

## Optimasi Suhu *Annealing* dan Konsentrasi Agarosa pada Deteksi Gen *mecA* Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

### *Optimization of Annealing Temperature and Agarose Concentration in Detecting the mecA Gene of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*

Muhammad Abdullah Alhakim<sup>1</sup>, Kurnia Ritma Dhanti<sup>1\*</sup>,  
Kurniawan<sup>1</sup>, Arif Mulyanto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medik, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Banyumas, Indonesia

#### *Abstract*

*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) is associated with the expression of the mecA gene. This study aimed to determine the optimal annealing temperature and agarose concentration to achieve the best PCR product quality based on the evaluation of DNA band integrity, thickness, and resolution. DNA was extracted from five S. aureus samples to detect isolates containing the mecA gene. The experimental variations included annealing temperatures of 53°C, 55°C, 57°C, and 59°C, as well as agarose concentrations of 1% and 1.5%. Through densitometry measurements, the optimal mecA gene band thickness was achieved at an annealing temperature of 59°C. Furthermore, the use of a 1.5% agarose concentration provided the best DNA separation resolution compared to the 1% concentration. In conclusion, optimization of annealing temperature and agarose concentration parameters was crucial to ensure the accuracy of MRSA diagnosis in the laboratory.*

**Keywords:** Agarose, annealing, *mecA*, PCR

#### Article history:

Submitted 30 Juni 2025  
Accepted 30 April 2026  
Published 30 April 2026

#### PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

#### Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,  
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

#### Email:

[info@salnesia.id](mailto:info@salnesia.id), [jika@salnesia.id](mailto:jika@salnesia.id)

#### Phone:

+62 85255155883



**Abstrak**

*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dikaitkan dengan adanya ekspresi gen *mecA*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan suhu *annealing* dan konsentrasi agarosa yang optimal guna mendapatkan kualitas produk PCR terbaik berdasarkan evaluasi keutuhan, ketebalan, dan resolusi pita DNA. DNA diekstrak dari 5 sampel *S. aureus* untuk mendeteksi isolat yang memiliki gen *mecA*. Variasi penelitian dilakukan pada suhu *annealing* 53°C, 55°C, 57°C, 59°C dan konsentrasi agarosa 1% dan 1,5%. Melalui pengukuran densitometri, ketebalan pita gen *mecA* yang paling optimal tercapai pada suhu *annealing* 59°C. Selain itu, penggunaan konsentrasi agarosa 1,5% memberikan resolusi pemisahan DNA yang paling baik dibandingkan konsentrasi 1%. Kesimpulannya, optimasi parameter suhu *annealing* dan konsentrasi agarosa ini sangat penting untuk menjamin akurasi diagnosis MRSA di laboratorium.

**Kata Kunci:** *Agarosa, annealing, Gen mecA, MRSA, PCR*

\*Penulis Korespondensi:

Kurnia Ritma Dhanti, email: [kurniaritmadhanti@ump.ac.id](mailto:kurniaritmadhanti@ump.ac.id)



This is an open access article under the **CC-BY** license

**Highlight:**

- Melalui analisis densitometri, ketebalan dan kualitas pita DNA gen *mecA* pada bakteri MRSA mencapai kondisi paling optimal pada suhu *annealing* 59°C dibandingkan dengan variasi suhu lainnya (53°C, 55°C, dan 57°C).
- Penggunaan konsentrasi agarosa sebesar 1,5% memberikan resolusi dan pemisahan pita DNA yang jauh lebih baik serta lebih jelas dalam proses elektroforesis dibandingkan dengan konsentrasi 1%.
- Optimasi parameter fisik berupa suhu *annealing* dan konsentrasi matriks agarosa ini sangat krusial untuk menjamin akurasi, sensitivitas, dan validitas diagnosis keberadaan strain bakteri resisten MRSA di laboratorium.

**PENDAHULUAN**

*Staphylococcus aureus* termasuk bakteri Gram positif dengan ciri koloni berbentuk bulat, berwarna kuning, dan anaerob fakultatif. Bakteri ini merupakan flora normal yang mudah ditemukan di tubuh manusia, lingkungan, dan udara. Namun pertumbuhan yang tidak terkendali dapat memicu berbagai infeksi serius seperti pneumonia, bakterimia, meningitis, dan gastroenteritis (Trisia et al., 2018).

*Staphylococcus aureus* dapat mengembangkan sifat resisten terhadap antibiotik beta-laktam, sehingga strain tertentu berkembang menjadi *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Algammal et al., 2020). Resistensi disebabkan oleh peningkatan konsumsi antibiotik dan jenis antibiotik dalam pengobatan penyakit (Prasetio dan Barliana, 2016). Infeksi MRSA yang bersumber dari rumah sakit (*Hospital-Acquired MRSA*) maupun dari komunitas (*Community Acquired-MRSA*), menjadi masalah klinis yang mendesak karena dikaitkan dengan peningkatan durasi rawat inap, tingginya biaya perawatan, dan meningkatnya angka kematian pasien (Rahman et al., 2023).

*Staphylococcus aureus* mempunyai *Penicillin Binding Protein* (PBPs), suatu enzim yang berperan dalam polimerisasi ikatan glikan dan pengikatan silang rantai

tersebut menjadi struktur dinding sel (Wacnik et al., 2022). Keberadaan gen *mecA* mengode PBP2A yang memiliki afinitas rendah terhadap antibiotik beta-laktam. Akibatnya, bakteri dapat mensintesis dinding sel terlepas dari keberadaan antibiotik tersebut (Alghamdi et al., 2023).

Menurut WHO dalam laporan *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System* (GLASS) tahun 2022, penelitian yang mencakup 76 negara mengungkapkan bahwa 35% isolat *Staphylococcus aureus* menunjukkan resistensi terhadap metisilin (Ume et al., 2025). Penelitian lain mengindikasikan tingginya estimasi prevalensi kasus MRSA di Indonesia yang diperkirakan berada dalam kisaran 25% hingga 50% (Mandagi et al., 2022). Menurut data surveilans MRSA tahun 2022, distribusi kasus di wilayah Jawa Tengah–Yogyakarta tercatat sebagai yang tertinggi keempat di Indonesia dengan persentase resistensi mencapai 33% (PAMKI, 2023).

MRSA merupakan tantangan dalam deteksi klinis sehingga diperlukan metode deteksi yang tepat dan cepat. PCR menjadi standar emas dalam mendeteksi gen penanda bakteri MRSA (Gupta et al., 2022). Metode ini dapat mendeteksi gen *nuc* dan *mecA* MRSA dengan spesifisitas 97% dan sensitivitas 100% dalam waktu penyelesaian 48 jam (Liu et al., 2016).

Prinsip PCR adalah mengamplifikasi segmen DNA tertentu dalam jumlah berkali-kali lipat. PCR terdiri dari tahap *denaturation* (pemisahan untai ganda), tahap *annealing* (penempelan primer) dan tahap *elongation* (amplifikasi untai DNA baru) (Khehra et al., 2025). Tahap *annealing* perlu dilakukan optimasi suhu karena setiap gen memiliki suhu *annealing* berbeda (Setyawati and Zubaidah, 2021). Penggunaan suhu *annealing* yang kurang tepat sering kali memicu penempelan primer yang tidak spesifik dan menurunkan efektivitas PCR (Seprianto et al., 2023).

Setelah DNA teramplifikasi, dilakukan elektroforesis pada media agarosa. Elektroforesis adalah teknik memisahkan molekul bermuatan dengan bantuan elektroda untuk menghasilkan medan listrik (Amanda et al., 2019). Konsentrasi agarosa memengaruhi laju elektroforesis dan resolusi. Resolusi gel mengacu pada kemampuan memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukurannya sehingga fragmen terpisah dan tidak tumpang tindih (Arslan et al., 2021). Jika konsentrasi agarosa tidak sesuai dengan ukuran target basa nukleotida gen *mecA*, pita DNA tidak dapat bermigrasi sempurna sehingga terlihat membur (smear), bertumpuk, atau tidak terpisah secara jelas dengan DNA ladder.

Berdasarkan kondisi tersebut, celah penelitian masih terbuka karena tidak semua laboratorium menggunakan desain primer gen *mecA* yang sama, dan prosedur standar sering kali gagal menghasilkan kualitas visualisasi pita DNA yang konsisten di berbagai kondisi mesin PCR. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi suhu *annealing* dan konsentrasi agarosa yang optimal dilihat dari kualitas produk PCR. Hasil PCR yang baik akan memunculkan pita tebal dan jelas sedangkan hasil yang kurang baik ditunjukkan oleh pita samar akibat degradasi DNA (Lucena-Aguilar et al., 2016). Setelah dilakukan elektroforesis, DNA yang berkualitas tinggi akan menunjukkan pita yang jelas, tebal, dan sesuai ukuran target (Setyawati dan Zubaidah, 2021; Triani, 2019).

## METODE

Penelitian ini berjenis eksperimen laboratorium dengan *rancangan one shot case study*. Metode yang digunakan untuk mendeteksi gen *mecA* adalah *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Peneliti melakukan variasi suhu *annealing* PCR pada 53°C,

55°C, 57°C, dan 59°C dan variasi konsentrasi gel agarosa pada 1% dan 1,5%. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2023 di Laboratorium Terpadu, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Variabel bebas pada penelitian ini berupa suhu *annealing* dan konsentrasi agarosa. Variabel terikat berupa kualitas produk PCR.

Sampel yang digunakan adalah *S. aureus* yang mengontaminasi alat-alat medis di Rumah Sakit Siaga Medika dan PKU Muhammadiyah Kroya. Sampel *S. aureus* telah melalui proses identifikasi dengan pewarnaan Gram, uji katalase, dan koagulase. Sampel terdiri dari lima isolat bakteri dari tiga alat berbeda, isolat tensimeter memiliki kode R.PD.T4 (HA), K1.T12 (HE), dan RV.T4 (HF). Isolat tiang infus memiliki kode R.IS2.I3 (HD), sedangkan isolat stetoskop memiliki kode R6.S1 (HB).

Alat yang digunakan meliputi sentrifus, mikropipet, *UV Transiluminator*, *Mastercycler Nexus Gradient* tipe 6331 (Eppendorf), dan alat elektroforesis (BIO RAD). Bahan-bahan yang digunakan meliputi kultur bakteri MRSA, *Media lactose broth*, NaCl Fisiologis, *Aquabidest* (ddH<sub>2</sub>O), *Bacterial DNA Extraction kit*, primer *forward* (GGG ATC ATA GCG TCA TTA TTC) dan *reverse* (AAC GAT TGT GAC ACG ATA GCC), PCR kit, TAE Buffer, Agarosa, DNA ladder 100 bp (Geneaid), *loading dye* (Geneaid) dan Ethidium bromide.

Tahap penelitian diawali dengan kultur bakteri dan ekstraksi DNA. Isolat bakteri *S. aureus* dikulturkan pada *lactose broth*. Kultur diendapkan dengan bantuan sentrifus dengan lama waktu 5 menit, kecepatan 10.000 rpm, dan suhu 4°C. Supernatan dibuang kemudian NaCl fisiologis ditambahkan NaCl fisiologis sebanyak 200 µL dan lisozim sebanyak 5 µL. Sampel lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Tahap selanjutnya merupakan ekstraksi DNA sesuai dengan prosedur *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche). Tahapan lisis diawali dengan penambahan *binding buffer* 200 µL dan 40µL lysis buffer dan proteinase kemudian diinkubasi. Dilanjutkan ke tahap pengikatan DNA dengan bantuan 500 µL *inhibitor remove buffer*. Tahapan pencucian DNA dilakukan dengan penambahan 500 µL *wash buffer*. Dilanjutkan ke tahap elusi dengan penambahan 200 µL *elution buffer*. Sampel disentrifus dengan pengaturan 8000 g selama 1 menit untuk setiap tahapan. Isolat DNA kemudian disimpan pada suhu 20°C.

Penelitian dilanjutkan ke tahap amplifikasi gen *mecA*. Reagen yang digunakan untuk mengamplifikasi gen *mecA* adalah MyTaq™ HS Red Mix (*Bioline Reagents Ltd.*) PCR mix, primer, dan sampel yang telah homogen dimasukkan pada alat PCR (Eppendorf Mastercycler Nexus Gradient). Tahapan denaturasi awal selama 2 menit pada suhu 94°C. tahap *annealing* dilakukan selama 30 detik, tahap *extension* selama 1 menit pada suhu 72°C, tahap amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus, dan tahap *final extension* pada suhu 72°C selama 5 menit.

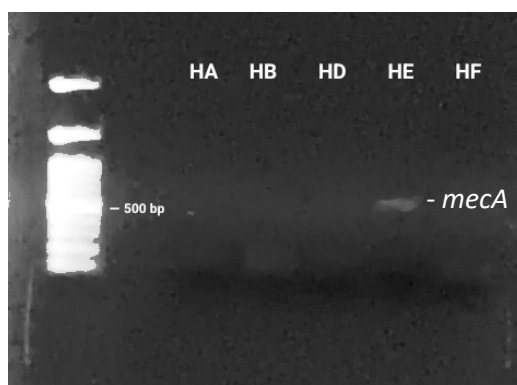
Hasil amplifikasi PCR kemudian dielektroforesis dengan konsentrasi agarosa 1% (Kemalapatni et al., 2017) dan 1,5% (Sugireng and Rosdarni, 2020). Serbuk agarosa ditambahkan dengan buffer TAE 1X dan 1 µL pewarna GelRed kemudian dicetak. DNA ladder 100 bp dimasukkan pada sumuran pertama dan sampel pada sumuran selanjutnya. Elektroforesis diatur pada tegangan 100 volt selama 30 menit. Pengamatan dilakukan menggunakan *UV transiluminator*.

Produk PCR yang telah diberikan perlakuan variasi suhu *annealing* dan konsentrasi agarosa kemudian dianalisis dengan bantuan *UV TransluminaUV Transilluminator* dan aplikasi ImageJ. Aplikasi ini dapat mengukur ketebalan pita berdasarkan kepadatan *pixel*. Penilaian kualitas produk PCR dilakukan berdasarkan integritas (pita DNA harus tunggal), spesifisitas (tidak ada primer dimer) dan intensitas

(ketebalan).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel pada penelitian ini merupakan isolat *S. aureus* dari tiga alat berbeda yang meliputi stetoskop, tiang infus, dan alat tensimeter di Rumah Sakit Siaga Medika dan PKU Muhammadiyah Kroya. Isolat tensimeter memiliki kode R.PD.T4 (HA), K1.T12 (HE), dan RV.T4 (HF). Isolat tiang infus memiliki kode R.IS2.I3 (HD), sedangkan isolat stetoskop memiliki kode R6.S1 (HB). Berdasarkan hasil PCR pada Gambar 1, sampel K1.T12 (HE) menunjukkan pita DNA berukuran  $\pm 500$  bp. Pita DNA dengan panjang 533 bp merupakan penanda positif untuk gen *mecA* pada bakteri MRSA (Khairullah et al., 2022). Temuan ini berhasil mendeteksi satu isolat bakteri MRSA yang berasal dari alat tensimeter berdasarkan gen *mecA*. Keberadaan *mecA* berkorelasi erat dengan resistensi terhadap  $\beta$ -laktam, menjadikannya penanda utama dalam deteksi MRSA.

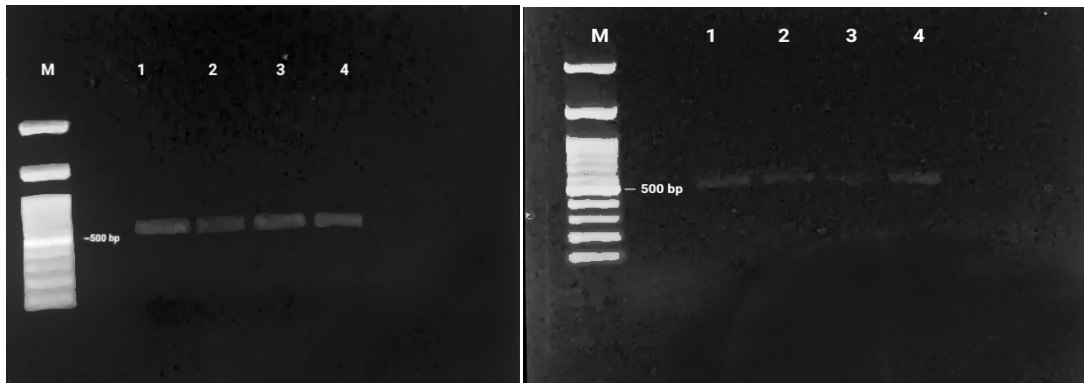


**Gambar 1. Hasil elektroforesis untuk mendeteksi gen *mecA* ( $\pm 500$  bp) pada sampel R.PD.T4 (HA), R6.S1 (HB), R.IS2.I3 (HD), K1.T12 (HE), RV.T4 (HF)**

Berdasarkan proses amplifikasi, empat sampel: R.PD.T4 (HA), R6.S1 (HB), R.IS2.I3 (HD) dan RV.T4 (HF) tidak menunjukkan adanya gen *mecA*. Secara genotipik, ketiadaan gen target ini mengindikasikan bahwa bakteri tidak mengembangkan mekanisme resistensi terhadap  $\beta$ -laktam, sehingga diklasifikasikan sebagai *Methicillin Susceptible Staphylococcus aureus* (MSSA).

Akan tetapi, analisis molekuler perlu melibatkan penanda gen lain sebagai langkah konfirmasi. Hal ini disebabkan adanya mekanisme resistensi alternatif yang melibatkan gen lain, seperti *mecC* dan *blaZ* (Lozano et al., 2020; Listiani et al., 2023). Pernyataan ini sejalan dengan penelitian Idrees et al. (2023), yang melaporkan bahwa dari 63 isolat MRSA yang dianalisis, sebanyak 7 isolat (11,1%) tidak menunjukkan adanya gen *mecA* (533 bp), melainkan hanya gen *mecC* (356 bp), atau bahkan tidak mendeteksi gen *mec* sama sekali.

Hasil optimasi suhu *annealing* dengan konsentrasi agarosa 1% dan 1,5% ditunjukkan pada Gambar 2. Semua pita DNA terdeteksi pada  $\pm 500$  bp tanpa adanya *smear* dan pita ganda. *Smear* pada hasil elektroforesis dapat terbentuk akibat degradasi DNA menjadi fragmen-fragmen pendek selama proses isolasi, volume DNA yang berlebihan saat elektroforesis, maupun penggunaan tegangan yang terlalu tinggi (Sundari dan Priadi, 2019). Pita ganda dapat terjadi jika suhu *annealing* terlalu rendah yang menyebabkan amplifikasi non-spesifik (Yuenleni, 2019).

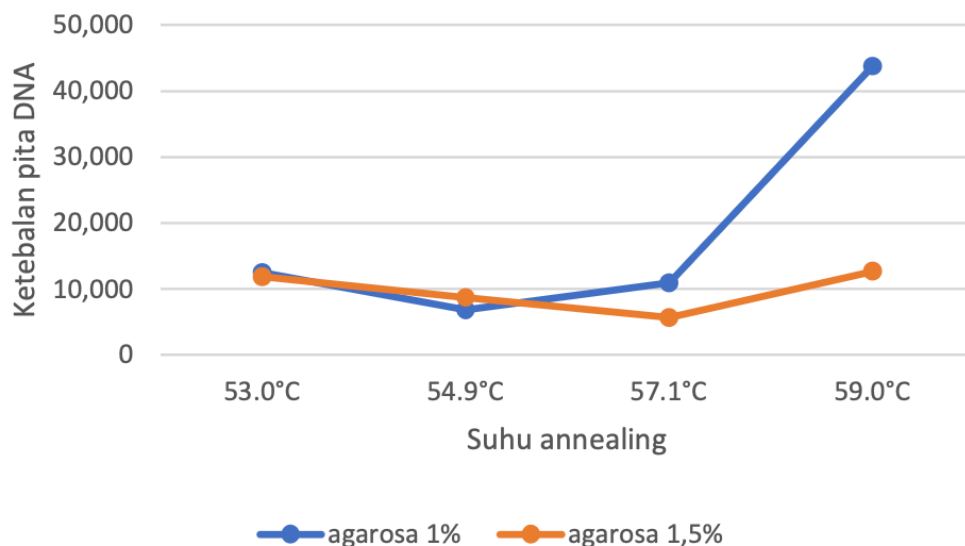


**Gambar 2.** Hasil elektroforesis untuk sampel HE pada konsentrasi gel agarosa 1% (kiri) dan 1,5% (kanan) dengan variasi suhu *annealing* 53,0°C (1), 54,9°C (2), 57,1°C (3), 59,0°C (4) dan M sebagai marker

Hasil kuantifikasi intensitas pita DNA menggunakan aplikasi ImageJ menunjukkan bahwa suhu *annealing* 59,0°C menghasilkan ketebalan pita gen *mecA* yang paling tinggi dengan nilai densitometri 48.750 (Gambar 3). Nilai densitometri mencerminkan ketebalan pita. Angka yang meningkat membuktikan secara kuantitatif bahwa pada suhu tersebut primer menempel paling spesifik dan efisien, sehingga jumlah amplicon yang dihasilkan paling banyak.

Suhu Annealing (°C)	Nilai Densitometri Agarosa 1% (AU*)	Nilai Densitometri Agarosa 1,5% (AU*)
53,0	14.250	18.500
54,9	23.100	28.450
57,1	32.800	39.200
59,0	41.500	48.750

Keterangan: \*AU= Arbitrary Units (Satuan Piksel pada ImageJ)



**Gambar 3.** Ketebalan pita PCR untuk gen *mecA* *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1% dan konsentrasi 1,5%

Hal ini menandakan bahwa suhu 59,0°C mampu mendukung pembentukan fragmen DNA yang utuh dengan konsentrasi tinggi. Suhu ini merupakan kondisi yang paling tepat bagi primer untuk menempel pada sekuens target secara spesifik, sehingga meminimalisasi terjadinya amplifikasi sekuens lain atau *smear*. Hasil ini sejalan dengan penelitian [Violita et al. \(2024\)](#), bahwa suhu tinggi dapat mengurangi terbentuknya pita DNA yang tidak spesifik pada Gambar 3.

Sebagai perbandingan, penelitian [Faisal et al. \(2019\)](#) menggunakan primer berbeda dan melaporkan bahwa gen *mecA* (533 bp) berhasil diamplifikasi pada suhu 55°C, namun gagal pada suhu 60°C. Perbedaan hasil optimasi ini mungkin dipengaruhi oleh desain primer yang berbeda, mengingat komposisi, konsentrasi, dan panjang DNA dapat menentukan suhu penempelan primer (*annealing*) ([Seprianto et al., 2023](#)). Konsentrasi agarosa 1,5% yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan resolusi pita paling optimal dibandingkan dengan konsentrasi 1%. Hal ini ditandai dengan *DNA ladder* yang jelas dan tidak terlalu rapat. DNA ladder bermigrasi sesuai dengan beratnya dan tidak tumpang tindih satu sama lain, sehingga memudahkan identifikasi gen *mecA* pada ±500 bp.

Secara prinsip, peningkatan konsentrasi agarosa akan memperkecil ukuran pori yang memungkinkan pemisahan lebih baik untuk fragmen DNA kecil. Sebaliknya, fragmen DNA berukuran lebih besar lebih mudah bermigrasi dalam gel berkonsentrasi rendah karena ukuran pori yang lebih besar ([Arslan et al., 2021](#)). Konsentrasi agarosa 1,5% membentuk ukuran pori yang paling ideal untuk memberikan efek saringan (*sieving effect*) yang optimal terhadap fragmen berukuran sekitar 310–533 bp. Pada konsentrasi 1%, ukuran pori gel terlalu besar untuk fragmen 533 bp, sehingga DNA bermigrasi terlalu cepat dan berisiko menghasilkan pita yang kurang tajam.

Penelitian tentang deteksi gen *mecA* [Khairullah et al. \(2022\)](#) menggunakan konsentrasi agarosa 2% dan [Rocchetti et al. \(2018\)](#) dengan konsentrasi 3% menunjukkan resolusi yang baik pada hasil elektroforesis. Temuan ini menunjukkan bahwa konsentrasi agarosa dalam rentang 1-3% dapat digunakan secara fleksibel untuk elektroforesis gen *mecA* tergantung pada ukuran target DNA dan kebutuhan analisis. Oleh karena itu, pemilihan konsentrasi gel agarosa harus disesuaikan dengan karakteristik sampel dan tujuan penelitian untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat direproduksi.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa satu sampel dari alat tensimeter (K1.T12) terdeteksi sebagai MRSA dan memiliki gen *mecA*. Optimasi suhu *annealing* menunjukkan bahwa suhu 59,0°C menghasilkan pita DNA paling tebal. Selain itu, konsentrasi agarosa 1,5% memberikan resolusi paling baik untuk mendeteksi gen *mecA*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu diakui bahwa terdapat keterbatasan pada jumlah sampel yang belum bervariasi. Oleh karena itu, perhitungan jumlah sampel harus mempertimbangkan *power analysis* untuk meningkatkan probabilitas dalam mendeteksi efek yang signifikan. Penelitian selanjutnya disarankan melakukan metode spektrofotometri pada hasil ekstraksi DNA sebagai validasi keberhasilan dan analisis kuantitatif ekstrak DNA.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian

kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah mendanai penelitian ini. Selain itu, izin penelitian telah diperoleh dari Laboratorium Genetika dan Botani, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Algammal, A.M., Hetta, H.F., Elkelish, A., Alkhalifah, D.H.H., Hozzein, W.N., Batiha, G.E.S., Nahhas, N. El, Mabrok, M.A., 2020. Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA): One Health Perspective Approach to The Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact. *Infection and Drug Resistance* 13(1), 3255–3265. <https://doi.org/10.2147/IDR.S272733>
- Alghamdi, B.A., Al-Johani, I., Al-Shamrani, J.M., 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), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103604>
- 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.
- Arslan, M., Tezcan, E., Camci, H., Avci, M.K., 2021. Effect of DNA Concentration on Band Intensity and Resolution in Agarose Gel Electrophoresis. *Van Saglik Bilimleri Dergisi* 14(3), 326–333. <https://doi.org/10.52976/Vansaglik.969547>
- Faisal, M., Sari, R., Apridamayanti, P., 2019. Optimasi Suhu Annealing Gen *MecA* Resistensi Antibiotik Amoksisilin dari Bakteri *Staphylococcus Aureus* pada Pasien Ulkus Diabetik. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN* 5, 1–12.
- Gupta, N., Jais, M., Shrivastava, P.K., Sharma, A., 2022. Comparison of Different Phenotypic Methods of Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* with Polymerase Chain Reaction. *Journal of Microbiology and Infectious Disease* 12(3), 116–126. <https://doi.org/10.5799/Jmid.1176537>
- Idrees, M.M., Saeed, K., Shahid, M.A., Akhtar, M., Qammar, K., Hassan, J., Khaliq, T., Saeed, A., 2023. Prevalence of *MecA*- and *MecC*-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* in Clinical Specimens, Punjab, Pakistan. *Biomedicines* 11(3), 1–11. <https://doi.org/10.3390/Biomedicines11030878>
- Kemalaputri, D.W., Jannah, S.N., Budiharjo, A., 2017. Deteksi MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) pada Pasien Rumah Sakit dengan Metode MALDI-TOF MS dan Multiplex PCR. *Jurnal Akademika Biologi* 6(4), 51–61. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19607>
- Khairullah, A.R., Rehman, S., Sudjarwo, S.A., Effendi, M.H., Ramandianto, S.C., Gololodo, M.A., Widodo, A., Riwu, K.H.P., Kurniawati, D.A., 2022. Detection of *MecA* Gene and Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Isolated from Milk and Risk Factors from Farms in Probolinggo, Indonesia. *F1000 Research* 11, 1–24. <https://doi.org/10.12688/F1000research.122225.1>
- Khehra, N., Padda, I.S., Zubair, M., 2025. Polymerase Chain Reaction (PCR) [WWW Document]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK589663/>. [Diakses Januari 2026].
- Listiani, L., Dhanti, K.R., Kurniawan, K., Widodo, O.S.Y., 2023. Optimasi Suhu Annealing Gen *Blaz* dari Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*

- (MRSA) pada Peralatan Medis. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology* 6(1), 420–425. <https://doi.org/10.33084/Bjmlt.V6i1.6083>
- Liu, Y., Zhang, J., Ji, Y., 2016. PCR-Based Approaches for The Detection of Clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Open Microbiology Journal* 14(10), 45–56. <https://doi.org/10.2174/1874285801610010045>
- Lozano, C., Fernández-Fernández, R., Ruiz-Ripa, L., Gómez, P., Zarazaga, M., Torres, C., 2020. Human mecC-Carrying MRSA: Clinical Implications and Risk Factors. *Microorganisms* 8(10), 1–20. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms8101615>
- Lucena-Aguilar, G., Sánchez-López, A.M., Barberán-Aceituno, C., Carrillo-Ávila, J.A., López-Guerrero, J.A., Aguilar-Quesada, R., 2016. DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreservation and Biobank* 14(4), 264–270. <https://doi.org/10.1089/Bio.2015.0064>
- Mandagi, S.C., Rumangkang, J.C., Prakarsa, C.P., Gobel, S.A. Van, Wawo, A.E., Kalalo, M.J., Edy, H.J., 2022. Potensi Senyawa Bioaktif dari Gedi Hijau (*Abelmoschus Manihot*) sebagai Inhibitor terhadap Bakteri Resisten Antibiotik. *Pharmacon* 11(2), 1417–1421. <https://ejournal.unsrat.ac.id/v3/index.php/pharmacon/article/view/41730>
- [PAMKI] Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia., 2023. Pola Patogen dan Antibiogram di Indonesia Tahun 2022. Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia, Jakarta.
- Prasetyo, M., Barliana, M.I., 2016. Article Review: Gen Meca sebagai Faktor Munculnya Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Farmaka* 14(3), 53–61. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/10715>
- Rahman, I.W., Arfani, N., Rafika, R., Tadoda, J.V., 2023. Deteksi Bakteri MRSA Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* pada Sampel Darah Pasien Rawat Inap. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan* 14(1), 48–54. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/jai2/article/view/26212>
- Rocchetti, T.T., Martins, K.B., Martins, P.Y.F., Oliveira, R.A., Mondelli, A.L., Fortaleza, C.M.C.B., Cunha, M.D.L.R., 2018. Detection of The mecA Gene and Identification of *Staphylococcus* Directly from Blood Culture Bottles by Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Brazilian Journal of Infectious Disease* 22(2), 99–105. <https://doi.org/10.1016/J.Bjid.2018.02.006>
- Seprianto, S., Wulansari, W., Wahyuni, F., Novianti, T., 2023. Optimization of The Annealing Temperature Specific Primers for Detection of Phytase Gene from *Rhodotorula Mucilaginosa* RG-PK20. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity* 7(2), 72–81.
- 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), 36–40. <https://doi.org/10.22146/Ijl.V4i1.65550>
- Sugireng, S., Rosdarni, R., 2020. Deteksi MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) dengan Metode PCR pada Pasien Ulkus Diabetikum. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19* 6(1), 31–35. <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb/article/view/15232>
- Sundari, S., Priadi, B., 2019. Teknik Isolasi dan Elektroforesis DNA Ikan Tapah. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur* 17(2), 87–90. <https://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla/article/view/8608>
- Triani, N., 2020. Isolasi DNA Tanaman Jeruk dengan Menggunakan Metode CTAB

- (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide). *Jurnal Teknologi Terapan* 3(2), 221–226. <https://doi.org/10.33379/Gtech.V3i2.419>
- Trisia, A., Philyria, R., Toemon, A.N., 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kalanduyung (*Guazuma Ulmifolia Lam.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* dengan Metode Difusi Cakram (Kirby-Bauer). *Anterior Jurnal* 17(2), 136–143. <https://doi.org/10.33084/Anterior.V17i2.12>
- Ume, E.J., Waworuntu, O.A., Homenta, H., 2025. Identifikasi Methicillin – Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) pada Tenaga Kesehatan di Ruang Intensive Care Unit (ICU) Rumah Sakit DR. J.H Awaloei Manado. *Jurnal Ilmiah Indonesia* 5(4), 1393–1400. <https://doi.org/10.59141/Cerdika.V5i4.2468>
- Violita, V., Achyar, A., Zulyusri, Z., Atifah, Y., Putri, D.H., Nabilah, R., 2024. Primer Design and Optimization of Annealing Temperature for Gene Amplification GSTL2 on Rice. *Al-Kauniah Jurnal Biologi* 17(2), 377–386. <https://doi.org/10.15408/Kauniah.V17i2.32859>
- Wacnik, K., Rao, V.A., Chen, X., Lafage, L., Pazos, M., Booth, S., Vollmer, W., Hobbs, J.K., Lewis, R.J., Foster, S.J., 2022. Penicillin-Binding Protein 1 (PBP1) of *Staphylococcus Aureus* Has Multiple Essential Functions in Cell Division. *Mbio* 13, 1–19. <https://doi.org/10.1128/Mbio.00669-22>
- Yuenleni, Y., 2019. Langkah-Langkah Optimasi PCR. *Indonesian Journal of Laboratory* 1(3), 51–56. <https://doi.org/10.22146/Ijl.V1i3.48723>