

Detection of *mecA* Gene As a Marker for *Staphylococcus aureus* Types of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Using PCR Technique

Monica Ayu Retno Sari¹, Muhammad Taufiq Qurrohman^{1*}, Vector Stephen Dewangga¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Medical Laboratory Technology Department, Sukoharjo, Indonesia;

Article History

Received : Agustus 28th, 2024

Revised : September 19th, 2024

Accepted : October 01th, 2024

*Corresponding Author:

Muhammad Taufiq Qurrohman,

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Medical Laboratory Department, Sukoharjo, Indonesia; Email:

m.taufiqqurrohman@stikesnas.ac.id

Abstract: *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacterium responsible for various infections, showing strong resistance to β -lactam antibiotics due to the *mecA* gene, which encodes Penicillin-Binding Protein 2A (PBP2A). This resistance contributes to the emergence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), posing significant challenges in clinical settings. Detecting the *mecA* gene is crucial for identifying MRSA and guiding appropriate treatments. This study aimed to detect the *mecA* gene in clinical pus samples from patients with MRSA infections in hospitals in Surakarta. A qualitative descriptive design was used. DNA was isolated from 12 clinical pus samples, and the *mecA* gene was detected using Polymerase Chain Reaction (PCR). Gel electrophoresis visualized the amplified DNA bands, and results were analyzed based on comparison with positive and negative controls and a DNA ladder. The results showed positive amplification of the *mecA* gene in all clinical samples, with clear DNA bands at 571 base pairs. One sample (SP1) and the positive control exhibited weaker bands, but the presence of the *mecA* gene was confirmed in all cases. The study concluded that all clinical samples were positive for the *mecA* gene, indicating the presence of MRSA. PCR proved to be an effective tool for detecting the *mecA* gene in clinical samples and is valuable for identifying MRSA in healthcare settings.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, *mecA*, PCR

Pendahuluan

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat atau oval dan memiliki diameter 0,8-0,9 mm. Bakteri ini termasuk dalam bakteri non motil dan non spora. *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan gram adalah gram positif dan bergerombol seperti buah anggur bila diamati dibawah mikroskop. Koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning karena adanya pigmen *staphyloxanthin* yang berperan sebagai faktor virulensi. Pada *Manitol Salt Agar* (MSA) fermentasi manitol oleh *Staphylococcus aureus* menghasilkan produk yang bersifat asam. Menurunnya pH medium menyebabkan indikator pH, merah fenol, berubah menjadi kuning (Soedarto, 2015).

Staphylococcus aureus tersebar luas di alam serta ada yang hidup sebagai flora normal pada manusia yang berada di kelenjar getah

bening ketiak, daerah inguinal dan perinatal dan lubang hidung (nares) bagian anterior. Sekitar 25 hingga 30% populasi manusia membawa *Staphylococcus aureus* di dalam rongga hidung dan pada kulit mereka (Soedarto, 2015).

Penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* meliputi: jerawat, bisul, bintil, impetigo, pneumonia, osteomielitis, karditis, meningitis dan artritis. Sejumlah besar penyakit tersebut bersifat piogenic (membentuk nanah). Bakteri *Staphylococcus aureus* membentuk berbagai faktor virulensi yaitu : *cytolytic toxin* (leukosidin, α -toksin, β -toksin, γ -toksin dan δ -toksin), superantigen toxin (sindrom syok toksin, eksfoliasi A toksin & eksfoliasi B toksin serta enterotoksin A, B, C, D, E) dan faktor virulensi enzimatis koagulase. Faktor virulensi leukosidin toksin menjadi protein

penghancur sel darah putih sehingga bertanggungjawab atas pembentukan nanah. Sedangkan faktor virulensi enzimatis koagulase menyebabkan sel imun inang sulit mencapai bakteri dalam fagositosis (Soedarto, 2015; Madigan *et al.*, 2014).

Bakteri *Staphylococcus aureus* ini memiliki kemampuan adaptif yang tinggi, sehingga berpengaruh besar terhadap dunia medis karena mengakibatkan terapi infeksi menjadi kurang efektif. Resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap beberapa antibiotik yang semakin meningkat menjadi suatu masalah penting di dunia kesehatan seluruh dunia, karena hal ini akan memicu timbulnya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* yang dikenal dengan MRSA (Chen & Huang, 2020).

Antibiotik adalah obat dalam dunia medis yang digunakan untuk membunuh bakteri. Tujuan utama pengobatan antibiotik antara lain untuk mencegah perkembangbiakan bakteri (*bacteriostatic*) dan membunuh bakteri (*bactericidal*). Antibiotik diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok, antara lain β -laktam yaitu penisilin dan sefalosporin, tetrasiklin yaitu tetracycline HCL dan oxytetracycline, lincosamides yaitu clindamisin dan linkomisin, kuinolon yaitu ciprofloxacin, aminoglikosida yaitu amikacin dan gentamicin, oksazolidin yaitu linezolid dan silikoserin, makrolida yaitu erythromycin, antibiotik sulfa yaitu kotrimoksazol, dan peptida siklik yaitu daptomycin. Antibiotik bekerja dengan menghambat proses-proses penting seperti sintesis dinding sel bakteri, sintesis asam folat, sintesis protein, serta sintesis DNA (Muntasir *et al.*, 2021).

Infeksi *Staphylococcus aureus* biasanya ditangani dengan antibiotik golongan penisilin, namun pada kasus infeksi yang lebih parah, bakteri ini dapat mengembangkan resistensi terhadap penisilin. Seiring perkembangannya dari pertama kali ditemukannya bentuk semisintetik antibiotik penisilin yang disebut *Methicillin*, *Staphylococcus aureus* mengalami resistensi terhadap methicillin, yang dikenal sebagai *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Noorhamdani, 2016). MRSA adalah tipe resistensi pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang tidak lagi efektif

diatasi dengan antibiotik methicillin, serta obat-obatan lain dalam kelompok yang sama seperti penisilin, amoxicillin, dan oxacillin (Soedarto, 2015).

PCR merupakan suatu proses secara *in vitro* untuk melakukan teknik sintesis dan amplifikasi atau memperbanyak DNA. Teknik ini digunakan untuk amplifikasi bagian dari DNA dalam jumlah jutaan kali dengan waktu beberapa jam. Komponen yang diperlukan dalam reaksi PCR meliputi DNA template, sepasang primer forward dan reverse (oligonukleotida pendek yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA template), Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs), buffer PCR, magnesium klorida (MgCl₂), dan enzim Taq DNA polymerase (Sasmito *et al.*, 2014). Sebagian besar resistensi *Staphylococcus aureus* terjadi akibat produksi protein pengikat penisilin tambahan, yang disandi oleh gen *mecA*. Gen *mecA* merupakan gen yang menjadi faktor munculnya *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Jawetz *et al.*, 2014). Gen *mecA* merupakan pengkode protein pengikat penisilin 2'(2a) atau Penicillin Binding protein (PBP2/PBP2a) berafinitas rendah yang ditemukan di dalam dinding sel organisme. Hal ini menimbulkan resistensi terhadap semua penisilin, sefalosporin dan karbapenem (Prasetio *et al.*, 2017).

Gen tersebut dapat dideteksi melalui metode hibridasi asam nukleat dan metode amplifikasi DNA, seperti reaksi rantai polymerase yaitu gen yang menyandikan resistansi methicillin pada galur *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Jawetz *et al.*, 2014). Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan gen *mecA* sebagai penanda keberadaan *Staphylococcus aureus* jenis MRSA dari sampel isolat dan swab pus yang sudah positif *Staphylococcus aureus* jenis MRSA pada penderita luka infeksi yang berasal dari dua Rumah Sakit di kota Surakarta.

Bahan dan Metode

Ethical Clearance

Penelitian telah mendapat izin etik dari KEPK-Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan nomor registrasi KEPK/UMP/36/II/2024.

Jenis penelitian

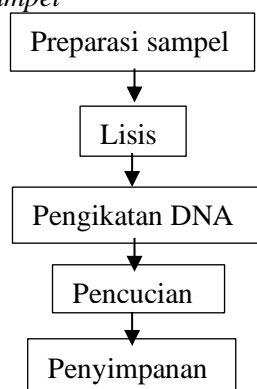
Desain dari penelitian ini yaitu secara deskriptif kualitatif. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data ilmiah tentang keberadaan gen *mecA* dari sampel isolat klinis dan swab pus positif *Staphylococcus aureus* golongan MRSA yang berasal dari Rumah Sakit di kota Surakarta menggunakan metode PCR. Pengambilan sampel dilakukan di dua lokasi yang berbeda, yaitu dua Rumah Sakit di kota Surakarta dan analisis molekuler dilaksanakan bertempat di laboratorium mikrobiologi dan biologi molekuler milik Program Studi STr TLM Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Jl. Raya Solo – Baki, Kwarasan, Kecamatan Grogol, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah.

Alat dan bahan

Penelitian ini memerlukan alat diantaranya yaitu: BSC kelas 2, Bio-rad Wide Mini-Sub Cell GT Systems, Bio-rad PowerPac™ Basic Power Supply, Bio-Rad PCR Thermal Cycler Machine T100™, Bio-rad UV Transilluminator Gel Doc™ EZ dan alat-alat lainnya yang biasa digunakan dalam laboratorium biologi molekuler atau bakteriologi. Bahan yang ada dalam penelitian ini yaitu: sampel klinis pus (isolat dan swab) positif *Staphylococcus aureus* jenis MRSA, isolat *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC BAA1026, media penyubur KPD, NaCl 0,9%, alkohol 70 %, aquabidest, kit isolasi bakteri Mini gDNA Presto™, pelarut TBE 1X× (Tris-borate-EDTA), NFW (Nuclease Free Water), serbuk agarose, loading dye, gel red, primer forward, primer reverse, 100 bp DNA marker dan MasterMix.

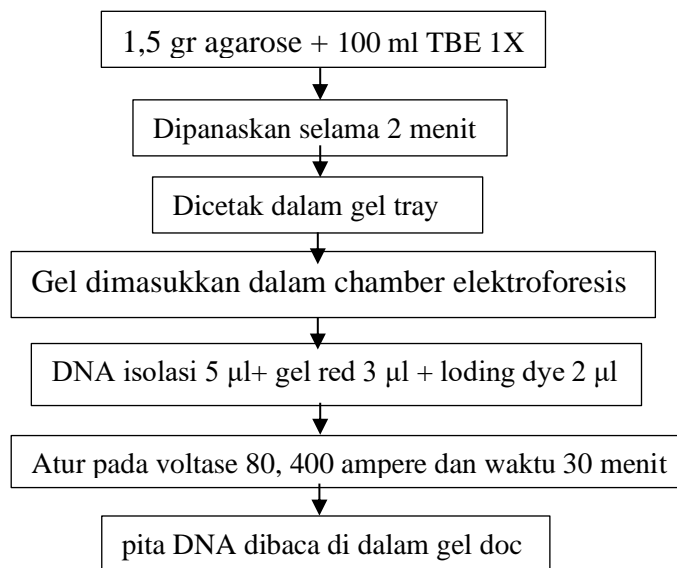
Cara kerja

Isolasi DNA sampel



Gambar 1. (Geneaid Biotech Taiwan, 2017).

Uji kualitatif



Gambar 2. (Maharani, 2023)

Proses PCR

Isolat DNA dicairkan pada suhu ruang dihomogenisasi dengan vortex mixer kemudian dipipet ke dalam PCR tube menggunakan mikropipet sebanyak 12 µl Master Mix (Enzim Taq Polymerase), 5 µl DNA isolat, 2 µl primer forward gen *mecA* [5'CCCGTGGATTAGTCGTGAA 3'] dan 2 µl primer reverse gen *mecA* [5'ACTTCTGTTCTGTCTGTTGGA 3'], serta 7 µl NFW, jumlah keseluruhan campuran sebanyak 28 µl. Kemudian lakukan program PCR bersama dengan kontrol positif dan kontrol negatif menggunakan suhu yang sesuai (Maharani, 2023).

Tabel 1. Suhu PCR yang digunakan

No	Tahapan	Suhu	Waktu
1.	Pre-Denaturasi	95°C	3 menit
2.	Denaturasi	95°C	30 detik
3.	Annealing	49°C	30 detik
4.	Ekstensi	72°C	1 menit
5.	Final Ekstensi	72°C	5 menit
6.	Hold	4°C	∞

(Sumber: Maharani, 2023)

Visualisasi hasil PCR

Hasil PCR amplifikasi DNA dilakukan elektroforesis gel agarose yang dibandingkan dengan DNA ladder pada 80 volt, 400 ampere,

selama 90 menit. Dalam pembacaan pita atau band DNA dilakukan visualisasi menggunakan alat Bio-Rad UV Transilluminator Gel Doc™ EZ (Maharani, 2023).

Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji Kualitatif

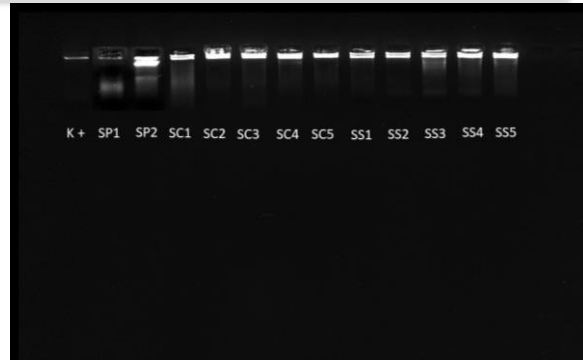
Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan pada 5 Februari 2024 sampai dengan 10 Februari 2024. Sampel yang dianalisa sebanyak 12 sampel, dengan teknik sampling penelitian *Purposive Sampling*. Penelitian ini menggunakan 3 jenis sampel klinis pus yang didapat sesuai dengan tabel berikut:

Tabel 2. Jenis sampel yang didapat

No	Jenis Sampel	Media	Kode
1.	Isolat media padat	BAP	SP1
2.	Isolat media padat	BAP	SP2
3.	Isolat media cair	TSB	SC1
4.	Isolat media cair	TSB	SC2
5.	Isolat media cair	TSB	SC3
6.	Isolat media cair	TSB	SC4
7.	Isolat media cair	TSB	SC5
8.	Swab	AMIES	SS1
9.	Swab	AMIES	SS2
10.	Swab	AMIES	SS3
11.	Swab	AMIES	SS4
12.	Swab	AMIES	SS5

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2024)

Isolat DNA hasil ekstraksi dipipet sebanyak 5 µl ditambah gel red 3 µl dan loding dye 2 µl, ke dalam parafilm, homogenkan dengan mikropipet kemudian pipet dengan ukuran 10 µl masukkan dalam sumuran agarose. Setelah semua isolat DNA dimasukkan, tutup dengan tutup chamber. Alat elektroforesis diatur pada voltase 110, 400 ampere dan waktu 15 menit. Lalu gel agarose hasil elektroforesis dibaca di dalam gel doc.

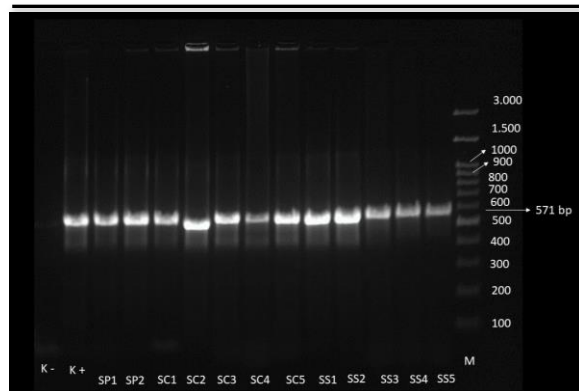


Gambar 3. Hasil uji kualitatif DNA

Hasil visualisasi gel agarosa pada uji kualitatif menunjukkan semua sampel berhasil diekstraksi, pada kontrol positif dan sampel kode SP1 menunjukkan adanya pita yang kurang tebal, hal tersebut terjadi karena untai DNA yang diisolasi dari sampel diperoleh sedikit. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh jumlah bakteri yang sedikit karena rusak maupun kesalahan pada saat proses isolasi. Namun hasil pita DNA yang tervisualisasi pada keseluruhan sampel menunjukkan adanya DNA bakteri *Staphylococcus aureus* yang terisolasi.

Hasil PCR gen *mecA*

Isolat DNA hasil PCR, kontrol positif dan kontrol negatif dipipet sebanyak 5 µl ditambah gel red 3 µl dan loding dye 2 µl, ke dalam parafilm, homogenkan dengan mikropipet kemudian pipet dengan ukuran 10 µl masukkan dalam sumuran agarose. Kemudian dilakukan elektroforesis gel agarose yang dibandingkan dengan DNA Ladder pada 90 volt, 400 ampere selama 90 menit. Hasil elektroforesis dilakukan visualisasi dengan instrument Biorad UV Transilluminator Gel Doc. Hasil PCR yang diperiksa pada penelitian ini secara keseluruhan muncul pita DNA yang menunjukkan hasil PCR positif terdeteksi gen *mecA* pada 571 bp, dengan ditunjukkannya pita yang tebal dan jelas. Sehingga menunjukkan sampel klinis pus terdapat gen *mecA* sebagai penanda MRSA.



Gambar 4. Hasil visualisasi DNA hasil PCR

Pembahasan

Hasil visualisasi PCR pada penelitian ini menunjukkan 12 sampel isolat pus teramplifikasi sesuai dengan target base pair yaitu pada 571 bp. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian (Maharani, 2023) pada hasil primer 1 (forward : 5' CCCGTGGATTTAGTCGTGAA 3' dan reverse : 5' ACTTCTGTTCTGTCTGTTGGA 3') dengan suhu annealing 48,7°C (49°C) (Maharani, 2023). Primer tersebut sudah dilakukan Primer BLAST di website NCBI dan teramplifikasi pada 571 bp. DNA Marker/Ladder yang digunakan yaitu Geneaid DNA Ladder dengan ukuran 100 bp–3000 bp. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh data ilmiah tentang keberadaan gen *mecA* dari sampel klinis pus positif *Staphylococcus aureus* golongan MRSA yang berasal dari Rumah Sakit di kota Surakarta.

Visualisasi hasil PCR menunjukkan adanya primer dimer yang teramplifikasi di bawah 100 bp, yang kemungkinan besar terjadi karena jumlah primer lebih banyak daripada DNA template. Terdapat juga beberapa pita DNA yang menunjukkan adanya smear. Smear bisa disebabkan oleh adanya kontaminasi protein atau sisa larutan selama proses isolasi dan dapat terjadi juga karena isolat DNA yang sudah terdegradasi atau rusak pada saat proses isolasi (Herningtyas & Qurrohman, 2024; Khamim & Qurrohman, 2024; Mahadi *et al.*, 2021; Mulyani *et al.*, 2011).

Munculnya pita DNA yang relatif tebal dan cerah menunjukkan bahwa pasangan primer telah berhasil menempel secara spesifik pada sampel DNA sampel produk PCR dan Proses pemurnian berhasil memisahkan segmen DNA gen dari kontaminan seperti komponen PCR, protein, dan garam. Pita DNA yang relatif tipis dan kurang

terang menunjukkan bahwa konsentrasi DNA dalam larutan tidak terlalu tinggi. Kontrol aktif berfungsi untuk memastikan amplifikasi terjadi sesuai kondisi yang diharapkan. Tidak adanya pita DNA pada kontrol negatif menunjukkan bahwa komponen PCR tidak terkontaminasi (Nasution, 2017).

Hasil penelitian Arsih *et al.* (2019) yang menggunakan 3 sampel isolat klinis *Staphylococcus aureus* diperiksa dengan kultur bakteri, uji sensitivitas antibiotik dan uji konsentrasi isolat DNA sebelum akhirnya dilakukan PCR gen *mecA* menggunakan primer berbeda, hasil penelitian memiliki kesesuaian terhadap hasil uji kultur dan sensitivitas antibiotik dengan target base pair sebesar 500 bp. Pada penelitian di Iran yang menggunakan beragam jenis sampel klinis juga dilakukan kultur dan uji sensitivitas antibiotik terdapat 148 isolat positif *Staphylococcus aureus* jenis MRSA dari 345 sampel, sampel tersebut diperiksa dengan metode uji antibiotik cefoxitin dan uji molekuler PCR dengan gen *mecA*, hasil target amplifikasi gen *mecA* berada pada 147 bp (Alfatemi *et al.*, 2014).

Deteksi gen *mecA* menggunakan PCR ditunjukkan sebagai gold standar pada diagnosis MRSA (Tyasningsih *et al.*, 2022). Seluruh sampel klinis pus isolat dan swab sudah teridentifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* jenis MRSA secara mikrobiologi yaitu identifikasi bakteri dan uji sensitivitas antibiotik di fasilitas laboratorium mikrobiologi tempat sampel diambil. Untuk itu tidak diperlukan pemeriksaan tambahan seperti tahap identifikasi bakteri atau kultur dan uji kepekaan antibiotik.

Antibiotik seperti metisilin atau penisilin bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. *Staphylococcus aureus* berubah menjadi strain yang resisten terhadap metisilin (MRSA) dengan memasukkan elemen DNA besar berukuran 20 hingga 100 kb, yang dikenal sebagai *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCCmec). Resistensi terhadap MRSA disebabkan oleh bakteri ini dengan mutasi protein pengikat penisilin 2a (PBP2a atau PBP2') yang dikodekan oleh gen *mecA*. PBP adalah sekelompok enzim yang ditemukan pada membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengkatalisis reaksi transpeptidase untuk membentuk rantai peptidoglikan ikatan silang. Gen *mecA* terletak di kaset kromosom *Staphylococci* dan merupakan elemen transposon spesifik yang hanya ditemukan pada kelompok spesies *Staphylococcus*. Gen *mecA*

mengkode PBP2, yang diproduksi oleh dinding sel dan oleh karena itu memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik beta-laktam (Sugireng & Rosdarni, 2020; Al-Ruwaili, 2018).

Resistensi methicillin pada *Staphylococcus aureus* (MRSA) terjadi akibat perubahan atau mutasi genetik yang disebabkan oleh beberapa faktor: yang pertama karena faktor yang berhubungan dengan pasien, seperti kebiasaan penggunaan antibiotik yang tidak masuk akal dengan dosis yang tidak masuk akal, dan yang kedua dapat berasal dari infeksi dari orang lain, misalnya bakteri berpindah dari satu pasien ke pasien lain melalui kontak langsung atau melalui peralatan medis yang tidak steril. Penularannya juga bisa terjadi melalui udara atau melalui fumitur di dalam kamar, misalnya melalui pergerakan spreng. Faktor risiko terjadinya *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang resisten terhadap metisilin antara lain kebersihan lingkungan, jumlah penduduk, dan kebersihan diri. Faktor-faktor seperti riwayat medis, operasi, infeksi, penyakit menular, riwayat pengobatan, dan kondisi medis tertentu seperti sistem kekebalan yang lemah dapat mempengaruhi perkembangan resistensi (Ali Alghamdi *et al.*, 2023; Ali *et al.*, 2021; Elshabrawy *et al.*, 2017; Marciniak *et al.*, 2024).

Bakteri yang semula sensitif atau peka terhadap antibiotik berubah sifat genetiknya menjadi kurang peka (intermediate) atau tidak peka (resisten). Masalah ini terjadi karena bakteri mengadopsi unsur genetik seperti gen *mecA* yang memiliki sifat resistensi obat. Stimulasi antibakteri juga dapat menyebabkan fenomena ini selain mutasi genetik spontan. Patogenisitas *Staphylococcus aureus* jenis MRSA lebih besar dibandingkan *Staphylococcus aureus* karena resistensi antibiotiknya. Resistensi metisilin dapat menyebabkan penyakit parah pada infeksi MRSA. Bentuk serius dari infeksi MRSA adalah amputasi bagian tubuh. Amputasi dilakukan karena tingkat keparahan infeksi luka yang tidak lagi dapat diatasi dengan antibiotik secara efektif, untuk mencegah penyebaran bakteri ke organ lain (Risky *et al.*, 2019).

Kendala dalam penelitian ini adalah tidak adanya sampel pus atau nanah yang dapat diambil langsung maka dari itu peneliti menggunakan sampel pus yang sudah berbentuk isolat dan swab media transport amies, sehingga perlu menyesuaikan dengan prosedur kerja dari kit isolasi DNA yaitu memotong ujung tip dan diinkubasi

bersama reagen. Pada proses pengerjaannya dibutuhkan pula ketelitian tinggi dalam hal pipetting sampel dan proses elektroforesis gel agarosa dengan memperhatikan konsentrasi gel agarosa, penggunaan DNA marker, besarnya voltase serta lamanya waktu elektroforesis. Untuk peneliti selanjutnya diharapkan untuk memperhatikan proses pipetting sampel, besar suhu saat PCR, DNA ladder atau DNA marker yang digunakan, konsentrasi agarose, jumlah voltase dan waktu elektroforesis dalam meminimalisir kesalahan kerja. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan sampel klinis yang lebih beragam.

Kesimpulan

Kesimpulan hasil dari penelitian ini, bahwa seluruh sampel isolat klinis pus dan swab pus terdeteksi gen *mecA* penanda *Staphylococcus aureus* jenis Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan metode PCR.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis dan kepala laboratorium Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional atas fasilitas penelitian yang diberikan.

Referensi

- Alfatemi, S. M. H., Motamedifar, M., Hadi, N., & Saraie, H. S. E. (2014). Analysis of Virulence Genes Among *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(6). DOI: 10.5812/jjm.10741
- Ali Alghamdi, B., Al-Johani, I., Al-Shamrani, J. M., Musamed Alshamrani, H., Al-Otaibi, B. G., Almazmomi, K., & Yusnoraini Yusof, N. (2023). Antimicrobial resistance in methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(4), 103604. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103604>
- Ali, T., Basit, A., Karim, A. M., Lee, J. H., Jeon, J. H., Rehman, S. U., & Lee, S. H. (2021). Mutation-based antibiotic resistance mechanism in methicillin-resistant staphylococcus aureus clinical isolates.

- Pharmaceuticals*, 14(5), 1–11.
<https://doi.org/10.3390/ph14050420>
- Al-Ruwaili, M. A., (2018). The *coa*, *mec*, and *spa* Genes Diversity among *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* Strains from Health-care Workers and Patients. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 21(8), 1065-1074. DOI: 10.4103/njcp.njcp_301_17
- Arsih, S. N., Puspawati, N., & Rukmana, R. M., (2019). Deteksi *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada Pasien RSUD Dr. Moewardi Surakarta menggunakan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Biomedika*, 12(02), 175–186. DOI : <https://doi.org/10.31001/biomedika.v12i2.615>
- Chen, C.J. & Huang, Y.C. (2014) New Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Infection in Asia. *Clin Microbiol Infect*, 20:605-623
- Elshabrawy, W. O., Zaki, M. E., & Kamel, M. F. (2017). Genetic and phenotypic study of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* among patients and health care workers in mansoura university hospital, Egypt. *Iranian Journal of Microbiology*, 9(2), 82–88.
- Herningtyas, R. S., & Qurrohman, M. T. (2024). *Quality and quantity of Aspergillus niger DNA isolation using filter-based kit and cooling method*. 6(1), 1–8.
- Jawetz, Melnick, & Adelberg., (2014). *Mikrobiologi Kedokteran* (Edisi 23). Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Khamim, M. T. A., & Qurrohman, M. T. (2024). Comparison of DNA isolation of *Candida albicans* with filter-based kit and cooling methods. *International Journal of Health Science and Technology*, 5(2), 142–148. <https://doi.org/10.31101/ijhst.v5i2.3273>
- Mahadi, I., Zulfarina, & Anggraini, M. (2021). Using alternative buffer for DNA genomic isolation in forest trees. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*, 10(2), 117–130. <https://doi.org/10.18330/jwallacea.2021.v0110iss2pp117-130>
- Maharani, A. P. (2023). Desain Primer Secara In Silico untuk Amplifikasi Gen *mecA* Pada *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Skripsi*. Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta.
- Madigan, M. T., Martinko, John. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., & Stahl, D. A., (2019). *BROCK Biologi Mikroorganisme* Vol.5 Ed.14. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Marciniak, K., Tyczewska, A., & Grzywacz, K. (2024). Genetics of antibiotic resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Biotechnologia*, 105(2), 169–177. <https://doi.org/10.5114/bta.2024.139756>
- Mulyani, R., Sumantriyadi, S., Sari, L. P., Sari, Y. P., Mayasari, S., & Humairani, H., (2022). Peningkatan Produksi Ikan Konsumsi Berbasis Kearifan Lokal Dengan Teknologi Culture Based Fisheries(CBF) Di Ma Bahrul Ulum Mulasari, *Banyuasin.Jurnal Abdi Insani*,9(2), 590-597
- Muntasir, Abdulkadir, W. S., Harun, A. I., Tenda, P. E., Makkasau, Mulyadi, & Wonga, T. M. (2021). *Antibiotik dan Resistensi Antibiotik*. Yogyakarta: Rizmedia Pustaka Indonesia.
- Nasution G. S. (2017). Deteksi Gen Resisten *mecA* Pada Isolat Bakteri *Staphylococcus aureus* Yang Tergolong MRSA Dari Hasil Pemeriksaan VITEK 2 COMPACT. *Skripsi*. Program Pascasarjana Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara Medan
- Prasetyo, Barliana, & Melisa (2017). Article : Gen *mecA* sebagai Faktor Munculnya Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Farmaka*, 14(3), 53–61. DOI: <https://doi.org/10.24198/jf.v14i3.10715.g5053>
- Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit. Geneaid Biotech Ltd. Ver. 02. 10. 17.
- Risky, Y. T., Agrijanti, A., & Inayati, N. (2019). Uji Screening *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Menggunakan Antibiotik Cefoxitin (fox) 30 µg Pada Pasien Penderita Abses Gigi di Klinik BPJS Mataram. *Jurnal Analis*

- Medika Biosains (JAMBS)*, 6(2), 98-104.
DOI: <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i2.140>
- Roche (2006). FastStart PCR Master. Roche Diagnostics GmbH. Roche Applied Science 68298 Mannheim Germany.
- Sasmito, D. E. K., Kurniawan, R., & Muhimmah, I., (2014). Karakteristik Primer pada *Polymerase Chain Reaction (PCR)* untuk Sekuensing DNA : Mini Review. *Jurnal Teknik Informatika Medis*, 93–102.
- Soedarto (2015). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Sagung Seto.
- Sugireng, & Rosdarni (2020). Deteksi MRSA (Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum. *Jurnal UIN Alauddin*, 31–35. DOI: <https://doi.org/10.24252/psb.v6i1.15232>
- Tyasningsih, W., Ramandinianto, S. C., Ansharieta, R., Witaningrum, A. M., Permatasari, D. A., Wardhana, D. K., & Ugbo, E. N. (2022). Prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from raw milk in East Java, Indonesia. *Veterinary World*, 15(8), 2021. DOI: www.doi.org/10.14202/vetworld.2022.2021-2028