

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan terkait fusi gen *ansB* dengan promotor sintetik *pSSPM3* ke dalam vektor ekspresi pET-28a+ untuk pengembangan terapi target *Acute Lymphoblastic Leukemia*, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Promoter sintetik *pSSPM3* yang terdiri dari UPE, elemen -35, spacer, elemen -10, DISC, dan 5'UTR berhasil diligasikan ke plasmid pET-28a+. Hasil ini ditunjukkan dengan adanya pita tunggal berukuran 674 bp pada hasil elektroforesis verifikasi keberhasilan ligasi menggunakan primer T7PS-T7TR.
2. Gen *ansB* yang berasal dari plasmid pGEM T Easy:*ansB* berhasil didigesti menggunakan enzim restriksi *NheI* dan *SacI*. Hasil ini ditunjukkan dengan adanya pita berukuran 1.057 bp pada hasil elektroforesis.
3. Gen *ansB* berhasil diligasikan ke plasmid rekombinan pET-28a+:*pSSPM3*. Hasil ini ditunjukkan dengan adanya pita berukuran 1.682 bp pada hasil elektroforesis verifikasi keberhasilan ligasi menggunakan primer T7PS-T7TR.
4. Plasmid rekombinan pET-28a+:*pSSPM3:ansB* berhasil ditransformasi dan dikloning ke dalam *E. coli* BL21. Keberhasilan ini diverifikasi dengan melakukan isolasi DNA plasmid bakteri transforman. Isolat DNA plasmid selanjutnya diverifikasi untuk deteksi keberadaan gen *ansB* menggunakan dua metode, yaitu PCR dan digest isolat DNA plasmid rekombinan. Hasil PCR menunjukkan adanya pita berukuran 1.682 bp sedangkan hasil digest isolat DNA plasmid rekombinan menunjukkan adanya pita gen *ansB* berukuran 1.057 bp.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan penelitian di atas, berikut saran yang dapat diberikan untuk kesempurnaan penelitian

1. Pada proses subkloning gen *ansB* pada plasmid pGEM T Easy pastikan produk PCR gen berupa pita tunggal sehingga tidak ada pita lain yang terligasi dengan plasmid pGEM T Easy. Keberhasilan dalam proses subkloning dapat mempengaruhi hasil kloning pada plasmid rekombinan pET-28a+;*pSSPM3*.
2. Pada proses restriksi, konsentrasi isolat DNA usahakan tinggi sehingga tidak menggunakan banyak enzim restriksi dan optimasi waktu untuk mendapatkan hasil restriksi yang optimal. Serta perlu pertimbangan dalam pemilihan *buffer* ataupun bahan lainnya yang dapat meningkatkan reaksi restriksi.
3. Pada proses ligasi, konsentrasi DNA hasil purifikasi usahakan tinggi supaya proses ligasi lebih optimal
4. Penelitian lebih lanjut terkait penggunaan promotor sintetik, optimasi pada rekayasa gen *ansB*, dan penelitian secara *in siliko* terkait aktivitas enzim L-asparaginase II serta pengujian tingkat ekspresinya masih perlu dilakukan.

