

RINGKASAN

Salah satu strategi yang dapat digunakan untuk mengendalikan dan mencegah penularan *Coronavirus Disease 19* (COVID-19) adalah vaksinasi. Pengembangan vaksin COVID-19 dapat dilakukan menggunakan vaksin subunit berbasis protein spike SARS-CoV-2 rekombinan. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan dalam pengembangan vaksin SARS-CoV-2 berbasis protein spike adalah penggunaan *platform* vaksin protein rekombinan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan subkloning gen HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 ke vektor ekspresi *Pichia pastoris* pD902 sebagai kandidat vaksin SARS-CoV-2 menggunakan sejumlah teknik molekuler. Gen HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 berukuran 3624 bp diamplifikasi menggunakan teknik PCR dari plasmid rekombinan p α H-SARS-CoV-2 S HexaPro. DNA *insert* yang diperoleh kemudian disubkloning ke vektor kloning pGEM-T dan pTA2 menggunakan teknik *TA-cloning*. Plasmid rekombinan yang diperoleh kemudian diperbanyak. Gen HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 diisolasi untuk dilakukan subkloning ke vektor ekspresi *Pichia pastoris* pD902 yang memiliki promotor AOX1. Hasil ligasi gen HexaPro Foldon Spike dan plasmid pD902 digunakan untuk transformasi sel kompeten *Escherichia coli* DH5 α dan *E. coli* Top10F'. Hasil transformasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam pada media LB agar yang mengandung Zeocin dengan konsentrasi akhir 100 μ g/ml. Hasil inkubasi menunjukkan tidak ada koloni transforman yang diperoleh. Hasil yang diperoleh menunjukkan subkloning gen protein HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 ke vektor ekspresi *Pichia pastoris* pD902 tidak berhasil dilakukan pada komposisi reaksi ligasi dengan rasio insert:vektor 3:1, 10:1, 1:1, dan 2:2 dan dengan menggunakan sel *E. coli* Top10F' dan *E. coli* DH5 α .

Kata kunci: *Pichia pastoris*, protein HexaPro Foldon Spike, SARS-CoV-2, subkloning, vaksin

SUMMARY

One of the strategies that can be used to control and prevent the transmission of Coronavirus Disease 19 (COVID-19) is vaccination. COVID-19 vaccine development can be carried out using a recombinant SARS-CoV-2 spike protein-based subunit vaccine. One approach that can be used in the development of a spike protein-based SARS-CoV-2 vaccine is the use of a recombinant protein vaccine platform. This study aims to subclone the HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 gene into *Pichia pastoris* pD902 expression vector as a SARS-CoV-2 vaccine candidate using several molecular techniques. The 3624 bp HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 gene was amplified using PCR techniques from the p α H-SARS-CoV-2 S HexaPro recombinant plasmid. The insert DNA obtained was then subcloned into pGEM-T and pTA2 cloning vectors using TA-cloning technique. The recombinant plasmids obtained were then propagated. The HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 gene was isolated for subcloning into the *Pichia pastoris* expression vector pD902 which contains AOX1 promoter. The ligation mixture of HexaPro Foldon Spike gene and plasmid pD902 were used for *Escherichia coli* DH5 α and *E. coli* Top10F' competent cells transformation. Transformants were incubated at 37°C for 16 hours on LB agar selection medium containing Zeocin with a final concentration of 100 μ g/ml. The incubation results showed that no transformant colonies were obtained. The results showed that the subcloning of the HexaPro Foldon Spike SARS-CoV-2 protein gene into the *Pichia pastoris* pD902 expression vector was not successful in ligation reaction compositions with insert:vector ratios of 3:1, 10:1, 1:1, and 2:2 and by using *E. coli* Top10F' and *E. coli* DH5 α cells.

Key words: HexaPro Foldon Spike Protein, Pichia pastoris, SARS-CoV-2, subcloning, vaccine