



V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Sekuens nukleotida lengkap gen *chi* dari *A. caviae* WS7b terdiri dari 2.937 pasang basa, yang mengandung suatu kerangka baca terbuka (*open reading frame*; ORF) sepanjang 2.595 nukleotida yang menyandikan 865 residu asam amino. Di dalam kerangka baca terbuka tersebut pada bagian hulu fragmen gen *chi* tidak ditemukan daerah promotor berupa sekuens konsensus -35 dan -10, tetapi terdapat sinyal inisiasi transkripsi berupa sekuens mirip sekuens pengikatan ribosom (*Shine-Dalgarno*), 5'-AGGA dibagian hulu kodon inisiasi translasi ATG. Pada bagian hilir terdapat tiga daerah yang mengandung sekuens ulangan terbalik yang potensial membentuk struktur *hairpin-loop* sebagai terminasi transkripsi yang tidak tergantung *rho* (*rho-independent terminator*) yang mendahului suatu sekuens TGA sebagai kodon terminasi.

Pembandingan data sekuens nukleotida dan residu asam amino gen *chi* WS7b dengan gen-gen kitinase yang terdapat dalam *database* menunjukkan kesamaan tertinggi dengan *chiA* dari *A. caviae* asal Israel, yaitu 98% sekuens nukleotida dan 97% sekuens residu asam amino, yang berasal dari daerah yang secara geografis sangat berjauhan.

Fusi transkripsi PKm^R-*chi* merupakan konstruksi *chi* di bawah promotor konstitutif yang kuat (PKm^R) dan belum pernah dilaporkan sebelumnya. Selama ini konstruksi fusi gen *chi* yang dilaporkan adalah di bawah *Ptac*. Ekspresi gen *chi* di

bawah promotor PKm^R (pAM330 dan pAM340) dan *Ptac* (pAM630) hasil penelitian ini menunjukkan ekspresi kitinolitik pada medium agar-agar kitin.

Fusi gen *chi* berhasil diintroduksi ke dalam *Pseudomonas fluorescens* dalam semua bentuk konstruksi plasmid rekombinan dan transposon yang dipakai dalam penelitian ini. Berdasarkan hasil analisis spektrofotometri aktivitas kitinase pada fraksi intraselular Pf (pAM630) (2.53 U/mg protein) dibandingkan dengan kontrol (0.84 U/mg protein) menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan fraksi ekstraselular, yang membuktikan bahwa sebagian besar kitinase masih terdapat di ruang periplasma atau sitoplasma.

Hasil penelitian ini dapat menjadi masukan penting dalam upaya penggunaan gen kitinase untuk pengembangan biokontrol atau untuk merakit tanaman transgenik dengan ekspresi kitinase asal bakteri. Selama ini gen kitinase yang dipakai umumnya berasal dari *Serratia marcescens*, yang hanya menampilkan kemiripan 73% sekuens asam amino turunan dengan produk kitinase dari gen *chi A. caviae* WS7b.

B. Saran.

Dari penelitian ini disarankan untuk melakukan uji antagonisme terhadap beberapa cendawan patogen tanaman untuk melihat kemampuan anticendawan hasil ekspresi gen kitinase yang bersifat konstitutif. Selain itu diperlukan pula pengujian ketahanan *P. fluorescens* yang telah mengalami introduksi gen asing, dan karakter-karakter yang berkaitan dengan kemampuannya sebagai biokontrol penyakit tumbuhan.



Untuk lebih melengkapi karakteristik gen *chi* WS7b beserta produk ekspresi fusi transkripsi, disarankan dilakukan analisa biokimia dan sekuensing asam amino produk kinasase. Untuk menentukan lokasi produk ekspresi fusi transkripsi gen *chi* WS7b, baik pada inang *E. coli* maupun *P. fluorescens*, disarankan dilakukan analisa selular.

Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.