

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Daerah konservatif gen 16s rRNA didapatkan dari *Leptospira meyeri* dengan nomor akses ANIL01000019 sepanjang 149 bp dari basa nomor 1113 hingga 1261.
2. Daerah konservatif gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Hardjo* didapatkan dari sekuens dengan nomor akses AY461905 sepanjang 157 bp dari basa nomor 2.677.645 hingga 2.677.801. Daerah konservatif gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Bataviae* didapatkan dari sekuens dengan nomor akses AY461903 sepanjang 143 bp dari basa nomor 2.684.650 hingga 2.684.792. Selanjutnya, daerah konservatif gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Pyrogenes* berasal dari sekuens dengan nomor akses CP186591 sepanjang 207 bp dari nomor 2.688.031 hingga 2.688.237.
3. Pada gen 16s rRNA *Leptospira meyeri* (Acc: ANIL01000019) didapatkan 10 kandidat primer yakni :
 - Pasangan Primer 1 (F: GCCTAAGATTGACGCTGAAA, R: ACGTTTAGGGCGTGGATTAC),
 - Pasangan Primer 2 (F: GCCTAAGATTGACGCTGAAAC, R: GGTAGACAACGTTTAGGGCG)
 - Pasangan Primer 3 (F: CCTAAGATTGACGCTGAAACA, R:CGTTTAGGGCGTGGATTAC)

- Pasangan Primer 4 (F: ATTGACGCTGAAACACGAA, R: CGTTAGGTTCGTTACTAGAGGA)
- Pasangan Primer 5 (F: AAGATTGACGCTGAAACACGA, R: TCCGTTAGGTTCGTTACTAGA)
- Pasangan Primer 6 (F:GGCCTAAGATTGACGCTGAAA, R:ACGTTTAGGGCGTGGATT)
- Pasangan Primer 7 (F: CCTAAGATTGACGCTGAAACAC, R: AACTGGTAGACAACGTTTAGG)
- Pasangan Primer 8 (F: CTAAGATTGACGCTGAAACAC, R: AGACAACGTTTAGGGCGT)
- Pasangan Primer 9 (F:CTAAGATTGACGCTGAAACACG, R: AGGTTCGTTACTAGAGGAGTT)
- Pasangan Primer 10 (F: GCTGGCCTAAGATTGACG, R: CGTTAGGTTCGTTACTAGAGG)

Pada gen lipL32 *Leptospira interrogans* serovar Hardjo (Acc : AY461905) didapatkan 10 kandidat primer yakni :

- Pasangan Primer 1 (F:GGATACGTAAAGCCAGGACA, R:ACGGCAGGAATCCAAACATA)
- Pasangan Primer 2 (F: TACGGATACGTAAAGCCAGG, R: TACGGCAGGAATCCAAACAT)
- Pasangan Primer 3 (F: GGACGGTTTAGTCGATGGAA, R:CTCCCATTTCAGCGATTACG)

- Pasangan Primer 4 (F: CTTCCCTACGGATCTGTGAT, R:CGGCAGGAATCCAAACATAG)
- Pasangan Primer 5 (F: TACGTAAAGCCAGGACAAGC, R:CGGCAGGAATCCAAACATAG)
- Pasangan Primer 6 (F:CCTACGGATCTGTGATCAACT, R:TTCCATCGACTAAACCGTCC)
- Pasangan Primer 7 (F: ACGGATACGTAAAGCCAGG, R: TTACGGCAGGAATCCAAACA)
- Pasangan Primer 8 (F: CGGATACGTAAAGCCAGGAC, R: GAACTCCCATTTCAGCGATT)
- Pasangan Primer 9 (F: CGGTTTAGTCGATGGAAACA, R: TACGAACTCCCATTTCAGCG)
- Pasangan Primer 10 (F: CGGATACGTAAAGCCAGGA, R: ATTACGGCAGGAATCCAAAC)

Pada gen lipL32 *Leptospira interrogans serovar Bataviae* (Acc : AY461903) didapatkan 10 kandidat primer yakni :

- Pasangan Primer 1 (F: TTTCGTTGCATCTGTTGGTC, R: AGGATTTGAGTGGATCAGCG)
- Pasangan Primer 2 (F: CTTTCGTTGCATCTGTTGGT, R: CAGGATTTGAGTGGATCAGC)
- Pasangan Primer 3 (F: CACTACCTACAAACCAGGTGA, R:AATACCTGGTGGGAAAAGCA)

- Pasangan Primer 4 (F: TCACTACCTACAAACCAGGTG, R: GAATACCTGGTGGGAAAAGC)
- Pasangan Primer 5 (F: CCTACAAACCAGGTGAAGTG, R: TGGAATACCTGGTGGGAAAA)
- Pasangan Primer 6 (F:TCTTTCGTTGCATCTGTTGG, R:ATTTGAGTGGATCAGCGGG)
- Pasangan Primer 7 (F: AACCAGGTGAAGTGAAAGGA, R: GGGCTCACACCTGGAATAC)
- Pasangan Primer 8 (F: ACCAGGTGAAGTGAAAGGAT, R: GCTCACACCTGGAATACCT)
- Pasangan Primer 9 (F: ACTACCTACAAACCAGGTGAA, R: ATACCTGGTGGGAAAAGCAG)
- Pasangan Primer 10 (F: TTCGTTGCATCTGTTGGTCT, R: GATTTGAGTGGATCAGCGGG)

Pada gen lipL32 *Leptospira interrogans* serovar Pyrogenes (Acc : CP186591) didapatkan 10 kandidat primer yakni :

- Pasangan Primer 1 (F: GCTCTTTTGTCTGAGCGAG, R: TGTCTGGCTTTACGTATCC)
- Pasangan Primer 2 (F: GGATACGTAAAGCCAGGACA, R: ACGGCAGGAATCCAAACATA)
- Pasangan Primer 3 (F: TACGGATACGTAAAGCCAGG, R:TACGGCAGGAATCCAAACAT)

- Pasangan Primer 4 (F: TCTTTTGTCTGAGCGAGGA, R: CTCCCATTTTCAGCGATTACG)
 - Pasangan Primer 5 (F: CTTTGTCTGAGCGAGGAC, R: CGGCAGGAATCCAAACATAG)
 - Pasangan Primer 6 (F:AAGCTCTTTTGTCTGAGCG, R:TTACGGCAGGAATCCAAACA)
 - Pasangan Primer 7 (F: GGACGGTTTAGTCGATGGAA, R: CATTTTCAGCGATTACGGCAG)
 - Pasangan Primer 8 (F: CTCTTTTGTCTGAGCGAGG, R: ATCACAGATCCGTAGGGAAG)
 - Pasangan Primer 9 (F: TTCTGAGCGAGGACACAATC, R: TACGAACTCCCATTTCAGCG)
 - Pasangan Primer 10 (F: GACACAATCCCAGGGACAAA, R: GTTTCCATCGACTAAACCGTC)
4. Analisis struktur sekunder menunjukkan primer terbaik dari masing-masing gen yakni Primer 3 Gen 16s rRNA *Leptospira meyeri* (Acc: ANIL01000019), Primer 4 Gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Hardjo* (Acc : AY461905), Primer 8 Gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Bataviae* (Acc : AY461903), dan Primer 9 Gen LipL32 *Leptospira interrogans serovar Pyrogenes* (Acc : CP186591).
5. Hasil uji komparabilitas primer menunjukkan nilai delta G terkecil yang terbentuk sebesar -1,49 kcal/mol sehingga kombinasi primer yang

dirancang memiliki kompatibilitas yang baik dan dapat digunakan secara bersamaan dalam reaksi *multiplex* PCR.

6. Hasil uji similiaritas menunjukkan primer yang digunakan terbukti memiliki spesifisitas yang baik sebagai metode deteksi molekuler awal.
7. Kombinasi primer yang dapat digunakan dalam *multiplex* PCR gen lipL32 dan 16S rRNA untuk deteksi serovar *Leptospira interrogans* di Indonesia yakni :

- Primer 3 *Leptospira meyeri* (Acc: ANIL01000019)
F: 5'-CCTAAGATTGACGCTGAAACA-3'
R: 5'-CGTTTAGGGCGTGGATTAC-3'
- Primer 4 *Leptospira interrogans* serovar Hardjo (Acc : AY461905)
F: 5'-CTTCCCTACGGATCTGTGAT-3'
R: 5'-CGGCAGGAATCCAAACATAG-3'
- Primer 8 *Leptospira interrogans* serovar Bataviae (Acc : CP186608)
F: 5'-ACCAGGTGAAGTGAAAGGAT-3'
R: 5'-GCTCACACCTGGAATACCT-3'
- Primer 9 *Leptospira interrogans* serovar Pyrogenes (Acc : CP186591)
F: 5'-TTCTGAGCGAGGACACAATC-3'
R: 5'-TACGAACTCCCATTTCAGCG-3'

B. Saran

Diperlukan uji secara *in vitro* di laboratorium untuk mengetahui kondisi yang sesuai dari primer yang telah dirancang serta memastikan bahwa primer dapat mengamplifikasi masing-masing serovar *Leptospira interrogans* dengan tepat. Selain itu, dapat dipertimbangkan penggunaan marker gen tambahan yang lebih variatif untuk meningkatkan kemampuan diskriminasi hingga tingkat *serovar* lainnya.