

Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA*

Skripsi



**STEFANUS PAULUS
31110026**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016**

Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA*

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



STEFANUS PAULUS
31110026

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2016

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Stefanus Paulus

NIM : 31110026

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA*

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 26 Oktober 2016



Stefanus Paulus

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

Analisis Filogenetik Isolat Salmonella spp Berdasarkan Penanda Gen invA

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

STEFANUS PAULUS
31110026

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

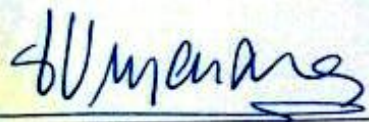
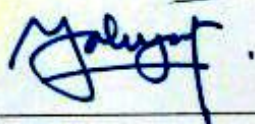
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal **7 Oktober 2016**

Nama Dosen

1. Dr. Charis Amarantini, M.Si.
(Dosen Pembimbing I / Dosen Penguji / Ketua Tim)
2. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P.
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji)
3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
(Dosen Penguji)

Tanda Tangan

: 
: 
: 

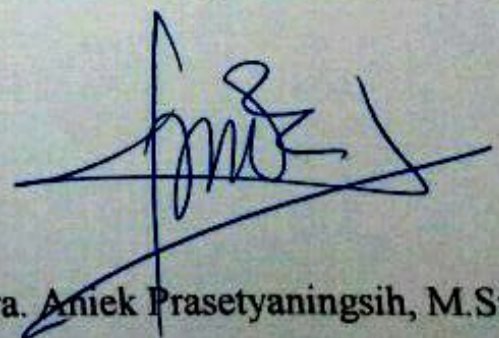
Yogyakarta, 27 Oktober 2016
Disahkan Oleh:

Dekan,



Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi,



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

PRAKATA

Rencana Tuhan Yesus Kristus yang luar biasa akhirnya membawa saya ke titik ini sehingga segala puji dan hormat saya haturkan hanyalah kepadaNya yang Maha Pemurah. TuntunanNya lah yang selalu menyertai sehingga setelah melewati hiatus yang panjang, belajar menerjang rasa takut dan malu, belajar membangun kembali relasi yang meregang, dan banyak proses belajar lainnya yang satu per satu dengan senang hati melukiskan memar dan luka dalam diri, saya akhirnya dapat menjalankan penelitian dan menulis skripsi dengan judul “**Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA***”.

Seperti cerita sukses dari orang-orang luar biasa di luar sana, seorang *saya* yang tidak-terlalu-luar-biasa juga dapat mengecap puncak pendakian kehidupan perkuliahan ini berkat orang-orang luar bisa di balik layar yang tidak pernah bosan (mungkin mereka pernah, tetapi saya saja yang seringkali tidak tahu malu) merusak dan membunuh dasar yang salah demi melahirkan kembali seorang manusia bergelar Sarjana Sains yang berkontribusi positif bagi umat manusia.

Ibu Charis Amarantini, terima kasih karena sudah mengancam ingin menahan paspor saya sehingga ancaman tersebut dapat berbuah menjadi skripsi yang mengantarkan saya kepada kelulusan. Andalah yang membuat saya jatuh cinta terhadap biologi dan sains, yang ternyata juga membukakan jalan saya ke banyak warna hidup yang lain. Terima kasih juga kepada **Bapak Dhira Satwika** yang membuat saya yakin bahwa feodalisme dan rigiditas(?) pengajar terhadap bayi-bayi berwujud mahasiswa tidak akan pernah menumbuhkan mereka menjadi manusia dewasa (dan pelajaran biologi juga harus dimulai dari pemahaman konsep, bukan hafalan). Terima kasih juga karena sudah menyelamatkan Agnes, Lidia, dan saya dari ketidakmampuan mencari tempat P3. **Bapak Tri Yahya Budiarto** yang sudah menikahkan saya dengan mempelai bernama mikrobiologi lewat proses pengenalan singkat di mata kuliah Uji Spesimen Klinik. Anda bertiga adalah Trio Entitas Mikrobiologi yang ikut menenun skripsi saya mulai dari hasrat ingin lulus yang abstrak sampai lahir dan berwujud di dunia melalui masukan di sana-sini dan corat-coret merah bernama revisi.

Terima kasih untuk kedua orangtua saya, **Paulus Lambi** dan **Kristina Alomo**, dan juga kakak sulung saya **Adi Paulus**, yang dengan penuh kasih membiayai dan sabar menanti selama 5 tahun untuk melihat saya lulus. Kepercayaan kalian membiarkan saya merantau ke tanah yang asing dengan orang-orang yang tidak kalian ketahui merupakan wujud dari optimistis didikan kalian yang menjadi dasar perjalanan 5 tahun saya. Terima kasih juga untuk anggota keluarga yang lain yang ikut mendukung dan menolong masa adaptasi di kota yang indah ini tanpa mengekang kebasan saya untuk berekspresi.

Terima kasih untuk teman-teman angkatan saya: **Agnes, Lidia, Daniel, Nike, Vivie, Teo, Obet, Meri, Sari, Icha, Mona, Nelly, Patrick, Nuchy, Ilona, Mertha, Dirchia, Geby, Ita, Nonti, Yola,**

dan **Indah**. Kalianlah saksi dan teman-teman seperjuangan dalam bergadang, berkelahi, belajar, menderita, bersenang-senang, dan masih banyak lagi yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu. Terima kasih karena sudah merayakan ulang tahun saya setiap tahunnya yang sebelum saya kuliah frekuensi perayaannya sama seperti frekuensi Obet bisa bangun pagi; jarang-jarang.

Terima kasih untuk teman seperjuangan skripsi, adik didik, teman kecanduan *delivery service* motor hijau, dan teman bermain: **Nugraha, Dewi, Elna, Olga, Ivana, Maria**. Kalian semua membuat skripsi yang menurut orang menakutkan menjadi lebih nyaman untuk dihadapi.

Terima kasih juga untuk **Mas Hari, Mbak Retno, Mas Setyo, Mas Is, Mas Yamto, Mbak Yanti** yang sudah membantu memuluskan penelitian dan keperluan administrasi selama saya berkuliah. Staf pengajar Fakultas Bioteknologi yang ikut mendidik dan mendisiplinkan saya yang namanya tidak bisa saya sebutkan satu per satu. Pelatih dan teman-teman paduan suara, senior dan teman saya di Duwa Radio, mentor dan teman-teman saya selama mengikuti debat, kalianlah yang membuat saya menjadi lebih percaya diri dan yakin dengan suara saya sendiri (kalianlah mentor saya sehingga saya bisa presentasi dan berbicara di depan umum dengan lebih baik). Terima kasih kepada **Almh. Ibunda Ratu Srinagarindra** dan **Alm. Bhumibol Adulyadej** yang sudah menjadi inspirasi saya bahwa tidak ada yang mustahil bagi orang yang mau meluangkan waktu dan mencurahkan hati bagi orang-orang yang membutuhkan dengan dedikasi dan ilmu pengetahuan melalui Doi Tung Development Project.

Terima kasih juga untuk sponsor dan penolong saya selama kuliah di Universitas Kristen Duta Wacana, **Roy Sukanto** dan **John Smulders**, berkat pertolongan kalian di saat uang bulanan menipis dan saat uang kuliah yang terlambat datang, saya bisa sampai di tempat sekarang saya berdiri. Terima kasih juga untuk semua teman, keluarga tanpa ikatan darah, dan entitas daring yang ikut membuat hidup perkuliahan saya menjadi lebih berarti, kalianlah guru tak bergelar yang ikut menempa pribadi saya sampai saat ini.

Semoga skripsi yang dibesarkan dengan kasih dan air mata ini bisa berguna untuk siapapun yang membaca, baik itu sebagai referensi atau inspirasi perjalanan belajar untuk hidup yang tidak pernah berhenti.

Yogyakarta, 24 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERNYATAAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
 ABSTRAK	 1
ABSTRACT.....	2
BAB 1. PENDAHULUAN	3
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
BAB 2. STUDI PUSTAKA	4
2.1 Karakteristik Susu	4
2.2 Keragaman <i>Salmonella</i>	4
2.3 Peran Penting <i>Salmonella</i> sebagai Patogen pada Manusia	4
2.4 Gen <i>invA</i>	5
BAB 3. METODE PENELITIAN	8
1.1 Waktu dan Tempat	8
1.2 Bahan.....	8
1.3 Alat.....	8
1.4 Metode Penelitian.....	8
1.5 Tahap Penelitian.....	9
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	11
4.1 Pemeriksaan Kemurnian Kultur.....	11
4.2 Identifikasi <i>Salmonella</i> secara Molekuler.....	12
4.3 Analisis Filogenetik menggunakan Piranti Lunak Bioinformatika	13

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	16
5.1 Kesimpulan	16
5.2 Saran.....	16
DAFTAR PUSTAKA	17
LAMPIRAN.....	19

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Grafik jumlah kasus wabah <i>Salmonella</i> di Amerika Serikat	5
Gambar 2. Susunan gen SPI-1 <i>Salmonella</i> Typhimurium.....	6
Gambar 3. Skema proses internalisasi dan bertahan hidup mikrobia pada sel inang dan urutan gen pada SPI-1 <i>Salmonella</i>	6
Gambar 4. Model struktur T3SS	7
Gambar 5. Bagan alir penelitian.....	9
Gambar 6. Koloni isolat <i>Salmonella</i> spp pada medium Rambach Agar	11
Gambar 7. Koloni <i>Salmonella</i> dari Rambach Agar setelah dipindahkan pada medium <i>Salmonella Shigella</i> Agar	12
Gambar 8. Hasil elektroforesis amplifikasi DNA dengan penanda molekular <i>invA</i>	12
Gambar 9. Contoh hasil sekuen yang berhasil disusun menggunakan program Mega7 dalam format fasta	13
Gambar 10. Pohon filogenetik yang dikonstruksi menggunakan metode <i>maximum likelihood</i> menggunakan piranti lunak Mega7.....	14

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Informasi tentang protein invasif yang dihasilkan oleh <i>Escherichia coli</i>	19
Lampiran 2. Berkas kromatogram hasil sekuensing	20
Lampiran 3. Hasil BlastX (NCBI) sekuen <i>Salmonella</i> spp.....	20

©UKPDW

Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA*

STEFANUS PAULUS, 31110026

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Gen *invA* merupakan gen yang sifatnya *highly conserved* pada genus *Salmonella* sehingga dapat digunakan untuk meneliti kekerabatan antar serovar yang memiliki fenotip patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan *Salmonella* spp asal susu sapi dengan *Salmonella* patogen lain berdasarkan penanda gen *invA*. Isolat digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella* spp PTKWM asal susu segar yang diisolasi dan diidentifikasi sebelumnya oleh Gadi (2010). Konfirmasi kemurnian isolat dilakukan dengan inokulasi isolat pada medium Rambach Agar dan *Salmonella* Shigella Agar. DNA diisolasi menggunakan kit isolasi DNA komersial, kemudian diamplifikasi menggunakan penanda *invA*. Produk PCR selanjutnya disekuensing dan dianalisis menggunakan piranti lunak bioinformatika untuk mengkonstruksi pohon filogenetik. Analisis filogenetik membuktikan bahwa isolat *Salmonella* spp memiliki hubungan kekerabatan dengan isolat standar *Salmonella* Typhi NTCT 786. Gen *invA* terbukti dapat digunakan sebagai penanda kekerabatan antar spesies *Salmonella*.

Kata kunci: *Salmonella* spp, susu sapi segar, *invA*, analisis filogenetik

Phylogenetic Analysis of *Salmonella* spp Isolate based on *invA* Gene Sequence

STEFANUS PAULUS, 31110026

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRACT

InvA gene is a highly conserved gene among *Salmonella* genus that make it useful to find out genetic relationship among serovarians that have pathogenic phenotype. The goal from this research is to find out genetic relationship of *Salmonella* spp that been isolated from fresh cow's milk with another pathogenic *Salmonellae* based on *invA* marker. *Salmonella* spp PTKWM were isolated and identified before by Gadi (2010). This isolate was checked for its purity using Rambach Agar and Salmonella Shigella Agar. Chromosomal DNA was isolated using commercially available DNA isolation kit and amplified by PCR in a thermocycler using *invA* marker. PCR's product was sequenced and analysed using bioinformatic softwares to construct phylogenetic tree. Phylogenetic analysis has suggested that the *Salmonella* spp isolate can be classified as *Salmonella* Typhi species according to its relatedness with the *Salmonella* Typhi NTCT 786 standard type strain. The *invA* gene region might be useful to analyze the phylogenetic relationship amongst of *Salmonella* spp.

Keywords: *Salmonella* spp, fresh cow's milk, *invA*, phylogenetic analysis

Analisis Filogenetik Isolat *Salmonella* spp Berdasarkan Penanda Gen *invA*

STEFANUS PAULUS, 31110026

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Gen *invA* merupakan gen yang sifatnya *highly conserved* pada genus *Salmonella* sehingga dapat digunakan untuk meneliti kekerabatan antar serovar yang memiliki fenotip patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kekerabatan *Salmonella* spp asal susu sapi dengan *Salmonella* patogen lain berdasarkan penanda gen *invA*. Isolat digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella* spp PTKWM asal susu segar yang diisolasi dan diidentifikasi sebelumnya oleh Gadi (2010). Konfirmasi kemurnian isolat dilakukan dengan inokulasi isolat pada medium Rambach Agar dan *Salmonella* Shigella Agar. DNA diisolasi menggunakan kit isolasi DNA komersial, kemudian diamplifikasi menggunakan penanda *invA*. Produk PCR selanjutnya disekuensing dan dianalisis menggunakan piranti lunak bioinformatika untuk mengkonstruksi pohon filogenetik. Analisis filogenetik membuktikan bahwa isolat *Salmonella* spp memiliki hubungan kekerabatan dengan isolat standar *Salmonella* Typhi NTCT 786. Gen *invA* terbukti dapat digunakan sebagai penanda kekerabatan antar spesies *Salmonella*.

Kata kunci: *Salmonella* spp, susu sapi segar, *invA*, analisis filogenetik

Phylogenetic Analysis of *Salmonella* spp Isolate based on *invA* Gene Sequence

STEFANUS PAULUS, 31110026

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRACT

InvA gene is a highly conserved gene among *Salmonella* genus that make it useful to find out genetic relationship among serovarians that have pathogenic phenotype. The goal from this research is to find out genetic relationship of *Salmonella* spp that been isolated from fresh cow's milk with another pathogenic *Salmonellae* based on *invA* marker. *Salmonella* spp PTKWM were isolated and identified before by Gadi (2010). This isolate was checked for its purity using Rambach Agar and Salmonella Shigella Agar. Chromosomal DNA was isolated using commercially available DNA isolation kit and amplified by PCR in a thermocycler using *invA* marker. PCR's product was sequenced and analysed using bioinformatic softwares to construct phylogenetic tree. Phylogenetic analysis has suggested that the *Salmonella* spp isolate can be classified as *Salmonella* Typhi species according to its relatedness with the *Salmonella* Typhi NTCT 786 standard type strain. The *invA* gene region might be useful to analyze the phylogenetic relationship amongst of *Salmonella* spp.

Keywords: *Salmonella* spp, fresh cow's milk, *invA*, phylogenetic analysis

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salmonella merupakan bakteri enterik yang bersifat patogen. Bakteri ini banyak menyebabkan berbagai kasus demam tifoid dan salmonellosis di berbagai belahan dunia karena inang dari bakteri ini adalah manusia dan hewan berdarah panas. Bakteri ini sering mengkontaminasi makanan dan minuman. Bahan pangan yang terkontaminasi dapat menjadi sumber penyakit infeksius seperti demam tifoid dan paratifoid. Penyebarannya berasal dari feses inang atau produk yang berbahan dasar dari inang, lalu melalui rute oral dengan mengonsumsi bahan pangan yang terkontaminasi (Hoelzer, Isabel, Switt, & Wiedmann, 2011).

Salmonella umumnya mempunyai perangkat gen yang cukup kompleks yang memberikan sifat virulensi. Beberapa gen tersebut adalah gen invasif (*inv*) dan gen virulensi (*spv*) yang memberikan sifat-sifat patogenisitas pada *Salmonella*. Gen *inv* terletak pada DNA kromosom sedangkan gen *spv* umumnya terletak pada plasmid. Gen *spv* yang terintegrasi dengan kromosom umumnya tidak diekspresikan sehingga faktor virulensi *Salmonella* dapat berkurang (Swamy, Barnhart, Lee, & Dreesen, 1996).

Berdasarkan dari banyak penelitian sebelumnya, gen *inv* diperkirakan sangat penting untuk kelangsungan hidup *Salmonella* di dalam host. Hal ini terlihat dari keberadaan gen *inv* yang merupakan *highly conserve region* dan selalu ditemukan pada hampir semua *Salmonella* dari berbagai host sehingga dapat digunakan sebagai penanda genetik genus spesifik pada deteksi cepat menggunakan PCR (Karmi, 2013). Beberapa fungsi gen ini adalah menghasilkan protein invasif yang memungkinkan bakteri untuk menginvasi sel epitelium usus. Hal ini dibuktikan dalam penelitian yang lain yang menunjukkan bahwa mutan *Salmonella* yang kehilangan gen *invA* menjadi kurang invasif (Karmi, 2013) jika dibandingkan dengan *Salmonella* yang memiliki perangkat gen tersebut. Selain itu, gen *invA* bersama dengan beberapa gen lain yang terletak pada *Salmonella Pathogenicity Island* (SPI) juga diperkirakan memberikan sifat resistensi antibiotik seperti streptomycin, lincosamide, dan chloramphenicol (Karmi, 2013). Walaupun gen ini memberikan fenotip invasif, invasifitas masing-masing *Salmonella* dari berbagai host ternyata cukup berbeda. *Salmonella* yang berasal dari produk unggas seperti telur dan daging unggas cenderung bersifat lebih invasif dibandingkan dengan *Salmonella* yang ditemukan pada limbah ataupun hewan ternak non unggas seperti babi dan sapi. Walaupun begitu, beberapa serovar yang cukup invasif juga berhasil ditemukan pada sampel klinis, walaupun tidak sering, yang mengindikasikan adanya bakteri penyebab salmonellosis pada manusia yang dicurigai dikarenakan mengonsumsi produk unggas (Chaudhary, Nayak, Brahmabhatt, & Makwana, 2015). Karena *Salmonella* yang berasal dari inang tertentu dapat memberikan sifat patogen yang berbeda jika menjangkiti manusia, identitas *Salmonella* penting untuk diketahui sebagai langkah awal melacak asal kontaminasi patogen tersebut.

Melihat pentingnya gen *invA* sebagai faktor virulensi bagi *Salmonella*, berbagai penelitian telah dilakukan dalam mendeteksi *Salmonella* yang bersifat patogen secara molekuler. Hasil penelitian sebelumnya, *Salmonella* dengan kedua gen ini dapat ditemukan pada bahan pangan seperti susu kambing, susu sapi yang diujakan di kakilima, bahkan es teh. Keberadaan *Salmonella* ini di berbagai bahan pangan yang cukup berbeda membuatnya menarik untuk dijadikan bahan penelitian. Hal ini dikarenakan gen tersebut seringkali bersifat *host* spesies spesifik, sehingga penyebarannya membutuhkan jalur khusus atau transfer gen secara horizontal menjadi penyebab utama sehingga ada kemungkinan gen tersebut dimiliki oleh *Enterobacter* jenis lain. Karena itulah potensi penggunaan gen tersebut sebagai penanda genetik untuk meneliti hubungan kekerabatan dan identitas *Salmonella* yang berpotensi bersifat patogen layak untuk diteliti.

Dalam penelitian ini, peneliti akan menggunakan sampel isolat *Salmonella* spp yang berhasil diisolasi oleh Gadi (2010) yang diperoleh dari susu sapi di peternakan. Isolat ini sudah melewati berbagai rangkaian uji biokimia dan identitasnya telah diketahui menggunakan kit API 50E (Biomereux). Hasil akhir dari analisis kekerabatan berbasis genetik nantinya diharapkan akan memberi informasi lebih lanjut tentang posisi kekerabatan isolat asli ini jika dibandingkan dengan isolat-isolat yang lain yang juga memiliki perangkat gen *invA*.

1.2 Perumusan Masalah

- 1.2.1 *Salmonella* spp asal susu segar tidak dapat diketahui identitasnya sampai ke aras subspecies menggunakan uji biokimiawi API 50CH.
- 1.2.2 Tidak ada data mengenai potensi *Salmonella* spp sebagai patogen.

1.3 Tujuan

- 1.3.1 Mengetahui hubungan kekerabatan isolat *Salmonella* spp asal susu segar berdasarkan konstruksi pohon filogenetik menggunakan penanda gen *invA* dengan spesies *Salmonella* lain.
- 1.3.2 Mengetahui potensi penanda gen *invA* untuk tujuan identifikasi dan analisis hubungan kekerabatan antar *Salmonella* yang berpotensi bersifat virulen.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Isolat *Salmonella* spp yang diisolasi Gadi (2010) merupakan kerabat dekat dari *Salmonella* Typhi NCTC 786. Konstruksi pohon filogenetik yang dihasilkan membuktikan bahwa gen *invA* dapat digunakan sebagai penanda kekerabatan antar spesies *Salmonella*. Oleh karena itu, isolat *Salmonella* spp PTKWM tersebut berpotensi besar bersifat patogen.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan identitas spesies dari *Salmonella* spp secara serologi dan/atau analisis kekerabatan berdasarkan 16s RNA agar dapat menjelaskan mengapa secara genetika mikrobial ini lebih dekat dengan *Salmonella* Typhi dibandingkan *Salmonella* Typhimurium. Perlu juga diadakan penelitian lebih lanjut agar dapat menjelaskan mengapa kontrol negatif *E. coli* pada penelitian ini menghasilkan hasil yang positif yang menandakan adanya susunan gen *invA* pada nukleotida kontrol negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Amini, K., Salehi, T. Z., Nikbakht, G., Ranjbar, R., & Amini, J. (2010). Molecular detection of *invA* and *spv* virulence genes in *Salmonella enteritidis* isolated from human and animals in Iran. *African Journal of Microbial Research*, 4(21), 2202–2210.
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* Nomenclature, 38(7), 2465–2467.
- Budiarso, T. Y., & Amarantini, C. (2012). Diversity analysis of *Salmonella* isolates from food samples : compared with the diversity of *Salmonella typhi* of human cases, 1(5).
- CDC. (2016a, September 25). *Salmonella* Typhimurium infection associated with raw milk and cheese consumption --- Pennsylvania, 2007. CDC. ELEC, CDC. Retrieved from <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5644a3.htm>
- CDC. (2016b, September 27). Epi curves Eight multistate outbreaks of human *Salmonella* infections linked to live poultry in backyard flocks. CDC. ELEC, CDC. Retrieved from <http://www.cdc.gov/salmonella/live-poultry-05-16/epi.html>
- Chaudhary, J. H., Nayak, J. B., Brahmabhatt, M. N., & Makwana, P. P. (2015). Virulence genes detection of *Salmonella* serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat. *Veterinary World*, 8(1), 121–124. <http://doi.org/10.14202/vetworld.2015.121-124>
- Gadi, E. E. N. (2010). *Deteksi Salmonella pada Susu Mentah dan Lingkungan Sekitar Peternakan di Kelompok Peternak Koperasi Warga Mulya Kabupaten Sleman Daerah Istimewa Yogyakarta* (JOUR). Undergraduate Thesis, Duta Wacana Christian University. Retrieved from <http://sinta.ukdw.ac.id>
- Hoelzer, K., Isabel, A., Switt, M., & Wiedmann, M. (2011). Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Veterinary Research*, 42(1), 34. <http://doi.org/10.1186/1297-9716-42-34>
- Kaniga, K., Trollinger, D., & Galán, J. E. (1995). Identification of two targets of the type III protein secretion system encoded by the *inv* and *spa* loci of *Salmonella typhimurium* that have homology to the *Shigella* IpaD and IpaA proteins. *Journal of Bacteriology*, 177(24), 7078–7085. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC177584/> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC177584/pdf/1777078.pdf>
- Karmi, M. (2013). Detection of Virulence Gene (*invA*) in *Salmonella* Isolated from Meat and Poultry Products. *International Journal of Genetics*, 3(2), 7–12. <http://doi.org/10.5829/idosi.ijg.2013.3.2.82204>
- Kosarewicz, A., Königsmaier, L., & Marlovits, T. C. (2012). The blueprint of the type-3 injectisome. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 367(1592), 1140–54. <http://doi.org/10.1098/rstb.2011.0205>
- Kuhn, H., Wonde, B., Rabsch, W., & Reissbrodt, R. (1994). Evaluation of Rambach agar for detection of *Salmonella* subspecies I to VI. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(2), 749–751.
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2015). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution*.
- Lilic, M., Quezada, C. M., & Stebbins, C. E. (2010). A conserved domain in type III secretion links the cytoplasmic domain of InvA to elements of the basal body. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 66(6), 709–713. <http://doi.org/10.1107/S0907444910010796>
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., ... Tauxe, R. V. (1999). Food-Related Illness and Death in the United States. *Emerging Infectious Disease*, 5(5), 607–625. <http://doi.org/10.3201/eid0505.990502>
- Mølbak, K., Baggesen, D. L., Aarestrup, F. M., Ebbesen, J. M., Engberg, J., Frydendahl, K., ... Wegener, H. C. (1999). An Outbreak of Multidrug-Resistant, Quinolone-Resistant *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium DT104. *The New England Journal of Medicine*, 341(November 4), 1420–1425. <http://doi.org/10.1056/NEJM199911043411902>
- Okamoto, A. S., Filho, R. L. A., Rocha, T. S., Menconi, A., & Goncalves, G. A. M. (2009). Relation between the *spvC* and *invA* virulence genes and resistance of *Salmonella enterica* serotype enteritidis isolated from avian material. *International Journal of Poultry Science*, 8(6), 579–582. <http://doi.org/10.3923/ijps.2009.579.582>
- Rahn, K., De Grandis, S. A., Clarke, R. C., McEwen, S. A., Galán, J. E., Ginocchio, C., ... Gyles, C. L. (1992). Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. *Molecular and Cellular Probes*, 6(4), 271–279. [http://doi.org/10.1016/0890-8508\(92\)90002-F](http://doi.org/10.1016/0890-8508(92)90002-F)
- Shelobolina, E. S., Sullivan, S. A., Neill, K. R. O., Nevin, K. P., & Lovley, D. R. (2004). Isolation, characterization, and U(VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant Bacterium from Low-pH, nitrate- and U(VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 2959–2965. <http://doi.org/10.1128/AEM.70.5.2959>
- Shi, Q., Zhang, Y., Gao, G., Fang, H., & Miao, F. (2012). Phylogenetic analysis of virulence factor gene of *Salmonella* isolated from clinically symptomatic Chickens. *African Journal of Microbiology Research*, 6(8), 1718–1722. <http://doi.org/10.5897/AJMR11.933>
- Su, L., & Chiu, C. H. (2006). *Salmonella*: Clinical Importance and Evolution of Nomenclature, 210–219. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17760271>

- Suárez, M., & Rüssmann, H. (1998). Molecular Mechanisms of *Salmonella* Invasion: The Type III Secretion System of The Pathogenicity Island. *International Microbiology*, 1(3), 197–204.
- Swamy, S. C., Barnhart, H. M., Lee, M. D., & Dreesen, D. W. (1996). Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonellae* isolated from poultry products, wastewater, and human sources. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3768–3771.
- University of Guelph. (2016, September 25). Composition and structure: Overview [ELEC]. Retrieved from <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/composition-and-structure-overview>
- Wareham, D., S. A. B, Z., L. M., P., & M. H. F., A. M. (2016). Co-carriage of Plasmid-Mediated Fosfomycin Resistance Determinants (*fos*) by Carbapenem Resistant *Enterobacteriaceae* in the United Kingdom. In *ASM Microbe 2016*. CPAPER.
- Zhang, S., Kingsley, R. A., Santos, R. L., Andrews-Polymenis, H., Raffatellu, M., Figueiredo, J., ... Bäumler, A. J. (2003). Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium-induced diarrhea. *Infection and Immunity*, 71(1), 1–12. <http://doi.org/10.1128/IAI.71.1.1>
- Zou, M., Keelara, S., & Thakur, S. (2012). Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from humans by antimicrobial resistance, virulence genes, and pulsed-field gel electrophoresis. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(3), 232–8. <http://doi.org/10.1089/fpd.2011.1012>