

**PENGUJIAN PLASMID *pGEM T-Easy* DAN *pET28a(+)*
REKOMBINAN UNTUK PRODUKSI ENZIM
L-ASPARAGINASE II ASAL *Serratia plymuthica* UBCF_13
PADA *Escherichia coli* STRAIN BL21**

SKRIPSI

Oleh



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

**PENGUJIAN PLASMID *pGEM T-Easy* DAN *pET28a(+)*
REKOMBINAN UNTUK PRODUKSI ENZIM
L-ASPARAGINASE II ASAL *Serratia plymuthica* UBCF_13
PADA *Escherichia coli* STRAIN BL21**

Oleh



*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Pertanian*

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2025**

**PENGUJIAN PLASMID *pGEM T-Easy* DAN *pET28a(+)*
REKOMBINAN UNTUK PRODUKSI ENZIM
L-ASPARAGINASE II ASAL *Serratia plymuthica* UBCF_13 PADA
Escherichia coli STRAIN BL21**

Abstrak

Akrilamida merupakan senyawa yang terbentuk dari pemanasan pada suhu tinggi pada produk yang mengandung karbohidrat atau pati serta dapat memicu terjadinya kanker. Enzim L-Asparaginase merupakan enzim yang dapat mencegah pembentukan akrilamida dengan memecah L-Asparagin menjadi L-Aspartat dan melepaskan ammonia yang juga digunakan dalam pengobatan kanker Leukemia Limfoblastik Akut (ALL). Gen *AnsB* yang mengkode enzim L-Asparaginase II ditemukan pada *Serratia plymuthica* UBCF_13 dapat digunakan sebagai sumber alternatif untuk produksi enzim dengan mengkloningnya ke dalam plasmid. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan vektor plasmid yang paling efektif untuk meningkatkan produksi enzim L-Asparaginase II asal *S. plymuthica* UBCF_13 dalam sel *E. coli* strain BL21. Penelitian ini dirancang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan *E. coli* strain BL21 yang mengandung plasmid rekombinan *pGEM_AnsB* dan *pET28a(+)_AnsB*. Hasil penelitian menunjukkan uji aktivitas enzim yang tinggi diperoleh pada bakteri *E. coli* rekombinan yang mengandung plasmid *pET28a(+)_AnsB* dengan penginduksian IPTG dengan nilai 0,713 U/ml. Hasil ekstraksi protein memperlihatkan terdapatnya pita protein dengan berat molekul 36,5 kDa. Pita protein yang tebal terlihat pada *E. coli* BL21 *pET28a(+)_AnsB* + IPTG, yang mengindikasikan bahwa jumlah protein yang dihasilkan juga meningkat. Peningkatan aktivitas enzim dan jumlah protein yang dihasilkan pada transforman dengan plasmid *pET28a(+)* dibandingkan dengan *pGEM T-Easy* menunjukkan bahwa *pET28a(+)* lebih efektif untuk produksi enzim L-Asparaginase II pada *E. coli* strain BL21.

Kata kunci: Ekspresi, gen, L-Asparaginase II, plasmid, protein

TESTING OF *pGEM T-Easy* AND *pET28a(+)* RECOMBINANT PLASMIDS FOR THE PRODUCTION OF L-ASPARAGINASE II ENZYME FROM *Serratia plymuthica* UBCF_13 IN *Escherichia coli* STRAIN BL21

Abstract

Acrylamide is a compound formed by heating products containing carbohydrates or starch at high temperatures and can cause cancer. The enzyme L-Asparaginase is an enzyme that can prevent the formation of acrylamide by breaking down L-Asparagine into L-Aspartate and releasing ammonia, which is also used in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). The *AnsB* gene encoding L-Asparaginase II enzyme found in *Serratia plymuthica* UBCF_13 can be used as an alternative source for enzyme production by cloning it into a plasmid. Therefore, this study aims to obtain the most effective plasmid vector to increase the production of L-Asparaginase II from *S. plymuthica* UBCF_13 in *E. coli* strain BL21 cells. This study was designed using a Completely Randomized Design (CRD) with treatments of *E. coli* strain BL21 containing the recombinant plasmids *pGEM_AnsB* and *pET28a(+)_AnsB*. The results showed that high enzyme activity was obtained in recombinant *E. coli* bacteria containing the *pET28a(+)_AnsB* plasmid with IPTG induction, with a value of 0.713 U/ml. The protein extraction results showed the presence of a protein band with a molecular weight of 36.5 kDa. A thick protein band was seen in *E. coli* BL21 *pET28a(+)_AnsB* + IPTG, which indicated that the amount of protein produced also increased. The increase in enzyme activity and the amount of protein produced in transformants with plasmid *pET28a(+)* compared to *pGEM T-Easy* indicated that *pET28a(+)* was more effective for the production of the L-Asparaginase II enzyme in *E. coli* strain BL21.

Keywords: Expression, gene, L-Asparaginase II, plasmids, proteins