

Subkloning gen E dengue pada yeast Shuttle vector pyes2/CT dengan teknik ligasi in vitro

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20176559&lokasi=lokal>

Abstrak

Dengue dan berbagai manifestasi klinisnya telah menjadi masalah kesehatan masyarakat internasional yang utama. Penyakit ini mempengaruhi 2,5 hingga 3 milyar penduduk dunia terutama di daerah tropis, termasuk Indonesia. Salah satu permasalahan utama dalam penanganan dengue secara dini di Indonesia adalah mahalanya alat diagnostik dengue karena ketidakmampuan memproduksi secara lokal. Tujuan jangka panjang penelitian ini adalah memproduksi protein rekombinan untuk alat diagnostik dengue dengan menggunakan yeast sebagai sistem ekspresi. Sebagai penelitian awal, dilakukan subkloning gen pengkode protein E dengue pada yeast shuttle vector pYES2/CT dengan teknik ligasi in vitro. Vektor plasmid pYES2/CT dan fragmen gen E hasil amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) didigesti menggunakan enzim BamH I dan Not I. Proses ligasi menggunakan enzim T4 DNA ligase diharapkan menghasilkan kondisi ligasi yang directional. Transformasi dari hasil ligasi ke dalam inang *Escherichia coli* DH5α; menghasilkan 24 koloni mengandung kandidat plasmid rekombinan. Dua koloni telah diverifikasi dengan enzim restriksi, analisis elektroforesis gel, dan amplifikasi PCR. Hasil verifikasi menyimpulkan bahwa satu dari dua plasmid rekombinan yang dihasilkan mengandung gen E.