dr. Mohamad Rafi, M.Si. (Chief of Indonesian Chemical Society)

Scientific committee

Prof. Dr. Husein H. Bahti (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. R. Ukun M. S. Soedjana Atmadja (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Unang Supratman (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Toto Subroto (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Ace Tatang Hidayat (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Tati Herlina (Universitas Padjadjaran)
Prof. Dr. Djulia Onggo (Institut Teknologi Bandung)
Prof. Dr. Koichi Fukase (Osaka University, Japan)
Prof. Dr. Khalijah Awang (University of Malaya, Malaysia)
Dr. Shankar L. Gargh (World Research Journal, India)
Prof. Dr. Kuniyo Inouye (Kyoto University, Jepan)
Prof. Dr. Nuryono (Universitas Gadjah Mada)
Dr. Sandra Hermanto (UIN Syarif Hidayatullah)

Organizing committee

Chairperson	:	Prof. Dr. Iman Permana Maksum, M.Si.
Vice chairperson	:	Safri Ishmayana, M.Sc., Ph.D.
Secretary	:	Dr. Yusi Deawati, M.Si
Treasurer	:	Dr. Diana Rakhmawaty E., M.Si.
Registration	:	Dr. Shabarni Gaffar,M.Si.
Scientific Program	:	Rani Maharani, M.Si., Ph.D. Muhammad Yusuf, M.Si., Ph.D.
Program	:	Dr. Muhammad Fadhlillah, M.Si.
Sponsorhip	:	Prof. Dr. Ace Tatang Hidayat, M.Si.
Publication and Web	:	Ari Hardianto, M.Si., Ph.D.
Exhibition	:	Jamaludin Al-Anshori, M.Sc., Ph.D.

Schedule of the 5th International Seminar on Chemistry 2021 27-28 October 2021

Wednesday, 27 October 2021

Time	
07.30-08.00	Registration and preparation
08.00-09.00	Opening Ceremony 08.00-08.07 Chairperson of Organizing Committee 08.07-08.15 Chairperson of Indonesian Chemical Society 08.15-08.25 Rector of Universitas Padjadjaran (Official opening) 08.25-08.45 PSM Unpad performance
08.45-09.00	Break and preparation for the next session
09.00-10.40	Plenary Session 1 (Moderator: Tati Herlina) 09.00-09.40 Khalijah Awang 09.40-10.20 Koichi Fukase 10.20-10.40 Discussion
10.40-12.15	Poster session and break 10.40-11.40 Poster Session 11.40-12.15 Break
12.15-13.55	Plenary Session 2 (Moderator: Shankar L. Gargh) 12.15-12.55 Ran Friedman 12.55-13.35 Mehmet Ozsoz 13.35-13.55 Discussion
13.55-15.30	Parallel Session 1 14.00-14.30 Invited Speaker 14.30-14.45 Oral Presentation 14.45-15.00 Oral Presentation 15.00-15.15 Oral Presentation 15.15-15.30 Oral Presentation
15.30-15.45	Coffee break
15.45-17.15	Parallel session 2 15.45-16.15 Invited Speaker 16.15-16.30 Oral Presentation 16.30-16.45 Oral Presentation 16.45-17.00 Oral Presentation 17.00-17.15 Oral Presentation

Note: The above mentioned time is western Indonesan time which is GMT+7

Thursday, 28 October 2021

Time	
07.30-08.00	Preparation
08.00-09.40	Plenary Session 3 (Moderator: M. Lutfi Firdaus) 08.00-08.40 Iman Rahayu 08.40-09.20 Martin Peacock 09.20-09.40 Discussion
09.40-09.55	Break and preparation for the next session
09.55-11.25	Parallel Session 3 09.55-10.25 Invited Speaker 10.25-10.40 Oral Presentation 10.40-10.55 Oral Presentation 10.55-11.10 Oral Presentation 11.10-11.25 Oral Presentation
11.25-12.15	Poster session and break 11.25-11.55 Poster session 11.55-12.10 Break
12.10-13.45	Parallel session 4 12.15-12.45 Invited Speaker 12.45-13.00 Oral Presentation 13.00-13.15 Oral Presentation 13.15-13.30 Oral Presentation 13.30-13.45 Oral Presentation
13.45-16.25	Plenary Session 4 (Moderator: Risdiana) 13.45-14.25 Todd Marder 14.25-15.05 Kristina Djanashvili 15.05-15.45 Pamela Passetto 15.45-16.15 Discussion
16.15-16.25	Break
16.25-16.45	Closing Ceremony 1. Chairperson of Organizing Committee 2. Dean of Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Note: The above mentioned time is western Indonesan time which is GMT+7

Parallel Session 1 (Wednesday, 27 October 2021, 14:00-15:30)

Room A Chairperson: Uji Pratomo	Room B Chairperson: Irkham	Room C Chairperson: Ari Hardianto	Room D Chairperson: Yuni Elsa
IL01 Arif Engin Cetin	IL02 Uyi Sulaeman	IL03 Arli Aditya Parikesit	IL04 Toto Subroto
OP01 R. Mulyani	OP08 Evi Susanti	OP38 Umi Baroroh	OP48 Ahmad Nabiel
OP02 Muhammad Yudistira Azis	OP09 Tri Garin Nagawang	OP39 Ahmad Fariz Maulana	OP49 Syarif Hamdani
OP06 Aliya Nur Hasanah	OP10 Raissa A. Astutiningtyas	OP40 Zachnaz Fairuuz	OP50 Zahidah Hasan
OP07 Hesty Nuur Hanifah	OP11 Rizki Lukitawati	OP41 M. Rizky Hasyim	OP12 Allyn P. Sulaeman

Parallel Session 2 (Wednesday, 27 October 2021, 15:45-17:15)

Room A Chairperson: Ika Wiani	Room B Chairperson: Allyn Pramudya Sulaeman	Room C Chairperson: Yudha Prawira Budiman	Room D Chairperson: Muhammad Yusuf
IL05 Safri Ishmayana	IL06 Hassan Pyar	IL07 Atiek Rostika	IL08 Amina Latigui
OP51 Joko Waluyo	OP14 Fitri Khoerunnisa (1)	OP19 Noor Isnaini Azkiya	OP23 Ferli Septi Irwansyah
OP52 Martua H. Saragih	OP15 Ane Nurjanah	OP20 Siti Saidah Siregar	OP24 Nurhayati
OP53 Yuli Andriani	OP16 Uji Pratomo	OP21 Irwan Kurnia	OP25 Pierre F. Sianturi
OP13 Yanty Maryanty	OP17 Fitriani	OP22 Jasmitha Maryama Putri	OP26 Lintang K. Sakti
	OP18 Rihan Amila Putri		

Parallel Session 3 (Thursday, 28 October 2021, 09:55-11:25)

Room A **Chairperson:** **Juliandri**	**Room B** **Chairperson:** **Nurlelasari**	**Room C** **Chairperson:** **Rani Maharani**	**Room D** **Chairperson:** **Shabarni Gaffar**
IL09 Arie Wibowo	IL10 Euis Julaeha	IL11 Iain Currie	IL12 Muktiningsih Nurjayadi
OP27 Dedek Yusuf	OP31 Dolih Gozali	OP57 Vidia Afina Nuraini	OP35 Annisa Luthfiah
OP28 Alya Rafida	OP32 Fitri Khoerunnisa (2)	OP58 Jamaludin Al-Anshori	OP54 Sigit Hadiantoro
OP29 Didi Prasetyo Benu	OP33 Soraya R. Mita	OP59 Harra Ismi Farah	**SP01 Medquest Mitra Global**
OP30 Setianto	OP34 Deni Rahmat	OP60 Ara Deani Somantri	OP55 Dewi Astriany
			OP56 Muhammad Fadhlillah

Parallel Session 4 (Thursday, 28 October 2021, 12:10-13:45)

Room A **Chairperson:** **Rustaman**	**Room B** **Chairperson:** **Irwan Kurnia**	**Room C** **Chairperson:** **Tri Mayanti**	**Room D** **Chairperson:** **Yeni Wahyuni Hartati**
IL13 Kiki Adi Kurnia	IL14 Muhammad Rafi	IL15 Mohamad Nurul Azmi	IL16 Seda Nur Topkaya
OP42 Juliandri	OP36 Retna Putri Fauzia	OP63 Rani Maharani	OP03 Erianti Siska Purnamasari
OP43 Raihan Alfaridzi	OP47 Aisyah	OP64 Erina Hilmayanti	OP04 Wulan Tri Wahyuni
OP44 Suci Zulaiha Hildayani	OP61 Wahyu Safriansyah	OP65 Al Arofatusnaini	OP05 Irkham
OP45 Irwan Ary Darmawan	OP62 Kindi Farabi	OP66 Dian Nugrahaeni	OP37 Yusi Deawati
OP46 Kartika H. Kirana			

Distribution for Poster Presentation

PP01 Diana Hendrati
PP02 Santhy Wyantuti
PP03 Sahrul Hidayat
PP04 Meta Fitri Rizkiana
PP05 Yopi Ramadani Praharya
PP06 Hernandi Sujono
PP07 Femmy Annisa Ayuningtias
PP08 Sri Agung Fitri Kusuma
PP09 Deika Zhillan Fatharani
PP10 Rima
PP11 Tina Rostinawati
PP12 Desi Harneti
PP13 Destya Rizkiawati
PP14 Diana Widiastuti
PP15 Nurlelasari
PP16 Sri Wardatun
PP17 Nur'aini Safitri
PP18 Vicki Nishinarizki
PP19 Futi Kusuma Hati
PP20 Diandra Firdiani Utami
PP21 Mamlikatu Ilmi Azizah
PP22 E. Evy Ernawati
PP23 Shabarni Gaffar
PP24 Ari Hardianto
PP25 Tri Mayanti
PP26 Soni Setiadji
PP27 Anggi Suprabawati
PP28 Rismawati
PP29 Nadya Putri Satriana
PP30 Ratu Safitri (1)
PP31 Ghina Siti Nurhayati
PP32 Anni Anggraeni
PP33 Ratu Safitri (2)
PP34 Selvira Zenisya

Optimization of ScFv-BAD Anti-NS1 Dengue Virus Expression in *Escherichia coli* Origami using Response Surface Methodology

Dewi Astriany[1,2]*, Syulastri Effendi[2], Iman Permana Maksum[2], Dessy Natalia[3], Toto Subroto[2,4]

[1]Department of Pharmacy, Indonesian School of Pharmacy, Bandung, Indonesia
[2]Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia
[3]Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Bandung Institute of Technology, Bandung, Indonesia
[4]Research Center of Molecular Biotechnology and Bioinformatics, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia
*Corresponding author: dewiastriany@gmail.com

Dengue is one of the infectious diseases, considered a major health concern around the world, caused by four antigenically different serotypes of the dengue virus. Clinical manifestations of dengue infection are indistinguishable from other infectious diseases. A faster and accurate diagnostic test of dengue virus infection is urgently required for disease confirmation and patient handling. NS1 is the most immunogenic and conserved glycoprotein, secreted into the bloodstream. Therefore, antigen examination from NS1 dengue virus has been identified as one of the specific markers in laboratory diagnostic tests, that can be used to detect either primary or secondary dengue virus infections in its earliest stages. This research aimed to determine the optimum conditions of recombinant scFv-BAD fusion protein expression for detection of dengue virus NS1 antigen using the Response Surface Methodology. The protein expression was induced by various concentrations of IPTG (0.1, 0.5, and 1 mM) at several temperatures for 18 hours in Luria Bertani medium with the presence of biotin. The purified recombinant biotinylated scFv was characterized by SDS-PAGE, Western blot, and ELISA using streptavidin-conjugated HRP. The research result indicated that the protein was partially soluble and partially in the form of inclusion body. The Central Composite Design analysis showed that the suitable IPTG concentration for producing recombinant scFv protein was 0.5 mM at 28 ºC on Luria Bertani medium.

Keywords: dengue virus; NS1 antigen; scFv-BAD fusion protein; biotinylation, *E. coli* Origami