

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

Ovi Erta Ria Permata Sari, 2011

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

**ABSTRAK**

*Salmonella typhi* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi yang dikenal dengan nama penyakit tifus. Untuk mempelajari mekanisme patogenitas *S. typhi* pada manusia, Mekalanos et.al (1993) melakukan penelitian dan berhasil menemukan bahwa gen-gen pada bakteri *S. typhimurium* LT2 menyebabkan penyakit mirip demam tifoid pada mencit. Salah satu dari gen tersebut adalah gen *iviI* yang memiliki homologi dengan operon *carAB* *Escherichia coli* K12. Melalui pendekatan studi homologi tersebut, ditemukan struktur gen *carA* dan berhasil didapatkan produk hasil ekspresinya yaitu fusi protein *carA*. Gen *carB* yang saat itu sudah diketahui strukturnya telah berhasil diisolasi dari *Salmonella typhi* dan dikloning pada vektor pGem-T dengan sel inang *E. coli* XL-10. Untuk mempelajari fungsi dari gen *carB* dan mendapatkan protein *carB*, perlu dilakukan ekspresi dari gen *carB*. Usaha ekspresi dilakukan dengan mengkloning gen *carB* ke dalam vektor ekspresi pET-16b menggunakan sel inang *E. coli* BL21-DE3. Usaha kloning ini diawali dengan melakukan kloning gen *carB* pada vektor ekspresi pET-16b menggunakan sel inang *E. coli* XL-10, yang nantinya akan ditransformasikan ke dalam sel inang ekspresi *E. coli* BL21-DE3. Kloning dilakukan dengan cara meligasi vektor dan gen target pada suhu 16°C selama 5 menit. Pada penelitian ini, dari 101 koloni transforman yang tumbuh belum berhasil ditemukan koloni yang mengandung plasmid rekombinan pET-16b-*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