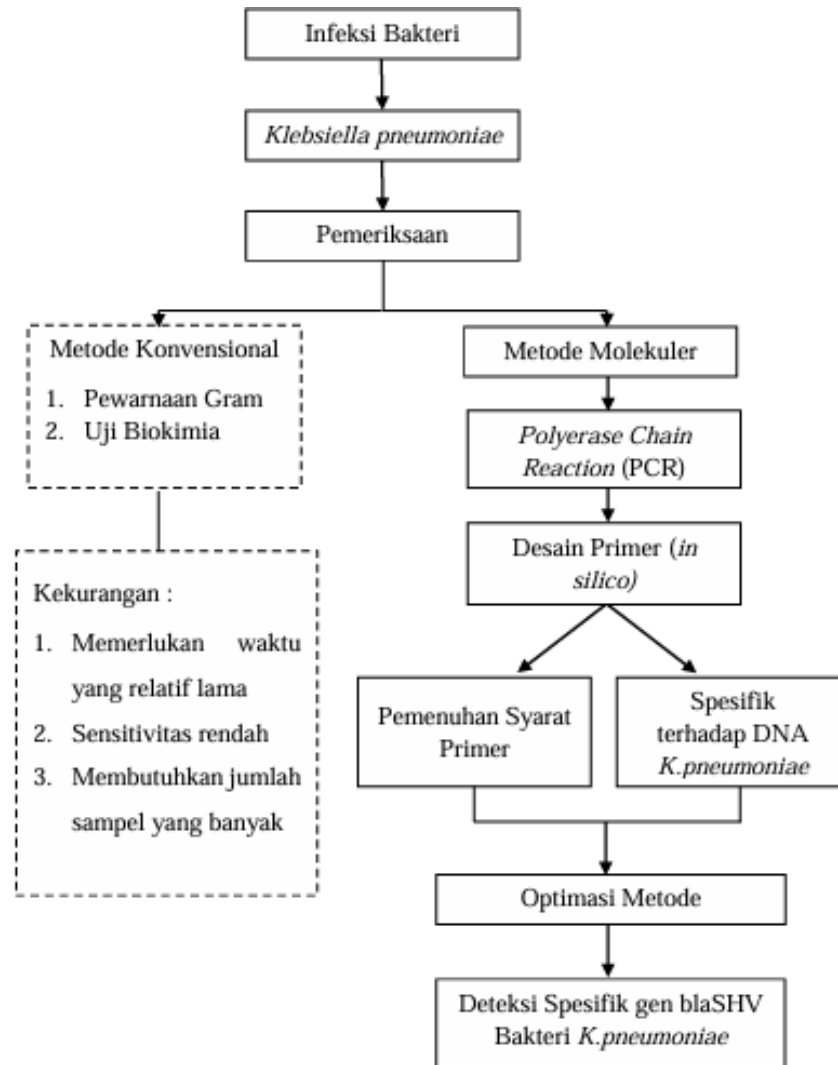


BAB III KERANGKA KONSEP

A. Kerangka Konsep



Keterangan :

————— : Diteliti

- - - - - : Tidak diteliti

Gambar 4 Kerangka Konsep Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep pada Gambar 4 di atas dapat dijelaskan bahwa infeksi bakteri dapat terjadi ketika mikroorganisme patogen masuk ke dalam tubuh dan berkembang biak, salah satunya adalah *Klebsiella pneumoniae* yang dikenal sebagai agen penyebab pneumonia, infeksi saluran kemih, serta infeksi nosokomial lainnya. Untuk memastikan keberadaan *Klebsiella pneumoniae*, diperlukan proses pemeriksaan yang dapat dilakukan melalui dua pendekatan, yaitu metode konvensional dan metode molekuler. Metode konvensional umumnya melibatkan kultur bakteri dan identifikasi fenotip, namun memiliki beberapa kekurangan seperti memerlukan waktu pemeriksaan yang relatif lama, sensitivitas yang rendah, serta membutuhkan jumlah sampel yang lebih banyak.

Sebagai solusi atas keterbatasan tersebut, digunakan metode molekuler, salah satunya melalui teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang mampu mendeteksi keberadaan bakteri berdasarkan informasi genetiknya. Sebelum PCR dilakukan, terlebih dahulu disusun desain primer secara *in silico* untuk memastikan bahwa primer memenuhi syarat dasar amplifikasi dan memiliki spesifisitas yang tinggi terhadap DNA *Klebsiella pneumoniae*. Desain primer ini melibatkan dua aspek penting, yaitu pemenuhan karakteristik ideal primer dan pengujian kesesuaiannya dengan sekuens DNA target sehingga tidak terjadi amplifikasi silang.

Setelah primer dinyatakan layak, dilakukan optimasi metode PCR untuk memperoleh kondisi amplifikasi yang paling efektif dan spesifik. Tahapan ini penting untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh benar-benar berasal dari DNA target. Melalui metode molekuler yang telah dioptimasi tersebut, pemeriksaan kemudian diarahkan pada deteksi spesifik gen *blaSHV*, yaitu gen yang berperan dalam mekanisme resistensi antibiotik pada *Klebsiella pneumoniae*.

B. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel penelitian

Variabel yang digunakan meliputi gen blaSHV, desain primer, dan optimasi metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

2. Definisi operasional

Definisi operasional variabel penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1
Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Skala Data
Gen blaSHV	Sekuen DNA blaSHV yang terdeteksi melalui amplifikasi PCR dengan primer spesifik, dinyatakan positif apabila pita DNA berpendar pada ukuran target yaitu 184 bp yang muncul konsisten pada saat pembacaan.	Menggunakan teknik PCR dengan pasangan primer yang spesifik	Nominal
Desain Primer	Pemilihan primer yang dianggap layak jika memenuhi syarat dasar (panjang, GC%, tidak ada dimer/hairpin) dan spesifik terhadap target berdasarkan uji <i>in silico</i> .	Kelayakan primer diuji melalui analisis <i>in silico</i> menggunakan berbagai <i>website</i> bioinformatika, NCBI, NetPrimer, dan Benchling.	Nominal
Optimasi metode <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).	Penentuan kondisi reaksi terbaik untuk memastikan primer dapat mendeteksi gen blaSHV bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> secara spesifik menggunakan primer spesifik	Melakukan 2 kali penetapan ulang atau penyesuaian terhadap komponen reaksi PCR, khususnya pada suhu <i>annealing</i> (Ta).	Nominal