

**KLONING GEN *AnsB* PENGKODE ENZIM *L-ASPARAGINASE*  
2 DARI *Serratia plymuthica* UBCF\_13 SEBAGAI KANDIDAT  
ANTI KANKER PADA LEUKEMIA  
LIMFOBLASTIK AKUT**



**Skripsi**

**Diajukan ke Fakultas Kedokteran Universitas Andalas sebagai  
Pemenuhan Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan  
Gelar Sarjana Ilmu Biomedis**

**Pembimbing :**

- 1. Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP**
- 2. Dra. Yustini Alioes, Apt, M. Si**

**Oleh**

**ABI AWFA RAHMAN ANANDA  
NIM : 2010342013**

**PRODI ILMU BIOMEDIS PROGRAM SARJANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG 202**

## ABSTRACT

### **CLONING OF *AnsB* GENE ENCODING L-ASPARAGINASE 2 ENZYME FROM *Serratia plymuthica* UBCF\_13 AS AN ANTI CANCER CANDIDATE IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**

*Leukemia is one type of blood cancer that attacks humans more than other types of blood cancer. One of proteins that can be a potential alternative drug for leukemia is L-Asparaginase 2. The action mechanism of L-Asparaginase 2 against leukemia is through the hydrolysis of asparagine into aspartic acid and ammonia so that the intake of asparagine in cancer is reduced, resulting in no protein synthesis and inducing cancer cell death. The discovery of the *AnsB* gene encoding the enzyme L-Asparaginase 2 from *S. plymuthica* encourages the production of L-Asparaginase 2 protein using recombinant technology as an effort to explore new sources of recombinant L-Asparaginase 2.*

*This study is an experimental study that uses descriptive data as a form of data presentation. The research was conducted at the Biotechnology Laboratory of Andalas University from March to September 2024. The steps in this study are isolation of the *AnsB* gene using PCR with specific primers, sequencing, bioinformatics analysis for further characterization of the enzyme, and cloning of the pGEM\_ *AnsB* vector into *E. coli*.*

*Electrophoresis results confirmed the success of gene isolation, with the optimum annealing temperature of the *AnsB* gene-specific primers being 48,2°C and the size of the *AnsB* gene sequence is 1047 bp. Plasmid isolation verifies the presence of pGEM\_ *AnsB* in transformant bacteria. Analysis of the sequencing results showed that the *AnsB* Consensus\_ sequence had a percent identity value of 99.70% (1004/1007), Gaps 3/1007 (0.3%) and query cover 99%, and a phylogenetic distance of 0% with the *S. plymuthica* UBCF\_13 genome. Bioinformatics analysis showed successful modelling of the enzyme structure with I-TASSER. In addition, domain analysis identified two main domains in the L-Asparaginase 2 enzyme, namely, L-Asparaginase, N-terminal and Asparaginase/glutaminase, C-terminal.*

*The conclusion of this study is the successful isolation, sequencing, and cloning of the *AnsB* gene from *S. plymuthica* UBCF\_13 into *E. coli*.*

**Keywords:** *Leukemia, Acute Lymphoblastic Leukemia, *AnsB* Gene, L-Asparaginase 2, Cloning.*

## ABSTRAK

# KLONING GEN *AnsB* PENGKODE ENZIM *L-ASPARAGINASE 2* DARI *Serratia plymuthica* UBCF\_13 SEBAGAI KANDIDAT ANTI KANKER PADA LEUKEMIA LIMFOBLASTIK AKUT

Leukemia menjadi salah satu jenis kanker darah yang banyak menyerang manusia dibandingkan dengan jenis kanker darah lainnya. Salah satu jenis protein yang dapat menjadi bakal obat alternatif pada leukemia yaitu *L-Asparaginase 2*. Mekanisme kerja dari *L-Asparaginase 2* pada leukemia yaitu melalui hidrolisis asparagin menjadi asam aspartat dan ammonia sehingga asupan asparagin dalam kanker berkurang dan berujung tidak terjadinya sintesis protein dan menginduksi kematian sel kanker. Penemuan gen *AnsB* pengkode enzim *L-Asparaginase 2* dari *S. plymuthica* mendorong untuk melakukan produksi protein *L-Asparaginase 2* menggunakan teknologi rekombinan sebagai upaya eksplorasi sumber baru *L-Asparaginase 2* rekombinan.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan data deskriptif sebagai bentuk presentasi data. Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Universitas Andalas pada bulan Maret sampai Oktober 2024. Langkah-langkah pada penelitian ini adalah isolasi gen *AnsB* menggunakan PCR dengan primer spesifik, sekuensing, analisis bioinformatika untuk karakterisasi lebih lanjut enzim, dan kloning vektor *pGEM\_AnsB* ke dalam *E. coli*.

Hasil elektroforesis mengkonfirmasi keberhasilan isolasi gen, dengan suhu *annealing* optimum primer spesifik gen *AnsB* adalah 48,2°C dan ukuran sekuens gen *AnsB* adalah 1047 bp. Isolasi plasmid memverifikasi keberadaan *pGEM\_AnsB* pada bakteri transforman. Analisis hasil sekuensing menunjukkan bahwa *Konsensus sekuens AnsB* memiliki nilai *percent identity* 99,70% (1004/1007), *Gaps* 3/1007 (0,3%) dan *query cover* 99%, dan jarak filogenetik 0% dengan genom *S. plymuthica*\_UBCF\_13. Analisis bioinformatika menunjukkan pemodelan struktur enzim yang berhasil dengan I-TASSER. Selain itu, analisis domain mengidentifikasi dua domain utama dalam enzim *L-Asparaginase 2* yaitu, *L-Asparaginase, N-terminal* dan *Asparaginase/glutaminase, C-terminal*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah berhasilnya isolasi, sekuensing, dan kloning gen *AnsB* dari *S. plymuthica* UBCF\_13 ke dalam *E. coli*.

**Kata Kunci :** Leukemia, Leukemia Limfoblastik Akut, Gen *AnsB*, *L-Asparaginase 2*, Kloning.