

BAB VI SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perancangan primer gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode *in silico* melalui NCBI Primer-BLAST berhasil menghasilkan 10 pasangan kandidat primer yang memenuhi syarat dasar desain primer, meliputi panjang 20 bp, suhu leleh (T_m) pada kisaran 59,40–60,53°C, serta kandungan GC sebesar 50–60%, sehingga menunjukkan bahwa primer memiliki keseimbangan antara spesifisitas dan efisiensi amplifikasi.
2. Hasil analisis struktur sekunder menggunakan NetPrimer dan validasi menggunakan Benchling menunjukkan bahwa pasangan primer nomor 10 merupakan kandidat terbaik karena memiliki stabilitas yang optimal, tidak membentuk hairpin ($\Delta G = 0$ kcal/mol), memiliki nilai self-dimer dalam batas toleransi, serta memenuhi seluruh parameter desain primer yang ideal.
3. Pasangan primer terbaik yang diperoleh adalah primer forward 5'-TGTCGCTTCTTTACTCGCCT-3' dan primer reverse 5'-TCTATCATGCCTACGCTGCC-3', yang menghasilkan ukuran ampikon sebesar 184 bp dan telah terbukti memiliki spesifisitas tinggi berdasarkan hasil uji BLAST dengan tingkat kesamaan 100% terhadap gen blaSHV pada *Klebsiella pneumoniae*.
4. Hasil ekstraksi DNA menunjukkan kualitas dan kuantitas DNA yang baik, dengan pita DNA yang jelas pada elektroforesis serta nilai kemurnian NanoDrop ($A_{260}/A_{280} = 1,93$), sehingga layak digunakan sebagai template

dalam proses PCR. Optimasi PCR menunjukkan bahwa suhu *annealing* optimal berada pada 59,1°C karena menghasilkan pita DNA paling tajam dan spesifik.

5. Hasil identifikasi gen blaSHV menunjukkan bahwa amplifikasi DNA hanya terjadi pada sampel *Klebsiella pneumoniae* dan tidak terjadi pada *Escherichia coli*, sehingga membuktikan bahwa primer yang dirancang memiliki spesifisitas tinggi dan sesuai dengan hasil analisis *in silico*, serta berpotensi digunakan dalam deteksi molekuler bakteri penghasil ESBL.

B. Saran

Penelitian ini merupakan tahap awal yang berfokus pada perancangan primer serta optimasi reaksi PCR dalam deteksi gen blaSHV pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Oleh karena itu, penelitian ini masih perlu dilanjutkan untuk memperoleh metode pemeriksaan yang lebih optimal dan aplikatif dalam mendeteksi gen blaSHV sebagai salah satu penanda resistensi antibiotik golongan β -laktam. Sebagai pengembangan dari penelitian ini, peneliti selanjutnya disarankan untuk mengaplikasikan metode PCR kuantitatif (qPCR) guna mengetahui jumlah relatif maupun absolut gen blaSHV yang terdeteksi secara real-time. Penggunaan metode ini diharapkan dapat meningkatkan sensitivitas serta memberikan informasi kuantitatif yang lebih akurat dalam analisis gen resistensi. Penelitian selanjutnya juga diharapkan dapat mengombinasikan deteksi gen blaSHV dengan gen ESBL lainnya, seperti blaTEM dan blaCTX-M, sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai pola resistensi antibiotik pada bakteri Gram-negatif.