

Konstruksi vektor rekombinan pembawa gen penyandi gen bakteriosin 2 dari *Weissella confusa* MBF8-1 dengan metode kloning rekombinatorial = Construction of recombinant vector coding gene of bacteriocin 2 from *Weissella confusa* MBF8-1 by recombinatorial cloning methods

Theresa, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20413807&lokasi=lokal>

Abstrak

Bakteriosin merupakan senyawa peptida yang dihasilkan bakteri asam laktat yang berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan tingkat kekerabatan yang dekat. Bakteriosin 2 (bac2) dari *W. confusa* MBF8-1 dapat diamplifikasi dengan metode PCR dan dikloning dengan menggunakan sistem rekombinasi Gateway®. Sistem Gateway® memanfaatkan sistem rekombinasi spesifik bakteriofage lambda sehingga tidak diperlukan enzim restriksi dan ligasi. Metode Gateway® terdiri dari dua tahap, yaitu tahap pertama menggunakan primer spesifik gen bac2 yang ditambahkan penyangga dan tahap kedua menggunakan primer adapter yang juga ditambahkan penyangga dan sekuens Shine Dalgarno yang berfungsi sebagai situs pengikatan dalam proses translasi. Gen yang telah diamplifikasi disisipkan ke dalam vektor pDONR 221 menggunakan reaksi rekombinasi BP. Vektor rekombinan ditransformasi ke sel inang *Escherichia coli* DH5 yang telah dibuat kompeten dengan metode heat shock. Plasmid rekombinan dari koloni yang tumbuh di media LB agar dengan kanamisin diisolasi kemudian dianalisis dengan metode PCR dan sekuensing DNA. Hasil analisis menunjukkan bahwa gen bac2 dari *W. confusa* MBF8-1 berhasil disisipkan ke dalam vektor sehingga diperoleh plasmid pENT_Wcbac2.

Bacteriocins are peptide compounds produced by lactic acid bacteria that inhibit the growth of closely related bacteria. Bacteriocin 2 (bac2) from W. confusa MBF8-1 can be amplified by PCR method and cloned by recombinatorial Gateway® system. Gateway® system affects the specific recombination of bacteriophage lambda that does not require the presence of restriction enzyme and DNA ligase. Gateway® method consists of two steps, first step using bac2 specific primer added by tagged gene and second step using adaptor primer added by tagged gene and Shine Dalgarno sequences as ribosome binding site used for translation process. Amplified gene was inserted into pDONR 221 vector by BP recombination reaction. Recombinant vector was transformed by heat shock method into competent cell Escherichia coli DH5 host. Plasmid recombinant was isolated from colonies that grow in LB agar media with kanamycin, then analyzed by PCR and DNA sequencing method. The result showed that gene of bac2 from W. confusa MBF8-1 was successfully inserted into the vector named pENT_Wcbac2.