

## DAFTAR ISI

|  | Hal    |
|--|--------|
| HALAMAN JUDUL .....  | i      |
| HALAMAN PENGESAHAN .....   | ii     |
| PERNYATAAN .....   | iii    |
| KATA PENGANTAR .....   | iv     |
| DAFTAR TABEL .....   | viii   |
| DAFTAR GAMBAR .....  | x      |
| ABSTRAK .....  | xiv    |
| ABSTRACT .....   | xvi    |
| <br>I. PENDAHULUAN .....   | <br>1  |
| A. Latar Belakang .....  | 1      |
| B. Permasalahan .....  | 7      |
| C. Keaslian dan Kedalaman Penelitian .....   | 7      |
| D. Tujuan Penelitian .....   | 9      |
| E. Manfaat Penelitian .....  | 9      |
| <br>II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI .....  | <br>12 |
| A. Tinjauan Pustaka .....  | 12     |
| 1. Demam tifoid: organisme, epidemiologi, resistensi antibiotik, dan gambaran klinis.....        | 12     |
| 2. Karakterisasi dan identifikasi dengan metode sistematik polifasik .....                       | 26     |
| a. Karakterisasi dan identifikasi secara numerik fenetik.....                                    | 29     |
| b. Karakterisasi dan identifikasi secara kimiawi (Khemosistematik) .....                         | 31     |
| c. Karakterisasi dan identifikasi secara molekular.....  | 33     |
| 3. Diversitas genetik mikroorganisme patogenik: implikasinya terhadap kesehatan masyarakat ..... | 42     |
| B. Landasan Teori .....  | 45     |
| C. Hipotesis Penelitian .....  | 47     |
| <br>III. METODE PENELITIAN .....   | <br>49 |
| A. Strategi Pencapaian Tujuan Penelitian .....   | 49     |
| B. Rancangan Penelitian .....  | 50     |
| 1. Jenis penelitian .....  | 50     |
| 2. Lokasi Penelitian .....   | 52     |
| 3. Subyek Penelitian .....   | 52     |
| 4. Besar Sampel .....  | 53     |
| 5. Cara Pengambilan Sampel .....   | 54     |
| 6. Waktu Penelitian .....  | 54     |
| C. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel .....                      | 55     |
| D. Pengumpulan Data .....  | 56     |
| E. Jalannya Penelitian .....   | 56     |
| 1. Tahap persiapan .....   | 56     |
| 2. Tahap pelaksanaan .....   | 56     |

|  |     |
|--|-----|
| 3. Isolasi selektif dan identifikasi isolat <i>S. typhi</i> .....  | 57  |
| a. Skrining <i>S. typhi</i> .....  | 57  |
| b. Identifikasi <i>S. typhi</i> .....  | 62  |
| 1). Karakterisasi fenotipik.....   | 62  |
| 2). Karakterisasi kimiawi.....   | 66  |
| 3). Karakterisasi molekular.....   | 69  |
| 4. Pemetaan penyebaran strain-strain <i>S. typhi</i> asal wilayah endemik Kabupaten Sumba Barat Daya .....   | 74  |
| 5. Analisis data epidemiologi deskriptif .....   | 74  |
| <br>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....   | 75  |
| A. Pengambilan Kasus dan Gambaran Umum Lokasi Penelitian.....  | 75  |
| B. Isolasi Selektif Bakteri <i>S. typhi</i> dari Kultur Darah Penderita Demam Tifoid.....  | 77  |
| C. Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Anggota <i>S. typhi</i> dengan Pendekatan Sistematika Polifasik.....  | 88  |
| 1. Karakterisasi dan identifikasi isolat anggota <i>S. typhi</i> berdasarkan analisis sistematik numerik fenetik.....  | 88  |
| 2. Karakterisasi dan identifikasi isolat anggota <i>S. typhi</i> berdasarkan analisis sistematik kimiawi (sidik jari protein).....   | 100 |
| 3. Karakterisasi molekular isolat anggota <i>S. typhi</i> berdasarkan analisis sistematik molekular (sekuensing gen 16S rRNA).....   | 110 |
| D. Diversitas Strain Anggota <i>S. typhi</i> Asal Wilayah Kabupaten Sumba Barat NTT Berdasarkan Pendekatan Sistematik Polifasik.....   | 117 |
| E. Peta Sebaran Penderita Demam Tifoid di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT: Analisis Distribusi Geografis, Topografi, dan Lingkungan Tempat Tinggal Penderita.....                 | 128 |
| F. Peta Penyebaran Strain <i>S. typhi</i> Berdasarkan Variasi dan Hubungan Antar Strain Hasil Isolasi dari Penderita Demam Tifoid di Wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya NTT..... | 141 |
| <br>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....  | 155 |
| <br>VI. REKOMENDASI .....  | 159 |
| <br>VII. RINGKASAN .....   | 163 |
| SUMMARY .....  | 170 |
| DAFTAR PUSTAKA .....   | 177 |
| LAMPIRAN .....   | 191 |

## DAFTAR TABEL

|          | Hal  |
|----------|--|
| Tabel 1  | Spesies dan subspecies <i>Salmonella</i> (Grimont dan Weill, 2007)..... 16   |
| Tabel 2  | Perbedaan karakter spesies dan subspecies <i>Salmonella</i> ..... .. 18  |
| Tabel 3  | Reaksi <i>typical Salmonella</i> spp. dalam medium skrining..... 20  |
| Tabel 4  | Kategori karakter yang digunakan dalam klasifikasi numerik fenetik .. 31   |
| Tabel 5  | Analisis khemosistematik sel bakteri dan tingkatan taksonomi pada setiap analisis ..... 33   |
| Tabel 6  | Oligonukleotida sintetik yang digunakan sebagai primer PCR ..... 41  |
| Tabel 7  | Perbandingan hasil PCR, kultur darah, dan uji Widal untuk diagnosis tifoid ..... 42  |
| Tabel 8  | Ringkasan karakteristik berbagai metode <i>typing</i> secara molekuler 43  |
| Tabel 9  | Variabel dan definisi operasional variabel yang digunakan dalam penelitian..... 56   |
| Tabel 10 | Reaksi <i>typical Salmonella</i> dan anggota <i>Enterobacteriaceae</i> yang lain dalam medium TSIA..... 61   |
| Tabel 11 | Unit karakter yang digunakan dalam sistematik numerik ..... 65   |
| Tabel 12 | Jumlah dan kode isolat yang digunakan untuk analisis profil protein menggunakan SDS-PAGE..... 69   |
| Tabel 13 | Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA <i>S. typhi</i> 72  |
| Tabel 14 | Konsentrasi DNA untuk reaksi <i>cycle sequencing</i> ..... 73  |
| Tabel 15 | Distribusi dan persentase kasus penderita demam tifoid menurut lokasi penelitian..... 76   |
| Tabel 16 | Karakteristik penderita demam tifoid berdasarkan jenis kelamin, umur, pendidikan terakhir, dan pekerjaan..... 77   |
| Tabel 17 | Hasil seleksi bakteri <i>S. typhi</i> dari kultur darah penderita demam tifoid menggunakan media kultur BacT/ALERT..... 80   |
| Tabel 18 | Hasil seleksi koloni <i>typical S. typhi</i> dari kultur darah penderita tifoid dalam media agar selektif..... 83  |
| Tabel 19 | Hasil uji konfirmasi koloni <i>typical Salmonella</i> pada medium <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA), <i>Urea agar</i> , dan <i>L-Lysine decarboxylation</i> (LDC)..... 83 |
| Tabel 20 | Hasil identifikasi 23 isolat yang dipilih sebagai perwakilan strain anggota <i>S. typhi</i> menggunakan API 20E dan API 50 CHE..... 87                                       |
| Tabel 21 | Hasil identifikasi 17 perwakilan strain <i>S. typhi</i> hasil isolasi dari kultur darah penderita demam tifoid asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT..... 90          |
| Tabel 22 | Hasil karakterisasi isolat anggota <i>S. typhi</i> asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT menggunakan uji API 20E..... 91  |
| Tabel 23 | Hasil karakterisasi isolat anggota <i>S. typhi</i> asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT menggunakan uji API 50CHE..... 92  |
| Tabel 24 | Hasil analisis kluster menggunakan <i>average linkage</i> berdasarkan matriks similaritas hasil kalkulasi $S_{SM}$ ..... 96  |

|          |   |     |
|----------|---|-----|
| Tabel 25 | Karakteristik <i>phenetic groups</i> dari hasil klasifikasi menggunakan analisis $S_{SM}$ dan algoritma UPGMA berdasarkan persentase respon positif .....   | 99  |
| Tabel 26 | Matriks similaritas dan perbedaan nukleotida sekuen gen 16S rRNA isolat anggota <i>S. typhi</i> dalam <i>clade</i> pertama dan strain acuan <i>S. typhi</i> ATCC 19430 <sup>T</sup> .....         | 117 |
| Tabel 27 | Matriks similaritas dan perbedaan nukleotida sekuen gen 16S rRNA isolat anggota <i>S. typhi</i> dalam <i>clade</i> kedua dan strain acuan <i>S. typhi</i> ATCC 19430 <sup>T</sup> .....           | 117 |
| Tabel 28 | Matriks similaritas dan perbedaan nukleotida sekuen gen 16S rRNA isolat anggota <i>S. typhi</i> dalam <i>clade</i> ketiga, keempat dan strain acuan <i>S. typhi</i> ATCC 19430 <sup>T</sup> ..... | 118 |
| Tabel 29 | Persentase distribusi penderita demam tifoid berdasarkan batas administrasi kecamatan.....  | 130 |
| Tabel 30 | Persentase distribusi tempat tinggal penderita berdasarkan tipe lahan .....   | 138 |
| Tabel 31 | Karakteristik representasi strain <i>S. typhi</i> berdasarkan biotipe, resistensi antibiotika, klasifikasi numerik-fenetik, dan filogenetik...  | 146 |

## DAFTAR GAMBAR

|            | Hal  |
|------------|--|
| Gambar 1   | Karakteristik <i>S. typhi</i> dalam medium TSIA atau KIA agar miring..... 19   |
| Gambar 2   | Resolusi taksonomik beberapa metode yang digunakan dalam sistematika mikrobia ..... 29   |
| Gambar 3   | Contoh perangkat API 20E untuk identifikasi anggota famili <i>Enterobacteriaceae</i> ..... 32  |
| Gambar 4   | Hubungan filogenetik <i>Salmonella</i> dan anggota <i>Enterobacteriaceae</i> berdasarkan analisis <i>maximum-likelihood</i> gen 16S rRNA ..... 36                              |
| Gambar 5   | Pohon filogenetik yang terbentuk berdasarkan analisis sekuen gen 16S rRNA strain <i>S. typhi</i> , <i>S. typhimurium</i> dan strain anggota <i>Enterobacteriaceae</i> ..... 37 |
| Gambar 6   | Pohon filogenetik <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> dan <i>Escherichia coli</i> berdasarkan sekuen gen 16S rRNA..... 38  |
| Gambar 7   | Kerangka konsep penelitian epidemiologi molekular <i>S. typhi</i> penyebab demam tifoid ..... 49   |
| Gambar 8   | Bagan alir penelitian epidemiologi molekular <i>S. typhi</i> penyebab demam tifoid asal wilayah endemik Kabupaten Sumba Barat Daya Nusa Tenggara Timur..... 52                 |
| Gambar 9   | Skema rancangan penelitian epidemiologi molekular <i>Salmonella typhi</i> penyebab demam tifoid asal wilayah endemik Kabupaten Sumba Barat Daya Nusa Tenggara Timur..... 53    |
| Gambar 10  | Diagram alir isolasi, karakterisasi, dan identifikasi <i>S. typhi</i> dengan menggunakan metode sistematik polifasik..... 62   |
| Gambar 11  | Peta lokasi unit pelayanan kesehatan tempat pengambilan sampel kultur darah penderita demam tifoid di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT..... 78                                  |
| Gambar 12  | BacT/ALERT <i>culture media</i> ..... 79   |
| Gambar 13A | Profil koloni isolat BPE 127-MC pada medium MacCONKEY agar..... 85   |
| Gambar 13B | Profil koloni isolat BPE 7-SSA pada medium <i>Salmonella Shigella Agar</i> ..... 85  |
| Gambar 13C | Profil koloni isolat BPE 7.10-MC pada medium <i>Chromocult Coliform Agar</i> ..... 85  |
| Gambar 13D | Profil koloni <i>S. typhi</i> NCTC 786 pada medium <i>Chromocult Coliform Agar</i> ..... 85  |
| Gambar 14A | Hasil uji konfirmasil isolat BPE 121-MC dalam medium urea.... 85   |
| Gambar 14B | Hasil uji konfirmasil isolat BPE 121-MC dalam medium TSIA... 85  |
| Gambar 14C | Profil koloni isolat <i>S. typhi</i> dalam medium TSIA menurut WHO 85  |
| Gambar 14D | Hasil uji konfirmasil isolat BPE 121-MC dalam medium LDC... 85   |
| Gambar 15  | Alur pengambilan perwakilan strain <i>S. typhi</i> ..... 86  |



|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| Gambar 16 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara 17 strain anggota <i>S. typhi</i> asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 berdasarkan karakterisasi sifat fenotip menggunakan perangkat API 20E dan API 50CHE.....   | 98  |
| Gambar 17 | Visualisasi pola pita protein terlarut pada SDS-PAGE untuk enam isolat yang menyusun subkluster satu pada kluster pertama. (A). RSK 5.1-MC, (B). RSK 32.1-CCA, (C). RSL 2.1-CCA, (J). BPE 120.1-MC, (G). BPE 88.1-CCA, (Q). RSL 3.1-SSA dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....  | 102 |
| Gambar 18 | Visualisasi representasi diagramatik profil protein terlarut untuk enam isolat yang menyusun subkluster satu pada kluster pertama. (A). RSK 5.1-MC, (B). RSK 32.1-CCA, (C). RSL 2.1-CCA, (J). BPE 120.1-MC, (G). BPE 88.1-CCA, (Q). RSL 3.1-SSA dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....  | 102 |
| Gambar 19 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara enam isolat yang menyusun subkluster satu pada kluster pertama (RSK 5.1-MC, RSK 32.1-CCA, RSL 2.1-CCA, BPE 120.1-MC, BPE 88.1-CCA, RSL 3.1-SSA dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786) berdasarkan analisis sidik jari protein.....  | 103 |
| Gambar 20 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara enam isolat yang menyusun subkluster satu pada kluster pertama (RSK 5.1-MC, RSK 32.1-CCA, RSL 2.1-CCA, BPE 120.1-MC, BPE 88.1-CCA, RSL 3.1-SSA dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786) berdasarkan karakterisasi sifat fenotipik menggunakan perangkat API 20E dan API 50 CHE..... | 104 |
| Gambar 21 | Visualisasi pola pita protein terlarut pada SDS-PAGE untuk lima isolat (P). BPE 127.2-MC, (N). BPE 123.1-CCA, (M). BPE 122.4-CCA, (L). BPE 122.1-CCA, (H). BPE 1.1-SSA dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....   | 105 |
| Gambar 22 | Visualisasi representasi diagramatik profil protein terlarut untuk lima isolat (P). BPE 127.2-MC, (N). BPE 123.1-CCA, (M). BPE 122.4-CCA, (L). BPE 122.1-CCA, (H). BPE 1.1-SSA dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....   | 106 |
| Gambar 23 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara lima isolat BPE 127.2-MC, BPE 123.1-CCA, BPE 122.4-CCA, BPE 122.1-CCA, BPE 1.1-SSA dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 berdasarkan analisis sidik jari protein.....   | 106 |
| Gambar 24 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara lima isolat BPE 127.2-MC, BPE 123.1-CCA, BPE 122.4-CCA, BPE 122.1-CCA, BPE 1.1-SSA dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 berdasarkan karakterisasi sifat fenotipik menggunakan perangkat API 20E dan API 50 CHE.....  | 108 |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| Gambar 25 | Visualisasi pola pita protein terlarut pada SDS-PAGE enam isolat (D). RSK 22.2-CCA, (E). RSK 22.4-CCA, (F). BPE 7.10-MC, (I). BPE 74.1-CCA, (K). BPE 121.1-MC, BPE 127.1-MC dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....  | 109 |
| Gambar 26 | Visualisasi representasi diagramatik profil protein terlarut enam isolat (D). RSK 22.2-CCA, (E). RSK 22.4-CCA, (F). BPE 7.10-MC, (I). BPE 74.1-CCA, (K). BPE 121.1-MC, BPE 127.1-MC dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786.....  | 109 |
| Gambar 27 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara enam isolat (D). RSK 22.2-CCA, (E). RSK 22.4-CCA, (F). BPE 7.10-MC, (I). BPE 74.1-CCA, (K). BPE 121.1-MC, BPE 127.1-MC dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 berdasarkan analisis sidik jari protein.....  | 110 |
| Gambar 28 | Dendogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara enam isolat (D). RSK 22.2-CCA, (E). RSK 22.4-CCA, (F). BPE 7.10-MC, (I). BPE 74.1-CCA, (K). BPE 121.1-MC, BPE 127.1-MC dan (R). strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 berdasarkan karakterisasi sifat fenotipik menggunakan perangkat API 20E dan API 50 CHE.....                 | 110 |
| Gambar 29 | Pohon filogeni berdasarkan <i>algoritme Neighbour- Joining</i> (Saitou & Nei, 1987) yang menunjukan hubungan antara 16 strain anggota <i>S. typhi</i> representasi dari berbagai wilayah geografis di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT dan perwakilan strain anggota famili <i>Enterobacteriaceae</i> atas dasar sekuen gen 16S rRNA..... | 113 |
| Gambar 30 | Dendogram yang menunjukkan diversitas strain anggota <i>S. typhi</i> asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT berdasarkan hubungan similaritas secara numerik fenetik, biotipe dan sifat resistensi terhadap asam nalidiksat.....  | 120 |
| Gambar 31 | Dendogram yang menunjukkan diversitas strain anggota <i>S. typhi</i> asal wilayah Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT berdasarkan hasil klasifikasi menggunakan pendekatan sistematik kimiawi (sidik jari protein).....  | 124 |
| Gambar 32 | Pohon filogeni berdasarkan algoritma <i>Neighbour- Joining</i> (Saitou & Nei, 1987) yang menunjukan diversitas genetik strain anggota <i>S. typhi</i> representasi dari berbagai wilayah geografis di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT atas dasar sekuen gen 16S rRNA.....  | 127 |
| Gambar 33 | Distribusi penderita demam tifoid dan sebaran strain anggota <i>S. typhi</i> representasi berbagai wilayah geografis di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT.....  | 131 |
| Gambar 34 | Peta topografi dan lokasi penderita demam tifoid di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT.....   | 132 |
| Gambar 35 | Sumber mata air Wecewel, Weemuu, dan Weelei yang digunakan penduduk di Kecamatan Wewewa Timur.....   | 133 |
| Gambar 36 | Sumber air yang digunakan oleh penduduk di wilayah Kodi, air sungai, air hujan, dan PDAM .....   | 135 |

|           |  |     |
|-----------|--|-----|
| Gambar 37 | Kondisi lingkungan permukiman penduduk di wilayah Kodi.....  | 136 |
| Gambar 38 | Peta distribusi tempat tinggal penderita demam tifoid di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT berdasarkan tipe lahan.....  | 139 |
| Gambar 39 | Peta sebaran jumlah penduduk miskin di Kabupaten Sumba Barat.....  | 141 |
| Gambar 40 | Peta sebaran representasi strain <i>S. typhi</i> di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT.....  | 144 |
| Gambar 41 | Peta diversitas dan sebaran strain-strain anggota <i>S. typhi</i> di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT berdasarkan biotipe.....   | 145 |
| Gambar 42 | Peta diversitas dan sebaran strain-strain anggota <i>S. typhi</i> di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT berdasarkan klasifikasi numerik fenetik.....  | 147 |
| Gambar 43 | Peta diversitas dan sebaran strain-strain anggota <i>S. typhi</i> di Kabupaten Sumba Barat Daya, NTT berdasarkan sifat resistensi terhadap asam nalidiksat.....  | 149 |
| Gambar 44 | Peta diversitas dan sebaran strain-strain anggota <i>S. typhi</i> di Kabupaten Sumba Barat Daya NTT berdasarkan hubungan filogenetik.....  | 152 |
| Gambar 45 | Hasil karakterisasi dan identifikasi beberapa strain <i>S. typhi</i> dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 (nomor 24) menggunakan perangkat API 20E.....   | 191 |
| Gambar 46 | Hasil karakterisasi dan identifikasi beberapa strain <i>S. typhi</i> dan strain acuan <i>S. typhi</i> NCTC 786 (nomor 24) menggunakan perangkat API 50CHE.....   | 192 |
| Gambar 47 | Kenampakan pita tunggal DNA dengan menggunakan <i>Major Science UV transluminator</i> .....  | 201 |
| Gambar 48 | Amplikon yang diperoleh berdasarkan kenampakan pita tunggal pada 428 bp (untuk primer SR1 F dan SR1 R), 484 bp (untuk primer SR3 F dan SR3 R) dan 483 bp (untuk primer SR5 F dan SR5 R) menggunakan <i>Major Science UV transluminator</i> pada 1,5% gel elektroforesis..... | 204 |