

## Klasifikasi Numerik-fenetik *Salmonella typhi* Asal Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta Berdasarkan Hasil Karakterisasi Fenotipik

### Numeric-Phenetic Classification of *Salmonella typhi* from Central Java and Yogyakarta Based on the Phenotypic Characterization

Sri Darmawati<sup>1\*</sup>, Langkah Sembiring<sup>2</sup>, Widya Asmara<sup>3</sup>, dan Wayan T. Artama<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Wonodri Sendang Raya no. 2A Semarang

<sup>2</sup>Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

<sup>3</sup>Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

<sup>4</sup>Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

E-mail: ciciekdarma@yahoo.com \*Penulis untuk korespondensi

#### Abstract

Typhoid fever is one of endemic diseases caused by *S. typhi*. These bacteria can be classified based on their micro-morphologic, colony-morphologic, carbon source intake, enzyme production, and macro-molecular degrading ability. The purpose of this study was to do numeric phenetic classification of 4 strains of *S. typhi* taken from Central Java and Yogyakarta. The classification was confirmed phenotypically with two strains, i.e. NCTC 786 and BLKS, using the similarity relation analysis based on Simple Matching Coefficient Analysis (SSM), and UPGMA algoritme (unweighted pair group methode with averages), then presented in the form of dendrogram. The results of this study showed that they could be classified into 4 clusters. Cluster 1 consisted of 3 strains taken from Central Java and 1 base strain taken from BLK Semarang (similarity result: 100%). Cluster 2 consisted of 1 base *S. typhi* strain of NCTC 786 (similarity result: 98.6% with cluster 1). Cluster 3 consisted of 1 MDA strain taken from Central Java (similarity result: 96.8% with cluster 1 and 2). Cluster 4 consisted of 2 *S. typhi* stains taken from Yogyakarta (similarity result: 96.4% with those three clusters).

Key words: *Salmonella typhi*, Numeric-phenetic Classification, phenotypic Characterization

#### Abstrak

Demam tifoid adalah penyakit endemis yang disebabkan oleh strain bakteri *S. typhi*, bakteri tersebut dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan mikromorfologi, morfologi koloni, penggunaan sumber karbon, produksi enzim, kemampuan mendegradasi makromolekul. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan melakukan klasifikasi numerik-fenetik 4 strain *S. typhi* asal Jawa Tengah dan 2 strain asal DIY dengan 2 strain acuan *S. typhi* NCTC 786 dan BLKS berdasarkan karakterisasi fenotipik dengan analisis hubungan similaritas yang didasarkan atas analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) serta algoritme UPGMA (*unweighted pair group methode with averages*) yang kemudian dipresentasikan dalam bentuk dendrogram. Hasilnya dapat dikelompokkan menjadi empat klaster, klaster pertama beranggotakan 3 strain berasal dari Jawa Tengah dan 1 strain acuan BLK Semarang (similaritas 100%). Klaster kedua beranggotakan satu strain acuan *S. typhi* NCTC 786 (similaritas 98,6%) dengan klaster pertama. Klaster ketiga beranggotakan 1 strain MDA dari Jawa Tengah (similaritas 96,8%) dengan klaster pertama dan kedua. Klaster keempat beranggotakan 2 strain *S. typhi* asal DIY yang memiliki (similaritas 96,4%) dengan ketiga klaster lainnya.

Kata kunci: *Salmonella typhi*, Klasifikasi Numerik-fenetik, Karakterisasi fenotipik

Diterima: 13 Desember 2010, disetujui: 06 Februari 2011

## Pendahuluan

Demam tifoid merupakan penyakit endemis yang tersebar luas di dunia, yaitu di daerah tropis terutama di Asia Tenggara, Afrika, Amerika Latin, dan negara berkembang lainnya termasuk Indonesia (Husein *et al.*, 2002; Vollaard *et al.*, 2005; Prajapati, 2008). Secara global di negara berkembang diperkirakan terjadi 21 juta kasus baru demam tifoid dan lebih dari 200.000 kasus kematian tiap tahun (Vollard, 2005). Di Indonesia angka insiden demam tifoid mencapai 358–810 per 100.000 penduduk per tahun dengan angka kematian yang cukup tinggi, yaitu 1–5% dari penderita (Anonimous, 2007).

Demam tifoid disebabkan oleh *Salmonella* serotype *typhi* (*S. typhi*) (Rathis, 1995; Anonimous, 2003; Vollaard *et al.*, 2005). Bakteri *S. typhi* ditularkan melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh kotoran atau feses dari seseorang pengidap atau penderita demam tifoid (Anonimous, 2003). Terjadinya demam tifoid pada komunitas yang sanitasi, higiene perseorangan, sumber air sangat kurang serta rendahnya higienitas industri pengolahan pangan (Cvjetanovic *et al.*, 1971). Hal ini menunjukkan bahwa demam tifoid terjadi pada komunitas yang hygiene dan sanitasinya sangat kurang.

Strain *Salmonella* termasuk *S. typhi* dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan karakter fisiologis, menurut serotipe antigen yaitu O, Vi dan H. Pengelompokan juga dapat berdasarkan biovar, yaitu kemampuannya untuk memfermentasikan xilosa. Hal ini tampak bahwa terdapat keanekaragaman strain bakteri anggota *S. typhi*, baik keanekaragaman serotipenya, kemampuan dalam memfermentasikan xilosa dan resistensinya terhadap antibiotik. Hal ini menunjukkan pula adanya keanekaragaman genetik *S. typhi* yang merupakan variasi gen atau genom yang dimiliki oleh setiap individu anggota spesies.

Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk melakukan klasifikasi numerik-fenetik *S. typhi* asal Jawa Tengah dan DIY berdasarkan karakterisasi fenotipik menggunakan algoritma UPGMA (*unweighted pair group methode with averages*), sehingga dapat menggambarkan kemiripan dan perbedaan sifat-sifat biokimiawi

strain-strain *S. typhi* asal Jawa Tengah dan DIY.

## Metode Penelitian

### Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah 4 strain bakteri *S. typhi* asal Jawa Tengah (1 strain dari Magelang, 2 strain dari Salatiga dan 1 strain dari Solo), 2 strain asal DIY (dari Rumah Sakit Dokter Sarjito dan Bethesda) dan 2 strain acuan (*S. typhi* NCTC 786 dan *S. typhi* asal Balai Laboratorium Kesehatan Jawa Tengah) yang diisolasi dari darah pasien dengan gejala klinis demam tifoid, demam dengan 3 hari atau lebih, suhu tubuh 38°C atau lebih, dengan titer Widal O 1/200 atau lebih.

### Karakterisasi *S. typhi*

Tersangka koloni *S. typhi* pada media MacConkey yang menunjukkan tanda atau karakteristik transparan, bulat, tepi rata, diameter  $\pm 2$ mm dilanjutkan dengan konfirmasi pada medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Metyl Red*, *Citrat*, *Urea agar* dan *Penyl-Alanin Deaminase* (PAD). Selanjutnya, diuji sifat-sifat biokimiawinya menggunakan Rapid Test Kit API 20E dan API 50 CHB/E (*Biomerieux*).

### Klasifikasi Numerik

#### Koleksi Data

Ditentukan *Operational Taxonomical Units* (OTU) yaitu 6 strain *S. typhi* yang terdiri dari 4 strain bakteri *S. typhi* asal Jawa Tengah, 2 strain asal DIY dan 2 strain acuan *S. typhi* NCTC 786 dan *S. typhi* BLKS (n=8), kemudian ditentukan 70 unit karakter (t=70). Data tersebut selanjutnya disusun dalam matriks n x t dengan menggunakan program MS Excell 2007.

#### Pengkodean Data

Pengkodean unit karakter dilakukan dengan cara diberi skor, unit karakter yang positif (+) diberi skor 1, sedangkan unit karakter yang negatif (-) diberi skor 0. Pemberian skor unit karakter menggunakan program PFE (*Programmer's File Editor*).

## Analisis Data

Data yang telah diolah menggunakan program PFE kemudian dianalisis dengan program MVSP (*Multi Variate Statistical Package*). Untuk mengetahui hubungan similaritas antara strain satu dan strain yang lainnya digunakan SSM (*Simple Matching Coefficients*) versi 3,1. Kemudian pengklusteran dilakukan dengan menggunakan algoritma UPGMA (*unweighted pair group method with averages*). Setelah itu hasil analisisnya dipresentasikan dalam bentuk dendrogram menggunakan program *Paint Shop Pro* dan diedit dengan program *Adhop photo Shop* (Sembiring, 2002 dan Suharjono *et al.*, 2007).

## Hasil dan Pembahasan

Strain bakteri yang dikarakterisasi sifat-sifat biokimiawinya (Tabel 1), setelah dikarakterisasi menggunakan Rapid Test Kit API 20E dan API 50 CHB/E selanjutnya diklasifikasikan menggunakan algoritma UPGMA. Setelah itu hasil analisisnya dipresentasikan dalam bentuk dendrogram menggunakan program *Paint Shop Pro* dan diedit dengan program *Adhop photo Shop* (Gambar 1). Nilai hubungan similaritas antar strain bakteri disajikan dalam bentuk matriks similaritas (Gambar 2).

Berdasarkan hasil uji karakter fenotipik menggunakan API 20E dan API 50CHB/E menunjukkan ke 8 strain adalah bakteri *S. typhi*, meskipun ada perbedaan beberapa sifat biokimia pada strain yang diuji. Menurut Quintaes *et al.*, (2002) bahwa berdasarkan kemampuannya memfermentasi D-Xilosa dan L-Arabinosa ada dua biotipe, yaitu biotipe I adalah strain yang mampu memfermentasi D-Xilosa tetapi tidak memfermentasikan L-Arabinosa dan biotipe III adalah strain yang mampu memfermentasikan keduanya. Semua strain yang ada termasuk biotipe III. Hasil analisis hubungan similaritas 8 strain bakteri *S. typhi* asal Jawa Tengah dan DIY yang didasarkan analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) serta algoritme UPGMA yang kemudian dipresentasikan dalam bentuk dendrogram.

Dendrogram tersebut menunjukkan adanya 4 klaster, yaitu klaster pertama yang beranggotakan 4 strain yang terdiri dari 3 strain bakteri berasal dari Magelang (MG) dan Salatiga (SLTA dan SLTB) Jawa Tengah dan 1 strain acuan dari BLK Semarang. Keempat strain tersebut memiliki indek similaritas 100%. Adapun klaster kedua hanya beranggotakan satu strain yaitu strain acuan (*S. typhi* NCTC 786), memiliki indeks similaritas dengan klaster pertama sebesar 98,6%, perbedaan sifat biokimia yang terdapat yaitu tidak dihasilkannya H<sub>2</sub>S oleh *S. typhi* NCTC 786, meskipun strain yang lain menghasilkan H<sub>2</sub>S tetapi lemah.

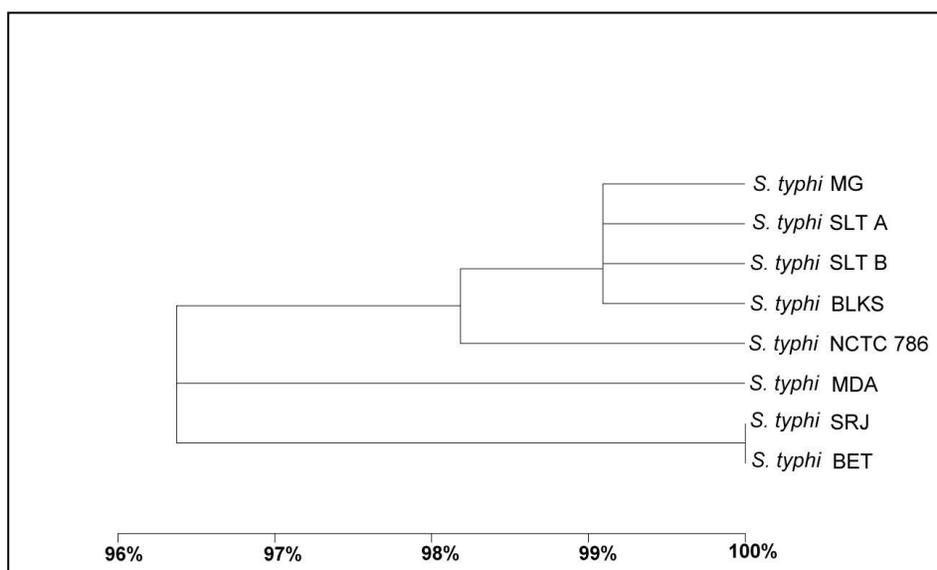
Klaster ketiga beranggotakan satu strain *S. typhi* (MDA) yang diisolasi dari pasien di Rumah Sakit Dr. Muwardi Solo, memiliki indek similaritas dengan klaster pertama dan kedua sebesar 96,8%, perbedaan yang terdapat adalah ketidakmampuannya untuk memfermentasikan sorbitol dan mellibiosa, dibandingkan dengan strain yang lain. Strain *S. typhi* (MDA) diisolasi dari pasien yang berada di Rumah Sakit Dr. Muwardi Solo, tetapi asal pasien dari Madiun. Jadi tampak bahwa pasien diduga terinfeksi strain bakteri *S. typhi* yang asalnya berbeda dengan ketiga pasien dari Jawa Tengah lainnya.

Klaster keempat beranggotakan 2 strain yaitu strain *S. typhi* asal RS. Sarjito (SRJ) dan asal RS. Betesda (BET) Yogyakarta. Klaster ini memiliki indek similaritas dengan klaster pertama, kedua dan ketiga sebesar 96,4%. Anggota klaster ini memiliki enzim lisin dekarboksilase, dan kemampuan mengoksidasi gliserol, sedangkan strain anggota klaster yang lain tidak memiliki. Ini yang menyebabkan adanya sedikit perbedaan karakter fenotipik.

Menurut Salaki *et al.*, (2010), metode klasifikasi numerik-fenetik menggolongkan setiap strain mikrobial ke dalam kelompok takson yang homogen yaitu *taksospecies* berdasarkan sejumlah besar data fenotipik (makromorfologi, morfologi koloni, penggunaan sumber karbon, produksi enzim, kemampuan mendegradasi makromolekul). Pada penelitian ini, metode ini mampu untuk mengelompokkan ke delapan strain tersebut ke dalam empat klaster.

**Tabel 1.** Strain bakteri hasil isolasi dari sampel darah pasien gejala klinis demam tifoid asal Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) dan Jawa Tengah.

No.	Kode Strain	Nama Strain	Asal
1.	NCTC 786	<i>S. typhi</i>	Strain Acuan
2.	BLK S	<i>S. typhi</i>	Strain Acuan
3.	MG	<i>S. typhi</i>	Magelang-Jateng
4.	SLT A	<i>S. typhi</i>	Salatiga-Jateng
5.	SLT B	<i>S. typhi</i>	Salatiga-Jateng
6.	MD A	<i>S. typhi</i>	Solo-Jateng
7.	BET	<i>S. typhi</i>	RS Sarjito-DIY
8.	SRJ	<i>S. typhi</i>	RS Betesda-DIY



**Gambar 1.** Dendrogram yang menunjukkan hubungan similaritas antara 6 strain bakteri *S. typhi* asal Jawa Tengah dan DIY dengan 2 strain Acuan yang didasarkan atas analisis *Simple Matching Coefficient* (SSM) dan algoritme UPGMA.

MG	100							
SLT A	100	100						
SLT B	100	100	100					
BLKS	100	100	100	100				
NCTC	98,6	98,6	98,6	98,6	100			
MDA	96,8	96,8	96,8	96,8	96,8	100		
SRJ	96,4	96,4	96,4	96,4	96,4	96,4	100	
BET	96,4	96,4	96,4	96,4	96,4	96,4	96,4	100
	MG	SLT A	SLT B	BLKS	NCTC	MDA	SRJ	BET

**Gambar 2.** Matriks similaritas disusun berdasarkan perhitungan nilai hubungan similaritas antar 8 strain *S. typhi* menggunakan *Simple Matching Coefficient* (SSM).

## Simpulan

Berdasarkan hasil klasifikasi numerik-fenetik 4 strain *S. typhi* asal Jawa Tengah dan 2 strain asal DIY dengan 2 strain acuan berdasarkan karakter fenotipik dapat dikelompokkan menjadi empat klaster, klaster pertama beranggotakan 3 strain yang berasal dari Jawa Tengah dan 1 strain acuan dari BLK Semarang yang memiliki indek similaritas 100%. Klaster kedua beranggotakan satu strain acuan *S. typhi* NCTC 786 yang memiliki indek similaritas 98,6% dengan klaster pertama. Klaster ketiga beranggotakan 1 strain dari Jawa Tengah (MDA), indek similaritas 96,8% dengan klaster pertama dan kedua. Klaster keempat beranggotakan 2 strain *S. typhi* asal DIY yang memiliki indek similaritas 96,4%.

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan Nasional Republik Indonesia yang telah memberikan dana untuk penelitian Hibah Doktor.

## Daftar Pustaka

- Anonim. 2003. A global *Salmonella* surveillance and Laboratory Support Project of The World Health Organization. Laboratory Protocols, Level 1 Training Course Isolation of *Salmonella*. *World Health Organ.*
- Anonim. 2007. Profile Health status of Province South Sulawesi, Indonesia. Ministry of Health, Republic of Indonesia.
- Brenner, D.J., Krieg, N.R. dan Staley, J.T. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Second edition. Department of Microbiology and Molecular Genetics Michigan State University East Lansing, MI 48824-4320 USA. 764-765.
- Cvjetanovic, B., Grab, B. dan Uemura, K. 1971. Epidemiological Model of Typhoid Fever and Its use in The Planning and Evaluation of Antityphoid Immunization and Sanitation Programmes. *Bull. World Health Organ*, 45: 53-75.
- Grimont, P.A.D. dan Weill, F.X. 2007. Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovar. 9<sup>th</sup> ed., WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. Institut Pasteur, 28 rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. dan Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9<sup>th</sup> Ed. Williams & Wilkins. Ballimore, Maryland USA. 186, 242.
- Hussein, G.M., Henk, L.S., Marga, G.A.G., Dolmans dan Wil, M.V.D. 2002. Evaluation of simple and rapid dipstick assay for the diagnosis of typhoid fever in Indonesia. *J. Med. Microbiol*, 51: 173-177.
- Koneman, E.W., Stephen, D.A., William, M.D., Paul, C.S. dan Washington, C.W. 1992. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Fourth edition. J.B. Lippincott Company. Philadelphia.
- Prajapati, B., Rai, G.K., Rai, S.K., Upreti, H.C., Thapa, M., Singh, G. dan Strestha, R.M. 2008. Prevalence of *Salmonella typhi* and *paratyphi* infection in children: hospital based study. *Nepal. Med. Coll. J.*, 10 (4): 238-241.
- Priest, F. dan Austin, B. 1993. *Modern Bacterial Taxonomy*. Second edition. Chapman and Hall. London.
- Ratish, K.C., Chandrashekar, M.R. dan Nagesha, C.N. 1995. An Outbreak of Multidrug Resistant Typhoid Fever in Fever in Bangalore. *Indian J. Pediar.*, 62: 445-8.
- Salaki, C.L., Situmorang, J., Sembiring, L. dan Handayani, N.S.N. 2010. Analisis Keanekaragaman Isolat *Bacillus thuringiensis* yang Patogenik terhadap Serangga Hama Kubis (*Crociodolomia binotalis*) dengan Pendekatan Sistematika Numerik. *Biota*, 15 (3): 469-476.
- Sembiring, L. 2004. *Peranan Biosistematika Dalam Menunjang Pemanfaatan Keanekaragaman Hayati*. Seminar Nasional Biologi. 25 September 2004. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Suharjono, Sembiring, L., Subagja, J., Ardyati, T. dan Lisdiana, L. 2007. Sistemantik Numerik Strain-strain Anggota Genus *Pseudomonas* Pendegradasi Alkilbenzen Sulfonat Linier Berdasarkan Sifat Fenotip dan *Protein Fingerprinting*. *Biota*, 12 (1): 47-54.
- Vollaarrd, A.M., Ali, S., Wijaya, S., Van Asten, H.A.G.H., Charles, L.G.V. dan Van Dissel, J.T. 2005. Identification of typhoid fever and paratyphoid fever at presentation in outpatient clinics in Jakarta, Indonesia. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 99: 440-450.