

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Penelitian ini ditujukan untuk mengkloning gen *Chaperonin 60.1* yang nantinya diharapkan dapat diekspresikan menjadi vaksin untuk penyakit tuberkulosis yang baru.

Kondisi optimal PCR yang didapat untuk gen *Cpn 60.1* dengan menggunakan primer Chap 60.1-FWD dan Chap 60.1-REV dengan menggunakan kromosom *M. tuberculosis* sebagai cetakan adalah sebagai berikut : komposisi cetakan DNA 5 $\mu$ L dengan pengenceran 10x, primer Chap 60.1-FWD 30 pmol/ $\mu$ L sebanyak 1  $\mu$ L dan primer Chap 60.1-REV 30 pmol/ $\mu$ L sebanyak 1  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM 1  $\mu$ L, dNTP 10 mM 1  $\mu$ L, *Taq* DNA polymerase 5U/ $\mu$ L 0,5  $\mu$ L dilakukan pada proses amplifikasi dengan tahap denaturasi awal (94°C, 5 menit), denaturasi (94°C, 1 menit), *annealing* (52°C, 30 detik), *extension* (72°C, 2 menit) dilakukan sebanyak 30 siklus dan tahap *extension* akhir (72°C, 5 menit).

Pada tahap kloning, proses purifikasi DNA pada gel agarose dilakukan dengan cara memotong gel agarose yang mengandung fragmen DNA yang diinginkan, proses ligasi perbandingan antara vektor dengan DNA sisipan yang dipakai yaitu 1 : 1.5 dengan menggunakan pGEM-T *Easy Vector* sebagai vektor, dan pada proses transformasi digunakan *Eschericia coli* DH5 $\alpha$  sebagai sel kompeten. Dari hasil kloning tersebut didapatkan 7 koloni putih dan 24 koloni biru.

Dengan menggunakan metode lisis cepat didapatkan 2 koloni (koloni nomor 4 dan 6) yang berukuran lebih besar dari kontrol yang hanya berisi pGEM-T *Easy Vector* kosong. Diduga plasmid ini berisi DNA sisipan gen *Cpn 60.1*.

## 5.2 Saran

Penelitian ini dapat digunakan sebagai penelitian pendahuluan yang selanjutnya dapat diteruskan dengan dilakukan proses isolasi plasmid, pemotongan DNA sisipan menggunakan enzim restriksi, lalu dilakukan sekuensing untuk memastikan gen tersebut benar gen *Cpn 60.1*. Diharapkan hasil yang didapat benar gen *Cpn 60.1* sehingga bisa diteruskan kembali penelitiannya agar dapat digunakan sebagai vaksin baru untuk penyakit tuberkulosis.