

INTISARI

Vaksin mRNA merupakan sediaan yang mengandung mRNA sebagai antigen yang dapat meningkatkan imunitas tubuh manusia. Pada proses produksi vaksin mRNA, kemurnian DNA plasmid sangat menentukan kualitas hasil dari proses *in vitro transcription*. Penggunaan *kit* dalam proses pemurnian DNA plasmid tidak efektif dalam segi biaya dan waktu, sehingga sulit diaplikasikan dalam skala besar. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan metode pemurnian tanpa *kit* dengan menggunakan metode kromatografi penukar ion.

Terdapat beberapa parameter yang perlu dioptimasi dalam proses pemurnian DNA plasmid untuk memperoleh hasil yang terbaik, sehingga penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi kondisi proses kromatografi penukar ion terhadap hasil pemurnian DNA plasmid ditinjau dari cemaran yang terdeteksi, kondisi kromatografi penukar ion paling optimal, dan mengetahui hasilnya baik pada skala kecil maupun skala yang lebih besar. Hasil dari proses optimasi dilakukan kontrol kualitas secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometer dan *kit* dengan Qubit® dsDNA BR Assay Kit serta secara kualitatif menggunakan metode elektroforesis gel agarosa.

Perbedaan resin serta pra-proses kromatografi, yang meliputi penambahan metode pengendapan dengan CaCl_2 serta pH *feed* kromatografi mempengaruhi proses pemurnian. Kondisi terbaik diketahui dengan melakukan pengendapan menggunakan 4 M CaCl_2 dengan rasio volume CaCl_2 :lisat 4:3 selama 2 jam dilanjutkan dengan proses diafiltrasi menggunakan *buffer* Tris-Cl pH 8,0 dan kromatografi penukar anion dengan resin DEAE Sepharose FF. Hasil *scale-up* didapatkan hasil lisis sebesar 11,67 mg/g *wet cell paste* dan kromatografi penukar ion dengan nilai rasio A260/A280 sebesar 1,787-1,875. Oleh karena itu, diperlukan kembali tahapan optimasi dan pemurnian lebih lanjut untuk didapatkan DNA plasmid yang lebih murni.

Kata kunci: optimasi, pemurnian, DNA plasmid, kromatografi penukar ion, vaksin mRNA

ABSTRACT

A mRNA vaccine is a vaccine containing mRNA as an antigen that can increase the immunity of the human body. In the mRNA vaccine production process, the purification of plasmid DNA determines the quality of the results of the in vitro transcription process. The use of kits in the plasmid DNA purification process is not effective when applied on a large scale. Therefore, in this study, the purification method without a kit was developed using the ion exchange chromatography method.

Several parameters need to be optimized in the plasmid DNA purification process to obtain the best results, so this study was conducted to determine the effect of variations in ion exchange chromatography process conditions on the results of plasmid DNA purification based on contaminants detected, the most optimal ion exchange chromatography conditions, and determine the results both on a small scale and a larger scale. The results of the optimization process were tested quantitatively using a spectrophotometer and kit method using Qubit® dsDNA BR Assay Kit and qualitatively using the agarose gel electrophoresis method.

The difference in resin and chromatographic pre-process condition, which consists of the addition of a precipitation method with CaCl_2 and pH of chromatography feed affect the purification process. The best conditions were found by precipitation using 4 M CaCl_2 with CaCl_2 :lysate volume ratio of 4:3 for 2 hours followed by diafiltration using Tris-Cl buffer pH 8.0 and anion exchange chromatography with DEAE Sepharose FF resin. The scale-up results obtained a lysis yield of 11.67 mg/g wet cell paste and ion exchange chromatography with an A_{260}/A_{280} ratio value of 1.787-1.875. Therefore, further optimization and purification stages are needed to obtain purer plasmid DNA.

Keyword: optimization, purification, plasmid DNA, ion exchange chromatography, mRNA vaccine