

PREVALENSI KOLONISASI *Streptococcus pneumoniae* DAN PENGARUHNYA TERHADAP KERAGAMAN MIKROBIOTA PADA NASOFARING ANAK-ANAK

GHINA ATHYAH WAHID



**PROGRAM STUDI BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Prevalensi Kolonisasi *Streptococcus pneumoniae* dan Pengaruhnya Terhadap Keragaman Mikrobiota pada Nasofaring Anak-Anak” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juli 2026

Ghina Athyah Wahid
G8501231008



RINGKASAN

GHINA ATHYAH WAHID. Prevalensi Kolonisasi *Streptococcus pneumoniae* dan Pengaruhnya Terhadap Keragaman Mikrobiota pada Nasofaring Anak-Anak. Dibimbing oleh I MADE ARTIKA, RAHADIAN PRATAMA, dan DODI SAFARI.

Penyakit pneumokokus invasif seperti pneumonia, bakteremia, dan sepsis disebabkan oleh *Streptococcus pneumoniae*. *S. pneumoniae* merupakan salah satu bakteri patogen yang berkolonisasi di saluran nasofaring. Kehadiran bakteri ini dapat mempengaruhi keseimbangan mikrobiota dan menekan komunitas bakteri komensal lainnya di nasofaring. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keragaman mikrobiota nasofaring pada anak-anak di Indonesia. Pada penelitian ini, sebanyak 290 spesimen swab nasofaring dikumpulkan dari kelompok anak-anak usia kurang dari lima tahun dari Kecamatan Alas, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Prevalensi *S. pneumoniae* ditentukan dengan kultur bakteri dan keanekaragaman mikrobiota ditentukan dengan sekuensing fragmen gen 16S rRNA dari spesimen swab nasofaring menggunakan platform *Oxford Nanopore Technologies*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* sebesar 50,7% (147/290). Prevalensi pembawa (*carriage*) tertinggi ditemukan pada kelompok usia 13-24 bulan (62,7%), kelompok etnis Suku Bajo (56,7%), sementara Suku Sasak (46,6%), serta rumah tangga dengan jumlah anggota rumah tangga > 7 (53,8%). Berdasarkan analisis keanekaragaman alfa, nilai *richness* spesimen berkisar antara 26-471, indeks keanekaragaman Shannon antara 0,32-3,4 dan indeks Simpson (*D*) antara 0,09-0,93. Nilai median *richness* tertinggi ditemukan pada kelompok spesimen dengan kelimpahan bakteri rendah ($n = 17$), yaitu sebesar 147,00. Sebaliknya, kelompok spesimen dengan kelimpahan bakteri tinggi ($n = 18$) menunjukkan nilai median *richness* terendah, yaitu sebesar 86,00. Indeks Shannon tertinggi ditemukan pada kelompok kelimpahan sedang sebesar 3,00 ($n=18$), sementara nilai median terendah sebesar 1,23 pada kelompok kelimpahan tinggi. Nilai median indeks Simpson (*D*) tertinggi berada pada kelompok kelimpahan sedang (0,90) dan nilai terendah berada pada kelompok kelimpahan tinggi (0,54).

Analisis profil mikrobiota sekuensing gen 16S rRNA menunjukkan bahwa kelompok dengan kelimpahan *S. pneumoniae* tinggi (>25%) didominasi oleh bakteri *S. pneumoniae*. Hal ini mengindikasikan terjadinya penekanan terhadap bakteri komensal di nasofaring. Sementara itu, kelompok dengan kelimpahan sedang (5-25%) menunjukkan struktur komunitas bakteri yang lebih beragam dengan kemerataan yang tinggi. Sebaliknya, kelompok dengan kelimpahan rendah (<5%) memiliki profil mikrobiota yang beragam. Penelitian ini menyimpulkan bahwa tingginya kolonisasi *S. pneumoniae* berasosiasi dengan penurunan keanekaragaman serta perubahan struktur komunitas mikrobiota nasofaring pada anak-anak.

Kata kunci: Mikrobiota nasofaring, *Streptococcus pneumoniae*, 16S rRNA sekuensing

SUMMARY

GHINA ATHYAH WAHID. Prevalence of *Streptococcus pneumoniae* Colonization and Its Effect on Microbiota Diversity in Children's Nasopharynx. Supervised by I MADE ARTIKA, RAHADIAN PRATAMA, and DODI SAFARI.

Invasive pneumococcal diseases such as pneumonia, bacteremia, and sepsis are caused by *Streptococcus pneumoniae*. *S. pneumoniae* is one of the pathogenic bacteria that colonizes in the nasopharyngeal tract. The presence of these bacteria can affect the balance of the microbiota and suppress other commensal bacterial communities in the nasopharynx. This study aims to analyze the diversity of nasopharyngeal microbiota in children in Indonesia. In this study, as many as 290 nasopharyngeal swab specimens were collected from a group of children under five years old from Alas District, Sumbawa, West Nusa Tenggara. The prevalence of *S. pneumoniae* was determined by bacterial culture, and microbiota diversity was determined by sequencing of 16S rRNA gene fragments from nasopharyngeal swab specimens using the Oxford Nanopore Technologies platform.

The results showed that the prevalence of *S. pneumoniae* colonization was 50,7% (147/290). The highest prevalence of *carriers* (carriages) was found in the age group of 13-24 months (62,7%), the Bajo ethnic group (56,7%), while the Sasak tribe (46,6%), and households with a number of household members > 7 (53,8%). Based on the alpha diversity analysis, the richness value of the specimens ranged from 26-471, the Shannon diversity index between 0,32-3,4 and the Simpson index (*D*) between 0,09-0,93. The highest median richness value was found in the group of specimens with low bacterial abundance (*n* = 17), which was 147,00. In contrast, the group of specimens with high bacterial abundance (*n* = 18) showed the lowest median *richness* value, which was 86,00. The highest Shannon index was found in the moderate abundance group of 3,00 (*n*=18), while the lowest median value was 1,23 in the high abundance group. The median value of the Simpson index (*D*) was highest in the medium abundance group (0,90) and the lowest value was in the high abundance group (0,54).

Microbiota profile analysis of 16S rRNA gene sequencing showed that the group with high abundance of *S. pneumoniae* (>25%) was dominated by *S. pneumoniae* bacteria. This indicates an emphasis on commensal bacteria in the nasopharynx. Meanwhile, the group with moderate abundance (5-25%) showed a more diverse bacterial community structure with high evenness. In contrast, the group with low abundance (<5%) had a diverse microbiota profile. This study concluded that high colonization of *S. pneumoniae* is associated with a decrease in diversity and changes in the structure of the nasopharyngeal microbiota community in children.

Keywords: Nasopharyngeal microbiota, *Streptococcus pneumoniae*, 16S rRNA sequencing



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

**PREVALENSI KOLONISASI *Streptococcus pneumoniae* DAN
PENGARUHNYA TERHADAP KERAGAMAN MIKROBIOTA
PADA NASOFARING ANAK-ANAK**

GHINA ATHYAH WAHID

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Biokimia

**BIOKIMIA
SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis : Prevalensi Kolonisasi *Streptococcus pneumoniae* dan Pengaruhnya Terhadap Keragaman Mikrobiota pada Nasofaring Anak-Anak
Nama : Ghina Athyah Wahid
NIM : G8501231008

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. I Made Artika, M.App.Sc.
196301171989031001

Pembimbing 2:
Dr. rer. nat. Rahadian Pratama, S.Si, M.Si.
202208198902051001

Pembimbing 3:
Dodi Safari, S.Si, Ph.D.
1997703052014061001

Diketahui oleh

DA Ketua Program Studi:
Dr. Syamsul Falah., M.Si S.Hut
NIP 19700503 200501 1 001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 197807232007011001



Tanggal Ujian:
29 Juni 2026

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah subhanahu wa ta'ala atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan tesis yang berjudul "Prevalensi Kolonisasi *Streptococcus pneumoniae* dan Pengaruhnya terhadap Keragaman Mikrobiota Nasofaring pada Anak-Anak Usia di Bawah Lima Tahun" dengan baik. Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan Agustus 2024 hingga Agustus 2025 di Gedung Genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. I Made Artika, M.App.Sc., Dr. rer. nat. Rahadian Pratama, S.Si., M.Si., dan Bapak Dodi Safari, S.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk memberikan arahan serta bimbingan selama penyusunan tesis ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si. selaku Ketua Program Studi Biokimia, Sekolah Pascasarjana, IPB University, serta seluruh dosen dan staf Program Studi Biokimia atas ilmu dan bantuan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan.

Ucapan terimakasih tak lupa penulis sampaikan kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas dukungan serta kepercayaan kepada penulis melalui beasiswa *Degree by Research* (DBR). Terima kasih pula kepada seluruh peneliti dan RA PRBM Eijkman atas kerja sama dan bantuan teknis selama pelaksanaan penelitian, serta rekan-rekan mahasiswa Pascasarjana Biokimia Angkatan 60 atas kebersamaan dan semangat yang diberikan selama proses perkuliahan hingga penyusunan tesis ini. Kepada kedua orang tua, keluarga, dan suami tercinta, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga atas doa, dukungan moral maupun material, serta motivasi yang senantiasa diberikan kepada penulis. Semoga karya ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bagi semua pihak yang membutuhkan.

Bogor, Juli 2026

Ghina Athyah Wahid



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Hipotesis	2
1.6 Kebaruan (<i>novelty</i>)	2
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mikrobiota Nasofaring	4
2.2 Interaksi Mikrobiota Nasofaring	5
2.3 Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
2.4 Mekanisme Kolonisasi <i>Streptococcus pneumoniae</i> di Nasofaring	8
2.5 Epidemiologi Pneumokokus	10
2.6 Metode Identifikasi Mikrobiota	10
III METODE	13
3.1 Desain Penelitian	13
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.3 Persetujuan Etik	14
3.4 Alat dan Bahan	14
3.5 Prosedur Kerja	14
IV HASIL	18
4.1 Prevalensi kolonisasi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
4.2 Kuantifikasi DNA dan Kontrol Kualitas Sekuensing	20
4.3 Profil Mikrobiota Nasofaring	23
4.4 Indeks Keanekaragaman dan Indeks Kemerataan Bakteri NP Swab Berdasarkan Gen 16S rRNA	25
V PEMBAHASAN	28
5.1 Prevalensi kolonisasi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	28
5.2 Kuantifikasi DNA dan Kontrol Kualitas Sekuensing	29
5.3 Profil mikrobiota nasofaring	29
5.4 Indeks Keanekaragaman dan Indeks Kemerataan Bakteri NP Swab Berdasarkan Gen 16S rRNA	32
VI SIMPULAN DAN SARAN	34
6.1 Simpulan	34
6.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	44
RIWAYAT HIDUP	56

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

1	Komposisi Master mix PCR untuk amplifikasi gen 16S rRNA	16
2	Kondisi PCR untuk amplifikasi gen 16S rRNA (V1–V9)	16
3	Data Demografi dan Prevalensi <i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
4	Konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari spesimen swab nasofaring	21

DAFTAR GAMBAR

1	Kompetisi mikrobiota nasofaring	6
2	Isolat <i>Streptococcus pneumoniae</i> pada media agar darah	8
3	Mekanisme kolonisasi dan invasi <i>S. pneumoniae</i> pada saluran napas atas	9
4	Primer PCR dan variabel regions dari gen 16S rRNA	11
5	Tahapan sekuensing 16S rRNA	12
6	Diagram alir penelitian	13
7	Hasil uji sensitivitas optochin pada media BAP	20
8	Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA	22
9	Hasil analisis sekuensing menggunakan NanoPlot	23
10	Grafik spesimen visualisasi menggunakan RStudio.	23
11	Boxplot Indeks keragaman <i>richness</i> , Shannon Diversity dan Simpson dari mikrobiota nasofaring anak usia di bawah lima tahun berdasarkan gen 16S rRNA	26
12	Distribusi nilai <i>richness</i> komunitas mikrobiota nasofaring anak usia dibawah lima tahun berdasarkan faktor karakteristik individu.	27

DAFTAR LAMPIRAN

1	Alir Diagram Penelitian	46
2	Etik Pengambilan Spesimen Swab	45
3	Kuesioner Epidemiologi	47
4	Kultur Swab Nasofaring pada Media BAP	55
5	Hasil Elektroforesis	56

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Streptococcus pneumoniae (*S. pneumoniae* atau pneumokokus) dapat menyebabkan penyakit pneumokokus invasif seperti pneumonia, bakteremia, dan sepsis (Izurieta *et al.* 2018; Mackenzie *et al.* 2021). Infeksi *S. pneumoniae* juga dapat menyebabkan infeksi noninvasif seperti otitis media dan sinusitis (Passaris *et al.* 2024). World Health Organization (WHO) (2017) menetapkan *S. pneumoniae* sebagai salah satu patogen prioritas global, mengingat tingginya angka kejadian infeksi pada anak-anak serta meningkatnya resistensi bakteri ini terhadap penisilin dan antibiotik lainnya. Menurut Daningrat *et al.* (2022), prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* sebesar 36% di Asia Tenggara selama 2001-2019 berdasarkan hasil studi meta analisis kolonisasi *S. pneumoniae* bervariasi antarwilayah. Menurut Safari *et al.* (2024), kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak sebesar 30,9% di Gunungkidul dan 87,6% di Sumba Barat Daya. Sementara itu, di Lombok, Nusa Tenggara Barat, prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* adalah 46% dengan serotipe yang paling umum ditemukan adalah 6A/B, 19F, 23F, 15B/C, 19A, dan 14 (Hadinegoro *et al.* 2016).

S. pneumoniae merupakan bakteri diplokokus Gram-positif yang memiliki lebih dari 100 serotipe yang diklasifikasikan berdasarkan variasi struktur kapsul polisakarida (Sari *et al.* 2024). Kurang dari tiga puluh serotipe diketahui menyebabkan kasus penyakit pneumokokus invasif. Ini terutama terjadi pada anak-anak, orang tua, dan populasi yang berisiko tinggi lainnya. Beberapa serotipe yang terkait termasuk 3, 6A, 11A, 15A, 19F, dan 31 (Berical *et al.* 2016; Darkwah *et al.* 2025). *S. pneumoniae* dapat berkolonisasi di nasofaring secara bersamaan dengan komunitas bakteri lain yang merupakan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus dysgalactiae* dan *Haemophilus influenzae* tipe B (Hib), maupun bakteri komensal seperti *Corynebacterium* sp., *Prevotella* sp., dan *Dolosigranulum* sp. (Henriques-Normark dan Normark 2010; de Steenhuijsen Pijters *et al.* 2015).

Interaksi antara bakteri di nasofaring membantu menjaga stabilitas ekosistem mikrobiota. Ketidakseimbangan komunitas dapat mengurangi keanekaragaman, memicu disbiosis, meningkatkan risiko kolonisasi patogen (de Steenhuijsen Pijters *et al.* 2016), serta meningkatkan kerentanan terhadap infeksi saluran pernapasan akibat bakteri maupun virus, terutama pada populasi anak-anak (Yu *et al.* 2025). Ketika keseimbangan mikrobiota terganggu, kondisi tersebut dapat menjadi peluang bagi *S. pneumoniae* untuk mendominasi kolonisasi di nasofaring pada kelompok anak-anak. Maka perlu pemahaman lebih lanjut mengenai perubahan pola mikrobiota saat terjadi kolonisasi *S. pneumoniae* dan mengetahui bagaimana interaksi dan kolonisasi bersaing di dalam ekosistem mikroba yang kompleks.

Analisis mikrobiota dengan menggunakan gen 16S ribosom (16S rRNA) merupakan salah satu metode terbaik untuk karakterisasi keanekaragaman komunitas dan pola mikrobiota (Szoboszlay *et al.* 2023). Gen 16S rRNA dapat digunakan untuk mendeteksi bakteri dalam berbagai kondisi fisiologis, termasuk pada kondisi *viable but non-culturable*, mengalami tekanan lingkungan, atau memiliki kebutuhan nutrisi khusus sehingga tidak dapat tumbuh pada media kultur

standar, serta memberikan gambaran komprehensif mengenai keanekaragaman dan struktur komunitas mikrobiota (Boers *et al.* 2019). Menurut Ding *et al.* (2020), identifikasi mikrobiota menggunakan 16S rRNA dengan spesimen swab nasofaring menghasilkan kesesuaian tingkat genus dan spesies masing-masing sebesar 96% dan 87,5% (Hyblova *et al.* 2023).

1.2 Rumusan Masalah

Kolonisasi bakteri di nasofaring bersifat dinamis. Tingkat rasio kolonisasi *S. pneumoniae* yang tinggi di nasofaring diduga berkaitan dengan penurunan keanekaragaman mikrobiota dan terjadinya disbiosis, yang dapat meningkatkan risiko infeksi saluran pernapasan. Rumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan keanekaragaman mikrobiota nasofaring berdasarkan tingkat rasio kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak di bawah usia lima tahun?
2. Bagaimana hubungan faktor-faktor risiko kolonisasi *S. pneumoniae* dengan keragaman mikrobiota di nasofaring?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan:

1. Melakukan analisis keragaman mikrobiota nasofaring berdasarkan rasio kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak di bawah usia lima tahun.
2. Melakukan analisis hubungan faktor-faktor risiko kolonisasi *S. pneumoniae* dengan keragaman mikrobiota di nasofaring.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah mengenai profil dan keanekaragaman mikrobiota nasofaring serta pola kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak usia dibawah lima tahun pada etnis Bajo dan Sasak di Sumbawa, NTB. Serta, diharapkan data ini dapat menjadi dasar epidemiologi molekuler yang selama ini masih terbatas ketersediaannya pada populasi tersebut.

1.5 Hipotesis

1. Tingkat kolonisasi *S. pneumoniae* di nasofaring berpengaruh terhadap perubahan komposisi dan pola komunitas mikrobiota nasofaring
2. Mikrobiota nasofaring pada anak usia di bawah lima tahun memiliki keragaman yang berbeda berdasarkan karakteristik faktor-faktor risiko kolonisasi *S. pneumoniae*

1.6 Kebaruan (*novelty*)

Kebaruan penelitian ini terletak pada analisis komparatif profil dan diversitas mikrobiota nasofaring anak sehat di bawah usia lima tahun dari dua kelompok etnis spesifik, yaitu suku Bajo dan Sasak di Sumbawa, Nusa Tenggara Barat, yang sekaligus menjadi data rujukan awal mikrobiota nasofaring anak di Indonesia. Penelitian ini mengkaji implikasi tingkat kolonisasi *S. pneumoniae* terhadap fenomena disbiosis saluran pernapasan atas pada populasi dengan karakteristik lingkungan dan pola hidup yang khas. Pemahaman mengenai ekologi mikroba

nasofaring pada komunitas tersebut diperoleh melalui pendekatan kombinasi metode kultur bakteri konvensional dan sekuensing gen 16S rRNA *full-length* berbasis *Oxford Nanopore Technologies* (ONT), yang memungkinkan resolusi taksonomi yang lebih tinggi dibandingkan dengan sekuensing generasi sebelumnya.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikrobiota Nasofaring

Nasofaring merupakan bagian dari saluran pernapasan atas yang berfungsi sebagai jalur utama masuknya udara ke dalam tubuh. Struktur mukosa yang mengandung jaringan limfoid berperan dalam pertahanan imun lokal melalui *Common Mucosal Immune System* (CMIS), yang mampu memicu respons imun serta membentuk memori imunologis (Kehagia *et al.* 2023). CMIS telah berkembang secara fungsional sebelum kelahiran anak, namun memerlukan aktivasi pascakelahiran melalui stimulasi awal oleh kolonisasi mikroba (Gleeson dan Cripps 2004).

Mikrobiota merupakan komunitas ekologis pada suatu lokasi tertentu yang mencerminkan komposisi serta kelimpahan bakteri dan mikroorganisme lain, termasuk virus, jamur, dan eukariot uniseluler seperti protozoa (Marchesi *and* Ravel 2015). Mikroorganisme saling berinteraksi dalam menjaga keseimbangan ekosistem (Moënné-Loccoz *et al.* 2014). Sementara itu, komposisi mikrobiota pada manusia terutama di nasofaring lebih stabil pada dua belas bulan pertama setelah lahir dan berkorelasi dengan penambahan berat badan yang cepat (Lluansi *et al.* 2025).

Bakteri pada awal kelahiran anak umumnya didominasi oleh, *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp, *Dolosigranulum* sp, *Moraxella* sp, *Neisseria* sp, dan *Prevotella spp* (Bosch *et al.* 2017; Febriani *et al.* 2020). Sedangkan pada bayi dengan kelahiran sesar, umumnya bakteri yang ditemukan di nasofaring *C. pseudodiphtheriticum*, *C. propinquum*, *D. pigrum*, *M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens*, *S. pneumoniae*, dan *H. influenzae* (Bosch *et al.* 2016). Terbentuknya flora normal yang stabil dipengaruhi oleh penanganan dan pemberian makan pada bayi selama 2 hari pertama pascakelahiran. Selain itu, kondisi ini dipengaruhi juga oleh beberapa kondisi misalnya, operasi sesar, antibiotik perinatal, dan pemberian susu formula, yang mengakibatkan peningkatan risiko penyakit metabolik dan imun (Sunarti 2022).

Bayi yang lahir melalui persalinan pervaginam menunjukkan kelimpahan jangka panjang bakteri *Corynebacterium* sp. dan *Dolosigranulum* sp. yang lebih tinggi, kemudian diikuti oleh *Moraxella* (Bosch *et al.* 2016; Lluansi *et al.* 2025) sementara itu, bayi yang lahir melalui operasi sesar menunjukkan keterlambatan dalam peningkatan kelimpahan mikrobiota secara keseluruhan. Ditandai dengan keterlambatan munculnya bakteri *Corynebacterium* sp. dan *Dolosigranulum* sp. serta dominasi yang berlangsung lebih lama pada genus *Actinomyces*, *Granulicatella*, *Neisseria*, *Prevotella*, dan *Moraxella* (Bosch *et al.* 2016, 2017). *Corynebacterium* dan *Dolosigranulum* berasosiasi dengan pemberian ASI dan secara umum dilaporkan sebagai bakteri komensal yang berkaitan dengan kondisi kesehatan yang baik, sedangkan bayi yang mendapatkan susu formula cenderung menunjukkan peningkatan kolonisasi *Actinomyces*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Prevotella*, *Rothia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, dan *Veillonella* (Bosch *et al.* 2016, 2017). Pada anak usia 18 bulan, genus dominan yang dilaporkan pada mikrobiota nasofaring yaitu *Moraxella*, *Haemophilus*, *Streptococcus*, *Flavobacteria*, *Dolosigranulum*, *Corynebacterium* dan *Neisseria* (Bogaert *et al.* 2011).

Bakteri *S. pneumoniae*, *S. dysgalactiae* (*Pneumococcus* group C), *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, dan *S. aureus* dianggap sebagai *pathobiont* yang umumnya berkolonisasi di nasofaring secara asimtomatik, tetapi dapat bertindak sebagai patogen oportunistik dan menyebabkan infeksi invasif ketika terjadi gangguan pada sistem imun atau lingkungan host (Kelly *et al.* 2025; Mihaela *et al.* 2021). Dominasi dari kolonisasi *S. pneumoniae* bersama patogen lain di nasofaring seperti, *H. influenzae* dan *M. catarrhalis*, dikaitkan dengan risiko penyakit invasif (Yu *et al.* 2025). Sementara itu, beberapa penelitian secara konsisten melaporkan bahwa peningkatan kolonisasi *S. pneumoniae* berkorelasi dengan penurunan kelimpahan *S. aureus* pada anak-anak, dan sebaliknya (Kelly *et al.* 2025).

Menghilangnya keanekaragaman mikrobiota akibat dominasi bakteri tertentu, menyebabkan ketidakseimbangan mikrobiota atau disbiosis (Helal dan Bari 2025). Disbiosis terjadi akibat berkurangnya penghambatan bakteri patogen kompetitif yang menghasilkan zat antimikroba, sehingga terganggu interaksi dan proliferasi bakteri komensal. Bakteri patogen, seperti *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, dan *S. aureus* (Flynn dan Dooley 2021), umumnya mengganggu sistem kekebalan mukosa, mengakibatkan infeksi dan patogenesis. Kehadiran serotipe tertentu dari *S. pneumoniae* telah dilaporkan meningkatkan disbiosis atau menyebabkan hilangnya keanekaragaman sementara (Kang and Kang 2021).

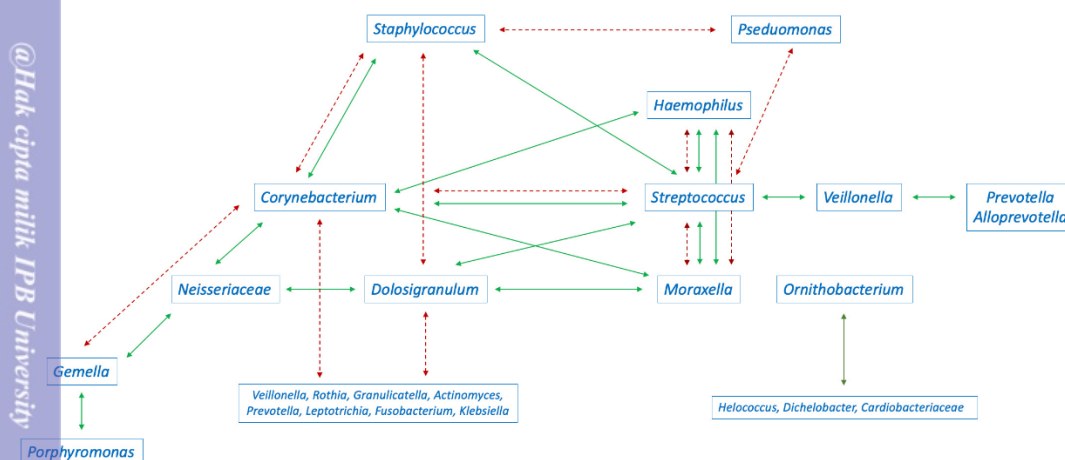
Kondisi disbiosis tersebut erat kaitannya dengan terganggunya simbiosis antibakteri komensal yang secara alami menjaga keseimbangan ekosistem nasofaring. Simbiosis ini berlangsung melalui pertukaran metabolit esensial (*metabolic cross-feeding*), di mana asam amino berperan penting sebagai substrat pertukaran antarspesies. Mikroorganisme yang bersifat autotrof, misalnya, memerlukan asam amino ekstraseluler untuk dapat bertahan hidup (Mee *et al.* 2014). *Corynebacterium* dan *Dolosigranulum* merupakan bakteri komensal yang dapat menjaga stabilitas di nasofaring (Pinheiro *et al.* 2020; Quinn-Bohmann *et al.* 2024) dan dikaitkan dengan menurunnya kemungkinan kolonisasi bakteri *S. pneumoniae* dan *H. influenzae* (Cremers *et al.* 2014; Azevedo *et al.* 2023).

2.2 Interaksi Mikrobiota Nasofaring

Mikrobiota nasofaring (NP) pada anak balita didominasi oleh komunitas bakteri yang relatif homogen, dengan genus yang umum ditemukan antara lain *Moraxella* sp, *Streptococcus* sp, *Haemophilus* sp, *Corynebacterium* sp, dan *Dolosigranulum* sp. (Chonmaitree *et al.* 2017; Salter *et al.* 2017). Interaksi antar-mikroorganisme berlangsung secara mutualistik melalui mekanisme sintrofi (*cross-feeding*), yaitu proses saling memanfaatkan produk metabolit untuk mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup masing-masing mikroorganisme. Akan tetapi, apabila terjadi keterbatasan nutrisi atau tumpang tindih relung ekologi (*ecological niche*), interaksi kompetitif dapat muncul antibakteri komensal maupun antara bakteri komensal dan patogen oportunistik (Morris *et al.* 2013; Kumpitsch *et al.* 2019).

Kompetisi mikrobiota berlangsung melalui mekanisme langsung, yaitu produksi senyawa antimikroba yang menghambat patogen, maupun mekanisme tidak langsung, yaitu persaingan memperoleh nutrisi dan tempat adhesi pada epitel mukosa. Pada rongga hidung manusia, bakteri komensal memanfaatkan kedua mekanisme tersebut untuk menekan kolonisasi patogen oportunistik (Pinheiro *et al.* 2020). Selain mikrobiota normal, penekanan kolonisasi patogen pada saluran napas

atas (URT) juga didukung oleh pertahanan inang berupa lapisan mukosiliar, peptida antimikroba (PAM), spesies oksigen reaktif (ROS), dan jaringan limfoid nasofaring (Kumpitsch *et al.* 2019).



Gambar 1 Kompetisi mikrobiota nasofaring (Zimmermann 2023).

Keterangan :

Panah hijau = menunjukkan hubungan atau korelasi positif

Panah merah = menunjukkan hubungan atau korelasi negatif.

Interaksi antagonis antara *Corynebacterium* sp dan *Staphylococcus* sp terjadi melalui mekanisme inhibisi pertumbuhan. Spesies seperti *Corynebacterium accolens* mampu menghidrolisis triasilgliserol pada sebum kulit untuk melepaskan asam lemak bebas (*free fatty acids/FFA*). Akumulasi FFA tersebut selanjutnya berperan sebagai agen toksik yang secara efektif menghambat proliferasi *Staphylococcus aureus* (Chonmaitree *et al.* 2017; Xu *et al.* 2021).

Interaksi antagonis antara *Corynebacterium* sp dan *Streptococcus* sp menghasilkan siderofor yang membatasi ketersediaan zat besi di nasofaring, sehingga menciptakan persaingan nutrisi yang merugikan bakteri patogen. Selain melalui kompetisi nutrisi, beberapa spesies *Corynebacterium* sp juga mampu mengekspresikan molekul fosforilkolin (ChoP) yang berperan dalam menekan infeksi oleh *S. pneumoniae*. Lebih jauh, *Corynebacterium* sp turut berkontribusi dalam mengaktifkan sel-sel myeloid inflamasi sebagai bagian dari imunitas bawaan paru-paru, yang berfungsi sebagai pertahanan antibakteri terhadap *S. pneumoniae* di saluran pernapasan atas (Horn *et al.* 2022).

Genus *Corynebacterium* dan *Dolosigranulum* menunjukkan hubungan sinergis yang kuat dan frekuensi koeksistensi yang tinggi pada nasofaring anak-anak sehat. Kombinasi kedua taksa komensal ini merepresentasikan status mikrobioma yang stabil dengan kelimpahan patogen yang rendah. Secara fungsional, sinergisme ini berkontribusi dalam membangun lingkungan mikro protektif yang menurunkan kerentanan saluran pernapasan terhadap infeksi viral maupun bakterial sekunder (Biesbroek *et al.* 2014; Zimmermann 2023).

Interaksi antara genus *Streptococcus* sp dan *Haemophilus* sp menunjukkan pola dualisme ekologis (*mixed-synergy*). Meskipun kedua taksa ini saling berkompetisi dalam memperebutkan ruang dan nutrisi di nasofaring, keduanya kerap ditemukan berkoeksistensi di dalam struktur matriks biofilm yang sama. Dalam konteks klinis

seperti manifestasi otitis media akut, interaksi sinergis antara *S. pneumoniae* dan *Haemophilus influenzae* terbukti dapat saling meningkatkan viabilitas serta kelangsungan hidup masing-masing taksa terhadap mekanisme respons imun inang (Mizgerd 2014; Chonmaitree *et al.* 2017).

Hubungan sinergis antara genus anaerob *Veillonella* dan *Prevotella* dicirikan oleh adanya hubungan sintrofi (*metabolic cross-feeding*). *Veillonella* sp. berperan penting dalam menggunakan senyawa hasil fermentasi, khususnya laktat, sebagai sumber karbon spesifik. Aktivitas pemanfaatan metabolit ini menciptakan kondisi lingkungan mikro yang kondusif, sehingga memicu multiplikasi dan memfasilitasi kolonisasi komunitas anaerob yang lebih kompleks pada ceruk (*niche*) nasofaring (Salter *et al.* 2017).

Hubungan persaingan (antagonis) antara genus *Moraxella* dengan bakteri komensal seperti *Corynebacterium* dan *Dolosigranulum*. Dalam proses kolonisasi, *Moraxella* mampu menggeser dan mengusir kedua bakteri komensal tersebut dari *niche* di saluran pernapasan. Hilangnya *Corynebacterium* dan *Dolosigranulum* akibat dominasi *Moraxella* memicu terbentuknya profil mikrobiota nasofaring yang berkaitan dengan tingginya kerentanan balita terhadap manifestasi klinis bronkitis serta asma (Biesbroek *et al.* 2014; Xu *et al.* 2021).

2.3 Bakteri *Streptococcus pneumoniae*

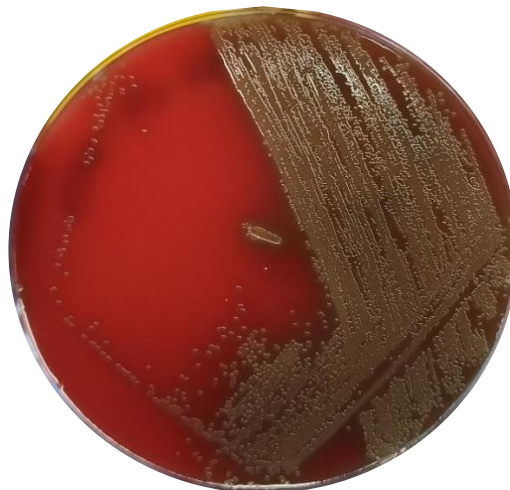
S. pneumoniae merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus, bersifat anaerob fakultatif, dengan kapsul polisakarida yang bersifat nonmortal. Menghasilkan α -hemolisis dengan zona kehijauan pada media pertumbuhan *Blood Plate Agar* (BAP) (Khoeri *et al.* 2024). *S. pneumoniae* tumbuh optimal pada 5% CO₂. Morfologi *S. pneumoniae* berbentuk lancet, berlendir (*mucoïd*) atau *non-mucoïd*, dan berwarna keabuan, dengan diameter sel berkisar antara 0,5 dan 1,25 μ m. Pertumbuhan *S. pneumoniae* cenderung menjadi kurang optimal pada media padat atau media cair, kecuali pada media yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan (Oktari *et al.* 2019).

Menurut Allegrucci and Sauer (2008), serotipe 19 menghasilkan pertumbuhan koloni pada media BAP *non-mucoïd*, sedangkan serotipe 3 menghasilkan koloni *mucoïd* yang berkaitan dengan produksi kapsul polisakarida yang lebih tebal dan virulensi yang lebih tinggi. Variasi serotipe pneumokokus berkaitan dengan ketebalan kapsul dan kemampuan untuk menimbulkan respons imun hormonal. *S. pneumoniae* pada serotipe 3 dan serotipe 37 menghasilkan kapsul yang sangat tebal dan pada serotipe 3 memiliki virulensi yang tinggi pada manusia dan hewan laboratorium (Paton dan Trappetti 2019). Sedangkan pada *S. pneumoniae non-mucoïd*, seperti *small-colony variants* (SCVs), kurang memproduksi kapsul atau bersifat acapsular. Pada manusia *S. pneumoniae* merupakan flora normal yang ditemukan di sistem pernapasan manusia. Bakteri tersebut dapat berubah menjadi oportunistik dan menyebabkan pneumonia, sinusitis, otitis, bronkitis, bakteremia, meningitis, peritonitis dan infeksi lain di sekitar saluran pernapasan (Allegrucci dan Sauer 2007).

Varian strain *S. pneumoniae* yang sama dapat menunjukkan bentuk koloni yang berbeda, yang dikaitkan dengan distribusi serotipe. Sampai saat ini, lebih dari 100 serotipe dari bakteri *S. pneumoniae* yang bervariasi berdasarkan lokus *capsular polysaccharide* (CPS) memiliki karakteristik unik serta peran penting dalam menentukan virulensi dan distribusi pada *S. pneumoniae* (Li *et al.* 2021). Struktur

CPS berhubungan dengan serotipe, yaitu polisakarida yang terdiri dari ikatan fosfodiester, piruvat, gliserol, fosforil kolin, dan ribitol. Pada beberapa serotipe, terdapat satu atau lebih glukosa. Lokus CPS yang kompleks memiliki banyak gen dengan urutan asam amino yang mirip dengan protein yang merujuk pada struktur CPS *reference*. Dengan empat gen utama, yaitu *cpsABCD* atau yang dikenal sebagai *wzg*, *wzh*, *wzd*, dan *wze* (Yother 2011). Setiap CPS mengkode glikosiltransferase yang dikaitkan dengan pengulangan oligosakarida, transporter unit pengulangan *wzx* dengan pengikat ATP dan polimerase polisakarida *wzy* (Paton dan Trappetti 2019).

Selain variasi kapsular, analisis genom *S. pneumoniae* dapat mengidentifikasi berbagai gen faktor virulensi yang diekspresikan pada permukaan dinding sel bakteri. Salah satu faktor virulensi tersebut ialah *pneumococcal surface adhesion A* (*PsaA*) yang diketahui dapat menginduksi respons imun humoral (*antibody*) dan merupakan *protein lipidik* 36 kDa yang menjadi salah satu protein permukaan yang diekspresikan hampir seluruh serotipe (Sari *et al* 2020). Serotipe tertentu seperti 6B, 6A, 23F, 19F, 14, 19A, 15B/C, dan 11A. Sering ditemukan pada isolat nasofaring anak sehat di Denmark dan mirip dengan temuan isolat nasofaring anak di Asia (Auranen *et al.* 2010).



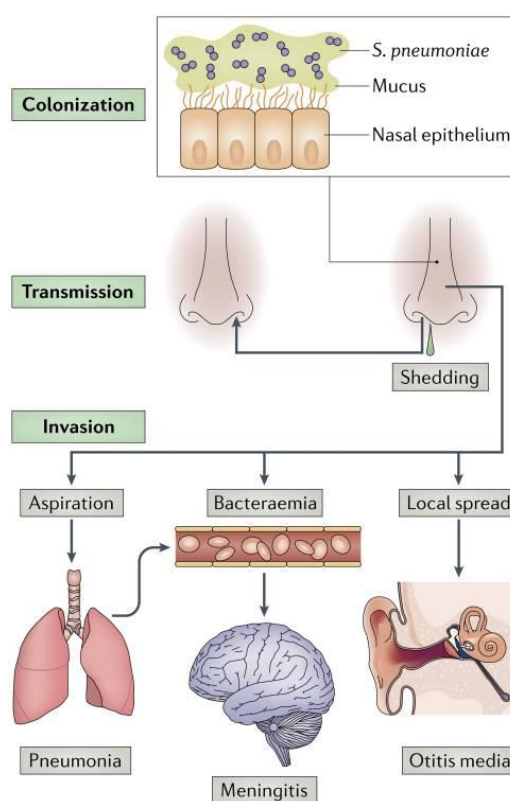
Gambar 2 Isolat *Streptococcus pneumoniae* pada media agar darah (Dokumentasi Pribadi)

2.4 Mekanisme Kolonisasi *Streptococcus pneumoniae* di Nasofaring

Bakteri komensal berperan melindungi nasofaring dari kolonisasi dan invasi bakteri patogen melalui dua mekanisme utama, yaitu pengaktifan respons imun yang menghasilkan senyawa antimikroba serta persaingan dalam memperoleh nutrisi dan tempat adhesi. Kedua mekanisme tersebut berkontribusi dalam menjaga keseimbangan mikrobiota nasofaring sekaligus meningkatkan kemampuan inang untuk menahan infeksi pada saluran pernapasan (Khan *et al.* 2019). Proses kolonisasi *S. pneumoniae* di nasofaring berlangsung dengan memanfaatkan faktor virulensi yang memungkinkan bakteri menempel dan masuk ke epitel melalui adhesi serta interaksi dengan reseptor PAF. Selanjutnya, autolysin LytA merusak lapisan mukosa yang terdegradasi oleh enzim NanA, BgaA, dan StrH. *S. pneumoniae* mempertahankan kolonisasi dan menghindari sistem kekebalan dengan kapsul polisakarida dan protein PspA, CbpA, Eno, Pht, serta PepO yang

menghambat deposisi komplemen dan menurunkan efektivitas imun mukosa (Weiser *et al.* 2018). Kolonisasi terjadi ketika bakteri mampu memasuki lumen nasofaring, melekat pada sel epitel, memperoleh nutrisi, dan menghindari mekanisme pertahanan inang, sehingga memungkinkan bakteri patogen berkembang di dalam tubuh (Siegel dan Weiser 2015).

Kapsul *S. pneumoniae* memungkinkan proses fagositosis bakteri, sehingga kapsul dapat menghambat terjadinya opsonisasi bakteri oleh komplemen protein C3b (Shenoy dan Orihuela 2016). Dominasi sementara atau peningkatan kelimpahan selama kolonisasi *S. pneumoniae* menyebabkan berkurangnya keanekaragaman mikrobiota di nasofaring (Ritchie *et al.* 2017). Sehingga, terjadi disbiosis yang ditandai dengan tingginya prevalensi famili bakteri *Moraxellaceae*, *Pasteurellaceae*, dan *Streptococcaceae*. Serta, menurunnya kolonisasi dari bakteri *Staphylococcaceae* (Ballarini *et al.* 2021). Keadaan diperparah oleh penurunan imunitas tubuh, faktor eksternal, serta alergen. Kondisi tersebut mempercepat pergeseran peran *S. pneumoniae* dari mikroorganisme komensal yang berkolonisasi secara asimtomatik menjadi *pathobiont* dengan potensi patogenik yang memicu terjadinya infeksi (Azevedo *et al.* 2023; Paulo *et al.* 2023). Selain itu, variasi serotipe *S. pneumoniae* turut mempengaruhi potensi terjadinya penyakit invasif, di mana serotipe seperti 3, 8 dan 12F dilaporkan lebih sering terkait dengan manifestasi klinis berat dibandingkan dengan prevalensinya pada individu pembawa.



Gambar 3 Mekanisme kolonisasi dan invasi *S. pneumoniae* pada saluran napas atas (Weiser *et al.* 2018).

2.5 Epidemiologi Pneumokokus

Penyakit pneumokokus invasif diawali oleh kolonisasi *S. pneumoniae* di mukosa pada saluran pernapasan atas sebagai sumber utama transmisi, selanjutnya berkembang melalui aspirasi ke paru, penyebaran lokal, atau bakteremia sehingga menimbulkan pneumonia, meningitis, dan otitis media (Weiser *et al.* 2018). Kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak dapat mencapai 20-40%. Kondisi ini meningkatkan risiko terjadinya infeksi, terutama pada individu dengan penurunan kekebalan tubuh, pada usia yang rentan (seperti bayi dan balita), serta pada anak dengan komorbiditas tertentu (Zubiria-Barrera *et al.* 2025).

Distribusi serotipe pada isolat nasofaring menunjukkan variasi antara negara dan kelompok umur yang berbeda. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Grant *et al.* (2024) distribusi serotipe *S. pneumoniae* pada anak-anak di bawah 2 tahun di US meliputi enam serotipe, yaitu 35B (16.6%), 15B (14.6%), 15A (7.5%), 19A (7.5%), 19F (7.5%), dan 3 (7%). Hasil studi yang dilakukan oleh Auranen *et al.* (2010) pada anak-anak di Denmark menunjukkan delapan serotipe dominan yang meliputi 6B, 6A, 23F, 19F, 14, 19A, 15B/C, dan 11A. Delapan serotipe tersebut menunjukkan kesamaan dengan serotipe yang ditemukan pada isolat nasofaring anak sehat di Asia.

13-valent *Pneumococcal Conjugate Vaccine* (PCV13) merupakan vaksin yang mencakup 66-90% serotipe yang umum ditemukan. Pada kasus otitis media akut pada anak, serotipe 19F (31%), 3 (16,2%), 19A (10.3%), dan 14 (10%) merupakan serotipe yang paling sering terdeteksi. Perluasan komposisi serotipe meningkatkan cakupan proteksi terhadap strain non-vaksin (Sidorenko *et al.* 2025). Fenomena peningkatan dan pergantian menjadi serotipe pada populasi pneumokokus di seluruh dunia diakibatkan infeksi pneumokokus oportunistik melalui pergantian serotipe (*serotype replacement*) (Zhou *et al.* 2022).

Penentuan atau identifikasi *S. pneumoniae* sangat penting, terutama setelah implementasi vaksinasi PCV. Secara substansial terjadi penurunan prevalensi serotipe yang tercakup dalam vaksin, Namun, fenomena penggantian serotipe (*serotype replacement*) telah mengurangi efektivitas vaksinasi tersebut, seiring dengan meningkatnya insiden penyakit yang disebabkan oleh serotipe non-vaksin (*non-vaccine types*, NVT) (Cleary *et al.* 2022). Pergeseran serotipe telah terdeteksi baik dalam insidensi penyakit maupun dalam kolonisasi nasofaring. Fenomena *serotype replacement* merujuk pada perubahan atau pertukaran lokus gen *cps* yang mengkodekan kapsul polisakarida spesifik serotipe (Reslan *et al.* 2021).

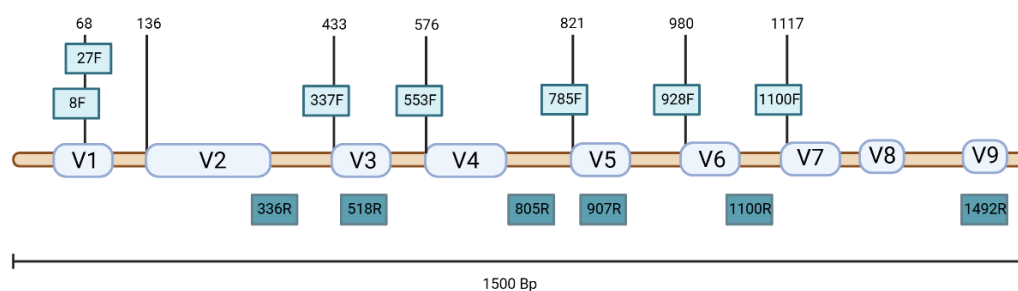
2.6 Metode Identifikasi Mikrobiota

Sekuensing 16S rRNA dimulai dengan ekstraksi DNA yang digunakan sebagai cetakan dalam tahap amplifikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Mudawaroch *et al.* 2024). Identifikasi 16S rRNA berdasarkan deteksi perbedaan sekuens (*polimorfisme*) di daerah *hipervariabel* gen 16S rRNA yang terdapat pada semua bakteri yang terdapat dalam database (Hashimji *et al.* 2023). Analisis metagenomik berbasis 16S rRNA memungkinkan identifikasi spesies berkelebihan rendah dalam satu komunitas mikroba kompleks (Nikodemova *et al.*, 2023). Berbagai alur kerja dan alat telah dikembangkan untuk memfasilitasi analisis data 16S rRNA, membuatnya dapat diakses bahkan oleh peneliti dengan keahlian bioinformatika terbatas (Xu *et al.* 2016).

Dalam beberapa tahun terakhir, dua platform yang paling umum digunakan untuk analisis gen 16S rRNA adalah Illumina dan Oxford Nanopore Technology (ONT). Platform Illumina menghasilkan sekuens baca pendek (*short-read sequencing*), yang semakin membatasi resolusi taksonomi analisis 16S rRNA, umumnya hanya mampu mengidentifikasi hingga tingkat genus (Low *et al.*, 2021). Studi perbandingan kelimpahan bakteri menggunakan Illumina V3-V4 menunjukkan bahwa cakupan wilayah gen yang terbatas berdampak pada akurasi identifikasi komunitas mikroba (Aja-Macaya *et al.*, 2025). Sedangkan, pada platform ONT dapat menghasilkan sekuens bacaan yang panjang (*long-read sequencing*) yang mencakup seluruh gen 16S rRNA dari *region* V1-V9 dengan panjang sekitar ~1500 bp. Sehingga memungkinkan klasifikasi taksonomi dengan resolusi hingga tingkat spesies (Szoboszlay *et al.*, 2023). Keunggulan lain dari ONT adalah kemampuannya menyediakan proses sekuensing secara *real-time* dan portabel dengan panjang baca ultra-panjang, sehingga sangat bermanfaat untuk mengidentifikasi mikroorganisme pada studi lingkungan. Kemampuan ONT dalam melakukan pembacaan *long read* memungkinkan diperolehnya profil komunitas mikroba yang lebih komprehensif dan akurat, serta memberikan keunggulan yang jelas dibandingkan dengan teknologi *short-read* yang hanya mencakup sebagian wilayah gen (Lin *et al.*, 2023).

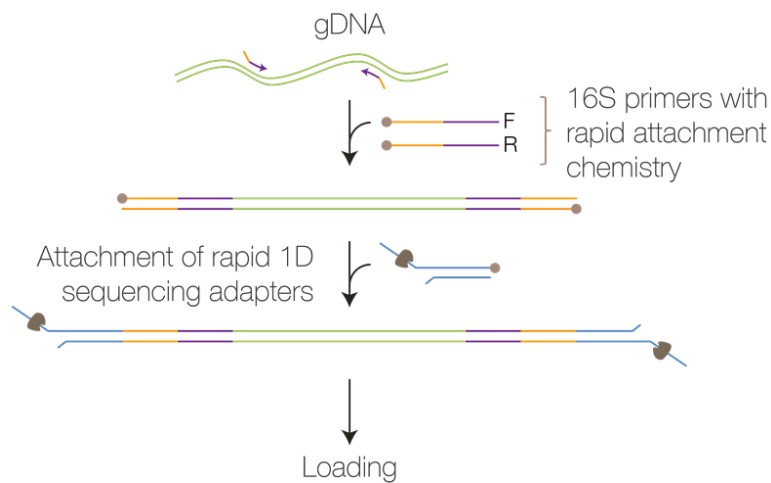
Analisis data Oxford Nanopore Technologies umumnya melibatkan beberapa tahapan, meliputi *basecalling*, *demultiplexing*, dan penyaringan kualitas (*quality filtering*) menggunakan perangkat lunak seperti NanoFilt. Tahapan ini kemudian diikuti dengan identifikasi taksonomi menggunakan pendekatan berbasis penyelarasan (*alignment-based*), seperti Minimap2, atau pengklasifikasi berbasis *k-mer*, seperti Kraken2 (Geli-Cruz *et al.* 2023). Sebagai alternatif, platform Epi2me dapat digunakan, yang sering dikombinasikan dengan paket seperti phyloseq dan ggplot2 untuk visualisasi dan analisis data lanjutan (*downstream analysis*) (Esberg *et al.* 2024).

Analisis metagenomik 16S memanfaatkan platform sekuensing untuk mengeksplorasi komunitas mikroba dalam berbagai aplikasi (Larin *et al.* 2024). Penerapan analisis metagenomik 16S pada mikrobiota nasofaring telah memberikan pemahaman mengenai hubungan komunitas mikroba dengan berbagai kondisi kesehatan, khususnya infeksi saluran pernapasan. Teknik ini memungkinkan karakterisasi mikrobioma nasofaring secara rinci serta menyoroti perannya dalam dinamika kesehatan dan penyakit (Gioula *et al.* 2018).



Gambar 4 Primer PCR dan variabel regions dari gen 16S rRNA (dibuat dengan BioRender.com, diadaptasi dari (CJ Bioscience 2017).

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



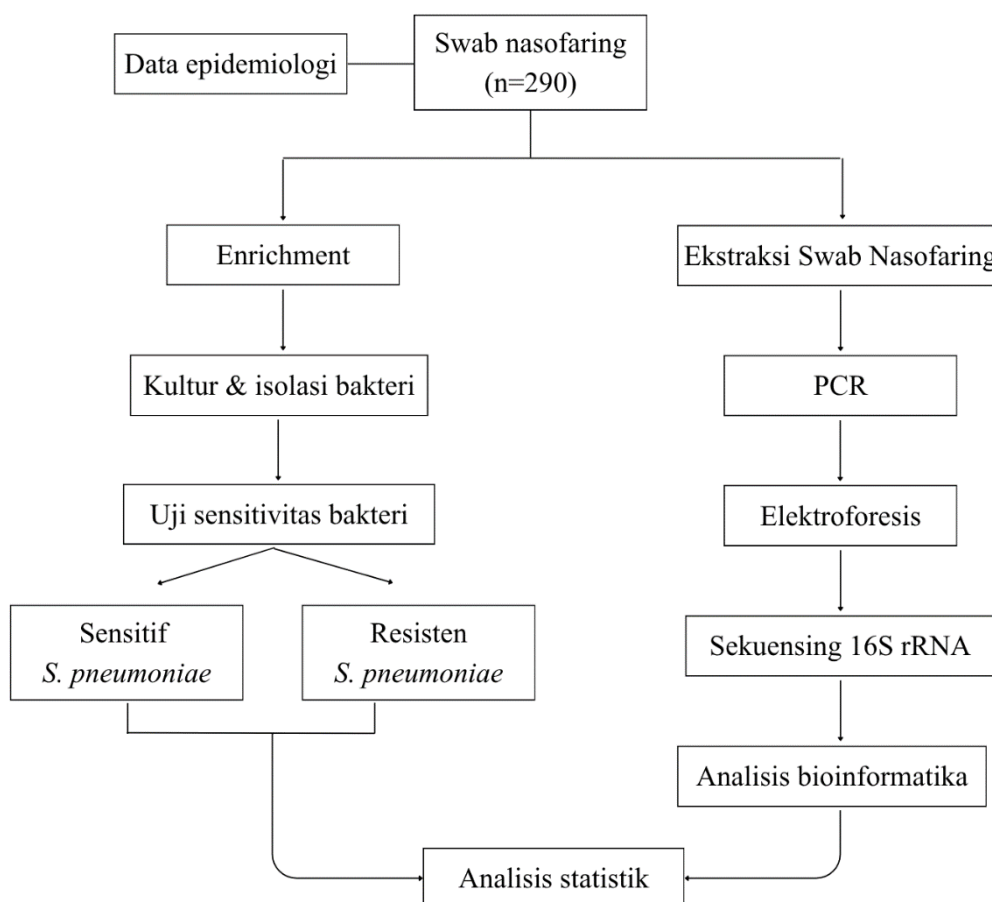
Gambar 5 Tahapan sekuensing 16S rRNA (ONT 2025).

III METODE

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksploratif untuk mengidentifikasi *Streptococcus pneumoniae* dan mengarakterisasi profil mikrobiota nasofaring pada anak-anak di bawah usia lima tahun di Sumbawa. Sampel yang digunakan berasal dari arsip spesimen swab nasofaring yang dikumpulkan pada tahun 2023 dari anak sehat berusia di bawah lima tahun dari suku Bajo dan Sasak di Kecamatan Alas, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Identifikasi bakteri dilakukan secara molekuler melalui amplifikasi PCR dan sekuensing gen 16S rRNA *full-length* menggunakan platform *Oxford Nanopore Technologies* (ONT).

Spesimen swab nasofaring yang telah melalui tahap enrichment selanjutnya dikultur pada media selektif dan dikarakterisasi untuk mengidentifikasi isolat *S. pneumoniae*. Identifikasi presumptif dilakukan melalui uji sensitivitas optochin, di mana isolat yang menunjukkan zona hambat ≥ 14 mm dikategorikan sebagai *S. pneumoniae*, sesuai dengan kriteria standar yang ditetapkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Hasil sekuensing 16S rRNA selanjutnya dianalisis untuk mengkaji profil interaksi mikrobiota nasofaring, khususnya untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya spesies bakteri dominan yang memengaruhi atau menekan keberadaan bakteri lain di ekosistem nasofaring. (Lampiran 1)



Gambar 6 Diagram alir penelitian (Dokumentasi Pibadi)

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2024 hingga Agustus 2025. Preparasi dan pengujian penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Genomik, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Bogor, Jawa Barat.

3.3 Persetujuan Etik

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat Universitas Gadjah Mada dengan nomor: KE/FK/1314/EC/2022. Sebelum pengambilan spesimen, orang tua atau wali subjek penelitian diberikan penjelasan mengenai tujuan, prosedur, manfaat, serta potensi risiko penelitian. Persetujuan tertulis (*informed consent*) diperoleh sebelum dilakukan pengisian kuesioner dan pengambilan spesimen swab nasofaring.

3.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi flocked swab (COPAN, Italia), vortex (Thermo Fisher Scientific, USA), centrifuge (Eppendorf 5424 R, Germany), mikropipet (Eppendorf Research Plus, 10 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL, dan 1000 µL; Germany), Tips (10 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL, dan 1000 µL; Axygen, USA), microtube 1,5 mL (Eppendorf, Germany), microtube 0.2 mL (Axygen, USA), botol duran (Schott Duran, Germany), erlenmeyer 1000 mL (Pyrex, USA), freezer -80°C (Thermo Scientific Revco, USA), freezer -20 °C (GEA, Indonesia), ose (1 µL dan 10 µL), cakram optochin (Optochin Discs; Oxoid DD0001, UK), Qubit™ 3 Fluorometer, perangkat Polymerase Chain Reaction (PCR; Bio-Rad T100 Thermal Cycler, USA), PCR strip tube 0,2 mL (Axygen, USA), perangkat Oxford Nanopore Technologies (ONT MinION, UK), serta perangkat elektroforesis gel (Bio-Rad Wide Mini-Sub Cell GT, USA).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesimen swab nasofaring, media STGG, G-Spin Total DNA Extraction Kit (intron Bioteknologi), Ethanol Absolute (Merck, Germany), Alkohol swab, Platinum SuperFi DNA Polymerase (Invitrogen), dan *Primer Forward* dan *Reverse* 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') & 1492R (5'-CGGTTACCTTGTACGACTT-3'), Agarose (Promega V3121, LE), Tris-EDTA (TE buffer), gelred (Biotium, USA), Leader 50 dan 100 bp, Darah domba, Trypticase™ Soy Agar (TSA II), Brain Heart Infusion Broth (BHIB) (Oxoid, UK), Rabbit Serum (Gibco™), 1X dsDNA, high sensitivity (Invitrogen).

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Penentuan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini berupa spesimen swab nasofaring (n=290) dengan kriteria sampel dalam penelitian ini adalah anak sehat, anak berusia di bawah 5 tahun dari suku Bajo dan Sasak di Kecamatan Alas, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat pada tahun 2023. Spesimen swab nasofaring diambil dengan menggunakan swab fleksibel (COPAN) oleh tim terlatih puskesmas setempat dan disimpan ke dalam media Skim milk, Tryptone, Glucose, and Glycerin (STGG) pada suhu -80 °C. Selanjutnya, sebanyak 53 spesimen dipilih secara purposif untuk analisis mikrobiota menggunakan sekuensing gen

16S rRNA berbasis *Oxford Nanopore Technologies* (ONT). Pemilihan sampel didasarkan pada status kolonisasi *Streptococcus pneumoniae*, ketersediaan volume spesimen, serta kualitas DNA hasil ekstraksi yang memenuhi persyaratan untuk sekuensing.

3.5.2 Kultur Bakteri *S. pneumoniae*

Sebanyak 200 μL sampel NP swab pada media STGG ditransfer ke dalam 6 mL media *enrichment broth* yang terdiri atas 5 mL *Brain Heart Infusion* (BHI) dan ditambahkan 1 mL serum kelinci. Suspensi kemudian dihomogenkan secara perlahan dan diinkubasi pada suhu 37 °C dalam kondisi 5% CO₂ selama $\pm 5\text{--}6$ jam untuk meningkatkan pertumbuhan *S. pneumoniae*. Setelah proses *enrichment*, sebanyak 10 μL kultur diinokulasikan pada media *Blood Agar Plate* (BAP) 8% menggunakan teknik gores kuadran, kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator CO₂. Koloni bakteri yang membentuk zona hemolitik alfa, dengan zona kehijauan, diambil satu koloni bakteri untuk dilakukan uji sensitivitas terhadap optochin. Selanjutnya, dilakukan inkubasi pada inkubator CO₂ selama 18 jam. Isolat dengan hasil uji optochin yang memiliki sensitivitas >14 mm disimpan pada media STGG untuk analisis lebih lanjut.

3.5.3 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA berasal dari spesimen NP swab (n=65) yang dilakukan dengan menggunakan kit G-Spin Total DNA Extraction Kit (Intron Bioteknologi) sesuai dengan petunjuk dari perusahaan. Sebanyak 300 μL spesimen swab nasofaring digunakan dalam proses ekstraksi DNA ini. Tahapan lisis dilakukan dengan penambahan 100 μL CL Buffer, Proteinase K 20 μL dan RNase 5 μL . Inkubasi selama 30 menit pada suhu 56 °C untuk melisiskan sel dan mendegradasi protein. Setelah inkubasi, dilakukan sentrifugasi singkat (*fast spin*) guna menghilangkan tetesan cairan pada dinding tabung. Selanjutnya, sebanyak 400 μL Buffer BL ditambahkan dan dicampur secara homogen dengan metode inversi (*inverted*) sebanyak 5–6 kali, kemudian diinkubasi kembali selama 5 menit pada suhu 70 °C.

Tahap *binding* dilakukan dengan menambahkan 400 μL etanol absolut ke dalam sampel dan menghomogenkannya dengan metode inversi, lalu dilakukan sentrifugasi singkat. Sebanyak 800 μL sampel dipindahkan ke dalam *spin column* dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Filtrat yang dihasilkan dibuang, dan langkah ini diulangi untuk sisa sampel yang belum diproses.

Tahap *washing* dilakukan dengan menambahkan 700 μL Buffer WA ke dalam *spin column*, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Buang filtrat yang dihasilkan, lalu tambahkan 700 μL Buffer WB ke dalam *spin column* dan sentrifugasi pada 13.000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, buang filtrat dan gunakan *new tube collection* untuk melakukan sentrifugasi kering (*dry spin*) dengan kecepatan yang sama selama 1 menit untuk memastikan tidak ada sisa etanol yang tertinggal. *Spin column* kemudian dipindahkan ke dalam tabung mikro 1,5 mL yang steril, lalu ditambahkan Buffer CE 50 μL dan diinkubasi selama 1 menit. Proses elusi DNA dilakukan dengan sentrifugasi pada 13.000 rpm, dan hasil elusi sebanyak 50 μL dikumpulkan. DNA hasil ekstraksi kemudian disimpan pada suhu -20 °C.

Kualitas dan konsentrasi total DNA ditentukan dengan spectrophotometer NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, USA) dan Qubit dsDNA HS kits

(Life Technologies, USA) pada Qubit 4.0 fluorometer dengan interpretasi hasil konsentrasi dalam ng/ μ L (Tandon *et al.* 2023).

3.5.4 Amplifikasi gen 16S rRNA

Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA dengan primer *full-length* gen 16S rRNA yang menargetkan daerah V1–V9, yaitu 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3') dan fragmen hasil PCR yang diharapkan sekitar 1500 bp. Kondisi PCR (BIO-RAD T-100 *Thermal Cycler*) dan komposisi *master mix* yang disajikan pada tabel 1 dan Tabel 2. Hasil PCR divisualisasi dengan teknik elektroforesis pada gel agarosa 2% (He *et al.* 2024). Dengan komposisi *master mix* yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi Master mix PCR untuk amplifikasi gen 16S rRNA

Komponen	Volume	
Platinum super fi Buffer	0.5	μ L
5x Super fi Buffer	10	μ L
10 nM dnTP	2	μ L
Primer <i>Forward</i>	2.5	μ L
Primer <i>Reverse</i>	2.5	μ L
<i>Nuclease-Free Water</i> (NFW)	18.5	μ L
DNA	14	μ L

Tabel 2 Kondisi PCR untuk amplifikasi gen 16S rRNA (V1–V9)

Tahap	Suhu	Waktu	Siklus
Pre-Denaturasi	98 °C	30 detik	1 x
Denaturasi	98 °C	10 detik	
Anneling	55 °C	30 detik	5x
Ekstensi	72 °C	45 detik	
Denaturasi	98 °C	10 detik	35x
Anneling	64 °C	30 detik	

3.5.5 Sekuensing dan Analisis Bioinformatik 16S rRNA

Amplifikasi PCR gen 16S rRNA *full-length* dilakukan menggunakan templat DNA dengan konsentrasi 400–1000 ng yang dikuantifikasi menggunakan Qubit Fluorometer. Proses library preparation dilakukan menggunakan *Oxford Nanopore Technologies* (ONT) Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24). Seluruh spesimen diberi barcode secara individual, kemudian dipool secara ekuimolar dengan total muatan sebesar ± 700 fmol. *Library* yang telah dipool selanjutnya dimuat ke dalam flow cell FLO-MIN114 (versi R10.4.1) dan dijalankan pada

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

perangkat MinION Mk1B. Proses sekuensing dilakukan menggunakan perangkat lunak MinKNOW versi 24.06.16 tanpa basecalling internal. Berkas data mentah dalam format POD5 selanjutnya diproses untuk *basecalling* dan *demultiplexing* menggunakan Dorado versi 7.3.9 (ONT 2025).

Analisis taksonomi sekuens gen 16S rRNA dilakukan menggunakan pipeline [epi2me-labs/wf-16s](https://github.com/epi2me-labs/wf-16s) versi 1.6.1 (<https://github.com/epi2me-labs/wf-16s>). Penyaringan dan pemangkasan (*trimming*) sekuens dilakukan menggunakan NanoFilt versi 2.8.0 dengan kriteria skor kualitas $Q \geq 12$ dan panjang baca 1.200-1.700 bp. Evaluasi kualitas pembacaan secara keseluruhan dianalisis menggunakan NanoPlot versi 1.46.0. Tahap penyaringan ini berperan penting dalam meningkatkan akurasi analisis *downstream* sekaligus meminimalkan risiko klasifikasi taksonomi false positive yang umum dijumpai akibat tingkat kesalahan inheren pada teknologi sekuensing *long-read* berbasis ONT.

Klasifikasi taksonomi dilakukan menggunakan Kraken2 yang menerapkan algoritma berbasis k-mer untuk klasifikasi reads hasil sekuensing secara cepat dan akurat (Wood *et al.* 2019). Basis data referensi *ncbi_16s_18s* digunakan untuk identifikasi taksonomi berbasis RNA ribosomal dari kelompok bakteri maupun eukariota. Keluaran analisis berupa profil kelimpahan relatif pada berbagai tingkatan taksonomi, meliputi filum, kelas, ordo, famili, genus, dan spesies. Indeks diversitas alfa, mencakup indeks kekayaan spesies (*richness*), indeks diversitas Shannon, dan indeks Simpson, dihitung dari data yang telah melalui tahap penyaringan dan selanjutnya digunakan untuk analisis ekologi komparatif antara kelompok spesimen.

3.5.6 Analisis Statistik

Seluruh analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak R versi 4.4.2. Hubungan antarvariabel kategorik diuji menggunakan uji *chi-square* Pearson, atau uji *Fisher's exact* untuk analisis eksploratif. Perbedaan indeks keanekaragaman alfa (*species richness*, indeks Shannon, dan indeks Simpson) antar kelompok kelimpahan *S. pneumoniae* (rendah, sedang, dan tinggi) dievaluasi menggunakan uji Kruskal-Wallis. Uji lanjut (*post-hoc*) untuk komparasi berpasangan dilakukan menggunakan uji Dunn yang disesuaikan dengan koreksi Bonferroni. Besaran efek (*effect size*) dilaporkan dalam bentuk *epsilon-squared* ($\epsilon^2_{\text{ordinal}}$) beserta interval kepercayaan 95%. Nilai $p < 0,05$ ditetapkan sebagai batas signifikansi statistik.

IV HASIL

4.1 Prevalensi kolonisasi *Streptococcus pneumoniae*

Sebanyak 290 spesimen swab nasofaring dikumpulkan dalam penelitian ini. Prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak balita di Sumbawa adalah 50,7% (147/290). Berdasarkan kelompok usia, prevalensi kolonisasi tertinggi ditemukan pada anak usia 13-24 bulan (62,7%; 52/83). Berdasarkan jenis kelamin, proporsi kolonisasi relatif seimbang antara laki-laki (51,7%; 74/143) dan perempuan (51%; 73/147).

Berdasarkan wilayah tempat tinggal, prevalensi kolonisasi tertinggi ditemukan pada anak yang tinggal di Desa Juranalas (59,6%; 28/47). Sedangkan kelompok etnis yang mendominasi adalah etnis Bajo yang menunjukkan prevalensi kolonisasi sebesar (56,7%; 89/157). Berdasarkan jumlah anggota keluarga, prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* tertinggi ditemukan pada rumah tangga >7 anggota (53,8%; 7/13). Prevalensi kolonisasi pada anak dengan riwayat pemberian ASI (51,2%; 146/285). Paparan asap rokok dikaitkan dengan prevalensi kolonisasi yang lebih tinggi (63,2%; 36/57) dan jenis bahan bakar rumah tangga, yaitu mayoritas menggunakan gas (49,2%; 121/246).

Berdasarkan status kesehatan anak yang mengalami demam dalam tiga hari terakhir, kolonisasi sebesar (45,8%; 11/24) ditemukan, sedangkan pada anak dengan riwayat rawat inap dalam tiga bulan terakhir prevalensi mencapai (63,6%; 7/11). Berdasarkan status vaksinasi Hib, prevalensi kolonisasi tertinggi pada kelompok dosis 2, yaitu 52,4% (11/21). Sementara itu, pada vaksinasi PCV13, prevalensi kolonisasi relatif tinggi pada anak yang mendapatkan vaksin dosis ke-3 (66,7%; 12/18).

Tabel 3 Data Demografi dan Prevalensi *Streptococcus pneumoniae*

Karakteristik	N	Jumlah (%) anak yang membawa <i>S. pneumoniae</i>	P-value
Angka keseluruhan kolonisasi	290	147 (50,7)	
Usia (bulan)			
0-12	73	40 (51,4)	0,0060
13-24	83	52 (62,7)	
25-60	134	55 (41,0)	
Jenis kelamin			
Laki-laki	143	74 (51,7)	0,7221
Perempuan	147	73 (51,0)	
Desa			
Pulau Bungin	157	89 (56,7)	0,0042
Desa Dalam	73	27 (37,0)	
Desa Juranalas	47	28 (59,6)	
Lainnya	13	3 (23,1)	

Karakteristik	N	Jumlah (%) anak yang membawa <i>S. pneumoniae</i>	P-Value
Kelompok etnis			
Bajo	157	89 (56,7)	0,0129
Sasak	118	55 (46,6)	
Lainnya (Samawa, Sumbawa, Bali, Bugis)	15	3 (20,0)	
Jumlah anggota keluarga			
0-3	135	66 (48,9)	0,8428
4-6	142	74 (52,1)	
>7	13	7 (53,8)	
Status menyusui			
Ya	285	146 (51,2)	
Tidak	5	1 (20,0)	
Paparan rokok			
Ya	57	36 (63,2)	
Jenis bahan bakar			
Gas	246	121 (49,2)	0,0879
Minyak tanah	38	15 (39,5)	
Kayu	5	1 (20,0)	
Kondisi kesehatan			
Demam dalam 3 hari terakhir	24	11 (45,8)	0,3262
Rawat inap dalam 3 bulan terakhir	11	7 (63,6)	
Status vaksinasi Hib (dosis)			
0	13	4 (30,8)	0,8227
1	14	7 (50,0)	
2	21	11 (52,4)	
3	77	40 (51,9)	
4	122	63 (51,6)	
Tidak ada data	43	22 (51,2)	
Status vaksinasi PCV13 (dosis)			
0	142	70 (49,3)	0,7113
1	34	16 (47,1)	
2	53	27 (50,9)	
3	18	12 (66,7)	
Tidak ada data	43	22 (51,2)	

Pada studi ini, *S. pneumoniae* dapat diisolasi dari 147 spesimen berdasarkan pengamatan morfologi koloni dan uji sensitivitas optochin (Gambar 7) dengan prevalensi kolonisasi sebesar 50,7% pada anak-anak usia di bawah lima tahun di Kecamatan Alas, Sumbawa, Nusa Tenggara Barat. Identifikasi *S. pneumoniae* dilakukan dengan mengamati karakteristik koloni berbentuk bulat, kecil, berwarna abu-abu kehijauan (*alpha-hemolytic*), serta menunjukkan permukaan cekung di bagian tengah (*dimpled*) akibat autolisis pada media agar darah. Konfirmasi lebih lanjut dilakukan melalui uji sensitivitas optochin, yaitu isolat yang menunjukkan zona hambat di sekitar cakram optochin (≥ 14 mm) dikategorikan sebagai *S. pneumoniae* (Gambar 7a), sedangkan isolat yang tidak menunjukkan zona hambat (resisten optochin) dikategorikan sebagai *streptokokus alfa-hemolitik lain*, seperti *Streptococcus grup viridans* (Gambar 7b).



Gambar 7 Hasil uji sensitivitas optochin pada media BAP. (a) Isolat positif *S. pneumoniae* yang menunjukkan zona hambat di sekitar cakram optochin (sensitif terhadap optochin); (b) Isolat resisten terhadap optochin yang diidentifikasi sebagai bukan *S. pneumoniae*. (Dokumentasi Pribadi).

4.2 Kuantifikasi DNA dan Kontrol Kualitas Sekuensing

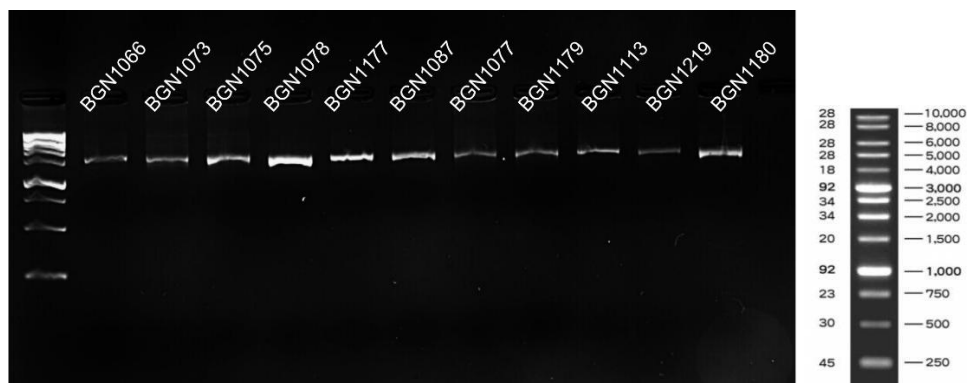
Sebanyak 290 spesimen swab nasofaring yang tersimpan dalam arsip penelitian, sebanyak 65 spesimen dipilih untuk dilakukan ekstraksi DNA dengan mempertimbangkan keterwakilan populasi penelitian, mencakup proporsi dari kedua kelompok suku (Bajo dan Sasak), jumlah anggota keluarga, serta sebaran usia subjek. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi DNA dan amplifikasi menggunakan primer 27F dan 1492R.

Konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari spesimen swab berkisar antara 0,18 - 74,2 ng/ μ L dengan konsentrasi tertinggi pada isolat BGN1327 sebesar 74,2 ng/ μ L dan konsentrasi terendah pada isolat BGN1081 sebesar 0,18 ng/ μ L (Tabel 4). Berdasarkan hasil kuantifikasi tersebut, spesimen dengan konsentrasi DNA yang rendah (<5 ng/ μ L) dieksklusi dari tahapan selanjutnya, sehingga diperoleh 53 spesimen yang memenuhi syarat untuk sekuensing 16S rRNA.

Tabel 4 Konsentrasi DNA hasil ekstraksi dari spesimen swab nasofaring

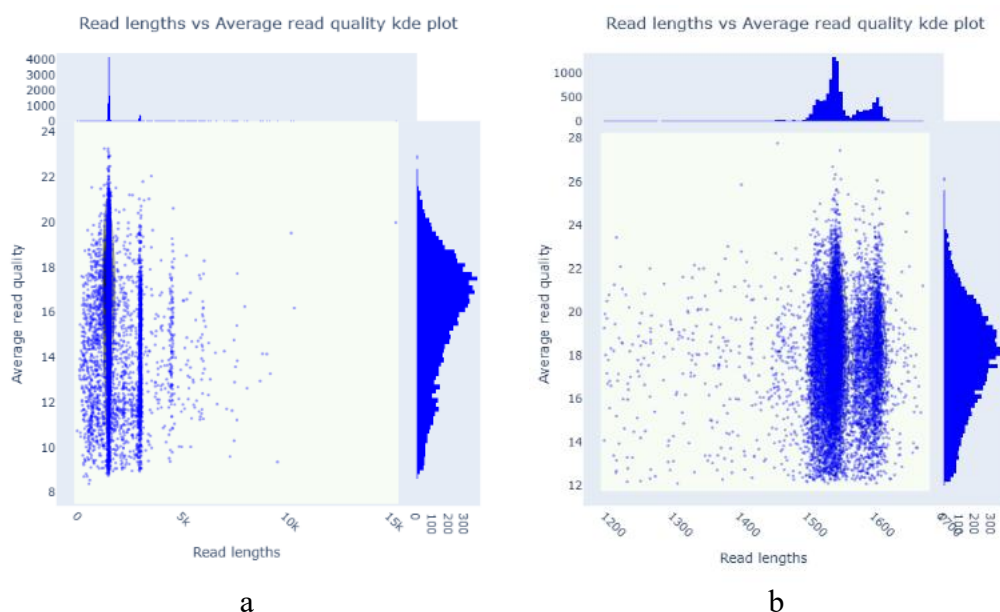
No	ID Sampel	Hasil Qubit	No	ID Sampel	Hasil Qubit
1	BGN 1055	14,9 ng/ μ L	31	BGN 1114	17,2 ng/ μ L
2	BGN 1057	24,2 ng/ μ L	32	BGN 1115	12,1 ng/ μ L
3	BGN 1060	18,8 ng/ μ L	33	BGN 1116	11,7 ng/ μ L
4	BGN 1062	55,4 ng/ μ L	34	BGN 1116	0,39 ng/ μ L
5	BGN 1063	15,6 ng/ μ L	35	BGN 1117	11,8 ng/ μ L
6	BGN 1066	18,7 ng/ μ L	36	BGN 1118	29,8 ng/ μ L
7	BGN 1072	1,61 ng/ μ L	37	BGN 1119	29,8 ng/ μ L
8	BGN 1073	25,0 ng/ μ L	38	BGN 1155	17,5 ng/ μ L
9	BGN 1075	29,0 ng/ μ L	39	BGN 1156	36,2 ng/ μ L
10	BGN 1076	22,6 ng/ μ L	40	BGN 1157	8,42 ng/ μ L
11	BGN 1077	31,2 ng/ μ L	41	BGN 1159	5,44 ng/ μ L
12	BGN 1078	39,4 ng/ μ L	42	BGN 1160	0,18 ng/ μ L
13	BGN 1081	0,31 ng/ μ L	43	BGN 1161	19,6 ng/ μ L
14	BGN 1083	7,66 ng/ μ L	44	BGN 1165	17,6 ng/ μ L
15	BGN 1087	22,4 ng/ μ L	45	BGN 1166	11,3 ng/ μ L
16	BGN 1092	0,64 ng/ μ L	46	BGN 1167	17,4 ng/ μ L
17	BGN 1093	2,98 ng/ μ L	47	BGN 1168	6,48 ng/ μ L
18	BGN 1094	17,5 ng/ μ L	48	BGN 1170	25,2 ng/ μ L
19	BGN 1095	34,4 ng/ μ L	49	BGN 1171	20,6 ng/ μ L
20	BGN 1097	4,92 ng/ μ L	50	BGN 1172	70,4 ng/ μ L
21	BGN 1098	0,84 ng/ μ L	51	BGN 1176	23,2 ng/ μ L
22	BGN 1099	35,6 ng/ μ L	52	BGN 1177	31,2 ng/ μ L
23	BGN 1100	2,48 ng/ μ L	53	BGN 1179	21,4 ng/ μ L
24	BGN 1101	31,4 ng/ μ L	54	BGN 1180	24,2 ng/ μ L
25	BGN 1102	9,06 ng/ μ L	55	BGN 1181	17,6 ng/ μ L
26	BGN 1103	1,69 ng/ μ L	56	BGN 1219	16,2 ng/ μ L
27	BGN 1104	1,57 ng/ μ L	57	BGN 1224	7,50 ng/ μ L
28	BGN 1107	13,4 ng/ μ L	58	BGN 1310	47,0 ng/ μ L
29	BGN 1108	28,4 ng/ μ L	59	BGN 1317	31,2 ng/ μ L
30	BGN 1109	22,6 ng/ μ L	60	BGN 1317	21,8 ng/ μ L
61	BGN 1111	21,6 ng/ μ L	64	BGN 1326	58,0 ng/ μ L
62	BGN 1112	1,70 ng/ μ L	65	BGN 1327	74,2 ng/ μ L
63	BGN 1113	36,2 ng/ μ L			

Hasil ekstraksi DNA sebanyak 53 NP swab yang terlampir pada Tabel 4 berhasil diamplifikasi gen 16S rRNA dan menghasilkan pita tunggal dengan panjang amplikon ± 1500 pb (Gambar 8, Lampiran 5). Gen 16S rRNA merupakan komponen ribosom prokariot subunit 30S, yang umum digunakan untuk identifikasi molekuler, menentukan kekerabatan, dan analisis filogenetik.



Gambar 8 Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan primer 27F dan 1492R pada gel agarosa 2%. M menunjukkan marker DNA 1 kb (Dokumentasi Pribadi).

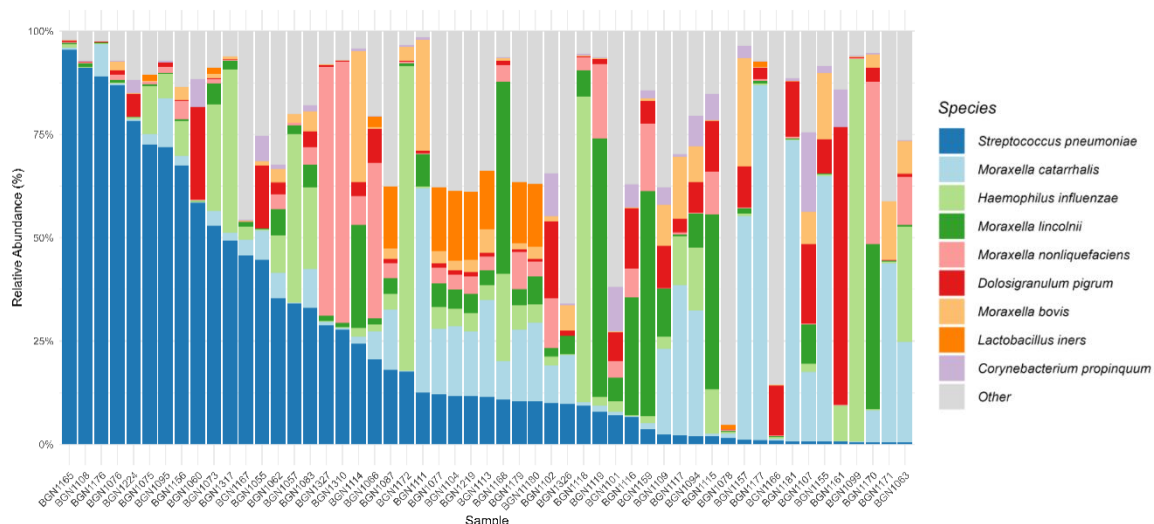
Analisis sekuens gen 16S rRNA dilakukan menggunakan platform Epi2me (Oxford Nanopore Technologies) dengan pemetaan taksonomi berbasis Kraken2. Database referensi yang digunakan adalah (ncbi_16s_18s), sehingga proses identifikasi taksonomi dapat dilakukan secara lebih akurat dan komprehensif. Sebelum tahap klasifikasi, *raw reads* terlebih dahulu diproses menggunakan NanoFilt dan NanoPlot. NanoFilt berfungsi untuk melakukan filtrasi *reads* berdasarkan nilai kualitas ($Q\ score \geq Q12$) dan panjang sekuens 16S rRNA (~ 1.500 bp). Tahap ini penting mengingat teknologi *long-read sequencing* berbasis ONT memiliki tingkat kesalahan (*error rate*) yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan teknologi *short-read sequencing*. Dengan demikian, proses filtrasi berperan dalam meningkatkan akurasi analisis lanjutan (*downstream analysis*), memperbaiki kualitas data, serta mengurangi kemungkinan terjadinya identifikasi taksonomi *false positive*. Hasil analisis *filtering* ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9 Hasil analisis sekuensing menggunakan NanoPlot (a) Sebelum proses *quality filtering reads* dengan NanoFilt; (b) Setelah proses, *quality filtering reads* dengan NanoFilt (Dokumentasi Pribadi).

4.3 Profil Mikrobiota Nasofaring

Analisis sekuensing gen 16S rRNA berbasis platform ONT menghasilkan identifikasi bakteri sampai pada tingkat spesies (Gambar 10). Hasil ini menunjukkan adanya variasi komposisi bakteri antara 53 spesimen. Bakteri yang paling dominan yang teridentifikasi yaitu *S. pneumoniae*, *Moraxella* sp. (terutama *M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens*, dan *M. lincolnii*), *Haemophilus influenzae*, *Dolosigranulum pigrum*, *Lactobacillus iners*, dan *Corynebacterium propinquum*.



Gambar 10 Grafik spesimen visualisasi menggunakan Rstudio (Dokumentasi Pribadi)

Pada penelitian ini, kelimpahan bakteri *S. pneumoniae* dikelompokkan ke dalam tiga kategori kolonisasi, yaitu kelimpahan tinggi (>25%), kelimpahan sedang (5-25%), dan kelimpahan rendah (<5%). Sebanyak 18 spesimen menunjukkan tingkat kelimpahan *S. pneumoniae* yang tinggi (>25%), mencapai proporsi 25-90% dari total komunitas mikrobiota nasofaring (Gambar 10). Kelompok dengan kelimpahan sedang (5-25%) terdiri dari 18 spesimen. Sementara itu, kelompok kelimpahan rendah (<5%) terdiri dari 17 spesimen.

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 9, kelompok dengan dominasi *S. pneumoniae* tinggi (>25%) menunjukkan kelimpahan bakteri lain cenderung menurun, terutama *H. influenzae*, *M. catarrhalis* dan bakteri komensal lain seperti *D. pigrum*, *C. propinquum* dan *Lactobacillus iners*. Pola ini menunjukkan adanya hubungan antagonistik atau kompetitif, di mana dominasi *S. pneumoniae* dapat menekan keberadaan bakteri lain yang juga menempati relung ekologi yang sama di nasofaring.

Berbeda dengan kelompok kelimpahan tinggi, pada kelompok kelimpahan sedang tidak ditemukan satu spesies pun yang mendominasi komunitas secara penuh. *S. pneumoniae* terdeteksi dalam proporsi yang bermakna, namun hidup berdampingan dengan spesies lain dalam proporsi yang relatif lebih seimbang. Komposisi mikrobiota pada kelompok ini lebih beragam, ditandai dengan kehadiran *Moraxella* spp. (*M. catarrhalis*, *M. lincolnii*, dan *M. nonliquefaciens*) dan *H. influenzae* sebagai patobiont, serta peningkatan bakteri komensal seperti *D. pigrum* dan *Lactobacillus iners* pada beberapa spesimen. Pola ini mencerminkan kondisi koeksistensi dinamis, di mana tidak ada spesies tunggal yang mampu mendominasi komunitas secara penuh, sehingga struktur komunitas mikrobiota relatif lebih seimbang dibandingkan kelompok kelimpahan tinggi.

Pada kelompok kelimpahan rendah, proporsi *S. pneumoniae* sangat kecil sehingga tidak lagi berperan sebagai spesies yang membentuk struktur komunitas. Komunitas mikrobiota pada kelompok ini justru menunjukkan peningkatan kelimpahan spesies lain, terutama *Moraxella* spp. dan *H. influenzae*, yang memiliki proporsi relatif lebih tinggi dibandingkan *S. pneumoniae*. Bakteri komensal seperti *D. pigrum* dan *C. propinquum* juga terdeteksi berkontribusi secara signifikan pada beberapa spesimen dalam kategori ini, disertai kehadiran *Lactobacillus iners* dengan proporsi yang bervariasi antarspesimen. Heterogenitas komposisi antarspesimen pada kelompok ini menunjukkan bahwa rendahnya proporsi *S. pneumoniae* tidak menghasilkan struktur komunitas yang seragam, melainkan mencerminkan keberagaman komposisi yang kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi dan karakteristik masing-masing individu spesimen.

Berdasarkan hasil analisis, hubungan antarspesies dalam mikrobiota nasofaring menunjukkan pola yang bervariasi, meliputi hubungan sinergis, kompetitif, dan diduga antagonistik. Hubungan sinergis terlihat pada ko-kolonisasi *S. pneumoniae* dengan *M. catarrhalis* maupun *H. influenzae*, yang ditandai dengan tingginya proporsi kedua spesies dalam sampel yang sama. Sementara itu, keberadaan bakteri komensal seperti *D. pigrum* dan *C. propinquum* yang berkorelasi negatif dengan proporsi *S. pneumoniae* mengindikasikan adanya hubungan yang diduga bersifat antagonistik dalam komunitas mikrobiota nasofaring.

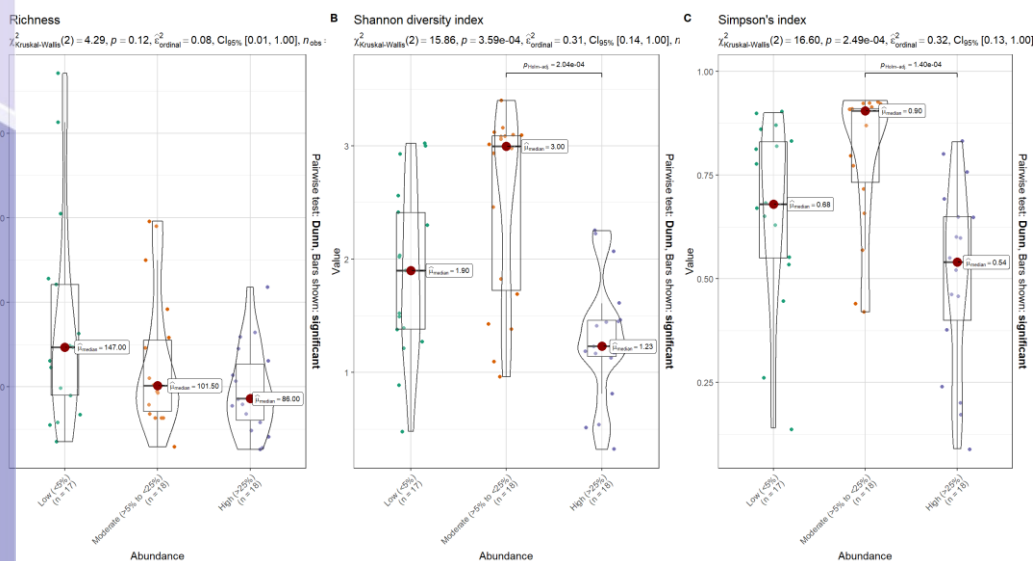
4.4 Indeks Keanekaragaman dan Indeks Kemerataan Bakteri NP Swab Berdasarkan Gen 16S rRNA

Analisis keanekaragaman alfa digunakan untuk mengevaluasi struktur komunitas bakteri nasofaring antarspesimen. Metrik *richness* untuk menghitung jumlah total taksa bakteri yang terdeteksi dalam satu spesimen. Indeks Shannon menggambarkan keanekaragaman komunitas dengan mempertimbangkan jumlah taksa bakteri serta keseimbangan distribusi kelimpahannya. Sementara itu, indeks Simpson (*D*) digunakan untuk mengukur tingkat dominasi dalam komunitas. Pada penelitian ini, nilai *richness* berkisar antara 26-471, indeks Shannon antara 0,32-3,4 dan indeks Simpson (*D*) antara 0,09-0,93. Variasi rentang ini mencerminkan heterogenitas komposisi mikrobiota yang kuat antarspesimen. Distribusi dan perbandingan ketiga metrik tersebut berdasarkan tingkat kelimpahan *S. pneumoniae* (kategori rendah <5%, sedang 5-25% dan tinggi >25%) divisualisasikan melalui boxplot pada Gambar 11.

Kelompok *richness S. pneumoniae* rendah ($n=17$) menunjukkan nilai median *richness* tinggi sebesar 147 dengan rentang interkuartil (*interquartile range*/IQR) yang lebih luas. Seiring dengan meningkatnya *richness S. pneumoniae*, nilai median *richness* menunjukkan tren penurunan median menjadi 101,50 pada kelompok sedang ($n=18$) dan nilai median terendah sebesar 86,00 pada kelimpahan tinggi ($n=18$) dengan distribusi yang lebih sempit. Tren ini mengindikasikan adanya kecenderungan pengurangan jumlah taksa bakteri penyusun komunitas mikrobiota nasofaring pada tingkat kolonisasi yang lebih tinggi. Meski demikian, hasil uji statistik Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa perbedaan nilai *richness* antarkelompok kelimpahan ini tidak signifikan secara nyata ($\chi^2 = 4,29$; $p = 0,12$) dengan ukuran efek ordinal yang tergolong kecil ($\epsilon^2_{\text{ordinal}} = 0,08$).

Indeks keanekaragaman Shannon ($\chi^2 = 15,86$; $p < 0,001$) dengan ordinal yang kuat ($\epsilon^2_{\text{ordinal}} = 0,31$). Kelompok kelimpahan sedang memiliki nilai Shannon yang tinggi sebesar 3,00 yang mencerminkan komunitas mikroba yang lebih heterogen dengan distribusi kelimpahan antarspesies yang relatif seimbang. Penurunan keanekaragaman yang drastis terjadi pada kelompok kelimpahan tinggi dengan nilai median Shannon terendah sebesar 1,23. Uji lanjut Dunn (*pairwise test*) mengonfirmasi bahwa perbedaan indeks Shannon antara kelompok kelimpahan sedang dan tinggi berbeda secara signifikan ($p < 0,001$).

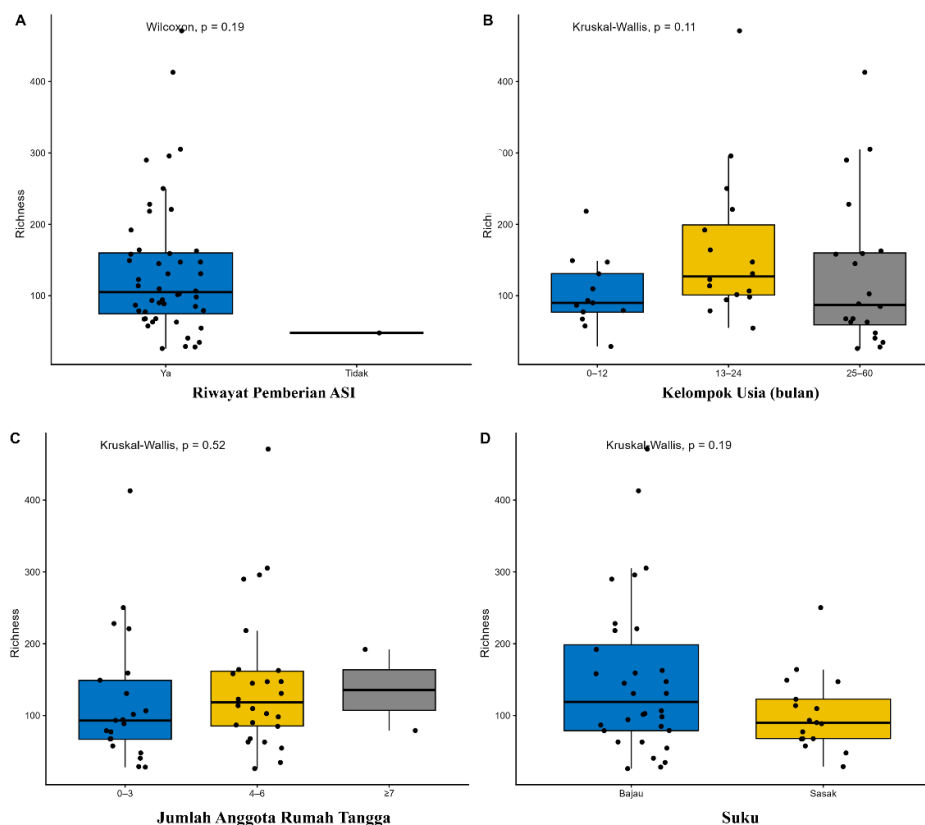
Indeks Simpson (*D*) tertinggi ditemukan pada kelompok kelimpahan sedang (median = 0,90), yang mengindikasikan terjadinya dominansi taksa tertentu yang kuat pada fase transisi kolonisasi. Hal ini diduga terjadi karena pergeseran komposisi mikrobiota pada tingkat kolonisasi *S. pneumoniae* 5-25% memicu dominansi oportunistik oleh taksa koresiden tertentu. Sebaliknya, pada kelompok kelimpahan tinggi dengan nilai median paling rendah, dengan nilai 0,54. Rendahnya nilai dominansi pada tingkat kelimpahan *S. pneumoniae* >25% ini mengindikasikan bahwa bakteri yang mampu bertahan hidup di bawah tekanan kolonisasi tinggi terdistribusi dalam kelimpahan relatif yang lebih merata, sehingga mencegah munculnya dominansi tunggal dari taksa penyusun mikrobiota nasofaring lainnya. Uji lanjut Dunn menunjukkan adanya perbedaan profil dominansi yang nyata dan signifikan secara statistik antara kelompok kelimpahan sedang dan tinggi ($p < 0,001$).



Gambar 11 Boxplot Indeks keragaman *richness*, Shannon Diversity dan Simpson dari mikrobiota nasofaring anak usia di bawah lima tahun berdasarkan gen 16S rRNA (Dokumentasi Pribadi).

Hasil analisis distribusi *richness* mikrobiota nasofaring berdasarkan faktor epidemiologi disajikan pada Gambar 12. Distribusi richness dianalisis menjadi empat kelompok karakteristik individu yang merupakan faktor host dan lingkungan tersebut, di luar pengaruh kelimpahan *S. pneumoniae*, yaitu riwayat pemberian ASI, kelompok usia, jumlah anggota rumah tangga, dan suku. Berdasarkan riwayat pemberian ASI, kelompok anak dengan riwayat pemberian ASI menunjukkan rentang nilai richness yang jauh lebih luas (median=105). Uji Wilcoxon menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata antara kedua kelompok ($p = 0,19$). Berdasarkan kelompok usia, anak usia 13-24 bulan cenderung memiliki median richness tertinggi dibandingkan dengan kelompok usia 0-12 bulan dan 25-60 bulan, dengan salah satu nilai ekstrem mencapai lebih dari 450 taksa. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa perbedaan *richness* antarkelompok usia tidak signifikan secara statistik ($p = 0,11$).

Pada faktor jumlah anggota rumah tangga, median richness relatif serupa pada ketiga kategori (0-3, 4-6, dan ≥ 7 anggota), dengan sebaran nilai yang saling tumpang tindih. Uji Kruskal-Wallis mengonfirmasi tidak adanya perbedaan yang bermakna ($p = 0,52$). Berdasarkan suku, anak dari komunitas Bajo menunjukkan median richness yang sedikit lebih tinggi (median ≈ 120) dan sebaran data yang lebih lebar dibandingkan anak dari komunitas Sasak (median ≈ 90). Namun, perbedaan ini tidak signifikan secara statistik ($p = 0,19$).



Gambar 12 Distribusi nilai *richness* komunitas mikrobiota nasofaring anak usia dibawah lima tahun berdasarkan faktor karakteristik individu. (Dokumentasi Pribadi).

Keterangan : Nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan secara statistik.

V PEMBAHASAN

5.1 Prevalensi kolonisasi *Streptococcus pneumoniae*

Prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak usia di bawah lima tahun di wilayah Alas, Sumbawa mencapai 50,7%. Menurut CDC (2025), angka kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak-anak umumnya berkisar antara 20% hingga 60%, dengan beberapa faktor risiko seperti usia, kondisi kesehatan, dan faktor lingkungan yang dapat meningkatkan kerentanan terhadap kolonisasi maupun infeksi pneumokokus.

Hasil ini juga serupa dengan publikasi di berbagai wilayah Indonesia. Penelitian di Sumba Barat Daya melaporkan prevalensi kolonisasi mencapai 87,6%, sedangkan di Gunungkidul, Yogyakarta prevalensinya hanya 30,9% (Safari *et al.* 2024). Studi lain juga menemukan variasi prevalensi, yaitu sebesar 45% di Kotabaru, Kalimantan Selatan (Salsabila *et al.* 2022), serta sekitar 27,5% di Bandung, Lombok Tengah, dan Padang (Dunne *et al.* 2018).

Karakteristik epidemiologi subjek penelitian memberikan gambaran penting mengenai faktor demografis, lingkungan dan perilaku yang berpotensi mempengaruhi kolonisasi bakteri nasofaring. Secara umum, beberapa penelitian melaporkan bahwa kolonisasi *S. pneumoniae* tidak menunjukkan perbedaan signifikan pada jenis kelamin, namun dipengaruhi oleh status gizi, durasi pemberian ASI, faktor usia dan lingkungan (Hermawan 2022).

Prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak yang berasal dari suku Bajo lebih tinggi dibandingkan dengan suku Sasak ($p = 0,0129$), yang mengindikasikan adanya perbedaan bermakna antarkelompok etnis. Sementara itu, prevalensi kolonisasi juga tercatat lebih tinggi pada rumah tangga dengan >7 anggota keluarga (53,8%), meskipun perbedaan ini tidak signifikan secara statistik ($p = 0,842$). Pola ini diduga berkaitan dengan meningkatnya intensitas kontak antarpenghuni dan risiko transmisi bakteri saluran pernapasan, sebagaimana dilaporkan oleh Parker *et al.* (2024) bahwa kepadatan penduduk merupakan salah satu faktor yang berkontribusi terhadap penularan *S. pneumoniae*. Tingginya paparan terhadap lingkungan dengan kepadatan populasi tinggi, ventilasi yang tidak memadai, serta kondisi higienitas yang kurang optimal di lingkungan perumahan, transportasi, dan fasilitas umum diduga dapat meningkatkan peluang transmisi bakteri.

Perbedaan latar belakang suku mencerminkan variasi gaya hidup, kepadatan hunian, serta kondisi lingkungan yang berpotensi memengaruhi dinamika transmisi bakteri saluran pernapasan. Penelitian yang telah dilakukan oleh Daningrat *et al.* (2024) menunjukkan bahwa faktor sosial budaya dan kondisi permukiman memiliki kontribusi terhadap kolonisasi *S. pneumoniae* terutama pada komunitas pesisir dan wilayah dengan kepadatan hunian tinggi.

Prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* paling tinggi ditemukan pada kelompok usia 13-24 (62,7%), dan menunjukkan hubungan yang signifikan ($p = 0,006$). Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dunne *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* pada anak sehat usia 13-24 bulan mencapai 49,5%. Tahun pertama kehidupan, ditandai dengan pematangan bertahap pada sistem imun mukosa dan pembentukan respons antibodi protektif. Karena komunitas mikrobiota nasofaring pada periode ini cenderung belum stabil

dan dinamis, kondisi tersebut memicu terjadinya kompetisi selektif antarmikroorganisme yang memengaruhi pola kolonisasi bakteri patogen maupun komensal (Gleeson dan Cripps 2004).

Sebanyak (63,2%; 36/57) sampel yang terpapar asap rokok terdeteksi positif *S. pneumoniae*. Paparan perokok pasif (*secondhand smoke*/SHS) diketahui meningkatkan risiko penyakit bakteri invasif (*invasive bacterial disease*/IBD) pada anak-anak melalui kerusakan epitel saluran pernapasan dan penurunan imunitas. IBD merupakan kondisi serius yang terjadi ketika bakteri menginvasi dan berkembang di bagian tubuh yang seharusnya steril, seperti darah (bakteremia) atau cairan serebrospinal (meningitis). Tiga patogen utama pada anak-anak yaitu, *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* tipe B (Hib), dan *Neisseria meningitidis* (Lee *et al.* 2010).

Paparan asap rokok merusak pembersihan mukosa dan meningkatkan sekresi lendir di saluran pernapasan atas, serta menghambat produksi interleukin dan human β -defensin pada sel epitel sinonasal. Stimulasi imun mukosa kronis pada anak yang terpapar asap rokok meningkatkan kadar IgG dan IgA, sehingga mengganggu fungsi mikrobiota komensal dan memberikan keunggulan kompetitif bagi patogen seperti *S. pneumoniae* akibat kerusakan epitel (Bugova *et al.* 2018). Paparan asap rokok dikaitkan dengan penyakit saluran pernapasan atas dan bawah, seperti otitis media akut, asma, meningitis, batuk, bronkitis, pneumonia, dan gangguan fungsi paru-paru (Joya *et al.* 2014).

5.2 Kuantifikasi DNA dan Kontrol Kualitas Sekuensing

Keberhasilan seluruh 53 spesimen menghasilkan pita tunggal pada kisaran ± 1.500 pb sesuai dengan panjang teoritis gen 16S rRNA *full-length* yang diamplifikasi menggunakan primer 27F dan 1492R. Hasil ini menjadi kontrol kualitas sebelum tahap *library preparation*. Pita tunggal yang jernih tanpa smear atau pita nonspesifik mengindikasikan bahwa DNA template tidak mengalami degradasi signifikan dan bebas dari kontaminan penghambat PCR (inhibitor), sehingga produk amplikon layak dilanjutkan ke tahap barcoding dan ligasi adapter (ONT 2025). Filtering QC pada *raw reads* menggunakan NanoFilt versi 2.8.0 dengan kriteria penyaringan skor kualitas $Q \geq 12$ dan panjang baca 1.200-1.700 pb. Penyaringan menggunakan skor kualitas minimum $Q \geq 12$ pada model *hac* dan *sup* untuk *basecalling*, dengan rentang panjang baca 1.200-1.700 bp, untuk memastikan reads berkualitas tinggi yang digunakan dalam analisis *downstream*. Filtrasi menggunakan NanoFilt berfungsi untuk menghilangkan *reads* yang terlalu pendek hingga kemungkinan merupakan artefak amplifikasi, serta membuang *reads* berkualitas rendah yang berpotensi menghasilkan klasifikasi taksonomi *false positive* (Aja-Macaya *et al.* 2025).

5.3 Profil mikrobiota nasofaring

Berdasarkan hasil sekuensing 16S rRNA pada Gambar 9, kelompok spesimen dengan kelimpahan *S. pneumoniae* tinggi (>25%) menunjukkan berkurangnya kelimpahan bakteri komensal, yang mengakibatkan ketidakseimbangan ekosistem atau disbiosis (de Steenhuijsen Piers *et al.* 2016). Kondisi ini didukung oleh kemampuan *S. pneumoniae* untuk bertahan dalam berbagai kondisi lingkungan. Pada lingkungan kaya nutrisi seperti air liur manusia *ex vivo*, *S. pneumoniae* diketahui mampu bertahan hidup selama beberapa hari. Sementara itu, pada kondisi

miskin nutrisi seperti cairan permukaan saluran napas, ekspresi *pneumolisin* (*Ply*) dan kapsul (lokus *cps*) berperan meningkatkan kelangsungan hidup bakteri melalui induksi peradangan dan pemanfaatan cadangan glikan (Weiser *et al.* 2018).

Kapsul polisakarida *S. pneumoniae* berperan dalam perlindungan bakteri terhadap respons imun (Tamkin *et al.* 2024.). Selain bertahan dari sistem imun, *S. pneumoniae* juga menunjukkan kemampuan membangun hubungan sinergis dengan bakteri patogen lain di nasofaring. Interaksi antara *S. pneumoniae* dan *M. catarrhalis*, misalnya, tidak hanya bersifat koeksistensi, tetapi juga memberikan keuntungan timbal balik melalui mekanisme perlindungan tidak langsung. *Moraxella catarrhalis* menghasilkan β -laktamase yang melindungi *S. pneumoniae* dari antibiotik golongan β -laktam, sementara *S. pneumoniae* dapat memberikan resistensi makrolida kepada *M. catarrhalis* (Loughran *et al.* 2019). Dalam penelitian ini, hubungan sinergis antara kedua spesies tersebut teridentifikasi pada 7 dari 53 sampel (13,21%), yaitu pada sampel BGN1063, BGN1179, BGN1077, BGN1219, BGN1104, BGN1087, dan BGN1326. Temuan ini memperkuat adanya interaksi kooperatif antarpatogen dalam komunitas mikrobiota nasofaring yang berpotensi memengaruhi dinamika kolonisasi.

Berbeda dengan kelompok kelimpahan tinggi, kelompok kelimpahan sedang (5–25%) dicirikan oleh proporsi *S. pneumoniae* yang lebih rendah dan disertai peningkatan kelimpahan bakteri lain secara bersamaan, seperti *Moraxella* sp. (*M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens*, dan *M. lincolnii*), *Lactobacillus iners*, *Dolosigranulum pigrum*, dan *Corynebacterium propinquum*. Komposisi ini mencerminkan keseimbangan komunitas mikrobiota yang lebih stabil, di mana dominasi patogen tunggal cenderung terhambat oleh keberadaan bakteri lain dalam relung ekologi yang sama. Secara khusus, kehadiran *D. pigrum* dan *C. propinquum* secara bersamaan menunjukkan kecenderungan efek antagonistik terhadap *S. pneumoniae*, yang tercermin dari rendahnya proporsi *S. pneumoniae* pada spesimen dengan kedua bakteri komensal tersebut (Cisneros *et al.* 2025).

Penurunan proporsi *S. pneumoniae* pada penelitian ini, disebabkan adanya keberadaan *Dolosigranulum pigrum* teridentifikasi pada 10 dari 53 sampel (18,87%), yaitu BGN1161, BGN1107, BGN1116, BGN1181, BGN1115, BGN1166, BGN1109, BGN1157, BGN1155, dan BGN1094. Sementara itu, pola serupa pada *C. propinquum* ditemukan pada 5 dari 53 sampel (9,43%), yaitu BGN1107, BGN1101, BGN1161, BGN1094, dan BGN1115. Temuan ini konsisten dengan berbagai studi yang menunjukkan bahwa *C. propinquum* mampu menghambat kolonisasi patogen melalui berbagai mekanisme. Mekanisme tersebut meliputi stimulasi respons imun awal melalui peningkatan sitokin proinflamasi (IL-6 dan TNF- α) yang kemudian diikuti oleh IL-10 untuk resolusi inflamasi (Bergenfelz *et al.* 2025), serta kompetisi nutrisi melalui produksi siderofor yang mengikat zat besi sehingga menciptakan persaingan nutrisi di nasofaring. Beberapa spesies *Corynebacterium* juga mengekspresikan molekul fosforilkolin (ChoP) yang mengurangi kemampuan *S. pneumoniae* untuk mengikat reseptor epitel. Selain itu, aktivasi sel myeloid inflamasi oleh *Corynebacterium* turut memperkuat pertahanan imun bawaan pada paru-paru dan saluran pernapasan bagian atas, sehingga berperan sebagai mekanisme perlindungan alami terhadap kolonisasi patogen (Horn *et al.* 2022). Sementara itu, *Dolosigranulum pigrum* diketahui mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti bakteriosin, berkompetisi dalam pemanfaatan nutrisi, serta memproduksi asam laktat yang dapat menurunkan pH

mikrobioma hidung, sehingga menciptakan kondisi yang kurang optimal bagi pertumbuhan *S. pneumoniae* (Cisneros *et al.* 2025).

Meskipun *Lactobacillus iners* lebih dikenal sebagai spesies yang dominan pada mikrobiota vagina, beberapa penelitian melaporkan bahwa spesies *Lactobacillus*, termasuk *L. casei/paracasei/zeae*, *L. iners*, dan *L. curvatus/sakei*, juga dapat terdeteksi pada mikrobiota saluran pernapasan atas, termasuk nasofaring (De Boeck *et al.* 2020). Keberadaan *Lactobacillus* di nasofaring diduga berperan dalam menekan pertumbuhan bakteri *patobiont* melalui produksi asam laktat yang menurunkan pH lingkungan mikro, sehingga menciptakan kondisi yang kurang optimal bagi pertumbuhan patogen seperti *S. pneumoniae* (Yildiz *et al.* 2020). Meskipun demikian, penelitian yang secara spesifik mengkaji peran *L. iners* dalam menghambat kolonisasi *S. pneumoniae* di nasofaring masih sangat terbatas, sehingga diperlukan kajian lebih lanjut untuk memahami kontribusinya dalam dinamika ekosistem mikrobiota nasofaring.

Interaksi antara bakteri *H. influenzae* dan *S. pneumoniae* pada beberapa spesimen pada penelitian ini menunjukkan interaksi dinamis, meliputi hubungan sinergis dan kompetitif. Hubungan sinergis teridentifikasi pada 5 dari 53 sampel (9,4%), yaitu BGN1057, BGN1317, BGN1168, BGN1083, BGN1180, yang ditandai dengan tingginya proporsi relatif kedua spesies secara bersamaan. Kondisi ini mengindikasikan bahwa kedua bakteri dapat berko-kolonisasi dan berpotensi saling mendukung dalam meningkatkan kemampuan bertahan hidup di lingkungan nasofaring. Temuan ini sejalan dengan laporan Chen *et al.* (2015) bahwa interaksi antara *H. influenzae* dan *S. pneumoniae* dapat memengaruhi dinamika kolonisasi di nasofaring, mengingat keduanya merupakan penyebab utama infeksi saluran pernapasan dan berperan penting dalam ekologi mikrobiota nasofaring. Sebaliknya, pada sebagian besar spesimen lainnya juga ditemukan kecenderungan hubungan kompetitif antara kedua spesies tersebut. Pola ini teridentifikasi pada 17 dari 53 sampel (32,08%), yaitu BGN1165, BGN1108, BGN1176, BGN1076, BGN1224, BGN1075, BGN1095, BGN1156, BGN1060, BGN1167, BGN1055, BGN1062, BGN1327, BGN1310, BGN1114, BGN1066, dan BGN1087, yang ditandai dengan dominansi *S. pneumoniae* disertai penurunan proporsi *H. influenzae*. Fenomena ini mengindikasikan adanya kompetisi dalam niche nasofaring, yang kemungkinan berkaitan dengan perebutan sumber nutrisi maupun ruang kolonisasi. Hal ini, dikaitkan dengan kemampuan *S. pneumoniae* menghasilkan hidrogen peroksida melalui aktivitas enzim piruvat oksidase yang dikodekan oleh gen *spxB* pada kondisi pertumbuhan aerobik. Hidrogen peroksida yang dihasilkan dapat menghambat atau membunuh *H. influenzae*. Sebaliknya, strain *S. pneumoniae* yang mengalami mutasi pada gen *spxB* akan menunjukkan kemampuan yang lebih terbatas dalam menghambat pertumbuhan *H. influenzae* (Pericone *et al.* 2000).

Kelompok kelimpahan rendah (<5%) menunjukkan peningkatan kelimpahan *Moraxella* sp. yang sangat dominan pada beberapa sampel, disertai dengan keberadaan yang konsisten *Dolosigranulum pigrum* dan *Corynebacterium propinquum* pada tingkat yang tinggi, serta peningkatan *Haemophilus influenzae* dan *Lactobacillus iners* pada beberapa sampel lainnya. Menurut De Steenhuijsen PETERS *et al.* (2016) komposisi yang didominasi oleh taksa komensal mencerminkan pemulihan homeostasis mikroba dan tidak adanya pertumbuhan berlebih patogen.

5.4 Indeks Keanekaragaman dan Indeks Kemerataan Bakteri NP Swab Berdasarkan Gen 16S rRNA

Analisis keanekaragaman alfa dilakukan menggunakan indeks keanekaragaman Shannon dan *richness* untuk mengevaluasi struktur komunitas mikrobiota pada nasofaring. Indeks keanekaragaman Shannon menggambarkan tingkat keanekaragaman komunitas dengan mempertimbangkan kekayaan spesies serta keseragaman kelimpahan relatif antarspesies dalam suatu sampel. Nilai indeks ini meningkat apabila jumlah spesies lebih banyak dan distribusi kelimpahan antarspesies lebih merata. Sementara itu, *richness* menggambarkan jumlah total spesies atau *Operational Taxonomic Units* (OTU) yang terdeteksi dalam suatu sampel, sehingga mencerminkan tingkat kekayaan takson tanpa mempertimbangkan kelimpahan relatif masing-masing spesies (Samuthpongton et al. 2021).

Spesimen dengan nilai Shannon dan *richness* yang lebih tinggi menunjukkan komunitas mikrobiota yang lebih kompleks dan seimbang. Kondisi ini mencerminkan adanya interaksi dari berbagai bakteri komensal yang berperan dalam mempertahankan stabilitas ekosistem mikrobiota nasofaring. Keanekaragaman mikrobiota yang tinggi sering dikaitkan dengan kondisi ekosistem mikroba yang lebih stabil dan mampu menghambat kolonisasi patogen melalui mekanisme kompetisi nutrisi maupun produksi senyawa antimikroba.

Kelompok kelimpahan tinggi relatif didominasi oleh bakteri *S. pneumoniae* atau *Moraxella* sp., umumnya menunjukkan nilai indeks Shannon dan *richness* yang rendah. Kondisi ini mencerminkan komunitas mikrobiota yang tidak seimbang, di mana satu spesies bakteri mendominasi dan menekan keberadaan bakteri lain (Helal dan Bari 2025). Menurut Flynn and Dooley (2021), dominasi patogen pada *Upper Respiratory Tract* (URT) seperti *S. pneumoniae* telah banyak dilaporkan berasosiasi dengan penurunan keanekaragaman mikrobiota dan kondisi disbiosis pada saluran URT.

Pada kelompok kelimpahan sedang, *S. pneumoniae* masih terdeteksi dalam proporsi yang bermakna (5-25%), namun tidak mendominasi komunitas secara tunggal. Kondisi ini ditandai dengan meningkatnya kelimpahan bakteri lain secara bersamaan, seperti *Moraxella* sp. (*M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens*, dan *M. lincolnii*), *Lactobacillus iners*, *Dolosigranulum pigrum*, dan *Corynebacterium* sp. *propinquum*, yang mencerminkan pola koeksistensi antarspesies. Keberadaan bakteri-bakteri tersebut berpotensi menghambat dominasi *S. pneumoniae* secara penuh melalui kompetisi nutrisi dan produksi senyawa antimikroba, sehingga mendukung stabilitas ekosistem mikrobiota nasofaring. Nilai indeks Shannon yang paling tinggi di antara ketiga kelompok pada kategori ini mencerminkan distribusi kelimpahan antarspesies yang paling merata, menandakan kondisi keseimbangan dinamis di mana patogen dan bakteri komensal berkoeksistensi tanpa salah satunya mendominasi secara berlebihan.

Berbeda dengan kelompok sedang yang masih menunjukkan koeksistensi antara *S. pneumoniae* dan bakteri lain, kelompok kelimpahan rendah (<5%) didominasi oleh proporsi *S. pneumoniae* yang sangat kecil sehingga tidak lagi berperan sebagai spesies yang membentuk struktur komunitas. Pada kondisi ini, komunitas mikrobiota nasofaring cenderung didominasi oleh taksa komensal seperti *Corynebacterium* sp. dan *Dolosigranulum* sp., yang secara konsisten terdeteksi dengan kelimpahan relatif lebih tinggi dibandingkan kedua kelompok

lainnya. Meskipun demikian, nilai keanekaragaman alfa pada kelompok ini justru menunjukkan variasi yang lebih besar antarspesimen dibandingkan kelompok sedang, yang mengindikasikan bahwa rendahnya *S. pneumoniae* tidak selalu berarti komunitas mikrobiota sepenuhnya seragam. Heterogenitas ini kemungkinan dipengaruhi oleh faktor usia, tingkat paparan lingkungan, serta dinamika kolonisasi bakteri yang bersifat sementara (Pinheiro *et al.* 2020; Quinn-Bohmann *et al.* 2024), Dominasi bakteri komensal pada kelompok ini dikaitkan dengan terjaganya homeostasis nasofaring serta rendahnya kelimpahan *S. pneumoniae* dan *H. influenzae* (Azevedo *et al.* 2023; Cremers *et al.* 2014), yang mencerminkan kondisi ekosistem yang mendekati keseimbangan penuh.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

VI SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

Prevalensi kolonisasi *S. pneumoniae* pada penelitian ini adalah 50,7% (147/290). Prevalensi pembawa (*carriage*) *S. pneumoniae* adalah 56,7% pada anak-anak suku Bajo dan 46,6% pada anak-anak Sasak. Prevalensi pembawa (*carriage*) juga berbeda antara kategori usia, jumlah anggota keluarga, dan jenis bahan bakar. Analisis mikrobiota (n=53 spesimen) menunjukkan bahwa nilai *richness* 26-471, indeks keanekaragaman Shannon berkisar antara 0,32-3,4 dan indeks Simpson (*D*) 0,09-0,93. Kategori kelimpahan *S. pneumoniae* yang tinggi dikaitkan dengan berkurangnya keragaman mikrobiota. Kategori kolonisasi sedang mencerminkan mikrobiota yang relatif seimbang, sedangkan kategori rendah mencerminkan dominasi bakteri komensal, menunjukkan pemeliharaan homeostasis pernapasan.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil dan keterbatasan penelitian ini, beberapa saran diajukan untuk penelitian selanjutnya. Perlu dilakukan studi longitudinal untuk memahami dinamika perubahan komposisi mikrobiota nasofaring seiring waktu, khususnya dalam kaitannya dengan perkembangan usia anak, musim, dan pemberian vaksinasi, sehingga dapat diperoleh gambaran yang lebih komprehensif mengenai faktor-faktor yang memengaruhi stabilitas ekosistem mikrobiota nasofaring.

DAFTAR PUSTAKA

- Aja-Macaya P, Conde-Pérez K, Trigo-Tasende N, Buetas E, Nasser-Ali M, Níón P, Rumbo-Feal S, Ladra S, Bou G, Mira Á, *et al.* 2025. Nanopore full length 16S rRNA gene sequencing increases species resolution in bacterial biomarker discovery. *Sci Rep.* 15(1):26486. doi:10.1038/s41598-025-10999-8.
- Allegrucci M, Sauer K. 2007. Characterization of colony morphology variants isolated from *Streptococcus pneumoniae* biofilms. *J Bacteriol.* 189(5):2030–2038. doi:10.1128/jb.01369-06.
- Allegrucci M, Sauer K. 2008. Formation of *Streptococcus pneumoniae* non-phase-variable colony variants is due to increased mutation frequency present under biofilm growth conditions. *J Bacteriol.* 190(19):6330–6339. doi:10.1128/jb.00707-08.
- Auranen K, Mehtälä J, Tanskanen A, S. Kaltoft M. 2010. Between-strain competition in acquisition and clearance of pneumococcal carriage epidemiologic evidence from a longitudinal study of day-care children. *Am J Epidemiol.* 171(2):169–176. doi:10.1093/aje/kwp351.
- Azevedo AC, Hilário S, Gonçalves MFM. 2023. Microbiome in nasal mucosa of children and adolescents with allergic rhinitis: A Systematic Review. *Children.* 10(2):226. doi:10.3390/children10020226.
- Ballarini S, Rossi GA, Principi N, Esposito S. 2021. Dysbiosis in pediatrics is associated with respiratory infections: is there a place for bacterial-derived products? *Microorganisms.* 9(2):448. doi:10.3390/microorganisms9020448.
- Bergenfels C, Do P, Larsson L, Ivarsson H, Malmborn K, Håkansson AP. 2025. *Corynebacteria* from the respiratory microbiota modulate inflammatory responses and associate with a reduced pneumococcal burden in the lungs. *Front Cell Infect Microbiol.* 14. doi:10.3389/fcimb.2024.1530178.
- Berical AC, Harris D, Dela Cruz CS, Possick JD. 2016. Pneumococcal vaccination strategies. An update and perspective. *Ann Am Thorac Soc.* 13(6):933–944. doi:10.1513/AnnalsATS.201511-778FR.
- Biesbroek G, Tsivtsivadze E, Sanders EAM, Montijn R, Veenhoven RH, Keijser BJF, Bogaert D. 2014. Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *Am J Respir Crit Care Med.* 190(11):1283–1292. doi:10.1164/rccm.201407-1240OC.
- Boers SA, Jansen R, Hays JP. 2019. Understanding and overcoming the pitfalls and biases of next-generation sequencing (NGS) methods for use in the routine clinical microbiological diagnostic laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 38(6):1059–1070. doi:10.1007/s10096-019-03520-3.
- Bogaert D, Keijser B, Huse S, Rossen J, Veenhoven R, van Gils E, Bruin J, Montijn R, Bonten M, Sanders E. 2011. Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis. *PloS One.* 6(2):e17035. doi:10.1371/journal.pone.0017035.
- Bosch AATM, Levin E, Houten MA van, Hasrat R, Kalkman G, Biesbroek G, Piters WAA de S, Groot P-KCM de, Pernet P, Keijser BJF, *et al.* 2016. Development of upper respiratory tract microbiota in infancy is affected by mode of delivery. *eBioMedicine.* 9:336–345. doi:10.1016/j.ebiom.2016.05.031.

- Bosch AATM, Piters WAA de S, van Houten MA, Chu MLJN, Biesbroek G, Kool J, Pernet P, de Groot P-KCM, Eijkemans MJC, Keijser BJF, *et al.* 2017. Maturation of the infant respiratory microbiota, environmental drivers, and health consequences. A prospective cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 196(12):1582–1590. doi:10.1164/rccm.201703-0554OC.
- Bugova G, Janickova M, Uhliarova B, Babela R, Jesenak M. 2018. The effect of passive smoking on bacterial colonisation of the upper airways and selected laboratory parameters in children. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 38(5):431–438. doi:10.14639/0392-100X-1573.
- [CDC] Centers for Disease Control and Prevention. 2025 Jan 21. Clinical overview of pneumococcal disease. *Pneumococcal Dis.* [diakses 2025 Agu 17]. <https://www.cdc.gov/pneumococcal/hcp/clinical-overview/index.html>.
- Chen H-X, Lai C-H, Hsu H-Y, Huang J-C, Wu H-S, Ho M-W, Tsai M-H, Lin C-D. 2015. The bacterial interactions in the nasopharynx of children receiving adenoidectomy. *BioMedicine.* 5(1):6. doi:10.7603/s40681-015-0006-9.
- Chonmaitree T, Jennings K, Golovko G, Khanipov K, Pimenova M, Patel JA, McCormick DP, Loeffelholz MJ, Fofanov Y. 2017. Nasopharyngeal microbiota in infants and changes during viral upper respiratory tract infection and acute otitis media. *PLoS ONE.* 12(7):e0180630. doi:10.1371/journal.pone.0180630.
- Cisneros M, Blanco-Fuertes M, Lluansí A, Brotons P, Henares D, Pérez-Argüello A, González-Comino G, Ciruela P, Mira A, Muñoz-Almagro C. 2025. Synergistic inhibition of pneumococcal growth by *Dolosigranulum pigrum* and *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*: insights into nasopharyngeal microbial interactions. *Microbiol Spectr.* 13(7):e00138-25. doi:10.1128/spectrum.00138-25.
- CJ Bioscience. 2017. 16S rRNA and 16S rRNA Gene – EzBioCloud Help center. [diakses 2026 Jul 16]. <https://help.ezbiocloud.net/16s-rna-and-16s-rna-gene/>.
- Cleary DW, Jones J, Gladstone RA, Osman KL, Devine VT, Jefferies JM, Bentley SD, Faust SN, Clarke SC. 2022. Changes in serotype prevalence of *Streptococcus pneumoniae* in Southampton, UK between 2006 and 2018. *Sci Rep.* 12(1):13332. doi:10.1038/s41598-022-17600-6.
- Cremers AJ, Zomer AL, Gritzfeld JF, Ferwerda G, van Hijum SA, Ferreira DM, Shak JR, Klugman KP, Boekhorst J, Timmerman HM, *et al.* 2014. The adult nasopharyngeal microbiome as a determinant of pneumococcal acquisition. *Microbiome.* 2(1):44. doi:10.1186/2049-2618-2-44.
- Danigrat WOD, Amalia H, Ayu IM, Satzke C, Safari D. 2022. Carriage of *Streptococcus pneumoniae* in children under five years of age prior to pneumococcal vaccine introduction in Southeast Asia: A systematic review and meta-analysis (2001–2019). *J Microbiol Immunol Infect.* 55(1):6–17. doi:10.1016/j.jmii.2021.08.002.
- Danigrat WOD, Paramaiswari WT, Putri HFM, Aanensen D, Safari D. 2024. Prevalence, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility profile of *Streptococcus pneumoniae* in Sea Nomad children under 5 years of age in Wakatobi, Southeast Sulawesi, Indonesia: a cross-sectional study. *J Glob Anti-microb Resist.* 39:93–99. doi:10.1016/j.jgar.2024.08.006.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Darkwah S, Somda NS, Mahazu S, Donkor ES. 2025. Pneumococcal serotypes and their association with death risk in invasive pneumococcal disease: A systematic review and meta-analysis. *Front Med.* 12. doi:10.3389/fmed.2025.1566502.
- De Boeck I, Van Den Broek MFL, Allonsius CN, Spacova I, Wittouck S, Martens K, Wuyts S, Cauwenberghs E, Jokicevic K, Vandenheuvel D, *et al.* 2020. *Lactobacilli* have a niche in the human nose. *Cell Rep.* 31(8):107674. doi:10.1016/j.celrep.2020.107674.
- Ding Y, Wang Q, Li D, Yao K, Wang T. 2020. Abundance of the nasopharyngeal microbiome effects pertussis diagnosis and explains the sensitivity difference between bacterial culture and real-time PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 39(3):501–507. doi:10.1007/s10096-019-03750-5.
- Dunne EM, Murad C, Sudigdoadi S, Fadlyana E, Tarigan R, Indriyani SAK, Pell CL, Watts E, Satzke C, Hinds J, *et al.* 2018. Carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* in Indonesian children: A cross-sectional study. *PLOS ONE.* 13(4):e0195098. doi:10.1371/journal.pone.0195098.
- Esberg A, Fries N, Haworth S, Johansson I. 2024. Saliva microbiome profiling by full-gene 16S rRNA Oxford Nanopore Technology versus Illumina Miseq sequencing. *Npj Biofilms Microbiomes.* 10(1):149. doi:10.1038/s41522-024-00634-1.
- Febriani ADB, Putri NS, Alasiry E, Daud D. 2020. Nasopharyngeal colonization at birth and the development of early-onset neonatal sepsis. *Paediatr Indones.* 60(6):287–92. doi:10.14238/pi60.6.2020.287-92.
- Flynn M, Dooley J. 2021. The microbiome of the nasopharynx. *J Med Microbiol.* 70(6). doi:10.1099/jmm.0.001368.
- Geli-Cruz O, Santos-Flores C, Cafaro M, Ropelewski A, Van Dam A. 2023. Benchmarking assembly free nanopore read mappers to classify complex millipede gut microbiota via Oxford Nanopore Sequencing Technology. *J Biol Methods.* 10:e99010003. doi:10.14440/jbm.2023.376.
- Gioula G, Melidou A, Siasios P, Minti F, Malisiovas N. 2018. 16S rRNA deep sequencing for the characterization of healthy human pharyngeal microbiome. *Hippokratia.* 22(1):29–36.
- Gleeson M, Cripps AW. 2004. Development of mucosal immunity in the first year of life and relationship to sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 42(1):21–33. doi:10.1016/j.femsim.2004.06.012.
- Grant LR, Apodaca K, Deshpande L, Kimbrough JH, Hayford K, Yan Q, Mendes R, Cané A, Gessner BD, Arguedas A. 2024. Characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates obtained from the middle ear fluid of US children, 2011–2021. *Front Pediatr.* 12. doi:10.3389/fped.2024.1383748.
- Hadinegoro SR, Prayitno A, Khoeri MM, Djelantik IGG, Dewi NE, Indriyani SAK, Muttaqin Z, Mudaliana S, Safari D. 2016. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in healthy children under five years old in central Lombok regency, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 47(3).
- Hashimji AH, Murshida CP, Thomas J. 2026. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species level microbiome analysis in *Channa striata*. *Mater Today Proc.* 125:48–53. doi:10.1016/j.matpr.2023.11.053.

- He T, Jansonius K, Li X, Reilly AM, Sevgin B, Setroikromo R, Hackl T, Haslinger K. 2024. Effective metabarcoding of endophytic fungi through host-exclusive primer design for nanopore long-read sequencing. :2024.11.25.625223. doi: 10.1101/2024.11.25.625223.
- Helal M, Bari VK. 2025. Insights into human respiratory microbiome under dysbiosis and its analysis tool. *Front Microbiomes*. 4. doi:10.3389/frmbi.2025.1549166.
- Henriques-Normark B, Normark S. 2010. Commensal pathogens, with a focus on *Streptococcus pneumoniae*, and interactions with the human host. *Exp Cell Res*. 316(8):1408–1414. doi:10.1016/j.yexcr.2010.03.003.
- Hermawan A. 2022. The environmental factors and sociodemographic characteristics of pneumonia incidence in Indonesia. *J Aisyah J Ilmu Kesehatan*. 7(4). doi:10.30604/jika.v7i4.1329.
- Horn KJ, Vivar ACJ, Arenas V, Andani S, Janoff EN, Clark SE. 2022. *Corynebacterium* species inhibit *Streptococcus pneumoniae* colonization and infection of the mouse airway. *Front Microbiol*. 12:804935. doi:10.3389/fmicb.2021.804935.
- Hyblova M, Hadzega D, Babisova K, Krumpolec P, Gnip A, Sabaka P, Lassan S, Minarik G. 2023. Metatranscriptome analysis of nasopharyngeal swabs across the varying severity of COVID-19 disease demonstrated unprecedented species diversity. *Microorganisms*. 11(7):1804. doi:10.3390/microorganisms11071804.
- Izurieta P, Bahety P, Adegbola R, Clarke C, and Hoet B. 2018. Public health impact of pneumococcal conjugate vaccine infant immunization programs: assessment of invasive pneumococcal disease burden and serotype distribution. *Expert Rev Vaccines*. 17(6):479–493. doi:10.1080/14760584.2018.1413354.
- Joya X, Manzano C, Álvarez A-T, Mercadal M, Torres F, Salat-Batlle J, Garcia-Algar O. 2014. Transgenerational exposure to environmental tobacco smoke. *Int J Environ Res Public Health*. 11(7):7261–7274. doi:10.3390/ijerph110707261.
- Kang HM, Kang JH. 2021. Effects of nasopharyngeal microbiota in respiratory infections and allergies. *Clin Exp Pediatr*. 64(11):543–551. doi:10.3345/cep.2020.01452.
- Kehagia E, Papakyriakopoulou P, Valsami G. 2023. Advances in intranasal vaccine delivery: a promising non-invasive route of immunization. *Vaccine*. 41(24):3589–3603. doi:10.1016/j.vaccine.2023.05.011.
- Kelly MS, Shi P, Boiditswe SC, Qin E, Steenhoff AP, Mazhani T, Patel MZ, Cunningham CK, Rawls JF, Luinstra K, et al. 2025. Role of the upper airway microbiota in respiratory virus and bacterial pathobiont dynamics in the first year of life. *Nat Commun*. 16(1):5195. doi:10.1038/s41467-025-60552-4.
- Khan R, Petersen FC, Shekhar S. 2019. Commensal bacteria: an emerging player in defense against respiratory pathogens. *Front Immunol*. 10. doi:10.3389/fimmu.2019.01203.
- Khoeri MM, Maladan Y, Salsabila K, Alimsardjono L, Vermasari N, Puspitasari I, Yunita R, Tafroji W, Sarassari R, Sari RF, et al. 2024. Whole genome sequencing data of *Streptococcus pneumoniae* isolated from Indonesian population. *Data Brief*. 53:110251. doi:10.1016/j.dib.2024.110251.

@Hak Cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Kumpitsch C, Koskinen K, Schöpf V, Moissl-Eichinger C. 2019. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. *BMC Biol.* 17(1):87. doi:10.1186/s12915-019-0703-z.
- Larin AK, Klimina KM, Veselovsky VA, Olekhovich EI, Morozov MD, Boldyreva DI, Yunes RA, Manolov AI, Fedorov DE, Pavlenko AV, *et al.* 2024. An improved and extended dual-index multiplexed 16S rRNA sequencing for the Illumina HiSeq and MiSeq platform. *BMC Genomic Data.* 25(1):8. doi:10.1186/s12863-024-01192-3.
- Lee C-C, Middaugh NA, Howie SRC, Ezzati M. 2010. Association of secondhand smoke exposure with pediatric invasive bacterial disease and bacterial carriage: A systematic review and meta-analysis. *PLOS Med.* 7(12):e1000374. doi:10.1371/journal.pmed.1000374.
- Li C, Duda KA, Elverdal PL, Skovsted IC, Kjeldsen C, Teze D, Duus JØ. 2021. Structural, biosynthetic and serological cross-reactive elucidation of capsular polysaccharides from *Streptococcus pneumoniae* serogroup 28. *Carbohydr Polym.* 254:117323. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117323.
- Lin X, Waring K, Tyson J, Ziels RM. 2023. High-accuracy meets high-throughput for microbiome profiling with near full-length 16S rRNA amplicon sequencing on the Nanopore platform.
- Lluansi A, Brotons P, Díaz M, Rigalos A, Garcia-Beltran C, Pérez-Argüello A, Cisneros M, Blanco-Fuertes M, Henares D, Ibáñez L, *et al.* 2025. Early development and dynamics of nasopharyngeal microbiota in infants during the COVID-19 pandemic: a 2-year prospective birth cohort study. *Respir Res.* 26(1):240. doi:10.1186/s12931-025-03307-5.
- Loughran AJ, Orihuela CJ, Tuomanen EI. 2019. *Streptococcus pneumoniae*: invasion and inflammation. *Microbiol Spectr.* 7(2):10.1128/microbiolspec.gpp3-0004-2018. doi:10.1128/microbiolspec.gpp3-0004-2018.
- Low L, Fuentes-Utrilla P, Hodson J, O'Neil JD, Rossiter AE, Begum G, Suleiman K, Murray PI, Wallace GR, Loman NJ, *et al.* 2021. Evaluation of full-length nanopore 16S sequencing for detection of pathogens in microbial keratitis. *PeerJ.* 9:e10778. doi:10.7717/peerj.10778.
- Mackenzie GA, Hill PC, Jeffries DJ, Ndiaye M, Sahito SM, Hossain I, Uchendu U, Ameh D, Adeyemi O, Pathirana J, *et al.* 2021. Impact of the introduction of pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease and pneumonia in The Gambia: 10 years of population-based surveillance. *Lancet Infect Dis.* 21(9):1293–1302. doi:10.1016/S1473-3099(20)30880-X.
- Marchesi JR, Ravel J. 2015. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome.* 3(1):31. doi:10.1186/s40168-015-0094-5.
- Mee MT, Collins JJ, Church GM, Wang HH. 2014. Syntrophic exchange in synthetic microbial communities. *Proc Natl Acad Sci.* 111(20):E2149–E2156. doi:10.1073/pnas.1405641111.
- Mihaela BA, Dina B, Adela, Dorina HB, Dorina S, and Olesea G. 2021. Bacteriological profile from nasopharyngeal aspirates in children under 5 years with acute respiratory infections. *Int J Sci Res Publ IJSRP.* 11(10):257–259. doi:10.29322/IJSRP.11.10.2021.p11828.
- Mizgerd JP. 2014. The Infant Nose. Introducing the respiratory tract to the world. *Am J Respir Crit Care Med.* 190(11):1206–1207. doi:10.1164/rccm.201410-1919ED.

- Moënne-Loccoz Y, Mavingui P, Combes C, Normand P, Steinberg C. 2015. Microorganisms and Biotic Interactions. Di dalam: Bertrand J-C, Caumette P, Lebaron P, Matheron R, Normand P, Sime-Ngando T, editor. *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications: Microbial Ecology*. Dordrecht: Springer Netherlands. hlm 395–444.
- Morris BEL, Henneberger R, Huber H, Moissl-Eichinger C. 2013. Microbial syntrophy: interaction for the common good. *FEMS Microbiol Rev*. 37(3):384–406. doi:10.1111/1574-6976.12019.
- Mudawaroch RE, Setiyono S, Yusiati LM, Suryanto E. 2024. Molecular identification of lactic acid bacteria from broiler chicken meat. *Agroindustrial J*. 10(2):101. doi:10.22146/aij.v10i2.89982.
- Nikodemova M, Holzhausen EA, Deblois CL, Barnet JH, Peppard PE, Suen G, Malecki KM. 2023. The effect of low-abundance OTU filtering methods on the reliability and variability of microbial composition assessed by 16S rRNA amplicon sequencing. *Front Cell Infect Microbiol*. 13. doi:10.3389/fcimb.2023.1165295.
- Oktari A, Vanawati N, Kurniawati UI. 2019. The optimization of Human Blood Agar (HBA) for *Streptococcus pneumonia* growth. *J Phys Conf Ser*. 1280(2):022002. doi:10.1088/1742-6596/1280/2/022002.
- [ONT] Oxford Nanopore Technologies. 2025. Ligation sequencing gDNA - Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24). <https://nanoporetech.com/document/ligation-sequencing-gdna-native-barcoding-v14-sqk-nbd114-24>.
- Parker AM, Jackson N, Awasthi S, Kim H, Alwan T, Wyllie AL, Kogut K, Holland N, Mora AM, Eskenazi B, *et al*. 2024. Predictors of upper respiratory *Streptococcus pneumoniae* colonization among working-age adults with prevalent exposure to overcrowding. doi:10.1101/2024.01.07.24300941.
- Passaris I, Depickère S, Braeye T, Mukovnikova M, Vodolazkaia A, Abels C, Cuypers L, Desmet S, Ceyssens P-J, Senterre J-M, *et al*. 2024. Non-invasive *Streptococcus pneumoniae* infections are associated with different serotypes than invasive infections, Belgium, 2020 to 2023. *Eurosurveillance*. 29(45):2400108. doi:10.2807/1560-7917.ES.2024.29.45.2400108.
- Paton JC, Trappetti C. 2019. *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharide. *Microbiol Spectr* 7(2).doi:10.1128/microbiolspec.gpp3-0019-2018.
- Paulo AC, Lança J, Almeida ST, Hilty M, Sá-Leão R. 2023. The upper respiratory tract microbiota of healthy adults is affected by *Streptococcus pneumoniae* carriage, smoking habits, and contact with children. *Microbiome*. 11(1):199. doi:10.1186/s40168-023-01640-9.
- Pericone CD, Overweg K, Hermans PWM, Weiser JN. 2000. Inhibitory and bactericidal effects of hydrogen peroxide production by *Streptococcus pneumoniae* on other inhabitants of the upper respiratory tract. *Infect Immun*. 68(7):3990–3997. doi:10.1128/iai.68.7.3990-3997.2000.
- Pinheiro SD, Soares R, Barata P. 2020. The microbiome of the nose-friend or foe? *allergy-rhinol*. 11.doi:10.1177/2152656720911-605.
- Quinn-Bohmann N, Freixas-Coutin JA, Seo J, Simmons R, Diener C, Gibbons SM. 2024. Meta-analysis of the human upper respiratory tract microbiome reveals robust taxonomic associations with health and disease. *BMC Biol*. 22(1):93. doi:10.1186/s12915-024-01887-0.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- Reslan L, Finianos M, Bitar I, Mounneh MB, Araj GF, Zaghlout A, Boutros C, Jisr T, Nabulsi M, Kara yaccoub G, *et al.* 2021. The emergence of invasive *Streptococcus pneumoniae* serotype 24F in lebanon: complete genome sequencing reveals high virulence and antimicrobial resistance characteristics. *Front Microbiol.* 12. doi:10.3389/fmicb.2021.637813.
- Ritchie ND, Ijaz UZ, Evans TJ. 2017. IL-17 signalling restructures the nasal microbiome and drives dynamic changes following *Streptococcus pneumoniae* colonization. *BMC Genomics.* 18(1):807. doi:10.1186/s12864-017-4215-3.
- Safari D, Daningrat WOD, Milucky JL, Khoeri MM, Paramaiswari WT, Tafroji W, Salsabila K, Winarti Y, Soebandrio A, Hadinegoro SR, *et al.* 2024. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* among children <5 years of age in Indonesia prior to pneumococcal conjugate vaccine introduction. *PLOS ONE.* 19(1):e0297041. doi:10.1371/journal.pone.0297041.
- Salsabila K, Paramaiswari WT, Amalia H, Ruyani A, Tafroji W, Winarti Y, Khoeri MM, Safari D. 2022. Nasopharyngeal carriage rate, serotype distribution, and antimicrobial susceptibility profile of *Streptococcus pneumoniae* isolated from children under five years old in Kotabaru, South Kalimantan, Indonesia. *J Microbiol Immunol Infect.* 55(3):482–488. doi:10.1016/j.jmii.2021.06.006.
- Salter SJ, Turner C, Watthanaworawit W, de Goffau MC, Wagner J, Parkhill J, Bentley SD, Goldblatt D, Nosten F, Turner P. 2017. A longitudinal study of the infant nasopharyngeal microbiota: The effects of age, illness and antibiotic use in a cohort of South East Asian children. *PLoS Negl Trop Dis.* 11(10):e0005975. doi:10.1371/journal.pntd.0005975.
- Samuthpongton C, Nopsopon T, Pongpirul K. 2021. Gut microbiome diversity measures for metabolic conditions: A systematic scoping review. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.06.25.21259549>
- Sari M, Latief N, Massi MN. 2020. Isolasi dan identifikasi gen pneumococcal surface adhesin A (psaA) sebagai faktor virulensi *Streptococcus pneumoniae*. 5.
- Sari RF, Fadilah F, Maladan Y, Sarassari R, Safari D. 2024. A narrative review of genomic characteristics, serotype, immunogenicity, and vaccine development of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharide. *Clin Exp Vaccine Res.* 13(2):91–104. doi:10.7774/cevr.2024.13.2.91.
- Shenoy AT, Orihuela CJ. 2016. Anatomical site-specific contributions of pneumococcal virulence determinants. *Pneumonia.* 8:7. doi:10.1186/s41479-016-0007-9.
- Sidorenko SV, Rennert W, Zhdanov KV, Lobzin YV, Nikitina EV, Ageevets VA, Martens EA, Rybalko DS, Kalinogorskaya OS, Goncharova AR, *et al.* 2025. Serotype dynamics of *Streptococcus pneumoniae* in some countries in Eastern Europe and Central Asia. *Vaccine.* 57:127213. doi:10.1016/j.vaccine.2025.127213.
- Siegel SJ, Weiser JN. 2015. Mechanisms of bacterial colonization of the respiratory tract. *Annu Rev Microbiol.* 69:425–444. doi:10.1146/annurev-micro-091014-104209.
- de Steenhuijsen Piters WAA, Huijskens EGW, Wyllie AL, Biesbroek G, van den Bergh MR, Veenhoven RH, Wang X, Trzciński K, Bonten MJ, Rossen JWA, *et al.* 2016. Dysbiosis of upper respiratory tract microbiota in elderly pneumonia patients. *ISME J.* 10(1):97–108. doi:10.1038/ismej.2015.99.

- de Steenhuijsen Piters WAA, Sanders EAM, Bogaert D. 2015. The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 370(1675):20140294. doi:10.1098/rstb.2014.0294.
- Sunarti LS. 2022. Microbial normal flora: its existence and their contribution to homeostasis. *J Adv Microbiol.* 22:1-15. doi:10.9734/jamb/2022/v22i93048-3.
- Szoboszlay M, Schramm L, Pinzauti D, Scerri J, Sandionigi A, Biazzo M. 2023. Nanopore is preferable over Illumina for 16S amplicon sequencing of the gut microbiota when species-level taxonomic classification, accurate estimation of richness, or focus on rare taxa is required. *Microorganisms.* 11(3):804. doi:10.3390/microorganisms11030804.
- Tamkin E, Lorenz BP, McCarty A, Fulte S, Eisenmesser E, Horswill AR, Clark SE. 2024. Airway *Corynebacterium* interfere with *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* infection and express secreted factors selectively targeting each pathogen. *Infect Immun.* 93(2):e00445-24. doi:10.1128/iai.00445-24.
- Tandon D, Dong Y, Hapfelmeier S. 2023. Pipeline for species-resolved full-length 16S rRNA amplicon nanopore sequencing analysis of low-complexity bacterial microbiota.
- Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. 2018. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol.* 16(6):355–367. doi:10.1038/s41579-018-0001-8.
- [WHO] World Health Organization. 2017. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. [diakses 2024 Mar 3]. <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
- Wood DE, Lu J, Langmead B. 2019. Improved metagenomic analysis with Kraken 2. *Genome Biol.* 20(1):257. doi:10.1186/s13059-019-1891-0.
- Xu L, Earl J, Pichichero ME. 2021. Nasopharyngeal microbiome composition associated with *Streptococcus pneumoniae* colonization suggests a protective role of *Corynebacterium* in young children. *PLoS ONE.* 16(9):e0257207. doi:10.1371/journal.pone.0257207.
- Xu X, Wu A, Zhang X, Su M, Jiang T, Yuan Z-M. 2016. MetaDP: a comprehensive web server for disease prediction of 16S rRNA metagenomic datasets. *Bio-phys Rep.* 2(5):106–115. doi:10.1007/s41048-016-0033-4.
- Yildiz S, Pereira Bonifacio Lopes JP, Bergé M, González-Ruiz V, Baud D, Kloehn J, Boal-Carvalho I, Schaeren OP, Schotsaert M, Hathaway LJ, *et al.* 2020. Respiratory tissue-associated commensal bacteria offer therapeutic potential against pneumococcal colonization. *eLife.* 9:e53581. doi:10.7554/eLife.53581.
- Yother J. 2011. Capsules of *Streptococcus pneumoniae* and other bacteria: paradigms for polysaccharide biosynthesis and regulation. *Annu Rev Microbiol.* 65:563–581. doi:10.1146/annurev.micro.62.081307.162944.
- Yu K, Tenaglia V, Chua EG, Haines R, Bahal G, Nicol MP, Bahal RK. 2025. Interactions between bacteria in the human nasopharynx: a scoping review. *Lancet Microbe.* 6(7). doi:10.1016/j.lanmic.2024.101062.
- Zhou M, Wang Z, Zhang L, Kudinha T, An H, Qian C, Jiang B, Wang Y, Xu Y, Liu Z, *et al.* 2022. Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, multi-locus sequencing type and virulence of invasive *Streptococcus pneumoniae*

in China: a six-year multicenter study. *Front Microbiol.* 12:798750. doi:10.3389/fmicb.2021.798750.

Zimmermann P. 2023. Exploring the microbial landscape of the nasopharynx in children: A systematic review of studies using next generation sequencing. *Front Microbiomes.* 2:1231271. doi:10.3389/frmbi.2023.1231271.

Zubiria-Barrera C, Yamba LY, Klassert TE, Bos M, Ahl J, Wasserstrom L, Slevogt H, Riesbeck K. 2025. Profiling the nasopharyngeal microbiome in patients with community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*: diagnostic challenges and ecological insights. *Med Microbiol Immunol (Berl).* 214(1):19. doi:10.1007/s00430-025-00828-0.