

**KLONING GEN *carB Salmonella typhi*
MENGUNAKAN VEKTOR EKSPRESI pET-16b
DAN SEL INANG *E. coli* XL-10
PADA SUHU LIGASI 25°C 5 MENIT**

Fransisca Fortunata Yuwono., 2011

Pembimbing : (I) Ryanto Budiono, (II) Elisawati Wonohadi

ABSTRAK

Salmonella typhi telah diketahui sebagai bakteri patogen penyebab penyakit demam tifoid pada manusia. Pengetahuan mengenai mekanisme patogenesis bakteri tersebut pada tingkat molekulnya merupakan salah satu informasi yang penting dalam usaha menanggulangi penyakit ini. *Salmonella typhi* mempunyai gen-gen yang diduga memiliki kaitan yang erat dengan mekanisme infeksi demam tifoid pada manusia. Gen-gen tersebut adalah operon *carAB* terdiri dari gen *carA* dan gen *carB*. Untuk meneliti gen-gen *Salmonella typhi* yang terinduksi dan terekspresi pada manusia, dilakukan pendekatan melalui studi homologi gen. Studi tentang struktur dan fungsi gen *carA Salmonella typhi* telah berhasil dilaksanakan dan berhasil didapatkan produk hasil ekspresinya yaitu fusi protein *carA*. Gen *carB Salmonella typhi* sudah diketahui strukturnya dan telah berhasil diisolasi dan dikloning dengan menggunakan vektor pGemT yang kemudian ditransformasikan ke dalam sel inang *E. coli* XL-10. Selanjutnya, untuk melakukan studi fungsi gen *carB Salmonella typhi* dilakukan ekspresi dari gen *carB* untuk mendapatkan protein *carB* yang dilakukan dengan mengklon gen *carB* ke dalam vektor ekspresi pET-16b dan menggunakan sel inang *E. coli* BL21-DE3. Penelitian awal yang dilakukan adalah dengan mengkloning gen *carB Salmonella typhi* menggunakan vektor ekspresi pET-16b dan sel inang *E. coli* XL-10 yang nantinya akan ditransformasikan ke sel inang ekspresi *E. coli* BL21-DE3. Proses ligasi dilakukan dengan perbandingan vektor : *insert* 1 : 5 pada suhu inkubasi 25°C selama 5 menit dengan menggunakan enzim *Rapid DNA Ligation KIT*. Pada penelitian ini dihasilkan 107 koloni transforman, namun belum berhasil ditemukan koloni yang mengandung plasmid rekombinan pET-*carB*. Disarankan untuk melakukan pengulangan kloning gen *carB Salmonella typhi* dengan meningkatkan perbandingan antara vektor (pET-16b) dan gen insert (*carB*).

Kata kunci : Gen *carB Salmonella typhi*, kloning gen, vektor ekspresi pET-16b, *E. coli* XL-10