

**Insersi Promotor Sintetik pSSPM2 Pada pET-28a(+):ansB Ke
Dalam Sel *E.coli* BL21**



Skripsi

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

Pembimbing :

- 1. Prof. Dr. sc. agr. Ir. Jamsari, MP**
- 2. Prof. Dr. Dra. Eti Yerizel, MS**

Oleh

Alif Faaiz Harisudin

NIM : 2210342001

**PRODI ILMU BIOMEDIS PROGRAM SARJANA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2026**

Abstract

Insertion of Synthetic Promoter pSSPM2 into pET-28a(+):ansB in Escherichia coli BL21

By

Alif Faaiz Harisudin

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a malignancy characterized by excessive proliferation of lymphoid cells. One therapeutic approach that has been developed utilizes the enzyme *L*-asparaginase II, which functions by hydrolyzing the amino acid asparagine into aspartic acid and ammonia, thereby inhibiting cancer cell proliferation. *Serratia plymuthica* UBCF_13 is known to carry the *ansB* gene encoding this enzyme. To enhance the expression of the *ansB* gene, genetic engineering was performed by inserting the synthetic promoter pSSPM2 into the recombinant plasmid pET-28a(+):*ansB*, which was subsequently expressed in *E. coli* BL21.

This study is an experimental research conducted by inserting the synthetic promoter fragment pSSPM2 into the recombinant plasmid pET-28a(+):*ansB*, which was then verified by PCR. Following confirmation of the synthetic promoter's presence, the plasmid was transformed and cloned into *E. coli* BL21 cells on selective media, and subsequently verified using PCR and restriction endonuclease analysis.

Electrophoresis results demonstrated the successful digestion of the pSSPM2 synthetic promoter fragment, evidenced by the appearance of a 184 bp DNA band. Electrophoresis of the ligation PCR products also yielded a positive result, indicated by the detection of a 507 bp DNA band. Transformation and cloning of the recombinant plasmid pET-28a(+):*ansB*:pSSPM2 were further confirmed through PCR and restriction analysis.

This study concludes that the insertion of the synthetic promoter pSSPM2 into the recombinant plasmid pET-28a(+):*ansB*, as well as the transformation of the recombinant plasmid pET-28a(+):*ansB*:pSSPM2 into *E. coli* BL21, were successfully accomplished. The use of the synthetic promoter pSSPM2 is expected to enhance *ansB* gene expression more effectively compared to the T7 promoter present in the pET-28a(+) plasmid.

Keywords : *L*-asparaginase II, ALL, pET-28a+, cloning, pSSPM2 Synthetic Promoter, *E. coli* BL21

Abstrak

Inseri Promotor Sintetik psSPM2 pada pET-28a(+):ansB Ke Dalam Sel *Eschericia coli* BL21

Oleh

Alif Faaiz Harisudin

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) adalah keganasan yang ditandai dengan proliferasi sel-sel limfoid secara berlebihan. Salah satu pendekatan terapeutik yang telah dikembangkan memanfaatkan enzim L-asparaginase II, yang bekerja dengan menghidrolisis asam amino asparagin menjadi asam aspartat dan amonia, sehingga menghambat proliferasi sel kanker. *Serratia plymuthica* UBCF_13 diketahui membawa gen *ansB* yang mengkode enzim tersebut. Dalam rangka meningkatkan ekspresi gen *ansB*, dilakukan rekayasa genetika dengan menginsersikan promotor sintetik pSSPM2 ke dalam plasmid rekombinan pET-28a(+):*ansB* yang kemudian diekspresikan pada bakteri *E. coli* BL21.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan dengan menginsersikan fragmen promotor sintetik pSSPM2 ke dalam plasmid rekombinan pET-28a(+):*ansB*, yang selanjutnya diverifikasi melalui teknik PCR. Setelah keberadaan promotor sintetik terkonfirmasi, plasmid ditransformasikan dan dikloning ke dalam sel *E. coli* BL21 pada media selektif, kemudian diverifikasi kembali menggunakan teknik PCR dan restriksi endonuklease.

Hasil elektroforesis menunjukkan keberhasilan pemotongan fragmen promotor sintetik pSSPM2 yang ditandai dengan munculnya pita DNA berukuran 184 bp. Elektroforesis hasil PCR ligasi juga menunjukkan hasil yang positif dengan terdeteksinya pita DNA berukuran 507 bp. Transformasi dan kloning plasmid rekombinan pET-28a(+):*ansB*:pSSPM2 selanjutnya dikonfirmasi melalui analisis PCR dan restriksi.

Penelitian ini menyimpulkan bahwa inseri promotor sintetik pSSPM2 ke dalam plasmid rekombinan pET-28a(+):*ansB*, serta transformasi plasmid rekombinan pET-28a(+):*ansB*:pSSPM2 ke dalam bakteri *E. coli* BL21, telah berhasil dilakukan. Penggunaan promotor sintetik pSSPM2 diharapkan mampu meningkatkan ekspresi gen *ansB* secara lebih optimal dibandingkan promotor T7 yang terdapat pada plasmid pET-28a(+).

Kata kunci : L-asparaginase II, ALL, pET-28a+, Kloning, promotor sintetik pSSPM2, *E.coli* BL21