

**PERBANDINGAN METODE ISOLASI DNA *FILTER*
BASED KIT DENGAN *HEAT TREATMENT*
BERDASARKAN *LIMIT OF DETECTION* DAN
QUANTIFICATION PADA *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

RATNA DEWI KUMALASARI

21601101027

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2020**

**PERBANDINGAN METODE ISOLASI DNA *FILTER*
BASED KIT DENGAN *HEAT TREATMENT*
BERDASARKAN *LIMIT OF DETECTION* DAN
QUANTIFICATION PADA *Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

RATNA DEWI KUMALASARI

21601101027

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2020**

**PERBANDINGAN METODE ISOLASI DNA *FILTER BASED*
KIT DENGAN *HEAT TREATMENT* BERDASARKAN *LIMIT*
OF DETECTION DAN *QUANTIFICATION* PADA
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

RATNA DEWI KUMALASARI

21601101027

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2020**

RINGKASAN

Kumalasari, Ratna Dewi. Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Juli 2020. Perbandingan Metode Isolasi DNA *Filter Based Kit* dengan *Heat Treatment* Berdasarkan *Limit of Detection* dan *Quantification* pada *Staphylococcus aureus*.

Pembimbing 1 : Zainul Fadli, Pembimbing 2 : Rio Risandiansyah

Pendahuluan: *S.aureus* merupakan salah satu penyebab kematian pada kasus infeksi nosokomial, sehingga perlu dilakukan penegakan diagnosis secara cepat dan tepat menggunakan metode *Polimerase Chain Reaction (PCR)* berbasis DNA. Pada umumnya, metode isolasi DNA adalah dengan metode *filter based kit*, namun beberapa penelitian juga melihat perlakuan panas (*heat treatment*) sebagai penyederhanaan metode isolasi DNA. Namun kualitas dan kuantitas dari metode *filter based kit* dengan *heat treatment* belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode *filter based kit* dengan *heat treatment* berdasarkan *Limit of Detection (LoD)* dan *Limit of Quantification (LoQ)*.

Metode Penelitian: Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium *in vitro*. Isolasi DNA bakteri *S.aureus* dengan kode ATCC 14922 menggunakan metode *filter based kit* dan *heat treatment* pada konsentrasi bakteri $10^1, 10^2, 10^3, 10^4$, dan kontrol. Kedua metode ini dievaluasi dengan LoD dan LoQ berdasarkan perhitungan konsentrasi DNA (*yield*) dan kemurnian DNA (kemurnian) terekstraksi. Data dianalisis dengan uji Kruskal wallis dan dilanjutkan dengan post hoc analitic Mann Whitney signifikan apabila $p < 0.05$.

Hasil dan Pembahasan: Nilai LoD 2 ng/μl, LoQ 2 ng/μl pada metode *filter based kit*. Nilai ini terdeteksi pada konsentrasi bakteri 10^1 CFU/ml (*yield* $5 \pm 1,73$ ng/μl). Sedangkan, Nilai LoD 2,06 ng/μl, LoQ 6,11 ng/μl pada metode *heat treatment*. Nilai ini terdeteksi pada konsentrasi bakteri 10^4 (*yield* $3,67 \pm 0,58$ ng/μl). Kemurnian yang didapatkan tidak terdeteksi dan termasuk kurang baik (-5,0–5,0 pada *filter based kit* dan 1,5–2,0 pada *heat treatment*). *filter based kit* lebih baik daripada *heat treatment* karena langkah yang dilakukan lebih kompleks.

Simpulan: Metode *filter based kit* lebih baik daripada metode *heat treatment* berdasarkan LoD dan LoQ.

Kata kunci: Isolasi DNA, *Limit of Detection*, *Limit of Quantification*, *Staphylococcus aureus*

SUMMARY

Kumalasari, Ratna Dewi. Faculty of Medicine, Islamic University of Malang, July 2020.
Comparison DNA Isolation Method *Filter Based Kit* with *Heat Treatment* Based on *Limit of Detection* and *Quantification* of *Staphylococcus aureus*.

Supervisor 1 : Zainul Fadli, Supervisor 2 : Rio Risandiansyah

Introduction: *S. aureus* is one of the causes of death in nosocomial infection, and therefore necessary to diagnosis quickly and accurately, such as by using DNA-based Polymerase Chain Reaction (PCR). Generally, the method of DNA isolation uses a filter-based kit method, but several studies also attempt heat treatment as a simplification of the DNA isolation method. However, the quality and quantity of the heat treatment compared filter-based kit method to is unknown. This research aims to compare heat treatment with filter-based kit method based on the Limit of Detection (LoD) and the Limit of Quantification (LoQ).

Research Method: This research used laboratory experimental in vitro. DNA isolation *S. aureus* bacteria with ATCC code 14922 uses filter based kit and heat treatment on bacterial concentration $10^1, 10^2, 10^3, 10^4$, and control. The method was evaluated by LoD and LoQ based on the calculation of DNA concentration (yield) and purity of extracted DNA (purity). Data were analyzed using Kruskal wallis and followed by post hoc analitic Mann whitney significant if $p < 0.05$.

Result & Discussion: Based on DNA yield resulted in an LoD 2 ng/ μ l and an LoQ 2 ng/ μ l. This value was detected in 10^1 CFU/ml concentration (yield $5 \pm 1,73$ ng/ μ l). Meanwhile, heat-treatment resulted in an LoD of 2,06 ng/ μ l and an LoQ 6,11 ng/ μ l. This value was detected ini 10^4 CFU/ml bacterial concentrations (yield $3,67 \pm 0,57$ ng/ μ l). The purity obtained was not detected and was classified as poor (-5.0 - 5.0 in the filter based kit and 1.5 - 2.0 in the heat treatment)

Conclusion: Filter based kit method better than heat treatment method based on LoD and LoQ.

Keyword: DNA Isolation, *Limit of Detection*, *Limit of Quantification* , *Staphylococcus aureus*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Staphylococcus aureus adalah salah satu penyebab infeksi nosokomial dengan prevalensi mencapai 9% atau kurang lebih 1,40 juta pasien di seluruh dunia (Hapsari *et al.*, 2018). *S.aureus* yang menyebar ke pembuluh darah dapat menyebabkan sepsis (Thomer *et al.*, 2016), yaitu komplikasi dari infeksi yang dapat menjadi keadaan darurat seperti, syok sepsis, *multiple organ disfunctions* (MODs) hingga kematian (Polat *et al.*, 2017). Penyebaran patogen ke berbagai jaringan yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi multifokal (Burghardt *et al.*, 2016). Sehingga pasien yang terinfeksi bakteri perlu dilakukan penegakkan diagnosis secara cepat dan tepat terhadap patogen penyebab infeksi. Waktu yang lama untuk menegakkan diagnosis, dapat memicu terjadinya resistensi antibiotik akibat pemilihan antibiotik yang tidak sesuai (Burghardt *et al.*, 2016). Resisitensi antibiotik infeksi *S.aureus* disebut *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di Amerika Serikat mencapai sekitar 80.000 kasus dengan jumlah kematian 11.000 per tahunnya (Balasubramian *et al.*, 2017).

Penegakkan diagnosis dapat dilakukan dengan metode berbasis amplifikasi DNA seperti *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang memiliki spesifisitas dan sensitifitas yang tinggi, dan dapat digunakan untuk diagnosis dini suatu penyakit (Ling *et al.*, 2008). Namun, tingkat akurasi dari PCR tergantung dari kualitas dan kuantitas dari sampel DNA yang didapatkan melalui metode isolasi DNA. Parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas dan kuantitas sampel DNA menggunakan *Limit of Detetction* (LoD) dan *Limit of Quantification* (LoQ). LoD

dan LoQ digunakan sebagai validasi metode sebagai proses untuk membuktikan karakteristik kinerja suatu metode analisis dapat diterima atau tidak (Syahrir *et al.*, 2015). LoD dan LoQ sangat penting sebagai parameter, terutama ketika hasilnya memiliki signifikansi klinis pada tingkat rendah (Moretti *et al.*, 2011).

Prinsip isolasi DNA terdiri dari beberapa tahap yaitu penghancuran (lisis) untuk mengeluarkan isi sel, menghilangkan komponen pengganggu seperti protein dan lipid, dan tahap yang terakhir yaitu presipitasi DNA untuk mendapatkan jumlah DNA yang murni (Shi *et al.*, 2018). Hal penting yang perlu diperhatikan dalam proses isolasi DNA adalah sampel DNA yang dihasilkan tanpa kontaminasi seperti protein dan RNA yang dilihat dari kemurniannya, efektifitas metode yang digunakan tidak merusak atau mengubah struktur dan fungsi molekul DNA, serta metode yang digunakan harus sederhana dan cepat (Surzycki, 2000). Metode isolasi DNA yang digunakan harus dapat mendeteksi bakteri dengan jumlah 10^1 - 10^5 CFU/ml sebagai syarat minimum dari diagnosis dini sepsis.

Beberapa macam metode isolasi DNA saat ini antara lain, metode CTAB (*Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide*) yang mampu menghasilkan DNA dengan pita berukuran tebal dan juga diperoleh RNA dengan pita tipis yang tergantung bahan yang diekstraksi. Metode PCI (*Phenol-chloroform-isoamyl alcohol*) merupakan metode standart untuk ekstraksi DNA, akan tetapi memiliki sifat toksik *phenol* serta memiliki waktu yang lebih lama pada proses isolasi DNA (Mulyani *et al.*, 2011). Saat ini berkembang metode *filter based kit* telah digunakan secara umum dan teknik menjadi lebih mudah dengan kit yang diproduksi oleh suatu perusahaan. Metode *filter based kit* ini membutuhkan biaya yang lebih mahal (Kamaliah, 2017).

Selain metode kit yang telah dimodifikasi lebih simpel, saat ini juga telah ada metode *heat treatment* memiliki metode yang lebih sederhana lagi karena hanya membutuhkan aquades yang dipanaskan pada suhu 100°C (Dilhari *et al*, 2017). Metode *heat treatment* memiliki keunggulan dari segi waktu yang hanya membutuhkan 10-12 menit, biaya yang relatif murah serta langkah-langkah yang dilakukan lebih sederhana tanpa proses penghilangan komponen non-DNA dan juga pemurnian DNA (Dilhari *et al*, 2017). Akan tetapi, metode ini belum diketahui efektifitas, kualitas, serta kuantitasnya dalam isolasi DNA *S.aureus*. Sehingga, penelitian ini perlu untuk dilakukan untuk mengetahui metode isolasi DNA untuk diagnosis dini yang lebih efektif dan efisien serta memiliki kualitas dan kuantitas yang baik secara klinis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana perbandingan metode isolasi DNA *filter based kit* dengan metode *heat treatment* berdasarkan LoD pada *S.aureus*?
2. Bagaimana perbandingan metode isolasi DNA *filter based* dengan metode *heat treatment* berdasarkan LoQ pada *S.aureus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan metode isolasi DNA *filter based kit* dengan metode *heat treatment* berdasarkan LoD pada *S.aureus*
2. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan metode isolasi DNA *filter based kit* dengan metode *heat treatment* berdasarkan LoQ pada *S.aureus*

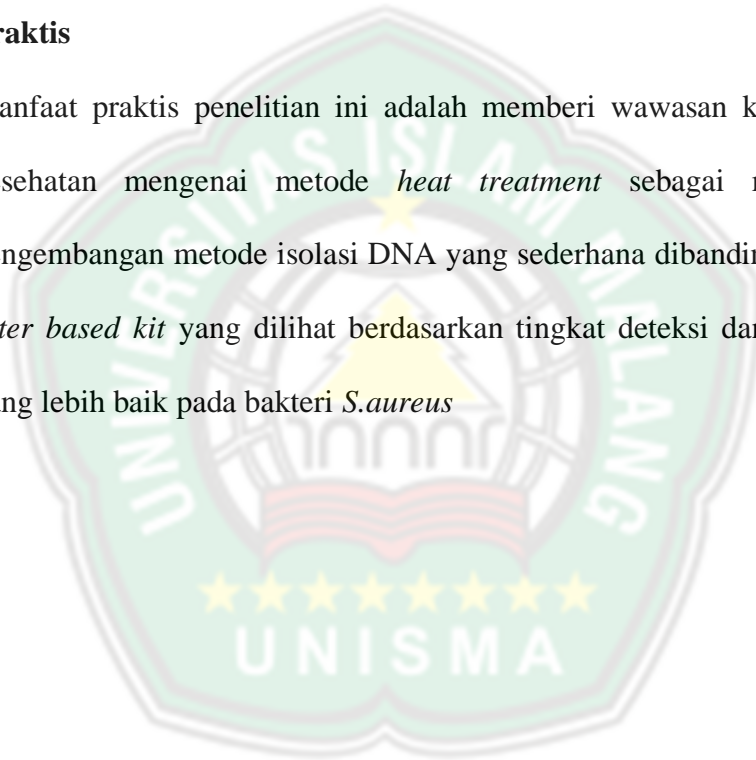
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Teoritis

Manfaat teoritis penelitian ini adalah sebagai landasan ilmiah mengenai metode *heat treatment* sebagai metode awal pengembangan metode isolasi DNA yang sederhana dan metode *filter based kit* yang dilihat berdasarkan tingkat deteksi dan kuantifikasi yang lebih efektif untuk bakteri *S.aureus*

1.4.2 Praktis

Manfaat praktis penelitian ini adalah memberi wawasan kepada tenaga kesehatan mengenai metode *heat treatment* sebagai metode awal pengembangan metode isolasi DNA yang sederhana dibandingkan metode *filter based kit* yang dilihat berdasarkan tingkat deteksi dan kuantifikasi yang lebih baik pada bakteri *S.aureus*



BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, analisa data dan pembahasan, dapat disimpulkan :

1. LoD pada metode *filter based kit* adalah 2 ng/ μ l yang didapatkan pada konsentrasi bakteri minimum 10^1 CFU/ml dan pada metode *heat treatment* adalah 2,06 ng/ μ l yang didapatkan pada konsentrasi bakteri minimum 10^4 CFU/ml
2. LoQ pada metode *filter based kit* adalah 2 ng/ μ l yang didapatkan pada konsentrasi bakteri minimum 10^1 CFU/ml dan pada metode *heat treatment* adalah 6,11 ng/ μ l yang didapatkan pada konsentrasi bakteri minimum lebih dari 10^4 CFU/ml
3. Metode *filter based kit* lebih baik daripada metode *heat treatment* berdasarkan LoD dan LoQ

7.2 Saran

Penelitian ini menyarankan hal – hal berikut untuk menunjang penelitian selanjutnya guna pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan.

- a. Diperlukan modifikasi metode *heat treatment* untuk mendapatkan hasil sampel DNA yang lebih baik.
- b. Diperlukan penelitian lanjutan untuk uji PCR sehingga hasil dapat dikonfirmasi lebih pasti.

DAFTAR PUSTAKA

- AAFL Bioflux, 2016, Volume 9, Issue 2. <http://www.bioflux.com.ro/aafl> diakses pada 27 april 2020
- Afifurrahman, A., Samadin, K., & Aziz, S. 2014. Pola Kepekaan Bakteri *Staphylococcus Aureus* terhadap Antibiotik Vancomycin di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4), 266–270.
- Al-Talib, H., Yean, C. Y., Al-Khateeb, A., & Ravichandran, M. 2013. Comparative evaluation of three different methods of genomic dna extraction for *Staphylococcus aureus*. *World Applied Sciences Journal*, 21(3),424–427. <https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.21.3.2850>
- Armbruster, D. A. dan Pry, T. 2008. ‘Limit of Blank , Limit of Detection dan Limit of Quantitation’, 29(August), pp. 49–52.
- Balasubramanian, D. *et al.* 2017. ‘*Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments’, (January), pp. 1–13. doi: 10.1093/femspd/ftx005
- Bagus, I., Adiguna, G., Darwinata, A. E., Nengah, N., & Fatmawati, D. 2017. *Rapid Detection Of Methicillin Resistant Staphylococci Using Multiplex PCR With Boiling Method For DNA Isolation*. 1(2), 8–10.
- Balasubramanian, D. 2017. ‘*Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments’, (January), pp. 1–13. doi: 10.1093/femspd/ftx005
- Bouza, E., Alonso, S., Asensio, A. 2019. ‘Original Information on nosocomial infections in the mainstream media : an opinion document’, 32(2), pp. 165–177.
- Brown, S., Santa Maria, J. P., & Walker, S. 2013. Wall Teichoic Acids of Gram-Positive Bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 2013 ; 67: doi:10.1146/annurev-micro-092412-155620.
- Burghardt, E. L., Flenker, K. S., Clark, K. C., Miguel, J., Ince, D., Winokur, P., Ford, B., dan McNamara, J. O. 2016. ‘Rapid , Culture-Free Detection of *Staphylococcus aureus* Bacteremia’, pp. 1–17. doi: 10.1371/journal.pone.0157234.
- Butler, J.R. 2012. ‘DNA Extraction Methods’, pp. 29–47. doi: 10.1016/B978-0-12-374513-2.00002-6.
- Charpaval, L., Gomes, J.E., Duarte, F.R., Tsai, S.M., dan Moon, D.H. 2008. An alternative method for *Staphylococcus aureus* DNA isolation. *General Dentistry*, 59(1), 299–306.

- Connolly, J., Boldock, E., Prince, L. R., Renshaw, S. A., Whyte, M. K., & Foster, S. J. 2017. Identification of *Staphylococcus aureus* factors required for pathogenicity and growth in human blood. *Infection and Immunity*, 85(11), 1–15. <https://doi.org/10.1128/IAI.00337-17>
- Crane, S. 2011. ‘DNA Extraction From Archival Museum Insect Specimens’, (July), pp. 9–10. doi: 10.1080/09647770802012375.Qiagen.
- Dewi, A.K. 2013. ‘Isolasi , Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita’, 31(2), pp. 138–150.
- Dashti, A. A., Jadaon, M. M., Abdulsamad, A. M., & Dashti, H. M. 2009. Heat treatment of bacteria: A simple method of DNA extraction for molecular techniques. *Kuwait Medical Journal*, 41(2), 117–122.
- Darmansah, I. 2011. *Penilaian Kualitas Susu Sapi Berdasarkan Jumlah Total Mikroorganisme, Escherichia coli dan Staphylococcus aureus di Kabupaten Bogor, Cianjur, Bandung, Sumedang, dan Tasikmalaya, Provinsi Jawa Barat.*
- Dilhari, A., Sampath, A., Gunasekara, C., Fernando, N., Weerasekara, D., Sissons, C., McBain, A., & Weerasekera, M. 2017. Evaluation of the impact of six different DNA extraction methods for the representation of the microbial community associated with human chronic wound infections using a gel-based DNA profiling method. *AMB Express*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0477-z>
- Esposito, S., Pennoni, G., Mencarini, V., Palladino, N., Peccini, L., & Principi, N. 2019. Antimicrobial Treatment of *Staphylococcus aureus* in Patients with Cystic Fibrosis. *Frontiers in Pharmacology*, 10(JULY), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00849>
- Faatih, M. 2009. Isolasi dan digesti DNA kromosom. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 10(1): 61–67.
- Fitriya, R. T., Ibrahim, M., & Lisdiana, L. 2015. Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *LenteraBio*, 4(1), 87–92.
- Forootan, A., Sjöback, R., Björkman, J., Sjögreen, B., Linz, L., & Kubista, M. 2017. Methods to determine limit of detection and limit of quantification in quantitative real-time PCR (qPCR). *Biomolecular Detection and Quantification*, r12(September 2016), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.bdq.2017.04.001>
- Gariyban, L., dan Avashia, N. 2014. Research Techniques Made Simple: Polymerase Chain Reaction, 133(3), pp. 1–8. doi: 10.1038/jid.2013.1.Research.

- Gurpreet, S. De, Amit, K. dan Gaurav, R. 2011. 'A Simple Method for the Efficient Isolation of Genomic DNA from Lactobacilli Isolated from Traditional Indian Fermented Milk (dahi)', 50(4), pp. 412–418. doi: 10.1007/s12088-011-0079-4.
- Hajj, J. dan Blaine, N. 2018. 'The “ Centrality of Sepsis ”: A Review on Incidence , Mortality , dan Cost of Care', pp. 1–11. doi: 10.3390/healthcare6030090.
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (General Principles dan Implementation of *Polymerase Chain Reaction*), 9(1), pp. 17-29
- Hapsari, Wahyuni dan Mudjiyanto. 2018. Pengetahuan Petugas Surveilans tentang Identifikasi Healthcare-Associated Infections di Surabaya. pp. 130–138. doi: 10.20473/jbe.v6i22018.130-138
- Hassoun, A., Linden, P. K., dan Friedman, B. 2017. Incidence, prevalence, dan management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management dan treatment. *Critical Care*, pp. 1–10. doi: 10.1186/s13054-017-1801-3.
- Hutami, R., Bisyrri, H., Sukarno, S., Nuraini, H., & Ranasasmita, R. (2018). Ekstraksi DNA dari Daging Segar untuk Analisis dengan Metode Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP). *Jurnal Agroindustri Halal*, 4(2), 209–216. <https://doi.org/10.30997/jah.v4i2.1409>
- Irdan. 2018. 'Nosokomial (INOS) oleh Perawat di Irna Bedah RSUD', (April), pp. 142–145.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2007. *Medical Microbiology. 23th ed. North America: Lange Medical*
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta : Salemba Medika
- Kamaliah. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi DNA *Phenol-Chloroform dan Kit Extraction* pada Sapi Aceh dan Sapi Madura, 5(1), pp. 60–65.
- Khan, H. A., Baig, F. K. dan Mehboob, R. 2017. 'Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Elsevier B.V., 7(5), pp. 478–482. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.01.019.
- Ling, D. I. Flores, L. Riley, L. W., Pai, M. 2008. 'Commercial Nucleic-Acid Amplification Tests for Diagnosis of Pulmonary Tuberculosis in Respiratory Specimens : Meta-Analysis dan Meta-Regression', (2). doi: 10.1371/journal.pone.0001536.

- Liu G. Y. 2009. Molecular pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infection. *Pediatric research*, 65(5 Pt 2), 71R–77R. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31819dc44d>
- Liu, J., Janaki, L., dan Houpt, E. 2012 'Precaution for Using Nucleic Acid-Based Methods To Detect' doi:10.1128/JCM.00077-12
- Nalini, E., Jawali, N., dan Bhagwat, S. G. 2003. A simple method for isolation of DNA from plants suitable for long term storage dan DNA marker analysis. *BARC Newsletter*, 249: 208-214.
- Shajari, G., Khorshidi, A., & Moosavi, G. 2017. Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* strains. *Archives of Razi Institute*, 90(54), 107–110.
- Merk, S., Neubauer, H., Meyer, H., & Greiser-Wilke, I. 2001. Comparison of different methods for the isolation of *Burkholderia cepacia* DNA from pure cultures and waste.
- Moretti, M., Sisti, D., Rocchi, M. B., & Delprete, E. 2011. CLSI EP17-A protocol: A useful tool for better understanding the low end performance of total prostate-specific antigen assays. *Clinica Chimica Acta*, 412(11–12), 1143–1145. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.03.002>
- Muladno. 2002. *Seputar Teknologi Rekayasa Genetika*. Pustaka Wirausaha Muda. Bogor.
- Mulyani, Y., & Purwanto, A. 2011. *Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. 1–16.
- Novia, D., Melia, S., & Ayuza, N. Z. 2011. Kajian suhu pengovenan terhadap kadar protein dan nilai organoleptik telur asin. *Jurnal Peternakan*, 8(2), 70–76.
- Otto, M. 2014. Laporan Praktikum Isolasi Dna Dan Teknik Pcr. *Nama : Juwita Rika Nailuvarv Sinaga*, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.11.004.Staphylococcus>
- Pantosti, A., Sanchini, A., & Monaco, M. 2007. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology*, 2(3), 323–334. <https://doi.org/10.2217/17460913.2.3.323>
- Pillai, M. M., Latha, R., & Sarkar, G. 2012. Detection of Methicillin Resistance in *Staphylococcus Aureus* by Polymerase Chain Reaction and Conventional Methods: A Comparative Study. *Journal of Laboratory Physicians*, 4(02), 083–088. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.105587>
- Polat G., Ugan R, Cardirci E, dan Halici Z. 2017. Sepsis dan Septic Shock : Current Treatment Strategies dan New Approaches Sepsis ve Septik Şok : Mevcut

Tedavi Stratejileri ve Yeni Yaklaşımlar., pp. 53–58. doi: 10.5152/eurasianjmed.2017.17062.

- Pratiwi, E., & Widodo, L. I. 2020. Kuantifikasi Hasil Ekstraksi Gen Sebagai Faktor Kritis Untuk Keberhasilan Pemeriksaan Rt Pcr. *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2293>
- Prihatini, Aryati, dan Hetty. 2007. ‘Clinical Patophysiology DAN Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik’, 13(3), pp. 1–5.
- Putri, A. M., & Kurnia, P. (2018). Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform Dan Total Mikroba Dalam Es Dung-Dung Di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Media Gizi Indonesia*, 13(1), 41. <https://doi.org/10.20473/mgi.v13i1.41-48>
- Rahmi, Y., Darmawi, Abrar, M., Jamin, F., Fakhurrazi, dan Fahrimal, Y. 2015. ‘Identifikasi Bakteri Staphylococcus aureus pada Preputium dan Vagina Kuda (Equus caballus) Identification of Staphylococcus aureus in Preputium dan Vagina of Horses (Equus caballus)’, 9(2).
- Raho, B. dan Abouni, B. 2017. ‘Escherichia coli dan Staphylococcus aureus most common source of infection Escherichia coli dan Staphylococcus aureus most common source of infection’, (January 2015).
- Sunarno *et al.*, 2014. Metode Cepat Ekstraksi DNA Corynebacterium diphtheriae untuk Pemeriksaan PCR. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 42(2), 85–92.
- Salamena, R. P. 2015. Deteksi dan Resistensi *Staphylococcus aureus* Patogen pada Daging Ayam
- Sambrook J, Fritsch EF, & Maniatis T. 1989. “*Molecular cloning: A laboratory*
- Sari S. K., Mazieda M. N., Listyorini, D., dan Sulasmi, E. S. 2015. ‘Optimization Of Dna Isolation Dan Purification Technique From Chili Pepper (Capsicum Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS Biologi , Sains , Lingkungan , dan Pembelajarannya _’, pp. 65–70.
- Sariadji, K. dan Putranto, R. H. 2015. ‘Uji Diagnostik Cepat Sebagai Metode Alternatif Diagnosis Kholera yang Disebabkan oleh Agen Vibrio Cholera’, pp. 1–8.
- Shahriar, M., Dewan, I. dan Bhuiyan, M. A. 2011. ‘Effect of Proteinase-K on Genomic DNA Extraction from Gram-positive Strains Effect of Proteinase-K on Genomic DNA Extraction from Gram-positive Strains’, (June). doi: 10.3329/sjps.v4i1.8867.
- Shi, R., Lewis, R. S. dan Panthee, D. R. 2018. ‘Filter paper-based spin column method for cost-efficient DNA or RNA purification’, pp. 1–14.

- Siddiqui AH, Koirala J. Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) [Updated 2018 Oct 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.
- Siswanto, J. E., Berlian, T., Putricahya, E., Panggalo, L. V, & Yuniani, L. (2016). *Isolasi DNA pada Sampel Darah Tepi dan dan Swab Buccal pada Bayi Penderita ROP: Perbandingan Hasil Uji Konsentrasi dan Indeks Kemurnian*. 18(4).
- Sjahril, R. dan Agus, R. 2018 ‘Deteksi Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Pada Pasien Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Dengan Metode Kultur’, (April), pp. 15–21.
- Sukmawati, S., & Hardianti, F. (2018). Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba pada Ikan Asin Kakap di Kota Sorong Papua Barat. *Jurnal Biodjati*, 3(1), 72. <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i1.2368>
- Sumarno, D dan Kusumaningtyas, D.I. (2018). *LOD LOQ logam PB*. 16, 7–11. <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btl/article/view/7447/6027>
- Sunarno, Muna, F., Fitri, N., Malik, A., Karuniawati, A., dan Soebdanrio, A. 2014. Metode Cepat Ekstraksi DNA *Corynebacterium diphtheriae*. 42(2), pp. 85–92.
- Surzycki, S. 2000. Basic Techniques in Molecular Biology. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg, New York
- Tan, S. C. dan Yiap, B. C. 2009. DNA, RNA, dan Protein Extraction: The Past dan The Present. School of Postgraduate Studies & Research, Division of Pharmacy, International Medical University. doi: 10.1155/2009/574398
- Thairu, Y., Nasir, I. A. dan Usman, Y. 2014. ‘Laboratory Perspective of Gram Staining dan its Significance in Investigations of Infectious Diseases’, 1(4), pp. 3–6. doi: 10.4103/2384-5147.144725.
- Theos, K. R., Johnson, K. M., & Johnson, D. W. (2019). Staphylococcus aureus Antibiotic Susceptibilities in Infections in an Outpatient Dermatology Office on O’ahu. *Hawai’i Journal of Medicine & Public Health : A Journal of Asia Pacific Medicine & Public Health*, 78(5), 163–168.
- Thomer L. Schneewind O, dan Missiakas D. 2016. Application of Routine Diagnostic Procedure , VITEK 2 Compact , MALDI-TOF MS , dan PCR Assays in Identification Procedure of Bacterial Strain with Ambiguous Phenotype. doi: 10.1007/s00284-016-0993-0.
- Torowati, & Galuh, B. S. (2014). Penentuan Nilai Limit Deteksi Dan Kuantisasi. *JurnalBatan*, 13, 9–15. <http://jurnal.batan.go.id/index.php/pin/article/view/1371/1302>

- Wada, A., Kono, M., Kawauchi, S., Takagi, Y., Morikawa, Takashi., Funakoshi, K. 2012. 'Rapid Discrimination of Gram-Positive and Gram- Negative Bacteria in Liquid Samples by Using NaOH- Sodium Dodecyl Sulfate Solution and Flow Cytometry', 7(10). doi: 10.1371/journal.pone.0047093.
- Watanabe N, Kryukov K, Nakagawa S, Takeuchi JS, Takeshita M, Kirimura Y, et al. 2018. Detection of pathogenic bacteria in the blood from sepsis patients using 16S rRNA gene amplicon sequencing analysis. *PLoS ONE* 13(8): e0202049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202049>
- Warokka, K. E., Wuisan, J., & . J. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *E-GIGI*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.13766>
- WHO. 2018. Sepsis.
- Bagus, I., Adiguna, G., Darwinata, A. E., Nengah, N., & Fatmawati, D. (2017). *Rapid Detection Of Methicillin Resistant Staphylococci Using Multiplex PCR With Boiling Method For DNA Isolation*. 1(2), 8–10.
- Zahro, L., & Agustini, R. (2013). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar saponin jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) terhadap *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *UNESA Journal of Chemistry*, 2(3), 120–12