

ABSTRAK

Wardah Kamilia Zulfa. 24020120130123. Kloning, Ekspresi, dan Purifikasi Protein Rekombinan L-Asparaginase dari Isolat Bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus*. Di bawah bimbingan Wijanarka dan Fina Amreta Laksmi.

L-asparaginase, yang diklasifikasikan pada EC 3.5.1.1, adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia. Enzim ini berperan dalam industri pangan karena dapat mengurangi pembentukan akrilamida, serta dalam industri farmasi untuk sifat antitumornya, khususnya dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut (ALL). Berdasarkan studi pendahuluan yang dilakukan dengan metode *genom mining*, didapatkan fakta bahwasanya gen Asparaginase juga dapat ditemukan pada strain bakteri *Arthrobacter psychrolactophilus*. Pada penelitian ini, dilakukan kloning menggunakan In-Fusion® HD Cloning Kit, dilanjutkan dengan tahapan ekspresi menggunakan bakteri *Escherichia coli* BL21 Star (DE3) sebagai *host* ekspresi dan pET28a(+) sebagai vektor ekspresi dengan induksi Isopropil- β -D-tiogalaktopiranosid (IPTG) pada suhu inkubasi 18 °C. Selanjutnya, L-Asn dipurifikasi dengan metode *Immobilized Metal Affinity Chromatography* (IMAC). Berdasarkan pengujian menggunakan metode PCR, panjang gen target sesuai dengan analisis in-silico yaitu 972 bp, tahapan kloning berhasil dilakukan ditandai dengan fragmen pET28a(+).ApL-Asn yang menunjukkan ukuran 1257 bp. Hasil ekspresi dan purifikasi dikonfirmasi menggunakan metode SDS-Page dengan munculnya single band dan diketahui berat molekul monomer enzim ialah 35,72 kDa. Selain itu, jumlah total protein murni yang didapatkan dalam sekali produksi (500 mL) ialah 336,26 mg untuk sampel *crude* enzim dan 12,24 mg untuk sampel hasil purifikasi IMAC.

Kata Kunci: Isopropil- β -D-tiogalaktopiranosid (IPTG), *Immobilized Metal Affinity Chromatography* (IMAC), *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-Page), *Escherichia coli* BL21 Star (DE3), pET28a(+).ApL-Asn