



Identifikasi Gen *mecA* pada *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*



**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Yang bertandatangan di bawah ini, saya :

Nama : Tatut Mindhumalid
NIM : G1C014039
Fakultas/Jurusan : FIKKES/DIV Analis Kesehatan
Jenis Penelitian : Skripsi
Judul : Identifikasi Gen *mecA* Pada *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*
Email : tatutmm@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk :

1. Memberikan hak bebas royalti kepada perpustakaan unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan.
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangakalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta.
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dab semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, 3 Oktober 2018

Yang Menyatakan



Tatut Mindhumalid

HALAMAN PERSETUJUAN

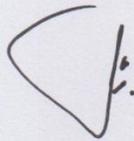
Manuscript dengan Judul

Identifikasi Gen *mecA* Pada *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasi

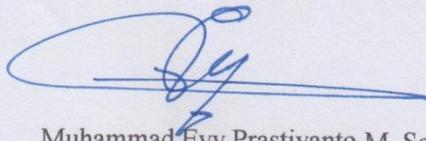
Semarang, 1 Oktober 2018

Pembimbing I



Dr. Sri Darmawati, M.Si
NIK. 28.6.1026.040

Pembimbing II



Muhammad Evy Prastiyantq M. Sc
NIK. 28.6.1026.297

Identifikasi Gen *mecA* pada *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*

Tatut Mindhumalid¹, Sri Darmawati^{2,3*}, Muhammad Evi Prastiyanto²

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas

Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah

Semarang

³Laboratorium Biologi Molekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah

Semarang

Info Artikel

Abstrak

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) disebabkan karena adanya gen penyandi resisten yaitu *mecA* yang terletak di dalam SCC*mec* dan menghasilkan PBP2a. Saat ini *methicillin* sudah tidak diproduksi secara komersil, sehingga penanganannya diganti menggunakan *oxacillin* yang masih satu golongan β -laktam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi adanya gen *mecA* pada MRSA. Metode yang digunakan adalah uji kepekaan *Oxacillin* disk dan deteksi adanya gen *mecA* menggunakan PCR terhadap 4 isolat *S. aureus* (Sa1, Sa2, Sa3 dan Sa4) yang berasal dari sampel klinis. Hasil penelitian menunjukkan dari 4 isolat *S. aureus*, 3 diantaranya yaitu Sa1, Sa2, dan Sa3 resisten terhadap *oxacillin* dan menunjukkan hasil positif adanya gen *mecA* dengan ukuran 533 bp. Sedangkan Sa4 sensitif terhadap *Oxacillin* dan menunjukkan hasil negatif adanya gen *mecA*. Dapat disimpulkan bahwa terdapat gen *mecA* pada MRSA.

Keywords

MRSA, Oxacillin, Gen *mecA*

Pendahuluan

Pemberian antibiotika merupakan cara penanganan yang umum untuk menangani penyakit infeksi. Setiap antibiotik memiliki perbedaan dalam cara kerjanya, diantaranya adalah dengan menghambat sintesis dinding sel, menghambat sintesis asam folat, menghambat sintesis protein dan menghambat sintesis DNA atau RNA (Sengupta, 2013). Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai prosedur menyebabkan bakteri menjadi resisten. Resistensi adalah ketidak mampuan antibiotika untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan pemberian pada kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh *host*. Beberapa strain bakteri mungkin saja resisten terhadap lebih dari satu antibiotik (Clark *et al.*, 2012).

Laporan WHO dalam *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* (2014) menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi terhadap antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh

Methicillin-resistance Staphylococcus aureus (MRSA). Kejadian infeksi di Eropa, terutama Portugal, Italia, Malta, Bulgaria, Siprus, Yunani, Spanyol, Turki, Irlandia dan Rumania, terhadap MRSA ini berkontribusi sebesar 44% terhadap terjadinya infeksi nosokomial (Kock R, 2010; Prasetyo, 2017). Di Indonesia, angka kejadian penyakit infeksi nosokomial pada tingkat layanan Rawat Inap Tingkat Lanjut sampai dengan Desember 2014 mencapai 148.703 kasus (Kemenkes RI 2015).

Infeksi *S. aureus* pertama kali diatasi dengan *penicillin*, namun lama kelamaan bakteri ini mengalami resistensi terhadap *penicillin* yang kemudian dapat diatasi dengan *methicillin*. Setelah beberapa tahun, ditemukan *S. aureus* menjadi resisten dengan *methicillin* (Yuwono, 2010). Menurut Gould (2009), Resistensi yang disebabkan oleh MRSA ini juga merupakan masalah yang serius karena bakteri ini menyebabkan resistensi berantai, terutama pada pemakaian antibiotik golongan lainnya seperti golongan karbapenem, kuinolon, dan aminoglikosida.

*Corresponding Author :

Sri Darmawati

Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: ciciekdarma@unimus.ac.id

Berdasarkan penelitian Onanuga dan Temedie (2011) di Amassoma, Nigeria sebanyak 31,7% orang dewasa sehat terdapat *S. aureus* dalam usus dengan persentase isolat terhadap berbagai antibiotik sebagai berikut : ampicilin 68,4%, doksisisiklin 60,5%, cefoxitin 34,2%, vankomisin 36,8%, eritromisin 34,2%, dan gentamisin 5,3%. Sedangkan 65,8% dari isolat tersebut tahan terhadap keenam antibiotik tersebut. Saat ini, *S. aureus* menjadi masalah yang serius karena meningkatnya resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik (Widinartasari, 2010).

Penyebab MRSA adalah adanya gen resisten *mecA* yang dimiliki oleh bakteri tersebut. Gen ini terletak di dalam kromosom *SCCmec* dari *S. aureus* dan dapat dideteksi dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Gen ini mengkode transpeptidase spesifik yang menyebabkan bakteri resisten terhadap *methicillin* dan juga menghasilkan *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP-2a) (Hiramatsu, 2014; Prasetio, 2017). Studi Pournajaf *et al.*, (2014) di Tehran, Iran membandingkan uji kepekaan *Oxacillin Disk* dengan identifikasi gen *mecA* menggunakan PCR. Didapatkan hasil sebanyak 133 (47.6%) dari 292 isolat *S. aureus* resisten terhadap *oxacillin* dan sebanyak 126 (45.1%) isolat memiliki gen *mecA* dengan ampikon sebesar 533 bp. Hal ini menunjukkan bahwa uji *oxacillin* dan identifikasi gen *mecA* memiliki hasil yang tidak jauh berbeda. *Oxacillin* digunakan karena secara kimia satu golongan dengan metisilin, lebih stabil, hasil uji antara *methicillin* dan *oxacillin* sama dan pada saat ini metisilin tidak lagi diproduksi secara komersial (Yuwono, 2012).

Pemeriksaan gen *mecA* dapat dijadikan metode untuk identifikasi *S. aureus* yang resisten terhadap metisilin karena proses identifikasinya lebih cepat dan memiliki hasil yang tidak jauh dengan uji *oxacillin* yang membutuhkan waktu lebih lama.

Bahan dan Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah PCR, dengan tahapan penelitian berupa uji *oxacillin disk*, isolasi DNA *S. aureus* dan identifikasi gen *mecA*.

1. Peremajaan dan Uji *Oxacillin Disk*

Isolat bakteri *S. aureus* dalam BHI *broth* ditanam pada media BAP diinkubasi semalaman pada suhu 37°C. Subkultur isolat *S. aureus* akan tumbuh berwarna kuning dan menghasilkan zona jernih disekitar koloni (β -hemolisa). Koloni diuji sifat bioloinya dengan uji katalase, oksidase, koagulase dan MSA. Setelah itu dimasukkan ke NaCl fisiologis sampai kekeruhan menyerupai standar McFarland 0,5%. Suspensi koloni tersebut dipipet 100 μ l kemudian diratakan pada media MHA. Ditunggu 10-15 menit, letakan *Oxacillin* setelahnya. Diinkubasi semalaman pada suhu 37°C.

2. Isolasi DNA *S. aureus*

Subkultur isolat *S. aureus* ditanam pada 15 ml BHI *broth*, inkubasi semalaman pada suhu 37°C. *Centrifuge* sebesar 12000rpm selama 10 menit 4°C. Supernatan dibuang, pellet ditambah 750 μ l buffer lysis divortex selama beberapa detik. Ditambahkan 20 μ l proteinase K, gojog kuat selama 15 menit dengan *stirrer*. Diinkubasi pada suhu 55°C selama 30 menit. *Centrifuge* dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan dipindahkan pada tabung ependorf 1,5 ml dan tambahkan phenol 700 μ l. Digojog pelan-pelan selama 30 menit. *Centrifuge* dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Lapisan paling atas (*aquos*) dipindahkan ke tabung ependrof, ditambahkan ethanol 96% dingin perbandingan 1:1. *Centrifuge* dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang, pellet dicuci dengan ethanol dingin 70%. *Centrifuge* lagi dengan kecepatan 12000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan dibuang, dan dibiarkan sampai mengering. TE ditambahkan 200 μ l untuk melarutkan DNA. Hasil isolasi DNA *S. aureus* dapat dilihat setelah dielektroforesis agarose 1%.

3. Identifikasi Gen *mecA*

Hasil isolasi diukur terlebih dahulu kemurniaannya. Setelah itu, 1 μ l DNA ditambahkan dengan nuclease free water dimasukkan sebanyak 7,5 μ l, ditambahkan 12,5 μ l taq polymerase kedalam microtube khusus

PCR. Primer forward dan primer reverse dimasukan masing-masing 2 µl. Microtube dimasukan kedalam PCR. Tahap denaturasi awal suhu yang dibutuhkan sebesar 95°C selama 6 menit dengan siklus sebanyak 35x, diikuti denaturasi temperatur 95°C selama 30 detik, *annealing* dengan temperatur 50°C selama 30 detik dan ekstensi dengan temperatur 72°C selama 2 menit. Tahap ekstensi akhir dilakukan pada temperatur 72°C selama 10 menit dan diakhiri dengan suhu 4 °C selama 6 menit. Hasil PCR dapat dilihat setelah dielektroforesis. Agarose 2%.

Hasil

Didapatkan 4 sampel bakteri berupa Isolat *S. aureus* dari sampel klinis dengan kode Sa1, Sa2, Sa3 dan Sa4 dan kontrol negatif yaitu *S. aureus* ATCC 25923. Hasil uji biokimia menunjukan bahwa isolat positif katalase, oksidase, kogulase dan MSA. Selanjutnya isolat *S. aureus* tersebut diuji kepekaannya dengan *Oxacillin* menggunakan media *Mueller Hilton Agar* (MHA). Terdapat 3 sampel yaitu Sa1, Sa2, dan Sa3 yang resisten terhadap *oxacillin* menunjukan sampel berupa MRSA. Hasil sebaliknya pada sampel Sa4 dan 25923 yang memiliki hasil sensitif terhadap *oxacillin* (Tabel 1). Sampel yang teridentifikasi sebagai MRSA dengan kode Sa1, Sa, dan Sa3 menunjukan hasil PCR

yang positif terhadap gen *mecA* dengan ukuran 533 bp (Gambar 1). Sedangkan sampel Sa4 menunjukan hasil negatif adanya gen *mecA*. Hasil lebih jelas dapat dilihat pada Tabel 1.

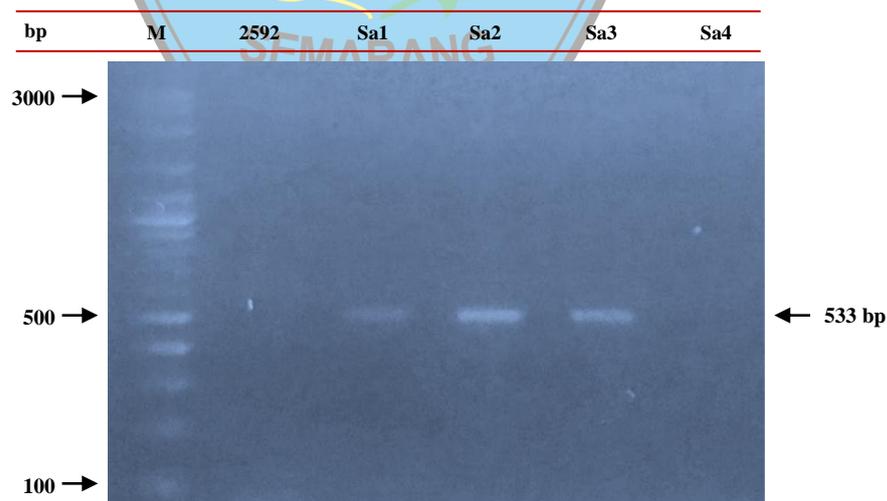
Tabel 1. Identifikasi Gen *mecA* pada MRSA

Sampel	<i>Oxacillin</i>	Gen <i>mecA</i>
MRSA (Sa1)	R	+
MRSA (Sa2)	R	+
MRSA (Sa3)	R	+
<i>S. aureus</i> (Sa4)	S	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	S	-

MRSA = *Methicillin-resistant S. aureus*, R = *Resistance*, S = *Sensitive*, + = Positif, - = Negatif

Pembahasan

Hasil PCR dan elektroforesis gel pada penelitian ini menunjukan terdapat 3 sampel MRSA yang positif, yaitu Sa1, Sa2 dan Sa3 ditandai dengan adanya band DNA pada ukuran 533 bp. Hasil didukung oleh penelitian yang dilakukan Pournajaf *et al.* (2014) dimana sebanyak 126 (94,7%) isolat memiliki gen *mecA* dengan ukuran 533 bp. Penelitian Ruban *et al.* (2017) juga menghasilkan gen *mecA* dari MRSA dengan ukuran 533 bp. Hasil serupa juga didapatkan pada penelitian Al-Ruaily dan Khalil (2011), terdapat 13



Gambar 1. PCR Gen *mecA* *Staphylococcus aureus*

Sumur 1: M = *Marker DNA Ladder* 100bp; sumur 2: 25923 = Kontrol Negatif *S. aureus* ATCC 25923; Sumur 3: Sa1, Sa2, dan Sa3 = Positif Gen *mecA* dengan ukuran 533 bp; Sumur : Sa4 = Negatif Gen *mecA*.

isolat *S. aureus* yang memiliki gen *mecA* dengan ukuran 532 bp. Hasil berbeda pada penelitian Elhassan *et al.* (2015) didapatkan 123 isolat *S. aureus*, sebanyak 111 (90,2%) isolat MRSA memiliki gen *mecA* dengan ukuran 310 bp. Sedangkan penelitian Khusnan (2016) didapatkan gen *mecA* pada MRSA dengan ukuran 258-300 bp. Penelitian oleh Yuwono (2011), didapatkan ukuran *basephare* yang rendah yaitu 147 bp. Perbedaan ukuran *basephare* disebabkan karena adanya perbedaan primer gen yang akan diamplifikasi.

Intensitas pita DNA hasil amplifikasi oleh setiap primer dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. DNA cetakan yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik, serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Weeden *et al.* 1992; Roslim, 2003; Langgadkk, 2012). Jumlah siklus juga mempengaruhi, apabila siklus terlalu sedikit produk akan rendah dan bila siklus terlalu banyak akan memunculkan smear pada latar belakang serta band yang tebal, sehingga menyulitkan pada saat melakukan skor band (Pharmawati, 2009).

Bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sebagai kontrol negatif menunjukkan pada dasarnya *S. aureus* tidak memiliki gen *mecA*. Sampel Sa4 juga sebagai kontrol negatif menunjukkan bahwa MSSA tidak memiliki gen *mecA*. Gen *mecA* dan SCC*mec* tidak ditemukan pada strain MSSA (Yuwono, 2011). Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui apakah saat mencampurkan mix reagen ke dalam sampel terdapat kontaminasi atau tidak. Kontrol negatif akan tetap negatif setelah pembacaan jika tidak terdapat kontaminasi. Hal ini menyatakan bahwa pengerjaan dari mix reagen berhasil dan hasil PCR dapat dipercaya (Kartikasari, 2008; Pranawaty dkk, 2012).

S. aureus pada awalnya mampu diatasi dengan antibiotik β -laktam. Antibiotik β -laktam mengikat *Penicillin Binding Protein* (PBP) yaitu suatu enzim peptidase membran yang mengkatalisis reaksi transpeptidasi pada proses sintesis dinding sel bakteri. Ikatan β -

laktam pada situs aktif serin mengakibatkan PBP tidak aktif, sintesis dinding sel gagal dan bakteri mengalami lisis (Yuwono, 2010). Resistensi MRSA terhadap antibiotik golongan β -laktam disebabkan perubahan pada PBP yang normal yaitu PBP 2 menjadi PBP 2a. PBP 2a memiliki afinitas yang sangat rendah terhadap β -laktam sehingga sekalipun bakteri ini dibiakan pada medium mengandung konsentrasi tinggi β -laktam, MRSA tetap dapat hidup dan mensintesa dinding sel. Eksplorasi pada struktur PBP 2a menunjukkan adanya perubahan pada *binding site* yang mengakibatkan rendahnya afinitas (Memmi *et al.*, 2008).

Genom *Staphylococcus* tersusun atas berbagai gen yang *conserved* dan gen mobile yang diperoleh secara transfer horizontal dari spesies lainnya yang membawa determinan resistensi atau faktor virulen (Yuwono, 2012). Resistensi terhadap antibiotik β -laktam terjadi akibat adanya gen yang terletak pada bagian *Mobile Genetic Element* (MGEs) seperti transposons dan plasmid. Gen tersebut adalah *mecA* yang merupakan bagian dari SCC*mec*. Gen ini menghasilkan PBP 2a yang menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik β -laktam (Prasetio, 2017). SCC*mec* diperkirakan sangat aktif ditransmisi antar spesies *Staphylococcus* secara *in vivo*. Menurut Mehndiratta (2009) Variasi elemen genetik pada SCC*mec* mengindikasikan bahwa elemen ini kemungkinan terbentuk karena pertukaran materi genetik secara horizontal dengan spesies *Staphylococcus* lainnya dan karena pengaruh lingkungan bakteri tersebut.

Transposon yang disebut *fem* (*factor essential for methicillin resistance*) atau *aux factor* pada SCC*mec* dapat mengurangi derajat resistensi dengan cara mempengaruhi komposisi peptidoglikan. Gen *mecA* atau produksi PBP 2a sama sekali tidak terpengaruh oleh *fem* (Llarrull *et al.*, 2009). Sepasang galur MRSA dengan *mecA* yang sama dan produksi PBP 2a yang juga sama tinggi ternyata menghasilkan ekspresi resistensi yang berbeda. Faktor genetik lain seperti gen beta-laktamase dan faktor eksternal seperti temperatur, osmolaritas,

kandungan ion, tekanan oksigen dan cahaya juga mempengaruhi ekspresi resistensi (Horne *et al.*, 2009).

Gen *mec complex* adalah kumpulan gen yang terdiri dari gen *mecA* dan gen regulatornya (gen *mecR1* dan gen *mecI*). Gen *mecI* menyandi suatu protein repressor transkripsi sedangkan gen *mecR1* menyandi protein transduksi sinyal. Gen *mecR1* akan merespon keberadaan β -laktam di lingkungannya dan mengaktifkan domain metalloprotease sitoplasmik miliknya dengan cara *cleavage* autolitik. Metalloprotease aktif ini akan memotong protein repressor *mecI* dan memindahkannya ke regio operator gen *mecA* sehingga represi transkripsi berakhir dan dimulailah transkripsi gen *mecA* kemudian translasi protein PBP 2a (Yuki *et al.*, 2003; Yuwono, 2012).

Kesimpulan

Terdapat gen *mecA* pada isolat *S. aureus* dengan kode Sa1, Sa2 dan Sa3 yang resisten terhadap *oxacillin* dengan produk 533 bp, sedangkan negatif gen *mecA* terdapat pada isolat *S. aureus* kode Sa4 yang sensitif terhadap *oxacillin*.

Daftar Pustaka

- Al-Ruaily, M. A., & Khalil, O. M., 2011. Detection of (*mecA*) gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at Prince a/Rhman Sidery hospital, al-Jouf, Saudi Arabia. *Journal of Medical Genetics and Genomics*, 3(3), 41-45.
- Clark MA, R Finkel, JA. Rey, and K Whalen., 2012. Lippincott's Illustrated Reviews : Pharmacology 5th Edition. Philadelphia : Lippincott Wililiams & Wilkins.
- Elhassan, M. M., Ozbak, H. A., Hemeg, H. A., Elmekki, M. A., & Ahmed, L. M. 2015. Absence of the *mecA* gene in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical specimens in shendi city, Sudan. *BioMed research international*, 2015.
- Gould I. M., 2009. *Antibiotic resistance: the perfect storm* International Journal of Antimicrobial Agents 34, S3.
- Horne KC, Howden BP, Grabsch EA, Graham M, Ward PB, Xie S, Mayall BC, Johnson PD, Grayson ML., 2009. Prospective comparison of the clinical impacts of heterogeneous vancomycin-intermediate methicillinresistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-susceptible RSA. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(8):3447-52.
- Khusnan, K. Kusmanto, D. & Slipranata, M. (2016). Resistensi Antibiotik Dan Deteksi Gen Pengode Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolat Broiler Di Wilayah Yogyakarta. *Jurnal kedokteran hewan*, 10(1), 13-18.
- Langga, I. F., Restu, M., & Kuswinanti, T., 2012. Optimalisasi suhu dan lama inkubasi dalam ekstraksi DNA tanaman bitti (*Vitex cofassus Reinw*) serta analisis keragaman genetik dengan teknik RAPD-PCR. *J. Sains & Teknologi*, 12(3), 265-276.
- Llarrull LI, Fisher JF, Mobashery S., 2009. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* and insights into new beta-lactams that meet the challenge. *Antimicrob Agents Chemother.* 53(10):4051-63.
- Mehendiratta PL, Bhalla P, Ahmed A, Sharma YD., 2009. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains by PCR-RFLP of SPA gene: a reference laboratory perspective. *Indian J Med Microbiol.* 27(2):116-22.
- Memmi G, Filipe SR, Pinho MG, Fu Z, Cheung A., 2008. *Staphylococcus aureus* PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(11):3955-66.
- Onanuga, A. and Temedie, T.C., 2011. Multidrug-resistant intestinal *Staphylococcus aureus* among self-medicated healthy adults in Amassoma, South-South, Nigeria. *Journal of health, population, and nutrition*, 29(5), p.446.
- Pharmawati, M., 2009. Optimalisasi ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi*, 13(1), 12-16.
- Pournajaf, A., Ardebili, A., Goudarzi, L., Khodabandeh, M., Narimani, T. and Abbaszadeh, H., 2014. PCR-based

- identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and their antibiotic resistance profiles. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4, pp.S293-S297.
- Pranawaty, R. N., Buwono, I. D., & Liviawaty, E., 2012. Aplikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Konvensional dan Real Time PCR Untuk Deteksi *White Spot Syndrome* Virus Pada Kepiting. *Jurnal Perikanan Kelautan*, 3(4).
- Prasetio, M. and Barliana, M.I., 2017. Article Review: Gen *mecA* Sebagai Faktor Munculnya *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Farmaka*, 14(3).
- Ruban, S. W., Babu, R. N., Abraham, R. J., Senthilkumar, T. M. A., Kumaraswamy, P., Rao, V. A., & Porteen, K. (2017). Prevalence of Panton Valentine Leukocidin (*pvl*) Gene in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Market Samples of Chicken Meat.
- Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart HP., 2013. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Front Microbiol* ;4:47.
- WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance World Health Organization; 2014.
- Widinartasari, F. A. D. M., 2010. Pengaruh Faktor Demografi Terhadap Kejadian Infeksi Dan Pola Resistensi *Staphylococcus aureus* Pasien di RSUP Dr Kariadi Semarang Periode 2008-2009 (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine).
- Wilfred Ruban, R. Narendra Babu, Robinson J.J. Abraham, T.M.A. Senthilkumar, P. Kumaraswamy, V. Appa Rao and Porteen, K. 2017. Prevalence of Panton Valentine Leukocidin (*pvl*) Gene in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Market Samples of Chicken Meat. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6(4): 2459-2466.
- Yuwono, 2010. Biomed M. Pandemi Resistensi Antimikroba : Belajar dari MRSA;(1):2837-50.
- Yuwono, Sunarjati, S.H., Masria, S. and Supardi, I.I., 2011. *Staphylococcal Cassette Chromosome Mec methicillin resistant Staphylococcus aureus* dengan *Polymerase Chain Reaction*. *Majalah Kedokteran Bandung*. Bandung, 43(2), pp.60-3.
- Yuwono, 2012. *Staphylococcus aureus* dan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).