UNIVERSITAS
GADJAH MADA
ISOLASI, KLONING, DAN EKSPRESI OPEN READING FRAME (ORF) L-ASPARAGINASE DARI BAKTERI GRAM POSITIF
Qurata A'yun Dyah Palupi, M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D., Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si., D
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

INTISARI

L-asparaginase merupakan enzim yang secara spesifik mengkatalisis hidrolisis asam amino L-asparagin menjadi asam L-aspartat dan amonia. Enzim ini dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan sebagai agen terapi *acute lymphoblastic leukemia* (ALL). Namun, L-asparaginase komersial umumnya memiliki aktivitas katalitik ganda, yaitu juga mampu menghidrolisis L-glutamin. Aktivitas glutaminase tersebut dapat menimbulkan efek samping sehingga diperlukan pencarian sumber alternatif L-asparaginase yang memiliki aktivitas glutaminase rendah atau tidak memiliki aktivitas terhadap glutamin sama sekali. Pada penelitian ini, telah berhasil dilakukan isolasi, kloning dan karakterisasi parsial terhadap L-asparaginase dari bakteri Gram positif. Hasil yang didapatkan adalah tiga *open reading frame* (ORF) L-asparaginase dari bakteri *Priestia megaterium* PSA10 yaitu AspI, AspII dan AspI.II serta satu ORF L-asparaginase *Planococcus* sp. JS01 yaitu AspPlano yang telah berhasil terkloning pada plasmid pET28a(+). AspI dan AspPlano telah berhasil diekspresikan di *E. coli* BL21(DE3) dengan kelarutan masing-masing sekitar 40% dan 60%. AspII dan AspI.II belum berhasil terekspresi pada sistem ekspresi *E. coli* BL21(DE3). AspPlano telah dianalisis aktivitasnya dan diketahui memiliki aktivitas spesifik terhadap L-asparagin dan L-glutamin masing-masing sebesar 14.8U/mg dan 0.08U/mg. Hasil penelitian yang diperoleh ini menunjukkan bahwa L-asparaginase rekombinan dari bakteri Gram positif, terutama L-aspPlano, berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif terapi dengan efek samping yang rendah.

Kata kunci: *Acute Lymphoblastic Leukemia,* L-Asparagine, L-Asparaginase, *Priestia megaterium* PSA10, *Planococcus sp.* JS01.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
ISOLASI, KLONING, DAN EKSPRESI OPEN READING FRAME (ORF) L-ASPARAGINASE DARI BAKTERI GRAM POSITIF
Qurata A'yun Dyah Palupi, M. Saifur Rohman, S.P., M.Si., M.Eng., Ph.D., Dr. Dini Wahyu Kartika Sari, S.Pi., M.Si., D
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

L-asparaginase is an enzyme that specifically catalyzes the hydrolysis of the amino acid L-asparagine into L-aspartic acid and ammonia. This enzyme has been widely utilized in the medical field as a therapeutic agent for acute lymphoblastic leukemia (ALL). However, commercially available L-asparaginases generally exhibit dual catalytic activity by also hydrolyzing L-glutamine. This glutaminase activity may cause adverse side effects, thereby necessitating the search for alternative L-asparaginases with low or no glutaminase activity. In this study, the isolation, cloning and partial characterization of L-asparaginase from Gram positive bacteria were successfully carried out. The results showed that three L-asparaginase open reading frames (ORFs) from *Priestia megaterium* PSA10, namely AspI, AspII and AspI.II, as well as one L-asparaginase ORF from *Planococcus* sp. JS01, namely AspPlano, were successfully cloned into the pET28a(+) plasmid. AspI and AspPlano were successfully expressed in *Escherichia coli* BL21(DE3) with solubility levels of approximately 40% and 60%, respectively. Meanwhile, AspII and AspI.II were not successfully expressed in the *E. coli* BL21(DE3) expression system. Activity analysis of AspPlano revealed specific activities toward L-asparagine and L-glutamine of 14.8U/mg and 0.08U/mg, respectively. These findings indicate that recombinant L-asparaginase from Gram positive bacteria, particularly AspPlano, has the potential to be further developed as an alternative therapeutic agent with reduced side effects.

Keywords: *Acute Lymphoblastic Leukemia,* L-Asparagine, L-Asparaginase, *Priestia megaterium* PSA10, *Planococcus sp.* JS01.