

IDENTIFIKASI GEN MULTIPLEX DNA PADA BAKTERI PENGHASIL ESBL DAN MRSA DARI ISOLAT ULKUS PASIEN DM

Amellya Octifani^{1*}

Universitas Anwar Medika, D3 Teknologi Laboratorium Medis
amellya.octifani@uam.ac.id

Kadeq Novita Prajawanti²

Universitas Anwar Medika, D3 Teknologi Laboratorium Medis
Kadeqnprajawanti@gmail.com

Siti Nur Azizah Binti Fandik³

Universitas Anwar Medika, D3 Teknologi Laboratorium Medis
Astinur43@gmail.com

*Corresponding author

ABSTRAK

Pendahuluan Peningkatan kadar glukosa darah pada pasien DM rentan mengalami komplikasi dan dapat menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri. Penggunaan antibiotik terlalu lama menyebabkan kemungkinan terjadinya resistensi, perlu untuk mengidentifikasi gen resisten sesegera mungkin untuk mengurangi prevalensi penyebaran bakteri yang menginfeksi luka diabetikum. **Metode** Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional dengan deskripsi kuantitatif. Untuk identifikasi gen multiplex DNA pada bakteri penghasil ESBL dan MRSA dari isolate ulkus pasien DM. **Hasil** Hasil penelitian diperoleh 16 isolat dari rawat jalan dan rawat inap sebanyak 63% isolat teridentifikasi bakteri *s.aureus* dan *e.coli* 37%. Hasil multiplex DNA isolat bakteri *s.aureus* terdeteksi 32% gen *mecA*, 6% gen *ctxm*. Pada isolate bakteri *e.coli* terdeteksi 6% gen *ctx-m* dan 18% gen *mecA*. **Kesimpulan** Metode multiplex PCR dapat digunakan untuk identifikasi gen *mec-A* dan *ctx-m* sebagai gen pengkode bakteri penghasil MRSA dan ESBL pada isolat *S.aureus* dan *E.coli* dari swab ulkus diabetikum.

Kata Kunci: *ulkus diabetikum, multiplex DNA, ESBL, MRSA*

ABSTRACT

Introduction Elevated blood glucose levels in people with DM are prone to complications and can create a favourable environment for bacterial growth. Prolonged use of antibiotics leads to the possibility of resistance and it is necessary to identify resistance genes as soon as possible to reduce the prevalence of the spread of bacteria that infect diabetic wounds. **Method** The type of research used is observational with quantitative description. For the identification of DNA multiplex genes in ESBL-producing bacteria and MRSA from ulcer isolates of DM patients. **Result** The results of the study obtained 16 isolates from outpatients and inpatients as many as 63% of isolates identified *s.aureus* bacteria and *e.coli* 37%. DNA multiplex results of *s.aureus* bacterial isolates detected the *mecA* gene in 32% and the *ctxm* gene in 6%. In *e.coli* bacterial isolates, 6% *ctx-m* gene and 18% *mecA* gene were detected. **Conclusion** Multiplex PCR method can be used to identify *mec-A* and *ctx-m* genes as coding

genes of MRSA and ESBL producing bacteria in S.aureus and E.coli isolates from diabetic ulcer swabs.

Keywords: Diabetic ulcer, multiplex DNA, ESBL, MRSA

PENDAHULUAN

Peningkatan kadar glukosa darah pada pasien DM rentan mengalami komplikasi dan dapat menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri, meningkatkan risiko infeksi luka menyebabkan kerusakan integritas kulit, dan memperpanjang proses penyembuhan luka (Mita Zuliana, Suliati, and Endarini 2023). Hasil identifikasi bakteri dari swab luka infeksi sekunder pasien DM didapatkan paling banyak bakteri *Staphylococcus aureus* (Akmal et al. 2024). Penelitian oleh (Puspaningrum and Wibowo 2020) mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada ulkus terbanyak yaitu *Staphylococcus aureus* sebanyak 35,30%, hasil penelitian juga menunjukan bakteri pada abses terbanyak yaitu *Staphylococcus aureus* sebanyak 75%, dan dari data selulitis didapatkan bakteri terbanyak yaitu *Escherichia coli* sebanyak 40%. Berdasarkan penelitian sebelumnya, bakteri yang paling banyak ditemukan pada tukak diabetik adalah 79,6% bakteri gram negatif dan 20,4% bakteri gram positif (Jain and Barman 2017).

Berbagai penelitian telah melaporkan tingginya tingkat resistensi antimikroba terhadap MRSA (.....) yang diisolasi dari pasien diabetes. Kejadian resistensi terhadap banyak antibiotik pada ulkus diabetikum dapat berdampak pada semakin lamanya rawat inap, mempengaruhi morbiditas, dan mortalitas (Amilia et al. 2018). Hasil penelitian oleh (Khariunnisa, Soleha, and Ramadhian 2020) Pola kepekaan antibiotik amoksisilin 92,9% resisten dengan 7,1% intermediate terhadap bakteri *S. aureus*, vankomisin 57,1% resisten dengan 42,9% sensitif, sefotaksim 50% resisten dengan 21,4% sensitif dan 28,6% intermediate

serta sefoksitin memiliki tingkat resisten sebesar 42,9% dengan 57,1% sensitif terhadap *S. aureus*. Antibiotik yang paling sensitif adalah sefoksitin dan antibiotik yang paling resisten adalah amoksisilin. Hasil penelitian oleh Meta, Endriani, and Sembiring (2014) di RSUD Arifin Achmad Riau, didapatkan pasien dengan ulkus diabetik derajat I dan II yang diberikan sefotaksim memiliki tingkat resistensi yang tinggi, yaitu 100%.

Penggunaan antibiotik terlalu lama menyebabkan kemungkinan terjadinya resistensi. Pola resistensi bakteri Gram negatif sulit diobati oleh antibiotik konvensional. Saat ini, kurangnya terapi antibiotik yang efektif dan sedikitnya penggunaan antibiotik baru yang resisten terhadap betalaktamase, menyebabkan pada kasus tertentu, memerlukan pengembangan pilihan pengobatan dan metode pemeriksaan baru (Frieri, Kumar, and Boutin 2017).

Oleh karena itu, perlu untuk mengidentifikasi gen resisten sesegera mungkin untuk mengurangi prevalensi penyebaran bakteri yang menginfeksi luka diabetikum. Untuk mendeteksi resistensi antibiotik pada bakteri tidak cukup dengan pengujian konvensional, perlu dilakukan identifikasi fenotip gen mengkode resistensi antibiotik (Ghenea et al. 2022). Pengembangan protokol multiplex DNA untuk menganalisis beberapa gen secara signifikan akan meningkatkan penerapan skrining genetik sebagai alat untuk deteksi dini hasil kesehatan dalam penelitian ini adalah pasien diabetes mellitus dengan komplikasi ulkus diabetikum (Ghenea et al. 2022). Metode PCR multiplex adalah metode yang berguna untuk deteksi cepat gen

shv, ctx-m dan mec-A dapat memberikan manfaat untuk program pengendalian infeksi (Akash et al. 2020).

Jelaskan juga urgensi pemilihan gen ctxm dan mecA dan kaitannya dengan diabetes.

Jelaskan apakah gen tersebut bisa ditemukan pada bakteri *S.aureus* atau *E.coli* atau keduanya.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang digunakan adalah observasional dengan deskripsi kuantitatif. Tahapan penelitian ini adalah pengambilan sampel swab ulkus diabetikum, isolasi dan identifikasi bakteri, ekstraksi DNA isolate bakteri, amplifikasi gen dengan metode multiplex PCR, elektroforesis dan analisa data.

Pengambilan Sampel Ulkus Diabetikum

Sampel diambil dari ulkus pasien DM di RSUD Dr. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto. Alat dan bahan yang akan digunakan: sarung tangan steril, kapas steril, dan media transportasi kaldu nutrisi. Pengambilan sampel luka diabetes dilakukan dengan memutar seluruh kapas steril yang dicelupkan dalam media nutrisi dan memasukkan kapas steril ke dalam tabung berulir. Tabung yang berisi swab dari pasien dengan luka diabetes diberi label, ditempatkan dalam kotak, dan segera diangkut ke Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Anwar Medica Sidoarjo.

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Sebanyak 16 ulkus diabetik diisolasi dari RSUD Drs. Wahidin Sudiro Husodo Mojokerto disubkultur dalam medium bersuhu 37°C selama 24–48 jam. Pertumbuhan koloni pada medium BAP menghasilkan warna kuning dengan ciri-ciri koloni tunggal, kecil, bulat, halus, berpigmen putih dan berukuran sedang serta berpigmen kuning putih, pada masa inkubasi 48 jam terungkap bakteri *S.aureus* terdapat area terang di sekitar koloni, yang

mengindikasikan kemungkinan hemolisis (Rizky et al. 2021). Identifikasi bakteri *S.aureus* dilakukan dengan metode molekuler menggunakan primer nuc sebagai gen spesifik untuk *S.aureus*.

Untuk bakteri *E.coli*, jelaskan cara identifikasinya secara konvensional

Isolasi DNA dan Amplifikasi Multipleks DNA

Isolasi dan ekstraksi DNA dengan alat thermal cycle metode boiling kering suhu 990c selama 5 menit satu ose disuspensi kedalam 0,1 ml aquadest steril kemudian disentrifugase 6000 rpm selama 10 menit (Saraswati et al. 2023). Campuran untuk reaksi PCR dengan volume 25 µl yang terdiri dari PCR mastermix 12.5µl (0.5 U Taq polymerase, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂ dan buffer 1x), 1.5 µl D.W, 1 µl untuk masing-masing primer dan 5µl DNA template. Suhu PCR yang dipakai adalah denaturasi awal pada suhu 950C selama 7 menit kemudian diikuti dengan 35 siklus yang terdiri dari 950C selama 30 detik (denaturasi), 530C selama 40 detik (annealing), dan 720C selama 1 menit (ekstensi) dan diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 720C selama 10 menit.

Tabel 1.

Primer spesifik ctx-m dan mecA			
N	Gen	Sekuens	bp
1	CTX-M	F 5'- atgtgcayaccagtaargt- 3'	876 bp
		R 5'tgggtraartargtsacca ga-3'	
2	mecA	F 5'aaatcgatggtaaaggtt ggc- 3'	533 bp
		R 5'- agttctgcagtaccggatttg c-3'	

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada sampel ulkus diabetikum diperoleh sebanyak 16 isolat dari rawat jalan dan rawat inap dengan metode molekuler untuk *S.aureus* dan konvensional untuk *E.coli*. Sebanyak 63% isolat teridentifikasi bakteri *S.aureus* dan *E.coli* 37% (tabel 2). Hasil penelitian (Anggraini et al. 2020) kultur bakteri didominasi oleh bakteri gram negatif *Klebsiella pneumoniae* (17,9%), *Escherichia coli* (16,5%), *Acinetobacter baumannii* (14,7%), sedangkan bakteri gram positif yang menjadi penyebab utama ulkus diabetikum adalah *Staphylococcus aureus* (16,5%). Penelitian oleh (Mita Zuliana et al. 2023) tentang *Identifikasi Bakteri Pada Luka Ulkus Pasien Diabetes Melitus* dari 40 sampel luka pasien teridentifikasi bakteri penyebab infeksi pada gram positif ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 9 sampel, bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebanyak 9 sampel dan ditemukan bakteri lain yang bukan bakteri gram positif sebanyak 22 sampel (Mita Zuliana et al. 2023).

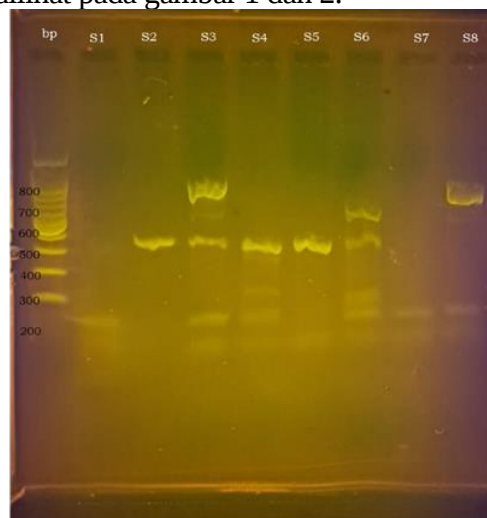
Tabel 2.

Hasil identifikasi Bakteri

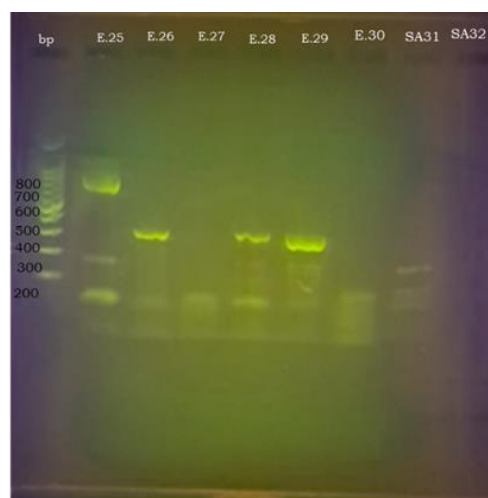
No	Spesies Bakteri	Jumlah	%
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	63%
2	<i>E.coli</i>	6	37%
Jumlah		16	100%

Bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik dengan berbagai mekanisme, antara lain menghasilkan enzim yang dapat merusak antibiotik, merubah target intraselluler dari antibiotik dan efflux pump (Amilia et al. 2018). Gen resisten dapat melakukan coding protein transport membran untuk mencegah antibiotik masuk sel bakteri (Pratiwi 2017). Setelah dilakukan identifikasi bakteri tahapan selanjutnya adalah identifikasi gen penghasil ESBLs (.....) pada bakteri *e. coli* dan MRSA pada bakteri *s.aureus*. Ada beberapa gen DNA yang mengkode resistensi antibiotik pada

bakteri yang menginfeksi ulkus luka diabetikum yaitu gen *ctx-m* dan *mec-A*. Hasil identifikasi multiplex DNA dapat dilihat pada gambar 1 dan 2.



Gambar 1.
Hasil elektroforesis ke-1



Gambar 2.
Hasil elektroforesis ke-2

Hasil elektroforesis ke-1 pada sampel dengan kode nomor sampel isolate bakteri *S.aureus* S2, S3, S4, S5 dan S6 (32%), membentuk pita dengan ukuran 533 bp pada proses elektroforesis pertama. Hal ini menunjukkan adanya gen *mec-A* pada *S.aureus* dari isolat ulkus pasien DM. Pada sampel S3 (6%) terbentuk juga pita dengan ukuran 876 bp yang menunjukkan adanya gen *ctx-m*. *Staphylococcus aureus* adalah

salah satu penyebab utama infeksi pada penderita diabetes. Mikroorganisme ini memainkan peran yang sangat penting dalam skenario ini dengan menyebabkan infeksi yang berkisar dari superfisial hingga infeksi sistemik yang parah dan berpotensi fatal. Infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* yang resistan terhadap methicillin (MRSA) dikaitkan dengan tingkat kematian yang lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* yang rentan terhadap methicillin (MSSA) (Teixeira et al. 2021). Resistensi antimikroba yang tinggi terhadap MRSA yang diisolasi dari pasien diabetes telah dilaporkan dalam berbagai penelitian, lima belas dari 112 isolat *S. aureus* membawa gen *mec A* yang resistan terhadap metisilin (Hussein et al. 2024). Deteksi fenotipe MRSA menggunakan difusi cakram masih belum menunjukkan hasil yang akurat dan genotipe *mec A* menggunakan PCR masih menjadi rekomendasi utama meskipun belum dapat dilakukan secara rutin (Rafif Khairullah et al. 2022).

Methicillin-resisten Staphylococcus aureus (MRSA) adalah bakteri yang menyebabkan masalah kesehatan besar di fasilitas kesehatan atau masyarakat (Humaryanto, Hanina, and Fairuz 2023). *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan salah satu penyebab terpenting infeksi rumah sakit di seluruh dunia. Resistensi tingkat tinggi terhadap methicillin disebabkan oleh gen *mecA*, yang mengkode protein pengikat penisilin alternatif (PBP 2a) (Rocchetti et al. 2018). Bakteri ini menyebabkan infeksi ulkus diabetikum semakin progresif, sehingga pencegahan adalah langkah yang penting. MRSA adalah strain bakteri *Staphylococcus aureus* dengan karakteristik resistensi fenotipik terhadap antibiotik beta-laktam, atau disebut protein pengikat penisilin afinitas rendah (PBP)

dalam subkelas B1 dan sering dikenal sebagai PBP2a atau PBP2.1,2 PBP2a dicirikan oleh gen *mecA* yang terletak bersamaan dengan pengaturannya (Humaryanto et al. 2023).

Hasil elektroforeis ke -2 pada sampel dengan kode nomor E25 (6%) dan S3 membentuk pita dengan ukuran 876 bp yang menunjukkan adanya gen *ctx-m*. CTX-M merupakan salah satu jenis dari *Extended Spectrum β -laktamase* (ESBL) yang mampu menghidrolisis antibiotik sehingga mengakibatkan terjadi resistensi. Plasmid didalam bakteri mengandung gen yang dapat mengkode enzim ESBL, enzim tersebut adalah *tem*, *shv*, *ctx-m*, dan *oxa*. Akan tetapi yang sering didapatkan yakni enzim *ctx-m*. ESBL sering ditemukan pada bakteri famili *Enterobacteriaceae*, salah satu diantaranya adalah bakteri *Escherichia coli* sehingga bakteri tersebut dapat menghidrolisis antibiotik penisilin (Pratama, Djide, and Massi 2019).

Nomor sampel E26, E28 dan E29 (18%) pada isolate bakteri *e.coli* membentuk pita dengan ukuran 533 bp. Hal ini menunjukkan adanya gen *mec-A*, yang mungkin tidak terdapat pada bakteri dikarenakan gen *mec-A* adalah gen pengkode bakteri penghasil MRSA yang terdapat pada bakteri *S.aureus*. kesalahan terbentuknya pita dikarenakan teknik pengumpulan bakteri itu sendiri saat penelitian menyebabkan identifikasi *E. coli* yang salah dan optimasi suhu amplifikasi (Prajawaty and Fatmawati 2018). Metode multipleks DNA PCR dapat digunakan untuk identifikasi gen bakteri penghasil MRSA dan ESBL, namun perlu dilakukan optimasi suhu karena primer dengan ukuran yang berbeda-beda. Resistensi dapat terjadi karena adanya gen resisten pada bakteri yang berfungsi melindungi terhadap inhibitory effect dari antibiotik (Saraswati et al. 2023).

SIMPULAN

Metode multipleks PCR dapat digunakan untuk identifikasi gen *mec-A* dan *ctx-m* sebagai gen pengkode MRSA dan ESBL pada isolat *S.aureus* dan *E.coli* dari swab ulkus diabetikum.

SARAN

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi suhu amplifikasi untuk multipleks DNA dan menghubungkan pola gen resistensi dengan karakteristik derajat ulkus pasien DM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemendikbudristek dan Universitas Anwar Medika, kepada semua pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini..

DAFTAR PUSTAKA

- Akash, Muhammad Sajid Hamid, Kanwal Rehman, Fareeha Fiayyaz, Shakila Sabir, and Mohsin Khurshid. 2020. "Diabetes-Associated Infections: Development of Antimicrobial Resistance and Possible Treatment Strategies." *Archives of Microbiology* 202(5):953–65. doi: 10.1007/s00203-020-01818-x.
- Akmal, Qatrinnada Maulidya, Hanina, Humaryanto, Lipinwati, and Rita Halim. 2024. "Isolation and Identification of Bacteria Causing Secondary Wound Infections in Diabetes Mellitus Patients in Jambi City." *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan : Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya* 11(2):200–208. doi: 10.32539/jkk.v11i2.395.
- Amilia, Yunita, Lintang Dian Saraswati, dr Muflihatul Muniroh, dr Ari Udiyono, and MKes Peminatan Epidemiologi dan Penyakit Tropik Fakultas Kesehatan. 2018. "Hubungan Pengetahuan, Dukungan Keluarga Setra Perilaku Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 Terhadap Kejadian Ulkus Kaki Diabetes." *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 6:2356–3346.
- Anggraini, D., I. Yovi, R. Yefri, E. Christianto, and E. Syarputri. 2020. "Pola Bakteri Dan Antibiotogram Penyebab Ulkus Diabetikum Di Rs X Riau Periode." *Biomedika* 12(1):27–35. doi: 10.23917/biomedika.v12i1.9316.
- Frieri, Marianne, Krishan Kumar, and Anthony Boutin. 2017. "Antibiotic Resistance." *Journal of Infection and Public Health* 10(4):369–78. doi: 10.1016/j.jiph.2016.08.007.
- Ghenea, Alice Elena, Ovidiu Mircea Zlatian, Oana Mariana Cristea, Anca Ungureanu, Radu Razvan Mititelu, Andrei Theodor Balasoiu, Corina Maria Vasile, Alex Ioan Salan, Daniel Iliuta, Mihaela Popescu, Anca Loredana Udriștoiu, and Maria Balasoiu. 2022. "TEM,CTX-M,SHV Genes in ESBL-Producing Escherichia Coli and Klebsiella Pneumoniae Isolated from Clinical Samples in a County Clinical Emergency Hospital Romania- Predominance of CTX-M-15." *Antibiotics* 11(4):1–12. doi: 10.3390/antibiotics11040503.
- Humaryanto, Hanina, and Fairuz. 2023. "Detection of *MecC* Gene of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus Isolates at Jampbi City Hospital." *Jmj* 11:3–8.
- Hussein, Khulood Abdulkareem, Abdulmutalib Abdulla Mohammed, Sundus Baqer Dawood, and Sajjad Salim Issa. 2024. "Genetic Identification of Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)

- Isolated from Diabetic Foot Ulcers and Evaluating the Inhibition Activity of Reuterin against This Bacteria.” *Journal of the Pakistan Medical Association* 74(10):S132–36. doi: 10.47391/JPM-A-BAGH-16-29.
- Jain, Sudhir, and Rashmisnata Barman. 2017. “Bacteriological Profile of Diabetic Foot Ulcer with Special Reference to Drug-Resistant Strains in a Tertiary Care Center in North-East India.” *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* 21(5):688–94. doi: 10.4103/ijem.IJEM_546_16.
- Khariunnisa, Rifda, Tri Umiana Soleha, and Muhammad Ricky Ramadhian. 2020. “Identifikasi Dan Uji Resistensi Staphylococcus Aureus Pada Ulkus Diabetik Di Instalasi Penyakit Dalam RSUD Dr. H. Abdul Moeloek Identification and Resistency Test of Staphylococcus Aureus on Diabetic Ulcer in Internal Medicine Installation at Dr.” *J Agromedicine Unila* 7:1–6.
- Meta, Definov Tasca, Rita Endriani, and Ligat Pribadi Sembiring. 2014. “Identifikasi Dan Resistensi Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Dari Ulkus Diabetikum Derajat I Dan II Wagner Di Bagian Penyakit Dalam RSUD Arifin Achmad.” *Fakultas Kedokteran Universitas Riau* 1(2):1–7.
- Mita Zuliana, Nur, Suliati Suliati, and Lully Hanny Endarini. 2023. “Identifikasi Bakteri Pada Luka Ulkus Pasien Diabetes Mellitus.” *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)* 18(2):205–11. doi: 10.36086/jpp.v18i2.1835.
- Prajawaty, Putu Ayu Utami, and Ni Nengah Dwi Fatmawati. 2018. “Deteksi Molekuler MecA Pada Isolat Klinis Methycilin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Dengan Menggunakan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Di RSUP Sanglah Denpasar.” *Intisari Sains Medis* 9(3):74–77. doi: 10.15562/ism.v9i3.327.
- Pratama, Agus Sangka, M. Natsir Djide, and M. Nasrum Massi. 2019. “IDENTIFIKASI GENOTIP CTX-M PADA Escherichia Coli PENGHASIL EXTENDED SPECTRUM BETA LACTAMASE (ESBL) YANG RESISTEN PADA CEPHALOSPORIN GENERASI III DI RSUP WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR.” *Majalah Farmasi Dan Farmakologi* 23(1):5–9. doi: 10.20956/mff.v23i1.6458.
- Pratiwi, Rina Hidayati. 2017. “Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik.” *Jurnal Pro-Life* 4(3):418–29.
- Puspaningrum, Yulaikha, and Wahyu Aji Wibowo. 2020. “Gambaran Pola Bakteri Pada Ulkus, Abses Dan Selulitis Di RS PKU Muhammadiyah Surakarta.” *Medical Research for Better Health* 472–82.
- Rafif Khairullah, Aswin, Saifur Rehman, Sri Agus Sudjarwo, Mustofa Helmi Effendi, Sancaka Chasyer Ramandinianto, Maria Aega Gololodo, Agus Widodo, Katty Hendriana Priscilia Riwu, and Dyah Ayu Kurniawati. 2022. “Detection of MecA Gene and Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Isolated from Milk and Risk Factors from Farms in Probolinggo, Indonesia.” *F1000Research* 11:722. doi: 10.12688/f1000research.122225.1.
- Rizky, Vincentia Ade, Sa’adah Siregar,

- Visensius Krisdianilo, Asvia Rahayu, Suventi Syafrina Ginting, and . Kartini. 2021. "Identifikasi Bakteri Escherichia Coli O157:H7 Pada Feses Penderita Diare Dengan Metode Kultur Dan Pcr." *Jurnal Farmasimed (Jfm)* 3(2):118–23. doi: 10.35451/jfm.v3i2.615.
- Rocchetti, Taisa Trevizani, Katheryne Benini Martins, Patricia Yoshida Faccioli Martins, Rogério Antonio de Oliveira, Alessandro Lia Mondelli, Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, and Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha. 2018. "Detection of the MecA Gene and Identification of Staphylococcus Directly from Blood Culture Bottles by Multiplex Polymerase Chain Reaction." *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 22(2):99–105. doi: 10.1016/j.bjid.2018.02.006.
- Saraswati, I. Gusti Ayu Agung Putri India, Ni Nengah Dwi Fatmawati, Agus Eka Darwinata, and Komang Januartha Putra Pinatih. 2023. "DETEKSI KEBERADAAN GEN Hla SEBAGAI GEN PENYANDI α -TOXIN HEMOLYSIN PADA METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) TERISOLASI DI MIKROBIOLOGI KLINIK RSUP PROF. DR. I.G.N.G. NGOERAH." *Jurnal Medika Udayana* 12(9):101–6.
- Teixeira, Nathalia Bibiana, Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza, Matheus Cristovam de Souza, Thais Aline Monteiro Pereira, Bibiana Prada de Camargo Colenci, and Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha. 2021. "Molecular Characterization of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus among Insulin-Dependent Diabetic Individuals in Brazil." *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 20(1):1–12. doi: 10.1186/s12941-020-00401-y.