



**IDENTIFIKASI GEN AAC (*aminoglycoside acetyltransferases*) PENANDA
MULTIDRUG RESISTANT (MDR) TERHADAP GENTAMICIN PADA
*Staphylococcus aureus***



Disusun oleh :

**Dian Putri Al Zanura
G1C217152**

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

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

**IDENTIFIKASI GEN AAC (*aminoglycoside acetyltransferases*) PENANDA
MULTIDRUG RESISTANT (MDR) TERHADAP GENTAMICIN PADA
*Staphylococcus aureus***

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, 30 September 2018

Pembimbing I

Dr. Sri Darmawati, M. Si
NIK. 28.6.1026.040

Pembimbing II



Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech
NIK. 28.6.1026.354

SURAT PERNYATAAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya :

Nama : Dian Putri Al Zanura

NIM : G1C217152

Fakultas/Jurusan : Ilmu Keperawatan dan Kesehatan/D IV Analis Kesehatan

Jenis Penelitian : Skripsi

Judul : Identifikasi Gen aac (*aminoglycoside acetyltransferases*) Penanda
Multidrug Resistant (MDR) terhadap Gentamicin pada
Staphylococcus aureus

Email : dpazanura@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 pangkalan 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 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 dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya

Semarang, 30 September 2018

Yang Menyatakan



Dian Putri Al Zanura

IDENTIFIKASI GEN AAC (*aminoglycoside acetyltransferases*) PENANDA MULTIDRUG RESISTANT (MDR) TERHADAP GENTAMICIN PADA *Staphylococcus aureus*

Dian Putri Al Zanura¹, Sri Darmawati², Aprilia Indra Kartika²

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

²Laboratorium Biologi Molekuler, Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel

Abstrak

S.aureus is one of the bacteria that can cause high nosocomial infections. Inappropriate antibiotics can cause antibiotic resistance. This resistance is characterized by the presence of the *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* gene. The purpose of this study was to detect the *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* gene (*gentamicin*) as an MDR marker in *S.aureus*. This type of research is descriptive analytical research. This study used PCR (*Polymerase Chain Reaction*) method by detecting the presence of *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* genes using specific primers *Forward* (5'-CAGGAATTTATCGAAAATGGTAGAAAA G) and *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* primers *Reverse* (5'-CACAATCGACTAAAGAGTACCAATC). The results obtained from 5 samples, 4 samples have *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* genes with 369 bp. The results showed 80% positive samples had *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* genes.

keywords:

S.aureus, multidrug resistant, gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I*, PCR

Pendahuluan

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Jenis penyakit ini banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Sebagian besar infeksi disebabkan oleh bakteri, fungi, virus, dan parasit. Bakteri merupakan

bagian flora normal pada manusia, namun juga dapat menyebabkan infeksi. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi luka dan nosokomial adalah *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) (Parawansah, dkk., 2017; Hauschild *et al.*, 2008).

*Corresponding Author:

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

Sumber infeksi dapat ditemukan di berbagai tempat, salah satunya adalah rumah sakit sebagai infeksi nosokomial. *S.aureus* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan tingginya infeksi nosokomial (Chudlari, dkk 2014). Berdasarkan data yang diperoleh dari WHO (World Health Organization) 2002, menunjukkan bahwa sekitar 8,7% dari 55 rumah sakit di 14 negara yang berasal dari Eropa, Timur Tengah, Asia Tenggara, dan Pasifik menunjukkan adanya infeksi nosokomial. Sedangkan di Indonesia sendiri, menurut Firmansyah dalam Patricia (2016), infeksi nosokomial mencapai 15,74% jauh diatas negara maju yang berkisar 4,8–15,5%. Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *S.aureus* dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti infeksi pada kerusakan kulit atau luka pada organ tubuh, serta bakteri yang masuk ke darah akan menyebar ke organ lain sehingga menyebabkan pneumonia, infeksi pada katup jantung yang memicu pada gagal jantung, radang tulang, bahkan dapat menyebabkan *shock* yang akan menyebabkan kematian (Elliza, 2010).

Penangan yang telah dilakukan unit pelayanan kesehatan terhadap infeksi *S.aureus* dengan pemberian antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak bijak dan penerapan kewaspadaan standar (*standard precaution*) yang tidak benar di fasilitas pelayanan kesehatan memunculkan adanya resistensi terhadap antibiotik yang menjadi permasalahan cukup serius. Penggunaan berbagai macam antibiotika yang tersedia dengan pemakaian antibiotik yang tidak tepat dosis, pemakaian dosis yang tidak tepat diagnostik, serta pemakaian dosis yang tidak tepat terhadap bakteri penyebabnya

telah memunculkan banyak jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik (Kemenkes RI, 2011; Maharani, 2015). Di Amerika serikat, *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC) melaporkan bahwa setiap tahunnya paling tidak dua juta orang menderita infeksi oleh bakteri yang resisten terhadap satu atau lebih antibiotik dari ≥ 3 golongan antibiotik atau yang disebut dengan MDR (*Multi Drug Resistance*) (CDC, 2013).

Resistensi antibiotik saat ini merupakan masalah yang nyata secara global. Berdasarkan data pada tahun 2009, Indonesia menduduki peringkat ke 8 dari 27 negara dengan predikat multidrug resistant tertinggi di dunia (Estiningsih, 2016). *Screening* gen resisten terhadap antibiotik diperlukan dalam mengatasi permasalahan tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan pelayanan atau kesembuhan

Aminoglikosida golongan antibiotik dengan salah satu agennya gentamisin, memiliki mekanisme utama dalam resistensi berupa penginaktifasian obat. (Khoramrooz *et al.*, 2017). Gen yang berperan dalam penginaktifan obat ini adalah AMEs (*aminoglycoside modifying enzymes*), dengan memiliki 3 macam gen yang terlibat, salah satunya adalah AAC(6'')/APH(2'') (*acetyltransferase/2''-O-phosphoryltransferase* (Hauschild *et al.*, 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Hauschild *et al.*, (2008) menyimpulkan bahwa terdapat 6 isolat *S.aureus* yang terdeteksi memiliki gen *aac* yang resisten terhadap antibiotik *gentamicin*, *amikasin*, *tobramycin*, *kanamycin*, dan *neomicin*. Hal ini diperkuat dengan penelitian Khoramrooz *et al* (2017) yang dilakukan di Iran, bahwa ditemukan 32 isolat

***Corresponding Author:**

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

S.aureus yang terdeteksi memiliki gen *aac* dan resisten terhadap antibiotik *amikacin*, *gentamicin*, *kanamycin*, dan *tobramycin*.

Namun gen yang terlibat dalam AMEs belum diidentifikasi keseluruhan isolat *S.aureus* yang ada di Indonesia. Sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan identifikasi gen *aac* (*gentamicin*) sebagai penanda *Multidrug Resistant* (MDR) pada *S.aureus* agar dapat diketahui pemilihan antibiotik sebagai agen terapi yang tepat.

Bahan dan Metode

Desain penelitian ini merupakan penelitian analitik deskriptif dengan variabel yang diamati adalah identifikasi adanya gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* pada isolat *S.aureus* MDR terhadap *gentamicin*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang dan Laboratorium Rekayasa Genetika Pascasarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Mei-Juli 2018.

Alat dan bahan yang digunakan yaitu: ose, lampu spiritus, inkubator, tabung reaksi, slide preparat, tabung konikel, mikrotube, gelas ukur, erlenmeyer, mikropipet, blue tip, yellow tip, white tip, sentrifuge, shaker, microwave, Thermal cycler 2720, vortex, Spektrofotometer-NanoDrop Maestro Gen, elektroforesis chamber dan transillumination UV, media *Brain Heart Infusion* (BHI), media *Manitol Salt Agar* (MSA), media *Blood Agar Plate* (BAP), media *Nutrient Agar* (NA), Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), pewarnaan gram (gentian violet, iodin, safranin), reagen H₂O₂ 3%, plasma citrat, kertas uji oksidase (*tetrametil p-phenylenediamine*), Reagen KIT *FavorPrep-Plasmid DNA Ectraction Mini*

Kit, ddH₂O (aquabidest), dH₂O (aquadest), primer *reverse*, primer *forward*, PCR mix, loading dye, ladder marker, EtBr (*Ethidium Bromida*), dan gel agarosa 2%.

Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan data yang diperoleh ditabulasikan kemudian disajikan dalam bentuk narasi deskriptif. Data analisis ada tidaknya pita DNA hasil PCR yang dielektroforesis menggunakan gel agarosa.

Hasil

Sampel bakteri dengan kode sampel Sa1, Sa2, Sa3, Sa4, dan Sa5 dilakukan kultur pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil kultur BHI yang terlihat keruh dilanjutkan dengan penanaman pada media *Nutrient Agar* (NA) selama 24 jam. Pada media NA didapatkan koloni berwarna putih kekuningan.

Hasil isolasi pada media NA dilakukan pewarnaan gram dengan hasil gram positif yang berbentuk coccus bergerombol dan berwarna ungu pada masing-masing sampel. Koloni pada media NA yang telah dilakukan pewarnaan gram dilanjutkan dengan penanaman pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil isolasi pada media BAP didapatkan koloni yang dicurigai *S.aureus* dengan pertumbuhan koloni berwarna kuning dan bersifat β hemolisa (zona hemolisa jernih di sekeliling bakteri), kemudian dilakukan uji katalase, oksidase, koagulase dan uji dengan media *Manitol Salt Agar* (MSA).

Hasil dari uji katalase dengan metode slide yang positif menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase. Hasil uji oksidase pada masing-masing sampel menunjukkan hasil yang

*Corresponding Author:

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

negatif dengan tidak terjadinya perubahan warna menjadi biru/ungu pada kertas reagen *tetrametil p-C phenylenediamine*, lalu hasil uji koagulase dengan metode tabung menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya pembekuan plasma sitrat yang telah diinkubasi selama 24 jam.

Pengujian dengan media MSA didapatkan hasil dengan adanya koloni yang berwarna putih kekuningan disertai dengan perubahan warna media MSA yang menjadi kuning karena kemampuan bakteri untuk memfermentasikan manitol, dengan asam yang dihasilkan menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar berubah dari merah menjadi berwarna kuning (Austin, 2010).

Uji resistensi dengan media MHA diambil koloni dari media BAP dan diinokulasikan ke dalam 5 ml NaCl lalu dibandingkan dengan standar *McFarland* 0,5, dilanjutkan dengan menggoreskan inokulum pada media MHA dan diberi antibiotik. Hasil uji resistensi sampel *S.aureus* terhadap antibiotik ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1:



Gambar 1. Salah Satu Hasil Uji Resistensi Sampel terhadap Antibiotik

Hasil pada Gambar 1 menunjukan sampel *S.aureus* yang resisten terhadap antibiotik. Hasil ini terkonfirmasi dengan tidak adanya zona hambat disekeliling antibiotik.

Tabel 1. Hasil Uji Resistensi Sampel terhadap Berbagai Antibiotik

Kode Sampel	Antibiotik yang resisten
Sa1	Gen, Oxa, Van, Sxt, Cip
Sa2	Gen, Oxa, Sxt, Cip
Sa3	Gen, Oxa, Fos
Sa4	Tet, Pip, Mez, Azi, Tic, Car, Amo, Ben
Sa5	Tet, Pip, Mez, Azi, Tic, Car, Amo, Ben

Keterangan: Amo(Amoxicillin), Mez(Mezlocillin), Azi(Aziocillin), Ben(Benzylpenicillin), Car(Carbenicillin), Cip(Ciprofloxacin), Fos(Fosfomycin), Gen(Gentamicin), Oxa(Oxacillin), Pip(Piperacillin), Sxt(Trimetropin Sulfametoksazol), Tet(Tetracycline), Tic(Ticarcillin), Van(Vancomycin)

Koloni bakteri yang diambil pada media BAP dilanjutkan dengan diinokulasi pada media BHI kemudian dilakukan isolasi DNA bakteri *S.aureus*. Hasil isolasi DNA bakteri *S.aureus* dilakukan kuantifikasi serta kemurnian DNA. Hasil dapat dilihat pada Tabel 2:

Tabel 2. Hasil Kuantifikasi DNA

No	Kode Sampel	Kemurnian DNA Abs260/Abs280	Konsentrasi DNA ng/μl
1	Sa1	1,884	67,27
2	Sa2	1,875	58,78
3	Sa3	1,834	39,29
4	Sa4	1,911	31,28
5	Sa5	1,820	83,69

Kuantifikasi DNA dilakukan dengan pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA menggunakan *Spektrofotometer-NanoDrop Maestro Gen* dengan panjang gelombang (*optic density*/OD) 260 nm dan 280 nm. Kemurnian pada sampel penelitian ini menunjukkan hasil yang baik, di mana hasil masuk dalam rentang 1,8-2,0 (Suharsono dan Widyastuti, 2006).

Amplifikasi gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* dalam *S.aureus* dilakukan dengan

***Corresponding Author:**

Dian Putri Al Zanura

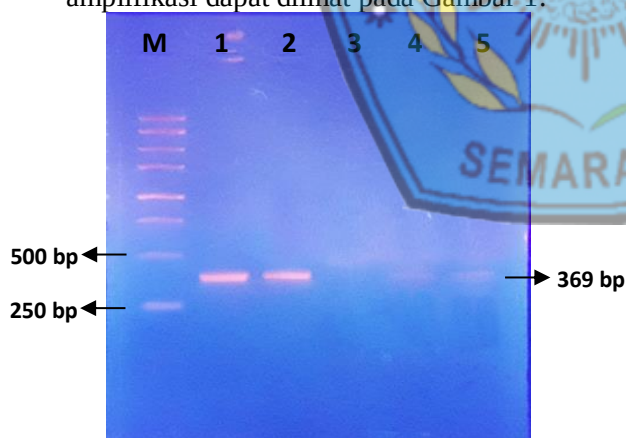
Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

sepasang primer khusus yang dapat mengenali gen tersebut. Penentuan suhu *annealing* pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan optimasi suhu *annealing* secara *in-silico* melalui <http://tmcalculator.neb.com/> dengan urutan neukleotida primer *aac(6')-Ie-aph(2'')-I Forward* (5'-CAGGAATTTATCGAAATGGTAGAAAAG) dan *Reverse* (5'-CACAATCGACTAAAGAGTACCAATC).

Sampel hasil PCR dilakukan elektroforesis dengan gel agarosa 2% dengan sumuran pertama dimasukkan *ladder marker* 5000 sebanyak 7 µl, lalu selanjutnya DNA sampel 10 µl. Hasil PCR dielektroforesis dengan 5X *buffer* TAE.

Amplifikasi gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* dengan teknik PCR pada isolat sampel dengan kode Sa1, Sa2, Sa4, Sa5 menunjukkan hasil positif gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* sedangkan 1 sampel dengan kode Sa3 tidak terdapat pita (*band*) yang menunjukkan hasil positif gen tersebut. Hasil amplifikasi dapat dilihat pada Gambar 1:



Keterangan: M(Marker 5000 bp), 1(Sampel *S.aureus* Sa1), 2(Sampel *S.aureus* Sa2), 3(Sampel *S.aureus* Sa3), 4(Sampel *S.aureus* Sa4), 5(Sampel *S.aureus* Sa5)

Gambar 2. Visualisasi hasil elektroforesis produk PCR menggunakan agarosa 2%

Pada Gambar 9 menunjukkan hasil yang positif pada sampel Sa1, Sa2, Sa4, dan Sa5. Hasil positif terkonfirmasi dengan adanya pita tunggal pada sampel. Semakin jelas pendaran warna pada pita tunggal menunjukkan semakin banyak konsentrasi DNA gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* yang didapatkan sehingga semakin besar pula konsentrasi gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* yang teramplifikasi. Produk PCR spesifik terhadap gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* terlihat pada besar produk 369 bp, pita DNA terletak diantara 500-250 bp. Sedangkan 1 isolat sampel (Sa3) tidak memiliki pita (*band*) yang menunjukkan hasil negatif gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I*.

Diskusi

Identifikasi gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* pada sampel bakteri *S.aureus* yang *Multidrug Resistant* (MDR) terhadap *gentamicin* menghasilkan hasil positif pada sampel Sa1, Sa2, Sa4, dan Sa5. Sementara sampel Sa3 menghasilkan hasil yang negatif. Hasil positif ditandai dengan adanya pita (*band*) DNA pada masing-masing sampel dengan hasil produk PCR 500-250 bp yang mendekati dengan hasil produk PCR gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* yakni 369 bp (Khoramrooz *et al*, 2017). Hasil negatif ditandai dengan tidak munculnya pita (*band*) pada sampel tersebut. Hasil negatif menggambarkan bahwa tidak terdapat gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* pada sampel.

Gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* merupakan gen yang termasuk AMEs (*aminoglycoside modifying enzymes*) yang terlibat dalam penginaktifan obat. Hasil positif dengan pita (*band*) yang tipis kemungkinan juga disebabkan oleh sedikitnya gen yang menempel dan teramplifikasi pada sampel, serta

*Corresponding Author:

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

memungkinkan dengan kurangnya konsentrasasi templat DNA, atau tidak tercampurnya sampel dengan baik. Konsentrasasi templat DNA 1 ng merupakan konsentrasasi minimal yang dapat digunakan dalam proses PCR (Bartlett *et al.*, 2003).

Irmawati (2003) juga menyatakan bahwa pita DNA yang tebal menunjukkan konsentrasasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh, lalu pita yang tipis menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung. Hal ini menyebabkan genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian lebih kecil yang disebabkan oleh adanya gerakan fisik yang berlebihan pada saat pemipetan atau membolak-balikan tabung, proses sentrifugasi, atau karena temperatur yang terlalu tinggi, dan karena aktivitas bahan-bahan kimia tertentu.

Sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh Behnood *et al.*, (2013) di Iran, ditemukan bahwa gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* terdapat pada isolat yang resisten terhadap *gentamisin*. Pembawa gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* ini ditemukan pada transposon Tn5281 disemua isolat yang diuji.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil isolasi bakteri *S.aureus* dari 5 sampel, didapatkan 4 sampel yang dideteksi gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* dengan metode PCR menunjukkan hasil positif gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-I*, sementara 1 sampel menunjukkan hasil yang negatif.

Saran

1. Untuk peneliti selanjutnya agar dapat dikembangkan dengan berbagai gen resistensi pada berbagai jenis bakteri.
2. Untuk peneliti selanjutnya agar dapat ditemukan antibiotik lain dalam pengobatan yang disebabkan oleh bakteri *S.aureus*

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kepada kedua orang tua saya Ayahanda Edi Suhairi, Ibunda Irma Yanti atas do'a dan bimbingan secara material dan moril,
2. Dr. Sri Darmawati, M. Si, selaku pembimbing pertama yang telah memberikan waktu, ilmu dan bimbingan selama penulisan skripsi ini,
3. Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech, selaku pembimbing kedua yang telah memberikan waktu, semangat, ilmu dan bimbingan selama penulisan skripsi ini,
4. Andri Sukeksi, SKM, M. Si, selaku Ketua Program Studi Diploma IV Analis Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,
5. Nadilla Putri Alzanura, Rizky Defrian Alzanura, yang selalu menjadi motivasi,
6. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang turut membantu dalam menyelesaikan tugas akhir ini

Referensi

- Austin, T.X. 2010. Manitol salt agar. Austin Community College District. http://www.austincc.edu/microbugz/html/mannitol_salt_agar.html. [22-03-10].

*Corresponding Author:

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

- Bartlett, J.M.S, Stirling, D. 2003. PCR Protocols Second Edition. Method in Molecular Biology. Pp. 90-95.
- Behnood, A., Farajnia, S., Moaddab, S.R., Khosroshahi, S.A., Katayounzadeh, A. 2013. Prevalence of *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* resistance gene and its linkage to Tn5281 in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from Tabriz hospitals. Iranian Journal of Microbiology. Vol. 5, No. 3, 203-208.
- CDC. 2013. *Antibiotic Resistance Threats in the United States*. US Department of Health and Human Service, Centers for Diseases Control and Prevention. Atlanta.
- Chudlori, B., Kuswandi, M., & Indrayudh, P. 2013. Pola Kuman dan Resistensinya terhadap Antibiotika dari Spesimen Pus di RSUD Dr. Moewardi tahun 2012. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. Vol 13. No 2.
- Elliza, N. 2010. Pengaruh Pemberian Madu terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. FK dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Estiningsih, D., Puspitasari, I., dan Nuryastuti, T. 2016. Identifikasi Infeksi *Multidrug-Resistant Organisms* (MDRO) pada Pasien yang Dirawat di Bangsal *Neonatal Intensive Care Unit* (NICU) Rumah Sakit. Jurnal Manajemen dan Pelayanan Farmasi. Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hauschild, T, Sacha, P, Wieczorek, P, Zalewska, M, Kaczynska, K, Tryniszewska, E. 2008. Aminoglycosides resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from a University Hospital in Bialystok, Poland. *Folia histochemica Etcytobiologica*. Vol. 46, No 2 pp. 225-228. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18519242>. Diakses pada 29 Januari 2018.
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama pada Stok Hatchery. Thesis. Bogor: IPB.
- Khoramrooz, S.S, Dolatabad, S.A, Dolatabad, F.M, Marashifar, M, Mirzaei, M, Dabiri, H, Haddadi, A, Rabani, S.M, Shirazi, H.R.G, Sarokhalil, D.D. 2017. Detection of tetracycline resistance genes, aminoglycoside modifying enzymes, and coagulase gene typing of clinical isolates of *Staphylococcus aureus* in the Southwest of Iran. http://ijbms.mums.ac.ir/article_9114.html. Diakses pada 8 Februari 2018.
- Maharani. 2015. Uji Kepekaan Beberapa Jenis Antibiotika Terhadap Bakteri Penyebab Endometritis pada Peternakan Babi Desa Sukapura Kabupaten Probolinggo. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

***Corresponding Author:**

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com

- Parawansah., Dahlan, N.H., Sulfa, L.Z., dan Nuralifah. 2017. Aktivitas Antibakteridan Antifungi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia L.*) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Rakernas fan Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia. BSD City Tangerang, Banten. <https://www.ikatanapotekerindonesia.net/uploads/rekernasdocs/kumpulan-proceeding-pit-iai-2017-akhir.pdf>. Diakses pada 29 Januari 2018.
- Patricia, I. 2016. Hubungan Faktor Perilaku dengan Pelaksanaan Langkah-langkah Hand Hygiene Perawat di Ruang Rawat Inap RSUD dr. Rasidin Padang. Fakultas Keperawatan Universitas Andalas.
- Kementerian Kesehatan RI. 2011. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2406/Menkes/Per/XII/2011 tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Suharsono dan Widyastuti, U. 2006. Penuntun Praktikum Pelatihan Teknik Pengklonan Gen. Pusat Penelitian Sumber Daya Hayati dan Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- WHO. 2002. Prevention of Hospital aquired Infections. Switzerland.

***Corresponding Author:**

Dian Putri Al Zanura

Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang Indonesia 50273

E-mail: dpazanura@gmail.com