

Identifikasi *Salmonella* sp yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda QRDR

Skripsi

Untuk memenuhi sebagai persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Sains (S. Si)



AGNES

31110008

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2015**

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

**IDENTIFIKASI *SALMONELLA* SP YANG BERSIFAT RESISTEN
TERHADAP ASAM NALIDIKSAT MENGGUNAKAN PENANDA QRDR**

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**AGNES
31110008**

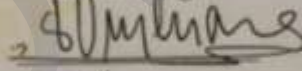
Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar

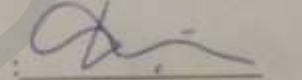
Sarjana Sains pada tanggal 01 Oktober 2015

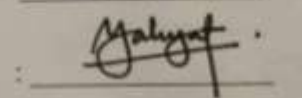
Nama Dosen

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

Tanda Tangan



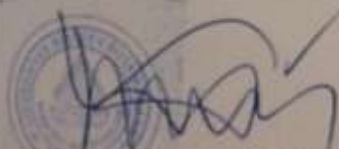




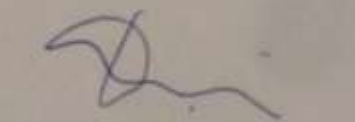
Yogyakarta, 12 Oktober 2015

Disahkan Oleh :

Dekan Fakultas Bioteknologi


(Drs. Kisworo, M.Sc)

Ketua Program Studi


(Dr. Dhira Satwika, M.Sc)

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Agnes

NIM : 31110008

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul **“Identifikasi *Salmonella sp* yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda Gen QRDR”** adalah hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjaan di suatu perguruan tinggi. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam naskah dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Pernyataan ini dibuat dengan secara sadar dan tidak ada unsur paksaan dari pihak lain. Saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada sebelumnya.

Yogyakarta, 15 Oktober 2015



Agnes

31110008

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas kasih dan karuniaNya maka penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi *Salmonella* sp yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda QRDR”. Penulis menyadari penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan berkat bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis sampaikan terima kasih banyak kepada yang terhormat :

1. Drs. Kisworo, M. Sc selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta
2. Dr. Charis Amarantini, M. Si selaku Dosen Pembimbing I yang dengan penuh kasih dan kesabaran dalam membimbing dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Dr. Dhira Satwika, M. Sc selaku Dosen Pembimbing II yang penuh kesabaran mengajari penulis dan selalu meluangkan waktu untuk mengoreksi serta memberikan masukan saran dan kritik dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Tri Yahya Budiarmo, S. Si, MP selaku Dosen Penguji yang telah memberikan masukan bagi penulis untuk membuat naskah skripsi penulis menjadi lebih baik.
5. Seluruh Dosen dan Staf Fakultas Bioteknologi untuk bantuan yang telah diberikan selama ini.
6. Seluruh Laboran Fakultas Bioteknologi : Mbak eressia Sri Retno dan Mas Day dan Tante Dewi Andini yang selalu dengan sabar melayani penulis dalam peminjaman alat-alat yang dibutuhkan dan memberikan pembinaan selama penelitian di laboratorium.
7. Kedua orang tua tersayang (Mama dan papa) yang selalu memberikan dukungan doa, kasih sayang, moral dan materi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan dapat membanggakan mereka.
8. Sahabat-sahabat terkasih Daniel Ridwan Arif Saputra, Eunike Rahmawati Dawan, Gracia Imelda Else Ubas Bataona yang selalu menemani penulis sampai larut malam untuk menyelesaikan penelitian di Laboratorium, dan selalu memberikan semangat serta motivasi untuk menyelesaikan karya penelitian ini.
9. Teman-teman seperjuangan selama penelitian di laboratorium : Iлона, Mertha, Gabby, Maria, Sari, Dircia, dan Stef yang selalu menghiasi lab dengan canda tawa dan selalu memotivasi satu sama lainnya sehingga membuat penulis tidak jenuh dan termotivasi.
10. Teman-teman seperjuangan biotek '11, terima kasih atas kebersamaan, kenangan dan persahabatan yang tidak terlupakan selama penulis menuntut ilmu di UKDW. Semoga

kita tidak terpisahkan oleh jarak dan waktu dan terus berjuang untuk hidup yang lebih baik.

11. *Someone special* yang selalu memberikan *support* untuk penulis supaya cepat menyelesaikan penulisan ini dan selalu memberikan doa yang menguatkan penulis serta memenami penulis untuk mengerjakan penulisan ini.
12. Serta pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, terima kasih banyak semoga Tuhan YME memberikan balasan atas dukungan dan kebaikan kalian.

Harapan penulis selanjutnya semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pihak yang membutuhkan referensi penelitian.

Yogyakarta, 15 Oktober 2015

Penulis

Agnes

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PENYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
ABSTRAK.....	1
ABSTRACT.....	2
PENDAHULUAN	3
TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Taksonomi dan Karakteristik <i>Salmonella</i>	5
B. Mekanisme <i>Salmonella</i> yang resisten terhadap antibiotik.....	8
C. Mekanisme resistensi <i>Salmonella</i> sp terhadap antibiotik kuinolon	10
D. Analisis <i>Salmonella</i> sp secara molekuler.....	11
METODE PENELITIAN.....	12
A. Waktu dan tempat	12
B. Bahan	12
1. Isolat <i>Salmonella</i>	12
2. Medium.....	12
C. Alat.....	12
D. Tahapan Penelitian.....	13
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
A. Skrining isolat <i>Salmonella</i> sp yang resisten terhadap antibiotik.....	16
B. Deteksi Molekuler <i>Salmonella</i> sp	17
C. Analisis Hasil Sekuesing dan filogenetik.....	18
KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN.....	29

DAFTAR TABEL

Tabel 1. <i>Salmonella</i> species, subspecies, serotypes, dan habitat <i>Salmonella</i> , kauffmann-White scheme ^a	6
Table 2. Mekanisme aksi agen antibakteri (Byarugaba, 2009).	8
Tabel 3. Hasil uji resistensi antibiotik.....	16

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur <i>Nalidixic acid</i> dan Ciprofloxacin	9
Gambar 2. Diagram alir tahap penelitian	13
Gambar 3. Hasil uji resistensi antibiotik siprofloksasin dan asam nalidiksat pada isolat 5.17.....	17
Gambar 4. Hasil amplifikasi PCR.....	17
Gambar 5. <i>Alignment</i> asam nukleotida dari hasil sekuensing berdasarkan <i>gyrA</i>	19
Gambar 6. Pohon Filogeni isolat 5.17 yang diamplifikasi dengan menggunakan gen penanda <i>gyrA</i>	19
Gambar 7. <i>Alignment</i> asam nukleotida dari hasil sekuensing berdasarkan <i>gyrB</i>	20
Gambar 8. Pohon Filogeni isolat 5.17 yang diamplifikasi dengan menggunakan gen penanda <i>gyrB</i>	20
Gambar 9. <i>Alignment</i> asam nukleotida dari hasil sekuensing berdasarkan <i>parC</i>	21
Gambar 10. Pohon Filogeni isolat 5.17 yang diamplifikasi dengan menggunakan gen penanda <i>parC</i>	21
Gambar 11. <i>Alignment</i> urutan asam nukleotida dari hasil sekuensing berdasarkan <i>parE</i>	22
Gambar 12. Pohon Filogeni isolat 5.17 yang diamplifikasi dengan menggunakan gen penanda <i>parE</i>	22

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji resistensi menggunakan metode Kirby-Bauer Disc <i>Diffusion Test</i> sesuai standar CLSI <i>guidelines</i>	29
Lampiran 2. Metode isolasi <i>Salmonella Typhi</i>	30
Lampiran 3. Amplifikasi dengan PCR.....	32
Lampiran 4. Hasil blast dari isolat 5.17	33
Lampiran 5. Komposisi medium isolasi dan uji resistensi antibiotik	35

©UKYDWN

©UKDW

Identifikasi *Salmonella* sp yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda Gen QRDR

AGNES

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Salmonella Typhi yang merupakan penyebab demam tifoid diketahui menjadi resisten terhadap antibiotik fluoroquinolon yang menjadi terapi utama penyakit tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan secara molekuler isolat tersangka *Salmonella* sp yang bersifat resisten terhadap antibiotik asam nalidiksat menggunakan penanda gen QRDR (*gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*). Isolat diperoleh dari bahan pangan es teh, susu sapi dan susu kambing. Skrining terhadap isolat yang resisten terhadap antibiotik asam nalidiksat dan siprofloksasin dilakukan dengan metode Kirby-Bauer *disc diffusion*. Deteksi gen resisten dilakukan dengan metode PCR dengan menggunakan penanda gen *gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*. Produk PCR yang dihasilkan dilanjutkan ke tahap sekuensing untuk menentukan identitas isolat secara filogenetik. Hasil skrining terhadap 5 isolat diperoleh satu isolat dengan kode 5.17 yang bersifat resisten terhadap asam nalidiksat dengan zona resisten 14 mm dan siprofloksasin dengan zona resisten 15 mm. Berdasarkan analisis filogenetik disimpulkan bahwa penanda gen *parC* memiliki struktur filogenetik yang lebih baik dalam mengelompokkan isolat resisten dibandingkan dengan penanda gen *gyrA*, *gyrB* dan *parE* yang dibuktikan dengan tingkat similaritas yang tinggi pada urutan asam nukleotida.

Kata kunci : *Salmonella*, QRDR, *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*

Identification of *Salmonella* sp Resistance Against Nalidixic Acid by using QRDR gene markers

AGNES

Department of Biology, Faculty of Biotechnology, Duta Wacana Christian University

ABSTRACT

The use of antibiotics to cure the typhoid fever has resulted in the occurrence of resistant *Salmonella* Typhi strains against fluoroquinolone as the main treatment for the disease. The goal of this research is to identify and molecularly classify the suspected *Salmonella* sp isolate which is resistant against nalidixic acid using QRDR gene markers (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE*). Isolates were obtained from iced tea, cow's milk, and goat's milk. Nalidixic acid and ciprofloxacin resistant isolates are screened using Kirby-Bauer disc diffusion method. Resistant gene are detected using PCR with *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* gene markers. PCR products were sequenced to determine the phylogenetic relationship of the isolate compared to the database. One resistant isolate obtained after being screened from five isolates and coded as isolate 5.17 with halo zone of 14 mm for nalidixic acid and 15 mm for ciprofloxacin. According to its phylogenetic profile, it is clear that *parC* is the best marker for differentiating resistant isolates compared to *gyrA*, *gyrB*, and *parE* as shown by the higher similarity in nucleic acid sequences.

Keyword : *Salmonella* Typhi, QRDR, *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*

Identifikasi *Salmonella* sp yang Bersifat Resisten Terhadap Asam Nalidiksat Menggunakan Penanda Gen QRDR

AGNES

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Salmonella Typhi yang merupakan penyebab demam tifoid diketahui menjadi resisten terhadap antibiotik fluoroquinolon yang menjadi terapi utama penyakit tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan secara molekuler isolat tersangka *Salmonella* sp yang bersifat resisten terhadap antibiotik asam nalidiksat menggunakan penanda gen QRDR (*gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*). Isolat diperoleh dari bahan pangan es teh, susu sapi dan susu kambing. Skrining terhadap isolat yang resisten terhadap antibiotik asam nalidiksat dan siprofloksasin dilakukan dengan metode Kirby-Bauer *disc diffusion*. Deteksi gen resisten dilakukan dengan metode PCR dengan menggunakan penanda gen *gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE*. Produk PCR yang dihasilkan dilanjutkan ke tahap sekuensing untuk menentukan identitas isolat secara filogenetik. Hasil skrining terhadap 5 isolat diperoleh satu isolat dengan kode 5.17 yang bersifat resisten terhadap asam nalidiksat dengan zona resisten 14 mm dan siprofloksasin dengan zona resisten 15 mm. Berdasarkan analisis filogenetik disimpulkan bahwa penanda gen *parC* memiliki struktur filogenetik yang lebih baik dalam mengelompokkan isolat resisten dibandingkan dengan penanda gen *gyrA*, *gyrB* dan *parE* yang dibuktikan dengan tingkat similaritas yang tinggi pada urutan asam nukleotida.

Kata kunci : *Salmonella*, QRDR, *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*

Identification of *Salmonella* sp Resistance Against Nalidixic Acid by using QRDR gene markers

AGNES

Department of Biology, Faculty of Biotechnology, Duta Wacana Christian University

ABSTRACT

The use of antibiotics to cure the typhoid fever has resulted in the occurrence of resistant *Salmonella* Typhi strains against fluoroquinolone as the main treatment for the disease. The goal of this research is to identify and molecularly classify the suspected *Salmonella* sp isolate which is resistant against nalidixic acid using QRDR gene markers (*gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE*). Isolates were obtained from iced tea, cow's milk, and goat's milk. Nalidixic acid and ciprofloxacin resistant isolates are screened using Kirby-Bauer disc diffusion method. Resistant gene are detected using PCR with *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* gene markers. PCR products were sequenced to determine the phylogenetic relationship of the isolate compared to the database. One resistant isolate obtained after being screened from five isolates and coded as isolate 5.17 with halo zone of 14 mm for nalidixic acid and 15 mm for ciprofloxacin. According to its phylogenetic profile, it is clear that *parC* is the best marker for differentiating resistant isolates compared to *gyrA*, *gyrB*, and *parE* as shown by the higher similarity in nucleic acid sequences.

Keyword : *Salmonella* Typhi, QRDR, *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*

BAB I PENDAHULUAN

Salmonella merupakan bakteri enterik patogen dan salah satu subspeciesnya, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhi, dapat menyebabkan demam tifoid pada manusia. Bakteri ini menyebar melalui air minum ataupun bahan pangan yang terkontaminasi oleh feses yang mengandung *Salmonella*. Jika dikonsumsi, konsumen dapat menderita demam tifoid atau paratifoid (Freeman, 1979).

Sejak tahun 1940, terjadi peningkatan kejadian infeksi *Salmonella* akibat serovar non tifoid di negara-negara industri. Pada 1998 terjadi peningkatan secara global dan di Eropa saja, 200.000 kasus dilaporkan pada tahun tersebut. Peningkatan keracunan makanan yang disebabkan oleh *Salmonella enterica* diduga terkait dengan infeksi dari unggas. Data yang bersumber dari WHO (1996) menyebutkan penyakit tifoid menyebabkan 16 juta kasus per tahun dengan tingkat serangan tahunan berkisar 358 sampai 1.100 per 100.000 penduduk, 600.000 orang di antaranya meninggal. Pada laporan WHO 2003 demam tifoid ini menjadi masalah yang cukup besar di Asia. Di Asia demam tifoid tercatat 22 juta kasus dan 216.500 kematian setiap tahunnya (WHO, 2003).

Terapi antibiotik pada *Salmonella* yang menyebabkan gastroenteritis biasanya dianjurkan dalam kasus risiko salmonellosis invasif. Flurokuinolon telah berhasil digunakan untuk mengobati salmonellosis, pada umumnya antibiotik ini disarankan pada pengobatan pertama kali, dan juga telah terbukti berguna untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh *multiply antibiotic resistant* (MAR) strains (Pidcock dan Laura, 2002).

Penggunaan antibiotik flurokuinolones menjadi terapi utama untuk demam tifoid terbukti karena efektif dan aman. Pada *Salmonella*, DNA girase adalah target utama aksi kuinolon, mutasi pada *quinolone resistance-determining region* (QRDR) dari penanda gen *gyrA* dapat menimbulkan resistensi pada *nonfluorinated quinolone* seperti asam nalidiksat dan mengurangi khasiat untuk flurokuinolon seperti halnya siprofloksasin yang memiliki MIC of 0.25 g/ml (Eaves *et al.*, 2004). Resistensi terhadap kuinolon ini terutama disebabkan oleh: (i) mutasi pada resistensi kuinolon yang menentukan daerah (QRDRs) dari gen target (*gyrA* dan *gyrB*, yang mengkodekan DNA girase, dan *parC* atau *parE*, yang mengkode topoisomerase IV), dan (ii) rendahnya akumulasi antimikroba dalam sel, sebagian besar dikaitkan dengan peningkatan AcrAB TolC *efflux pump* (Lunn *et al.*, 2010).

Resistensi terhadap flurokuinolon di *Salmonella*, dikaitkan dengan mutasi pada gen *gyrA*. Mutasi jarang dilaporkan pada gen *gyrB*, dan tidak dilaporkan dalam gen *parC*. *Salmonella* di Hong Kong telah rentan terhadap flurokuinolon. Namun, terlihat peningkatan MIC (0,03-2 g / ml) dari flurokuinolon untuk *Salmonella* yang diisolasi pada periode 1993-1998. Isolat klinis dari *Salmonella* dengan resistensi fluorokuinolon signifikan (MIC, ≥ 8 g / ml) sangat jarang di seluruh

dunia. Hal ini penting untuk memahami mekanisme yang mendasari penyebab resistensi tingkat tinggi di *Salmonella* (Ling *et al.*, 2003).

Resistensi kuinolon di *Salmonella* spp diakibatkan mutasi pada DNA girase (*gyrA* dan *gyrB*) atau topoisomerase (*parC* dan *parE*) atau penurunan permeabilitas pada agen atau berlebih dari *efflux pump*. Baru-baru ini, gen *qnr* yang menghambat aksi kuinolon dengan target subunit *gyrA* dan *gyrB*, telah dilaporkan. Perubahan nukleotida dalam QRDR dari *gyrA* di *Salmonella* yang lebih umum daripada mutasi pada *gyrB* atau gen topoisomerase. Pada *Salmonella* Typhi, substitusi nukleotida gen *gyrA* yang terjadi pada Ser-83, Asp-87, Glu-133, Asp-76, Phe-72, Leu-55, dan Gln-106 telah dilaporkan sebelumnya, dengan mutasi paling umum pada kodon 83 (Tatavarthy *et al.*, 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, dalam perkembangannya gen QRDR digunakan sebagai penanda untuk identifikasi molekuler strain yang resisten terhadap antibiotik, terutama golongan kuinolon. Gen *gyrA*, *gyrB*, *parC* dan *parE* terbukti dapat meningkatkan resolusi taksonomi dari anggota *Salmonella* dibandingkan dengan gen 16S RNA. Analisis hubungan filogenetik bakteri menggunakan penanda QRDR dari *gyrA* dan *gyrB* (subunit dari girase DNA) dan *parC* dan *parE* (subunit dari topoisomerase IV) menghasilkan klasifikasi yang lebih baik daripada daerah 16S rRNA (Amarantini dan Satwika, 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasi secara molekuler isolat tersangka *Salmonella* dari berbagai bahan pangan yang bersifat resisten terhadap antibiotik asam nalidiksat menggunakan penanda gen QRDR. Identifikasi molekuler berdasarkan gen QRDR bermanfaat untuk menentukan hubungan filogenetik antara strain yang resisten dan sensitif. Klasifikasi dengan menggunakan pendekatan secara filogenetik dengan meningkatkan penyebaran strain *Salmonella* yang mulai berkurang kepekaannya terhadap kuinolon. *Salmonella* Typhi yang bersifat resisten terhadap asam nalidiksat diketahui menunjukkan penurunan kerentanan terhadap siprofloksasin (0,125-1 µg/L-1) sehingga menjadi masalah utama bagi benua India (Capoor *et al.*, 2007).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

Isolat tipikal *Salmonella* sp (kode 5.17) asal minuman es teh memiliki sifat resistensi terhadap asam nalidixat dan siprofloksasin. Berdasarkan uji molekuler dibuktikan bahwa isolat tersebut memiliki gen QRDR yang menjadi target utama aksi antibiotik kuinolon. Secara filogenetik dengan menggunakan penanda *gyrA*, *gyrB*, *parC*, dan *parE* isolat tersebut memiliki kecenderungan berkerabat dengan isolat *Salmonella* yang bersifat resisten. Penanda gen *parC* terbukti dapat memisahkan isolat *Salmonella* yang resisten dari kelompok yang sensitif dan mengelompokkan identitas isolat 5.17 sekerabat dengan *Salmonella* Paratyphi (AB072700). Gen *parC* dapat digunakan lebih lanjut sebagai penanda molekuler yang baik untuk deteksi kelompok bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Data molekuler ini bermanfaat untuk diteliti lebih lanjut dalam hal mengetahui letak mutasi pada isolat *Salmonella* yang resisten terhadap antibiotik asam nalidixat dan siprofloksasin perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan mutasi pada isolat-isolat yang resisten dengan urutan asam amino dengan menggunakan *genedoc*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amarantini C & Satwika D. 2015. Amino acids variation at *parC* gene of clinical *Salmonella* Typhi isolates. Proceeding of International Conference On Research, Implementation And Education B29-B33.
- Amarantini C, Budiarmo TY, Djojoatmodjo S. 2011. Analisis Keanekaragaman Mikrobia dengan Menggunakan Pendekatan Metode Sistematis Numerik: Studi pada Bakteri Anggota Famili Enterobacteriaceae.
- Brenner WF, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. 2000. Guest Commentary-*Salmonella* Nomenclature. J. Clin. Microbiol. 387
- Byarugaba DK. 2009. Mechanisms of Antimicrobial Resistance. A. de J. Sosa et al. (eds.), Antimicrobial Resistance in Developing Countries. DOI 10.1007/978-0-387-89370-9_2, Springer Science+Business Media, LLC 2009.
- Capoor MR, Nair D, Aggarwal P, Mathys V, Dehem M and Bifani PJ. 2007. *Salmonella enterica* Serovar Typhi: Molecular Analysis of Strains with Decreased Susceptibility and Resistant to Ciprofloxacin in India from 2001-2003. The Brazilian Journal of Infectious Diseases 11(4):423-425.
- Correia DC. 2015. “Deteksi *Salmonella* sp pada Susu Sapi Segar dengan Multiplex-PCR menggunakan penanda gen *invA* dan *spvC*”. Skripsi, Fakultas Bioteknologi. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta
- Dauga C. 2002. Evolution of the *gyrB* gene and the molecular phylogeny of *Enterobacteriaceae*: a model molecule for molecular systematic studies. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52, 531–547 DOI: 10.1099/ijms.0.01926-0
- Departemen Kesehatan Jawa Timur. 2008. Laporan Kesehatan Tahun 2008. Surabaya.
- Eaves D J, Randall L, Gray DT, Buckley A, Woodward MJ, White AP, dan Piddock LJV. 2004. Prevalence of Mutations within the Quinolone Resistance-Determining Region of *gyrA*, *gyrB*, *parC*, and *parE* and Association with Antibiotic Resistance in Quinolone-Resistant *Salmonella enterica*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 48(10) DOI: 10.1128/AAC.48.10.4012–4015.
- Freeman BA. 1979. Burrows Textbook of Microbiology. 21th Ed W.B. Saunders Company. Chapter 19: 518.

- Fabrega A, Madurga S, Giralt E, Vila J (2009) Mechanism of action of and resistance to quinolones. *Microb Biotechnology* 2(1), 40-61
- Fukushima M, Kakinuma K, and Kawaguchi R. 2002. Phylogenetic Analysis of *Salmonella*, *Shigella*, and *Escherichia coli* Strains on the Basis of the *gyrB* Gene Sequence. *Journal of Clinical Microbiology*. DOI: 10.1128/JCM.40.8.2779–2785.2002
- Jacquelyn GB. 2012. *Microbiology, Principles and Explorations*. 8th Ed John Wiley and Sons. www.Kompasnia.com. Di akses pada 9 Oktober 2014.
- Ling JM, Chan EW, AW Lam and AF Cheng. 2003. Mutations in Topoisomerase Genes of Fluoroquinolon-Resistant *Salmonellae* in Hong Kong. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. DOI: 10.1128/AAC.47.11.3567-3573.2003
- Lunn AD, Fàbrega A, Javier SC, Jordi V. Prevalence of mechanisms decreasing quinolone-susceptibility among *Salmonella* spp. clinical isolates. 2010. *International Microbiology*. DOI:10.2436/20.1501.01.107
- Mirza SH. 2005. Multi-drug Resistant Typhoid-A Global Review. Consultant Microbiologist & Head of Micobiology Department, AFIP, Rawalpindi.
- Nair S, Unnikrishnan M, Keith T, Subash CP, Carol C, John W, and Belgode NH. 2006. Molecular Analysis of Fluoroquinoloneresistant *Salmonella* Paratyphi A Isolate, India. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 12, No. 3.
- Parry CM, Tran THMB, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. 2002. Medical progress: typhoid fever. *New England Journal of Medicine*. 347 (22):1770-1782.
- Piddock LJV. 2002. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiology Reviews* 26, 3-16
- Saputra K, Daniel C, Johan L, Ernawati A. Giri R. Deteksi Mutasi pada Quinolone Resistant Determining Regions (QRDRs) Gen *GyrA* pada *Salmonella typhi* isolat Klinik dan Galur Khas Indonesia. *JKM* 9(1).
- Saputra DRA. 2015. “Deteksi Molekuler *Salmonella* sp pada Minuman Es Teh yang Dijual di Kota Yogyakarta”. Skripsi, Fakultas Bioteknologi. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.
- Shelobolina ES, Sara AS, Kathleen R.ON, Kelly P.N and Derek R.L. 2004. Isolation, Characterization, and U(VI)-Reducing Potential of a Facultatively Anaerobic, Acid-Resistant Bacterium from Low-pH, Nitrate- U(VI)-Contaminated Subsurface Sediment and Description of *Salmonella* subterranea sp. nov. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(5):2959. DOI:10.1128/AEM.70.5.2959-2965.
- Tajbakhsh M, Babak NN, Kamyar M, Pedram K, Mohsen C, Mohammad RZ, John DK. 2010. Phylogenetic relationship of *Salmonella enterica* strains in Tehran, Iran, using 16S rRNA and *gyrB* gene sequences. *J Infect Dev Ctries* 5(6):465-472.

- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*.
- Tenover FC. 2006. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *Am. J. Med.* 119:3-10.
- Thanh D P , Nga Tran Vu Thieu, Chau Tran Thuy, Martin Lodén, Kiki Tuin, James I. Campbell, Nguyen Van Minh Hoang, Phat Voong Vinh, Jeremy J. Farrar, Kathryn E. Holt, Gordon D, Stephen B. 2013. Identification of *Salmonella enterica* Serovar Typhi Genotypes by Use of Rapid Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. *Journal of Clinical Microbiology* p. 2950–2958. doi:10.1128/JCM.01010-13.
- Tourova T.P., Korshunova A.V., Mikhailova E. M., Sokolova D. Sh., Poltarau A. B., and Nazina T. N.. 2010. Application of *gyrB* and *parE* Sequence Similarity Analyses for Differentiation of Species within the Genus *Geobacillus* and *Salmonella* ISSN 0026_2617, *Microbiology*. Vol. 79, No. 3, pp. 356–369.
- Ubas GIE. 2015. “Deteksi Molekuler Bakteri *Salmonella* sp pada Susu Kambing Peranakan Etawa Di Kabupaten Sleman, Yogyakarta”. Skripsi, Fakultas Bioteknologi. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.