

Optimasi Suhu *Annealing* Gen *blaZ* Dari Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) Pada Peralatan Medis

Optimization *Annealing* Temperature Gene *blaZ* of Bacterial *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) in Medical Equipment

Lia Listiani ^{1*}

Kurnia Ritma Dhanti²

Kurniawan³

Oei Stefani Yuanita Widodo⁴

¹Universitas Muhammadiyah
Purwokerto, Banyumas, Indonesia

²Universitas Muhammadiyah
Purwokerto, Banyumas, Indonesia

³Universitas Muhammadiyah
Purwokerto, Banyumas, Indonesia

⁴Universitas Muhammadiyah
Purwokerto, Banyumas, Indonesia

*email: kurniaritmadhanti@ump.ac.id

Abstrak

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus merupakan strain bakteri *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin jenis *methicillin*. Bakteri MRSA dapat menyebabkan infeksi nosokomial, yang penyebarannya dapat melalui peralatan medis. Salah satu gen yang telah teridentifikasi penyandi sifat resistensi *S. aureus* adalah gen *blaZ*. Pendeteksian gen *blaZ* ini membutuhkan optimasi suhu *annealing* pada primer yang digunakan untuk memperoleh band PCR yang optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi suhu *annealing* untuk amplifikasi DNA gen *blaZ* dari bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada peralatan medis. Metode pada penelitian ini menggunakan kit untuk ekstraksi bakteri dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil amplifikasi DNA gen *blaZ* pada seluruh sampel menunjukkan band yang jelas pada suhu 52.0°C, 54.2°C, 58.7°C, 61.8°C dan 64.0°C, tidak ada smear yang terbentuk dan hasil visualisasi elektroforesis pada produk PCR menunjukkan hasil band yang sesuai dengan target, yaitu 173bp. Suhu *annealing* yang paling optimal untuk amplifikasi gen *blaZ*, pada bakteri MRSA dari peralatan medis rumah sakit adalah suhu 61.8°C.

Kata Kunci:

Annealing, Gen *blaZ*, MRSA, PCR

Keywords:

Annealing, Gene *blaZ*, MRSA, PCR

Abstract

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus is a strain of *S. aureus* bacteria that is resistant to methicillin-type penicillins. MRSA bacteria can cause nosocomial infections, which can be spread through medical equipment. One of the genes that encodes the resistance trait of *S. aureus* is the *blaZ* gene. The detection of the *blaZ* gene requires optimizing the annealing temperature of the primer used to obtain the optimal PCR band. This study aims to optimize the annealing temperature for the amplification of the *blaZ* gene DNA from *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteria on medical devices. The method used in this study used a kit for bacterial extraction and *Polymerase Chain Reaction* (PCR). The results of the *blaZ* gene DNA amplification in all samples showed clear bands at temperatures of 52.0°C, 54.2°C, 58.7°C, 61.8°C, and 64.0°C; no smears were formed, and the electrophoretic visualization results on the PCR product showed the results of bands that were according to the target, namely 173 bp. The most optimal annealing temperature for amplification of the *blaZ* gene in MRSA bacteria from hospital medical equipment is 61.8°C.

PENDAHULUAN

Strain bakteri *Staphylococcus aureus* yang dikenal sebagai *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) mengalami resisten pada semua penisilin isoxazolyl, meliputi *methicillin*, *oxacillin*, *flucloxacillin* dan *cefoxitin* (Turbawaty et al., 2021).

Staphylococcus aureus adalah salah satu jenis patogen yang seringkali mengalami peningkatan temuan kasus

resistensinya dan telah diidentifikasi sebagai penyebab terjadinya infeksi serius di rumah sakit (Erlin et al., 2020).

Resistensi terhadap bakteri MRSA ini disebabkan karena dalam penggunaan antibiotik yang kurang rasional (Pristianingrum et al., 2021). Suatu bakteri menjadi resisten dikarenakan dalam pemberian antibiotik tidak sesuai dengan dosis, kesalahan

diagnosis, dan tidak sesuai target bakteri yang menjadi penyebabnya. Hal ini, menyebabkan bakteri MRSA mengalami perubahan genetik (Sugireng & Rosdarni, 2020).

Salah satu gen penyandi sifat resistensi *Staphylococcus aureus* yang telah teridentifikasi adalah *blaZ* (Aziz et al., 2018). *blaZ* merupakan gen produksi betalaktamase yang menonaktifkan penisilin dengan menghidrolisis cincin beta-laktam (Okiki et al., 2020). Terdapat empat jenis gen *blaZ* yang dapat dibedakan dengan analisis serotipe, tiga di antaranya (A, C, dan D) terletak pada plasmid, sedangkan B terletak pada kromosom (Takayama et al., 2018).

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu metode identifikasi molekuler yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi genotype (Aulia et al., 2021). PCR berfungsi untuk memperbanyak fragmen DNA spesifik dengan cepat dalam jumlah ribuan hingga jutaan kali. Teknik ini memanfaatkan keberadaan enzim DNA Polymerase yang ditandai oleh primer untuk mengamplifikasi molekul DNA secara *in vitro* (Yustinadewi et al., 2018).

Teknik PCR menggunakan tiga parameter siklus suhu diantaranya yaitu *denaturation*, *annealing* dan *elongation* (Setyawati & Zubaidah, 2021). PCR memiliki keunggulan yang sangat tinggi berdasarkan spesifisitas, efisiensi dan akurasi untuk deteksi gennya (Muhamad et al., 2019). Proses pada saat PCR sangat dipengaruhi oleh suhu denaturasi, suhu penempelan primer, suhu pemanjangan, jumlah siklus yang digunakan, kemurnian DNA template dan konsentrasi dari komponen reaksi (primer, buffer, MgCl₂, enzim DNA polimerase, DNA template, H₂O dan nukleotida) (Herman et al., 2018).

Sebelum melakukan teknik PCR pada sampel penelitian, maka optimasi perlu dilakukan agar bisa mendapatkan kondisi dan komposisi PCR yang tepat untuk hasil PCR yang lebih spesifik (Yuenleni, 2019).

Untuk memperoleh band PCR yang optimal, dibutuhkan optimasi suhu *annealing* pada primer yang digunakan. *Annealing* adalah tahap yang diperlukan

primer untuk menempel pada DNA target (Amanda et al., 2019). Jika suhu *annealing* lebih tinggi, primer yang sudah melekat pada cetakan DNA bisa terlepas, dan DNA target tidak akan terbentuk. Kemudian apabila suhu *annealing* lebih rendah, primer akan melekat pada DNA template yang tidak tepat. Hal ini, dapat menghasilkan produk PCR yang tidak spesifik. (Aulia et al., 2021). Oleh karena itu, maka perlu menentukan suhu *annealing* pada proses amplifikasi PCR.

Penelitian Pratiwi et al., (2019) menunjukkan bahwa suhu optimum untuk gen *blaZ* yang resisten penisilin pada *Staphylococcus aureus* menggunakan primer *forward* ATTTGCCTATGCTTCGACTT, dan *reverse* GCTTGACCACTTTTATCAGC adalah suhu 55°C.

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi suhu *annealing* dalam amplifikasi gen *blaZ* pada bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang diisolasi dari peralatan medis rumah sakit dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Genetika dan Botani, FKIP Universitas Muhammadiyah Purwokerto pada bulan Januari sampai Februari 2023. Sampel pada penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dari peralatan medis rumah sakit. Metode penelitian yang dilakukan menggunakan *kit* untuk ekstraksi bakteri dan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Produk DNA gen *blaZ* yang digunakan merupakan sepasang primer *forward* ACTTCAACACCTGCTGCTTTC, dan *reverse* TGACCACTTTTATCAGCAACC.

Persiapan Ekstraksi DNA MRSA

Kultur bakteri MRSA dalam media *Lactose Broth* (LB) sebanyak 1.5µl dimasukkan ke dalam *ependrof tube*. Disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Supernatan diambil hingga tersisa pellet. Ditambahkan sebanyak 200µl NaCl fisiologis, dan 5µl lisozim, diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit.

Dilanjutkan dengan prosedur ekstraksi menggunakan High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche). Tahap dalam menggunakan kit ekstraksi DNA adalah terjadinya lisis pada sel, *binding* (pengikatan), *wash* (pencucian), dan elusi menggunakan *buffer*. Selanjutnya, hasil dari ekstraksi DNA disimpan pada suhu -20°C .

Amplifikasi Gen *blaZ*

Amplifikasi pada gen *blaZ* menggunakan MyTaq™ HS Red Mix (Bioline Reagents Ltd.). Total volume PCR *reaction mixes* adalah 25 μl dengan mencampurkan 12.5 μl MyTaq™ HS Red Mix 2x, 6.5 μl ddH₂O, 2 μl primer *forward* ACTTCAACACCTGCTGCTTTC, 2 μl primer *reverse* TGACCACTTTTATCAGCAACC (Integrated DNA Technologies), dan 2 μl DNA *template*. Tahapan PCR yang dilakukan dengan parameter siklus terdiri dari denaturasi awal 94°C selama 2 menit, denaturasi pada 94°C selama 30 detik, *annealing* pada 52.0°C , 54.2°C , 58.7°C , 61.8°C dan 64.0°C selama 30 detik, *extension* pada 72°C selama 1 menit, diikuti dengan 30 siklus dan *final extension* pada 72°C selama 5 menit. Suhu *annealing* dalam penelitian ini divariasikan dengan menggunakan program gradien pada mesin PCR (Eppendorf Mastercycler Nexus gradient).

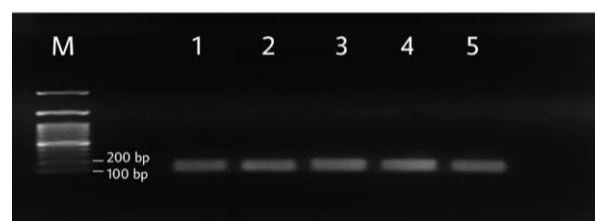
Elektroforesis

Hasil amplifikasi gen *blaZ* dengan PCR dianalisis dengan metode elektroforesis menggunakan gel agarosa. Gel agarosa dibuat pada konsentrasi 1% dengan larutan *buffer* TAE 1X dan ditambahkan 1 μl pewarna *gel red*. Selanjutnya, 5 μl sampel elektroforesis berupa hasil PCR ditambahkan 1 μl *loading dye*, lalu dimasukkan ke dalam sumuran gel agarosa. DNA *ladder* yang digunakan adalah 100bp. Elektroforesis dijalankan selama 30 menit dengan kecepatan 100 volt. Kemudian, hasil elektroforesis diamati menggunakan UV *transilluminator*.

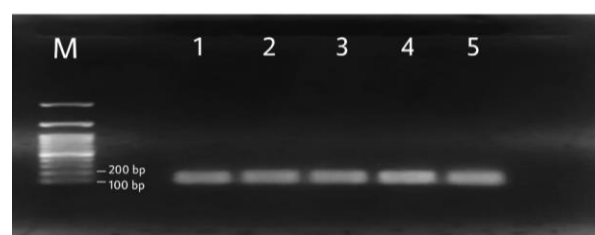
HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

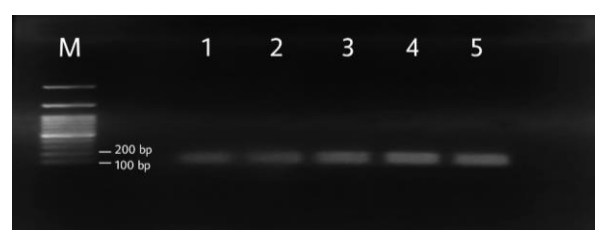
Proses amplifikasi PCR dilakukan dengan variasi suhu *annealing* (52.0°C , 54.2°C , 58.7°C , 61.8°C dan 64.0°C) dengan jumlah siklus sebanyak 35 siklus, yang telah di deteksi menggunakan elektroforesis dengan gel agarose konsentrasi 1% dapat diamati pada gambar 1, 2 dan 3.



Gambar 1. Hasil elektroforesis produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode K1.T1 pada variasi suhu *annealing* 52.0°C (1), 54.2°C (2), 58.7°C (3) 61.8°C (4), 64.0°C (5) dan M (Marker).



Gambar 2. Hasil elektroforesis produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode R1.I4 pada variasi suhu *annealing* 52.0°C (1), 54.2°C (2), 58.7°C (3) 61.8°C (4), 64.0°C (5) dan M (Marker).



Gambar 3. Hasil elektroforesis produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode R4.S1 pada variasi suhu *annealing* 52.0°C (1), 54.2°C (2), 58.7°C (3) 61.8°C (4), 64.0°C (5) dan M (Marker).

PEMBAHASAN

Hasil visualisasi produk PCR pada penelitian ini menunjukkan pola *band* yang berbeda. Setiap *band* terdapat perbedaan ketegasan dan intensitas pada masing-masing suhu *annealing*. Intensitas pita hasil

amplifikasi DNA pada setiap primer sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan kemurnian DNA template (Sitepu et al., 2019).

Berdasarkan hasil visualisasi produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode K1.T1, ditunjukkan pada Gambar 1. suhu *annealing* 61.8°C menghasilkan *band* yang lebih jelas, dan terang, dibandingkan pada suhu 52.0°C, 54.2°C, 58.7°C dan 64.0°C.

Berdasarkan hasil visualisasi produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode R1.I4, pada Gambar 2. pada suhu *annealing* 61.8°C menghasilkan *band* yang lebih jelas, dan terang, dibandingkan pada suhu 52.0°C, 54.2°C, 58.7°C dan 64.0°C.

Produk PCR pada Gambar 2. juga menunjukkan bahwa *band* yang dihasilkan lebih tebal, jelas dan terang dibandingkan pada Gambar 1 dan Gambar 3. Menurut Aulia et al., (2021) proses ekstraksi pada sampel menentukan tingkat ketebalan *band* pada DNA. Jika proses ini tidak tepat, maka dapat menyebabkan kualitas sampel yang tidak spesifik.

Konsentrasi DNA yang tinggi akan menunjukkan hasil *band* yang tunggal/mengumpul dan tebal. Jika *band* tampak menyebar, ini menunjukkan bahwa genom DNA telah terpotong menjadi bagian kecil. Hal ini diakibatkan oleh putusnya ikatan yang menyatukan molekul DNA selama proses ekstraksi. Selama proses isolasi DNA, gerakan fisik yang berlebihan dan aktivitas bahan tertentu dapat menjadi penyebab putusnya ikatan antar molekul (Turrahmi et al., 2021).

Hasil visualisasi produk PCR gen *blaZ* dari sampel dengan kode R4.S1, pada Gambar 3. diperoleh pola *band* yang berbeda-beda. *Band* yang lebih jelas dan terang terlihat pada suhu *annealing* 61.8°C, kemudian pada suhu 58.7°C dan 64.0°C terlihat *band* yang jelas namun kurang terang. Sedangkan pada suhu 52.0°C dan 54.2°C *band* yang dihasilkan terlihat lebih tipis.

Menurut Herman et al., (2018) hasil *band* DNA yang kurang jelas disebabkan karena konsentrasi DNA total yang terlalu kecil, proses penempelan primer yang kurang optimal pada template, sehingga pada saat

proses amplifikasi DNA mengakibatkan jumlah fragmen DNA lebih sedikit.

Hal yang dapat menyebabkan hasil pita DNA tidak spesifik juga disebabkan karena primer tidak dapat menempel dengan sempurna pada suhu yang terlalu rendah dari T_m , sehingga enzim polimerase juga tidak dapat mengkatalisasi proses PCR jika primer tidak menempel (Rosiana dan Widhiantara, 2018). Selain itu, karena faktor penggunaan konsentrasi agarose, ukuran pori yang semakin kecil di dalam matriks agarosa, maka laju DNA akan semakin lambat (Pratomo et al., 2021). Gel agarosa termasuk salah satu media yang biasa digunakan untuk memisah fragmen asam nukleat yang memiliki ukuran besar dan sedang (Purnomo et al., 2021). Gel agarosa ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya yaitu sederhana, mudah digunakan, dan laju pada pemisahan fragmen DNA yang sangat cepat (Harahap, 2018).

Tahapan *annealing* pada penelitian ini dilakukan menggunakan gradien suhu yang terdapat pada mesin PCR, dengan tujuan untuk memperoleh suhu yang optimal dan spesifik. Prinsip kerja gradien adalah dengan menentukan suhu optimal dan spesifik pada rentang suhu tertentu (terendah dan tertinggi) yang ditentukan dari T_m pada primer yang digunakan (Aulia et al., 2021).

Suhu *annealing* adalah suhu kisaran yang membuat pasangan masing-masing primer menempel pada DNA yang ditargetkan. Sehingga tahapan *annealing* sangat mempengaruhi keberhasilan amplifikasi PCR (Herman et al., 2018).

Penentuan nilai T_m penting untuk dilakukan karena berkaitan dengan penetapan *annealing temperature* (T_a), yaitu temperatur yang digunakan untuk penempelan primer. Apabila terjadi kesalahan dalam memilih suhu *annealing*, maka amplifikasi pada proses PCR tidak berjalan dengan baik. Penggunaan suhu yang berbeda di berbagai titik dalam reaksi PCR dapat memperoleh produk PCR dengan variasi *band* yang berbeda (Astari et al., 2021).

DNA total dari gen *blaZ* yang telah diperoleh dari hasil isolasi dan purifikasi DNA ditentukan dengan metode elektroforesis untuk mengetahui kualitasnya. Elektroforesis adalah sebuah metode yang digunakan untuk memisahkan molekul DNA berdasarkan ukurannya melalui sebuah medan listrik (Anam et al., 2021). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses elektroforesis yaitu penggunaan jumlah DNA marker dan jumlah sampel DNA hasil amplifikasi (Tilawah et al., 2018).

Menurut Yuenleni (2019) ciri hasil PCR dengan *band* yang optimal adalah adanya pita/*band* yang jelas, tidak terdapat smear yang terbentuk, serta ukurannya sesuai dengan target DNA yang diinginkan. Berdasarkan hasil amplifikasi PCR pada suhu 61.8°C, produk PCR yang diperoleh tidak ada *smear* yang terbentuk, sehingga menunjukkan DNA hasil amplifikasi tidak terkontaminasi oleh komponen asing. Hal ini mengindikasikan bahwa suhu *annealing* 61.8°C yang digunakan sesuai dengan primer yang digunakan. Hasil visualisasi elektroforesis seluruh produk PCR gen *blaZ* juga menunjukkan hasil *band* sesuai yang ditargetkan, yaitu 173bp (Zehra et al., 2017).

KESIMPULAN

Hasil optimasi suhu *annealing* yang dapat digunakan untuk amplifikasi gen *blaZ*, pada bakteri MRSA dari peralatan medis rumah sakit adalah suhu 61.8°C dimana suhu tersebut mampu menghasilkan pita DNA dengan baik pada 173bp.

Penelitian selanjutnya disarankan dapat meningkatkan jumlah sampel yang digunakan, agar bisa menetapkan hasil penelitian pada populasi yang lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

Amanda, K., Sari, R., & Apridamayanti, P. 2019. Optimasi Suhu *Annealing* Proses PCR Amplifikasi Gen *shv* Bakteri *Escherichia coli* Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1), 1–6.

Anam, K., Cahyadi, W., Azmi, I., Senjarini, K., & Oktarianti, R. 2021. Analisis Hasil Elektroforesis DNA dengan *Image Processing* Menggunakan Metode Gaussian Filter. *IJEIS (Indonesian Journal of Electronics and Instrumentation Systems)*. 11(1), 37.

Aulia, S. L., Suwignyo, R. A., & Hasmeda, M. 2021. Optimasi Suhu *Annealing* untuk Amplifikasi Dna Padi Hasil Persilangan Varietas Tahan Terendam dengan Metode *Polymerase Chain Reaction*. *Sainmatika: Jurnal Ilmiah Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*. 18(1), 44.

Aziz, F., Budi Lestari, F., Nuraidah, S., Purwati, E., Isrina Oktavia Salasia, S. 2018. Deteksi Gen Penyandi Sifat Resistensi Metisilin, Penisilin dan Tetrasiklin pada Isolat *Staphylococcus aureus* Asal Susu Mastitis Subklinis Sapi Perah. *Jurnal Sain Veteriner*. 34(1), 60–69.

Devi Astari, D., Gustiani Dewi, S., Setyaningrum, S., & Lidya, B. 2021. Perancangan Primer untuk Deteksi Kandungan Gen *Cytochrome b* Babi dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* dan Aplikasinya pada Berbagai Produk Industri. *Fullerene Journ. Of Chem*. 6(2), 110–117.

Erlin, E., Rahmat, A., Redjeki, S., & Purwianingsih, W. 2020. Deteksi *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial Pada Alat-Alat di Ruang Perawatan Bedah. *Quagga: Jurnal Pendidikan Dan Biologi*. 12(2), 137.

Harahap, M. R. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*. 2(1), 21–26.

Herman, H., Nainggolan, M., & Roslim, D. I. 2018. Optimasi Suhu *Annealing* Untuk Empat Primer Rapd Pada Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Dinamika Pertanian*. 34(1), 41–46.

Muhamad, F., Rafika, S., & Pratiwi, A. 2019. Optimasi Suhu *Annealing* Gen *mecA* Resistensi Antibiotik Amoksisilin Dari Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Kesehatan*. 5(1), 12.

Okiki, P. A., Eromosele, E. S., Ade-Ojo, P., Sobajo, O. A., Idris, O. O., & Agbana, R. D. 2020. Occurrence of *mecA* and *blaZ* genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with vaginitis among pregnant women in Ado-Ekiti, Nigeria. *New Microbes and New Infections*. 38, 100772.

Pratiwi, A., Sari, R., & Apridamayanti, P. 2019. Optimasi suhu desain primer gen *blaZ* resistensi pada bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in silico*. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 4(1), 3–12.

- Pratomo, Y. W., Zahida, F., & Yuda, P. 2021. Perbandingan Metode Isolasi DNA sebagai Templat PCR untuk Identifikasi Jenis Kelamin Cerek Jawa (*Charadrius javanicus*) secara Molekuler Menggunakan Primer 2550F/2718R. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 6(2), 78–86.
- Purnomo, N., Ramadhanty, D., Mansur, M., Nur, M., & Dagong, M. I. A. 2021. DNA Quality of Purification from Beef Sausage as Halal Authentication Material Based on Genetic Marker. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan*. 9(1), 44–50.
- Rosiana, I. W., & Widhiantara, I. G. 2018. Optimalisasi Produk PCR (Polymerase Chain Reaction) Pada Analisa Keragaman Genetik Mikrosatelit Burung Kakatua Kecil Jambul Kuning (*Cacatua sulphurea*). *Jurnal Media Sains*. 2(1), 37–42.
- Santy Pristianingrum, N., Zainiati, B. L., Muttaqin, Z., Desy Puspita, F., & Arman, R. 2021. Deteksi *Methicillin Resistance Staphylococcus Aureus* (MRSA). *Jurnal Analisis Medika Biosains (JAMBS)*. 8(1), 7–12.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. 2021. Optimasi Konsentrasi Primer dan Suhu *Annealing* dalam Mendeteksi Gen Leptin pada Sapi Peranakan Ongole (PO) Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*. 4(1), 36.
- Sitepu, A. F., Sartini Bayu, E., Aziz, L., & Siregar, M. 2019. Analisis Pola Pita Beberapa Genotipe Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) Menggunakan Primer RAPD. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 7(3), 502–507.
- Sugireng, & Rosdarni. 2020. Deteksi MRSA (*Methicillin Resistant Staphylococcus aureus*) dengan Metode PCR Pada Pasien Ulkus Diabetikum. *Jurusan Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar*. 31–35.
- Takayama, Y., Tanaka, T., Oikawa, K., Fukano, N., Goto, M., & Takahashi, T. 2018. Prevalence of *blaZ* Gene and Performance of Phenotypic Tests to Detect Penicillinase in *Staphylococcus aureus* Isolates from Japan. *Annals of Laboratory Medicine*. 38(2), 155–159.
- Tilawah, S., Sari, R., & Apridamayanti, P. 2018. Optimasi Volume DNA Marker dan Volume Amplifikasi Gen *tetL* Resistensi Antibiotik Tetrasiklin dari Bakteri *Bacillus cereus* pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Farmasi*. D(6), 1–7.
- Turbawaty, D. K., Logito, V., & Tjandrawati, A. 2021. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Patterns and Antibiotic Susceptibility in Surgical and Non-Surgical Patients in a Tertiary Hospital in Indonesia. *Majalah Kedokteran Bandung*. 53(3), 148–154.
- Turrahmi, M., Nurhidayani, N., Hasyimuddin, H., & Pabendon, M. B. 2021. Uji Kualitas Dan Kuantitas Tanaman Jewawut (*Setaria italic*) di Balai Penelitian Tanaman Serealia Kabupaten Maros. *Filogeni: Jurnal Mahasiswa Biologi*. 1(2), 57–62.
- Yuenleni, Y. 2019. Langkah-Langkah Optimasi Pcr. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1(3), 51.
- Yustinadewi, P. D., Yustiantara, P. S., & Narayani, I. 2018. Mdr-I Gene 1199 Variant Primer Design Techniques in Pediatric Patient Buffy Coat Samples With LLa. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 5(1), 105.
- Zehra, A., Singh, R., Kaur, S., & Gill, J. P. S. 2017. Molecular characterization of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* from livestock (bovine and swine). *Veterinary World*. 10(6), 598–604.