

**Fusi Gen *ansB* Dengan Promoter Sintetik *pSSPM3* ke Dalam
Vektor Ekspresi pET-28a+ Untuk Pengembangan
Terapi Target *Acute Lymphoblastic Leukemia***



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. Drs. Julizar, Apt, M.Kes

Oleh:

Lisana Shiddiqin Aliya

2110347001

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS PROGRAM SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2025**

ABSTRACT

Fusion of ansB Gene with pSSPM3 Synthetic Promoter into pET-28a+ Expression Vector for Development of Targeted Therapy of Acute Lymphoblastic Leukaemia

By

Lisana Shiddiqin Aliya, Jamsari, Julizar, Roslaili Rasyid, Dian Pertiwi, and Lily Syukriani

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a blood cancer characterised by the production of abnormal lymphoblasts. One of the targeted therapies developed to treat ALL is the enzyme L-asparaginase II, which hydrolyses the amino acid asparagine into aspartate and ammonia, thereby inhibiting the growth of leukaemia cells. *Serratia plymuthica* UBCF_13 is known to possess the *ansB* gene that encodes this enzyme. To increase the production of L-asparaginase II at a lower cost, we combined the synthetic promoter pSSPM3 with the *ansB* gene into the expression vector pET-28a+ and cloned this recombinant plasmid in the *E. coli* bacterial system.

This study is an experiment with the main stages: inserting the synthetic promoter pSSPM3 into the pET-28a+ plasmid verified using PCR, digesting the *ansB* gene from the pGEM T Easy:*ansB* plasmid and analysed using electrophoresis, inserting the *ansB* gene into the recombinant plasmid pET-28a+:pSSPM3 and verified again using PCR, and transforming and cloning it in *E. coli* followed by verification using PCR and digestion.

Electrophoresis results showed successful ligation of the pSSPM3 promoter with pET-28a+ with a DNA band measuring 674 bp. Digestion of the *ansB* gene was successful with a DNA band measuring 1,057 bp. Insertion of the *ansB* gene was confirmed through a DNA band of 1,682 bp. Transformation and cloning of plasmid pET-28a+:pSSPM3:*ansB* in *E. coli* BL21 were successfully verified through PCR and digestion.

The conclusion of this study is that the fusion of the *ansB* gene with the synthetic promoter pSSPM3 into the pET-28a+ expression vector and the transformation and cloning of the recombinant plasmid pET-28a+:pSSPM3:*ansB* into *E. coli* BL21 bacteria were successfully carried out. It is expected that the use of the synthetic promoter pSSPM3 can increase the expression of the *ansB* gene compared to the T7 promoter in the pET-28a+ plasmid.

Keywords: L-asparaginase II, ALL, pET-28a+, cloning, pSSPM3 Synthetic Promoter, *E. coli* BL21

ABSTRAK

Fusi Gen *ansB* Dengan Promoter Sintetik *pSSPM3* ke Dalam Vektor Ekspresi pET-28a+ Untuk Pengembangan Terapi Target *Acute Lymphoblastic Leukemia*

Oleh

Lisana Shiddiqin Aliya, Jamsari, Julizar, Roslaili Rasyid, Dian Pertiwi, dan Lily Syukriani

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) adalah kanker darah yang ditandai oleh produksi limfoblas abnormal. Salah satu terapi target yang dikembangkan untuk mengobati ALL adalah enzim L-asparaginase II, yang menghidrolisis asam amino asparagin menjadi aspartate dan ammonia, sehingga menghambat pertumbuhan sel leukemia. *Serratia plymuthica* UBCF_13 diketahui memiliki gen *ansB* yang mengkode enzim ini. Untuk meningkatkan produksi L-asparaginase II dengan biaya yang lebih rendah, dilakukan penggabungan promoter sintetik *pSSPM3* dengan gen *ansB* ke dalam vektor ekspresi pET-28a+ dan mengklon plasmid rekombinan ini dalam sistem bakteri *E. coli*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan tahapan utama: menyisipkan promoter sintetik *pSSPM3* ke dalam plasmid pET-28a+ yang diverifikasi menggunakan PCR, mendigesti gen *ansB* dari plasmid pGEM T Easy:*ansB* dan dianalisis menggunakan elektroforesis, menyisipkan gen *ansB* ke dalam plasmid rekombinan pET-28a+: *pSSPM3* dan diverifikasi kembali menggunakan PCR, serta mentransformasikan dan mengkloningnya dalam *E. coli* dilanjutkan dengan verifikasi menggunakan PCR serta digesti.

Hasil elektroforesis menunjukkan keberhasilan ligasi promoter *pSSPM3* dengan pET-28a+ dengan pita DNA berukuran 674 bp. Digesti gen *ansB* berhasil dilakukan dengan adanya pita DNA berukuran 1.057 bp. Penyisipan gen *ansB* dikonfirmasi melalui pita DNA berukuran 1.682 bp. Transformasi dan kloning plasmid pET-28a+: *pSSPM3:ansB* dalam *E. coli* BL21 berhasil diverifikasi melalui PCR dan digesti.

Kesimpulan penelitian ini adalah fusi gen *ansB* dengan promoter sintetik *pSSPM3* ke dalam vektor ekspresi pET-28a+ dan transformasi serta kloning plasmid rekombinan pET-28a+: *pSSPM3:ansB* ke dalam bakteri *E. coli* BL21 berhasil dilakukan. Diharapkan, penggunaan promoter sintetik *pSSPM3* dapat meningkatkan ekspresi gen *ansB* dibandingkan dengan promoter T7 pada plasmid pET-28a+.

Kata Kunci: L-asparaginase II, ALL, pET-28a+, Kloning, promoter sintetik *pSSPM3*, *E. coli* BL21