

Analisis Variasi dan Filogenetik Keragaman Gen 16S rRNA pada *Staphylococcus aureus* Berdasarkan Data NCBI

Muhamad Aditio Apriesta Suharto^{1*}, Dwi Cantika Juliani Putri¹, Padila Oktavia Ramdani¹, Jhulia Dwi Armayanti¹, Faturrahman², Sarkono²

¹ Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia.

² Laboratorium Teknologi Mikrobial, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia.

Article Info :	Abstract :
Received : November 14, 2025 Revised : December 12, 2025 Accepted : December 30, 2025 Published : January 25, 2026	<i>Staphylococcus aureus</i> merupakan bakteri patogen penting yang sering dianalisis menggunakan gen 16S rRNA karena gen ini memiliki wilayah konservatif yang stabil sekaligus daerah hipervariabel yang informatif untuk kajian filogenetik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis validitas data, tingkat keragaman genetik, hubungan filogenetik, serta indikasi penyebaran geografis <i>S. aureus</i> berdasarkan sekuens gen 16S rRNA. Sebanyak 60 sekuens gen 16S rRNA yang berasal dari berbagai benua dianalisis menggunakan pendekatan bioinformatika. Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh sekuens memiliki panjang yang bervariasi namun masih berada dalam rentang yang layak untuk analisis filogenetik. Multiple sequence alignment memperlihatkan dominasi nukleotida konservatif dengan jumlah SNP dan situs variabel yang relatif sedikit, menandakan tingkat keragaman genetik yang rendah pada gen 16S rRNA <i>S. aureus</i> . Analisis filogenetik menggunakan metode Neighbor-Joining dengan 500 kali bootstrap menghasilkan empat kluster utama (A–D) dengan tingkat dukungan yang bervariasi, menunjukkan adanya hubungan evolusi yang berbeda antar isolat. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa gen 16S rRNA <i>S. aureus</i> bersifat relatif stabil dan mendukung penggunaannya sebagai penanda molekuler untuk studi filogenetik dan epidemiologi global.
Corresponding Author: Muhamad Aditio Apriesta Suharto aditioapriesto@gmail.com	
DOI: https://doi.org/10.29303/d3g8th53	
Keyword: <i>Staphylococcus aureus</i> ; 16S rRNA; keragaman genetik; filogenetik; bioinformatika	
How to Cite : Suharto, M. A. A., Putri, D. C. J., Ramdani, P. O., Armayanti, J. D., Faturrahman, & Sarkono. (2026). Analisis Variasi dan Filogenetik Keragaman Gen 16S rRNA pada <i>Staphylococcus aureus</i> Berdasarkan Data NCBI. <i>Journal of Microbiology, Biotechnology and Conservation</i> , 2(1), 25-32. https://doi.org/10.29303/d3g8th53	

PENDAHULUAN

Staphylococcus adalah bakteri Gram-positif berbentuk kokus yang membentuk kluster menyerupai kluster anggur (Severen *et al.*, 2022). Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, dan mampu tumbuh dalam berbagai kondisi lingkungan. Genus ini mencakup lebih dari 40 spesies. Sering ditemukan pada kulit, mukosa, dan lingkungan manusia serta hewan. Di antara spesies ini, *Staphylococcus aureus* merupakan patogen yang paling umum ditemukan

secara global dan merupakan spesies *Staphylococcus* yang paling sering dilaporkan di Indonesia (Yan *et al.*, 2025). Penelitian oleh Santosaningsih *et al.* (2018) mendeteksi *S. aureus* pada 567 pasien dari berbagai Wilayah-wilayah tersebut, yaitu 200 kasus di Denpasar, 196 di Malang, dan 171 di Surabaya. Temuan ini diperkuat oleh studi yang dilakukan oleh Turbawaty *et al.* (2021), yang melaporkan 197 spesimen pasien bedah dan non-bedah yang positif terinfeksi *S. aureus*, menunjukkan distribusi yang tinggi dari bakteri ini di populasi klinis di Indonesia.

Staphylococcus aureus adalah patogen oportunistik yang berkontribusi pada berbagai infeksi klinis, mulai dari manifestasi lokal pada kulit dan jaringan lunak hingga penyakit sistemik yang berbahaya, termasuk pneumonia, endokarditis, osteomielitis, dan sepsis. Permasalahan ini didukung oleh produksi berbagai faktor patogenisitas, seperti toksin sitolitik, enzim proteolitik, hemolisin, dan kemampuannya untuk membentuk biofilm pada jaringan dan permukaan alat medis, yang secara signifikan meningkatkan resistensinya terhadap respons imun dan terapi antimikroba. Peningkatan prevalensi *S. aureus* diperparah oleh munculnya strain resisten, terutama MRSA (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) (Sato *et al.*, 2019).

S. aureus adalah bakteri berbentuk kokus dengan diameter 0,5–1,5 μm , tersusun dalam kluster yang menyerupai kluster anggur. Bakteri ini positif katalase, positif koagulase, dan menghasilkan pigmen kuning keemasan yang khas dari fenotipenya (Acid, 2016). Selain itu, bakteri ini dapat bertahan dalam kondisi lingkungan kering dan menunjukkan adaptasi metabolik yang kuat, mendukung persistennya di berbagai niche ekologi dan fasilitas kesehatan. Gen 16S rRNA merupakan bagian dari rRNA prokariotik yang membentuk ribosom dan memainkan peran penting dalam proses translasi.

Urutan gen 16S rRNA telah banyak digunakan sebagai penanda molekuler dalam metode tanpa kultur untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan komunitas bakteri yang beragam (Clarridge 2004; Johnson *et al.* 2019). Sekuen gen 16S rRNA merupakan penanda molekuler yang luas digunakan dalam analisis evolusi dan filogenetik.

Rekonstruksi, dan karakterisasi komunitas bakteri di berbagai lingkungan (Vetrovsky & Baldrian, 2013; Srinivasan *et al.*, 2015; Peker *et al.*, 2019). Gen ini memiliki panjang sekitar 1.500 bp dan terdiri dari sembilan wilayah variabel (V1–V9) yang diselingi dengan wilayah yang konservatif (Reller *et al.*, 2007; Chakravorty *et al.*, 2007; Sabat *et al.*, 2017). Keberadaan segmen hipervariabel memberikan resolusi diskriminatif tinggi untuk identifikasi spesies, sementara wilayah konservatif mempertahankan informasi evolusi yang stabil

(Akihary & Kolondam, 2020; Dewi *et al.*, 2015). Oleh karena itu, 16S rRNA merupakan penanda universal yang sangat efektif dalam taksonomi bakteri dan analisis keragaman.

Penggunaan bioinformatika sangat penting dalam analisis genetika modern karena memungkinkan identifikasi mikroorganisme yang lebih cepat, efisien, dan hemat biaya dibandingkan dengan metode kultur konvensional (Pertiwi *et al.*, 2025). Platform berbasis web seperti BLAST dan CLUSTALW di NCBI menyediakan akses langsung ke analisis kesamaan urutan, anotasi, dan identifikasi taksonomi komputasional. Meskipun banyak penelitian telah dilakukan pada *Staphylococcus aureus*, studi tentang variasi urutan gen 16S rRNA masih relatif terbatas. Oleh karena itu, tujuan studi ini adalah menganalisis variasi genetik dan merekonstruksi hubungan filogenetik di antara isolat *S. aureus*, sehingga studi ini sangat relevan dalam memetakan keragaman dan karakteristik evolusi spesies ini.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 30 Oktober 2025 secara *in silico* menggunakan pendekatan deskriptif-komparatif, yaitu penelitian yang memanfaatkan analisis komputasional untuk membandingkan keragaman urutan gen 16S rRNA *S. aureus* berdasarkan data genom publik. Data yang digunakan meliputi urutan gen 16S rRNA *S. aureus*, basis data NCBI (Genbank), dan FASTA. Perangkat lunak yang digunakan adalah BLAST (NCBI), MEGA XII, BioEdit v7.2.5, dan Microsoft Word.

Mengumpulkan dan Mengunduh Urutan dari Basis Data NCBI

Proses pengumpulan urutan dimulai dengan membuka situs web resmi NCBI. Di halaman utama, pengguna memilih menu Nucleotide untuk mengakses basis data urutan DNA. Kata kunci pencarian seperti “*Staphylococcus aureus* 16S rRNA” dimasukkan untuk menampilkan semua urutan gen 16S rRNA yang relevan. Dari hasil pencarian, pengguna memilih urutan dengan panjang bp yang sesuai dan informasi lengkap, lalu membuka setiap entri yang dipilih. Berkas urutan

diunduh menggunakan fitur *Send to* hingga semua 60 urutan terkumpul.

Pembersihan dan Penyuntingan Awal Urutan

Semua berkas FASTA yang diunduh digabungkan menjadi satu berkas untuk memudahkan tahap analisis. Selama proses pengeditan, hanya header yang berisi nomor akses dan nama isolat yang dipertahankan. Karakter asing, spasi berlebih, atau format yang tidak perlu dihapus agar berkas dapat dibaca dengan sempurna oleh perangkat lunak analisis. Berkas akhir disimpan kembali dalam format fasta.

Penjajaran Urutan Multi (MSA)

Berkas FASTA diimpor ke perangkat lunak BioEdit, kemudian dijalin menggunakan fitur Aplikasi Tambahan. Setelah proses penjajaran selesai, semua urutan dipotong agar memiliki panjang yang seragam. Penyesuaian dilakukan dengan memotong ujung-ujung urutan yang tidak terjalin, terutama pada urutan yang lebih pendek atau lebih panjang. Pemotongan dilakukan secara manual untuk memastikan bahwa semua urutan memiliki posisi penjajaran yang konsisten.

Analisis Variasi Nukleotida

Perbedaan antara urutan DNA diamati menggunakan fitur Graphic View di BioEdit. Tampilan baris urutan diatur menggunakan opsi Residues per row = 60, kemudian tombol Redraw diklik untuk menampilkan penyelarasan secara visual. Dalam tampilan ini, variasi nukleotida tunggal dan posisi variasi parsimoni dapat

diidentifikasi. Berkas tampilan dapat disimpan sebagai dokumentasi untuk analisis lebih lanjut.

Rekontruksi Pohon Filogenetik

Rekontruksi hubungan kekerabatan dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA XII. Berkas penyelarasan diimpor, kemudian metode rekontruksi seperti *Neighbor-Joining* (NJ) dipilih. Parameter analisis diatur, termasuk model substitusi, jumlah bootstrap (500 kali), dan opsi penanganan celah. Setelah pengaturan selesai, rekonstruksi dijalankan melalui *Construct/Build Phylogenetic Tree*, dan hasil pohon ditampilkan dalam bentuk cabang yang menunjukkan derajat kedekatan evolusioner antara isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi Data Sekuens

Sebanyak 60 sekuens gen 16S rRNA *Staphylococcus aureus* diperoleh dari basis data NCBI GenBank (Tabel 1). Seluruh sekuens diorganisasi berdasarkan enam benua, yakni Asia (10 sekuens), Eropa (10), Amerika Utara (10), Amerika Selatan (10), Afrika (10), dan Australia (10). Panjang sekuens menunjukkan variasi yang cukup lebar, yaitu antara 1028 bp hingga 1494 bp, mencerminkan perbedaan metode perolehan dan strategi sequencing dari masing-masing negara. Sebagian besar sekuens dari Asia dan Afrika berada pada kisaran 1.200–1.450 bp, yang mengindikasikan bahwa data tersebut merupakan partial 16S rRNA sekuens.

Tabel 1. Contoh bakteri *Staphylococcus aureus* yang mengandung gen 16S rRNA

<i>Accession Number</i>	<i>bp</i>	<i>Negara</i>	<i>Benua</i>
LR991659	1457	India	Asia
KU971601	1286	Malaysia	
AB594753	1474	Jepang	
LC891138	1424	Iraq	
ON564599	1450	China	
LN794238	1433	Saudi Arabia	
PP901924	1417	Turkey	
PQ620151	1479	South Korea	
PV855767	1372	Bangladesh	
PV052608	1276	Indonesia	

LN827735	1433	Spain	Eropa
FN393795	1399	Belgium	
OQ398167	1401	Germany	
PV936955	1364	Rusia	
MN923027	1388	Croatia	
MZ951147	1433	Poland	
MW175700	1402	United Kingdom	
AF107307	1309	Denmark	
PP967361	1243	France	
MT090671	1188	Portugal	
KY218882	1424	USA	Amerika Utara
KY218900	1423	USA	
KY218883	1424	USA	
KY218901	1420	USA	
JN102565	1443	Canada	
PP657497	1482	Canada	
PP657495	1480	Canada	
OP745472	1113	Mexico City	
OP745471	1107	Mexico City	
OP745470	1117	Mexico City	
KM613153	1432	Chile	Amerika Selatan
KX523197	1280	Colombia	
JF431908	1384	Colombia	
MF158080	1402	Brazil	
MF158078	1400	Brazil	
JQ322233	1410	Argentina	
MF144454	1494	Peru	
MF144434	1490	Peru	
PX525573	1255	Ecuador	
PX525578	1255	Ecuador	
LC606406	1411	Egypt	Afrika
LC603788	1476	Egypt	
LC727687	1410	Egypt	
PV637041	1167	Nigeria	
PP272784	1316	Nigeria	
PP408983	1389	Kenya	
PP406811	1390	Kenya	
PV474277	1178	Tunisia	
MH253332	1028	Tunisia	
MG546551	1449	Afrika	
NAIR01000030	1485	Australia	Australia
VROO01000071	1397	Australia	
VKLN01000019	1358	Australia	
VRON01000118	1397	Australia	
VRNX01000112	1397	Australia	
VROJ01000044	1397	Australia	
NAIQ01000047	1460	Australia	
NAIK01000017	1256	Australia	

NAIO01000023	1437	Australia
LKOB01000023	1483	Australia

Partial Sequencing adalah pencuplikan sebagian fragmen gen tertentu untuk dianalisis sehingga memungkinkan identifikasi organisme atau karakter genetik tanpa perlu melakukan sekuensing seluruh genom (Almayani, 2024). Sebaliknya, sekuens dari Australia didominasi panjang ≥ 1.350 – 1.485 bp, dan banyak di antaranya ditandai dengan prefiks “WGS/contig” seperti VRON, VROO, NAIR, NAIQ, NAIO, yang menunjukkan bahwa data tersebut berasal dari pendekatan shotgun whole-genome sequencing. *Shotgun Sequencing* mampu menghasilkan fragmen lebih panjang, mencakup full-length atau near full-length gen 16S, sehingga memberikan akurasi lebih tinggi untuk analisis evolusi (Kampmann *et al.*, 2025).

Analisis Multiple Sequens Aligment (MSA)

Berdasarkan hasil Multiple Sequence Alignment (MSA), teridentifikasi dua kategori utama variasi nukleotida, yaitu variasi tunggal (autapomorfik) dan variasi parsimoni (Gambar 1). Variasi tunggal merupakan bentuk polimorfisme nukleotida tunggal yang hanya muncul pada satu isolat dalam keseluruhan dataset, sementara isolat lainnya mempertahankan nukleotida yang sama. Pola ini menggambarkan mutasi yang bersifat spesifik isolat dan tidak diwariskan secara luas dalam populasi. Secara molekuler, substitusi basa tunggal dapat dipicu oleh berbagai proses mutagenik, termasuk kerusakan kimia, paparan agen fisik, serta aktivitas enzimatis yang memicu perubahan struktur basa melalui mekanisme deaminasi, depurinasi, atau pergeseran tautomerik. Efek mutasional tersebut sangat dipengaruhi oleh konteks nukleotida, yaitu posisi dan kombinasi basa yang mengapit nukleotida yang mengalami mutasi, sehingga menyebabkan munculnya pola mutasi yang bersifat sporadis dan tidak mengikuti arah evolusi kelompok (Alexandrov *et al.*, 2013; Bacolla *et al.*, 2014).

Pada dataset ini, variasi tunggal terdeteksi pada posisi basa 2, 3, 4, 11, 13, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 29, 33, 35, 36, 38, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 51, 52, 56, 57, dan 59, yang menunjukkan

adanya substitusi nukleotida yang hanya muncul pada satu isolat untuk setiap posisi tersebut. Variasi tunggal paling banyak ditemukan pada beberapa isolat tertentu, yaitu VKLN01000119 (Australia), NAIR01000030 (Australia), AF107307 (Denmark), PP408983 (Kenya), dan KX523197 (Colombia). Dominasi autapomorfisme pada isolat-isolat tersebut mengindikasikan adanya akumulasi mutasi yang mungkin berkaitan dengan tekanan selektif lokal, perbedaan kondisi ekologis, penggunaan antibiotik setempat, adaptasi mikro-lingkungan, atau efek drift genetik yang bekerja secara independen dalam populasi asal isolat tersebut (Katsonis *et al.*, 2014).

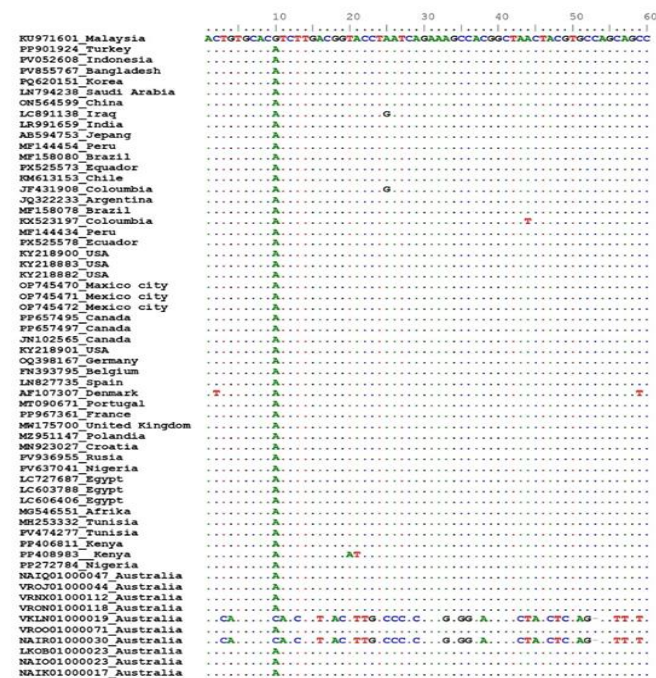
Sementara itu keberadaan variasi parsimoni yang ditemukan pada posisi basa 10 dan 25. Variasi parsimoni merupakan situs pada urutan DNA yang memiliki setidaknya dua karakter nukleotida berbeda, dan masing-masing karakter tersebut muncul lebih dari satu kali dalam dataset. keberadaan variasi parsimoni berperan penting dalam mengungkap hubungan evolusi antar isolat, karena pola kemunculannya menunjukkan bahwa mutasi tersebut bukan sekadar mutasi acak, melainkan perubahan yang cenderung diwariskan oleh kelompok isolat yang lebih luas (Saha *et al.*, 2020).

Interpretasi Pohon Filogenetik

Hasil urutan dihasilkan dalam format meg untuk konstruksi pohon filogenetik menggunakan MEGA12 (Tindi *et al.*, 2017). Perangkat lunak MEGA 12 digunakan untuk merekonstruksi pohon filogenetik melalui metode *Neighbor Joining* (NJ), yang merupakan metode berbasis jarak yang membangun pohon evolusi dengan menghitung matriks perbedaan genetik antara urutan (Fernández *et al.*, 2023).

Metode NJ dipilih karena mampu merekonstruksi hubungan kekerabatan dengan efisiensi komputasi tinggi, stabil pada dataset berukuran sedang, dan sering digunakan dalam analisis gen 16S rRNA yang relatif konservatif dengan Bootstrap yang dilakukan 500 kali. Bootstrap bekerja dengan cara mengambil sampel

ulang kolom penyelarasan, lalu membangun pohon baru untuk setiap replikasi. Jarak evolusi dihitung menggunakan metode Maximum Composite Likelihood dan dinyatakan dalam satuan substitusi basa per situs.

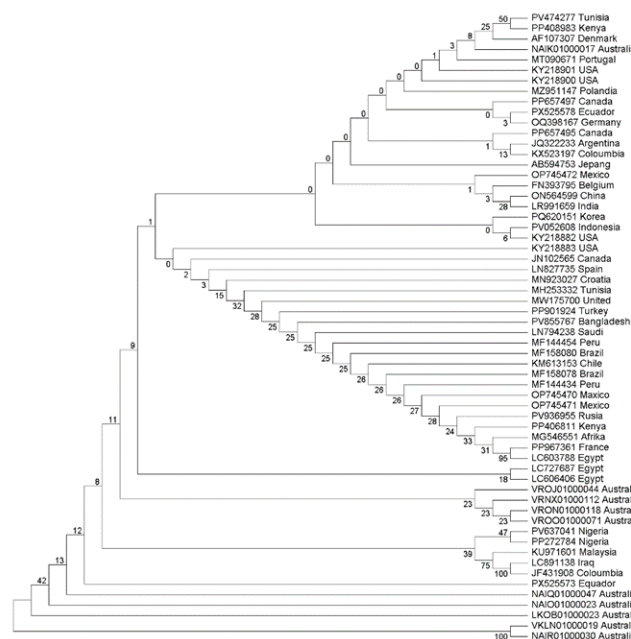


Gambar 1. Hasil Pemetaan 60 basepair Urutan Gen 16S rRNA *Staphylococcus aureus*

Pohon filogenetik yang dihasilkan menunjukkan bahwa dataset terbagi menjadi empat kluster utama, yaitu Kluster A, B, C, dan D (Gambar 2). Kluster A merupakan kelompok terbesar dan paling heterogen secara geografis karena terdiri dari isolat yang berasal dari hampir seluruh benua, seperti Tunisia, Kenya, Denmark, Australia, Portugal, Amerika Serikat, Polandia, Kanada, Ekuador, Jerman, Argentina, Kolombia, Jepang, Meksiko, Belgia, Tiongkok, India, Korea, hingga Indonesia. Campuran geografis yang sangat luas dalam satu kluster menunjukkan bahwa sekuens *S. aureus* pada kelompok ini sangat konservatif dan tidak menunjukkan pemisahan berdasarkan wilayah.

Hal yang sama terlihat pada Kluster B, yang masih terdiri atas isolat yang berasal dari berbagai kawasan Amerika, Asia, Afrika, hingga Eropa. Meskipun lebih terstruktur dibanding Kluster A, kluster ini tetap menegaskan bahwa variasi genetik antarnegara tidak cukup besar untuk membentuk

pemisahan yang jelas berdasarkan benua. Urutan yang berada dalam kluster yang sama memiliki hubungan yang erat (Balaban et al., 2019).



Gambar 2. Pohon filogenetik *Staphylococcus aureus* menggunakan metode *Neighbor-joining* dalam perangkat lunak MEGA12. *Bootstrapping* dilakukan sebanyak 500 kali.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, gen 16S rRNA *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat konservatisme genetik yang sangat tinggi pada tingkat global. Analisis terhadap 60 sekuens yang mewakili enam benua memperlihatkan bahwa mayoritas posisi nukleotida bersifat identik, dengan hanya sedikit variasi tunggal (autapomorfik) dan dua posisi *parsimony-informative*. Hasil *Multiple Sequence Alignment* (MSA) memperlihatkan bahwa mutasi yang muncul relatif jarang dan tidak terdistribusi secara sistematis berdasarkan asal geografis.

Analisis filogenetik menghasilkan empat kluster utama (A–D), dengan dua kluster terbesar (A dan B) menunjukkan pencampuran isolat dari berbagai benua tanpa pola pemisahan geografis yang jelas. Munculnya dua kluster yang lebih terfokus terutama kluster C dan kluster D yang didominasi isolat Australia menunjukkan adanya indikasi terbentuknya subpopulasi regional. Nilai

bootstrap yang tinggi pada kluster D (≥ 100) memperkuat bahwa beberapa isolat tersebut telah mengalami diversifikasi terbatas, kemungkinan sebagai respon terhadap isolasi geografis, tekanan seleksi lokal, atau karakteristik habitat setempat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi berharga dalam penyusunan artikel ini, sehingga dapat diselesaikan dan diterbitkan dengan lancar.

KONTRIBUSI PENULIS

Semua penulis berkolaborasi dalam melaksanakan setiap tahap penelitian dan penulisan naskah.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada intervensi kepentingan dalam kegiatan penelitian ini.

REFERENSI

- Acid, Y. D. A. Abdullatif. (2016). Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro. Program Studi D-IV Analis Kesehatan Fakultas Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang. *Journal of Clinical Investigation*, 111(9), 1265-1273.
- Akihary, C. V., & Kolondam, B. J. (2020). Pemanfaatan gen 16S Rrna sebagai Perangkat Identifikasi Bakteri untuk Penelitian-Penelitian di Indonesia. *Pharmakon*, 9(1), 16-22. <https://doi.org/10.35799/pha.9.2020.27405>
- Alexandrov LB. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013; 500:415–21.
- Alyamani, N. M. (2024). Partial and complete sequence of small and large subunit ribosomal RNA genes, tRNA-Val gene in some species of family Labridae. *Open Veterinary Journal*, 14(12), 3336.
- Arnold, B. J., Huang, I. T., & Hanage, W. P. (2022). Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 20(4), 206-218.
- Bacolla A, Cooper DN, Vasquez KM. Mechanisms of base substitution mutagenesis in cancer genomes. *Genes*. 2014;5:108–46
- Balaban, M., Moshiri, N., Mai, U., Jia, X., & Mirarab, S. (2019). TreeCluster: Clustering biological sequences using phylogenetic trees. *PloS one*, 14(8), e0221068.
- Pertiwi, W., Judijanto, L., Apriansi, M., Suparningtyas, J. F., Lada, Y. G., Mahyuni, S., & Nuroniah, H. S. (2025). *Bioteknologi: Teori dan Penerapan dalam Berbagai Bidang*. PT. Sonpedia Publishing Indonesia.
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., & Alland, D. (2007). A Detailed Analysis Of 16S Ribosomal RNA Gene Segments For The Diagnosis Of Pathogenic Bacteria. *Journal of microbiological methods*, 69(2), 330-339. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.02.005>
- Clarridge III, J. E. (2004). Impact Of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical microbiology reviews*. 17(4), 840-862. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>
- Dewi, P. M. P., Besung, I. N. K., & Mahardika, I. G. N. K. (2015). Keragaman Spesies dan Genetik Bakteri *Staphylococcus* Pada Ikan Tuna dengan Analisis Sekuen 16s rRNA. *Jurnal Veteriner*, 16(3), 409-415.
- Fernández, A., Segura-Alabart, N., & Serratos, F. (2023). The multifurcating neighbor-joining algorithm for reconstructing polytomic phylogenetic trees. *Journal of Molecular Evolution*, 91(6), 773-779.
- Johnston, P. R., Quijada, L., Smith, C. A., Baral, H. O., Hosoya, T., Baschien, C., & Townsend, J. P. (2019). A multigene phylogeny toward a new phylogenetic classification of Leotiomycetes. *IMA fungus*, 10(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s43008-019-0002-x>
- Kampmann, M. L., Børsting, C., Jepsen, A. H., Andersen, M. M., Aagreen, C. I., Poggiali, B., ... & Andersen, J. D. (2025). Preparing for shotgun sequencing in forensic genetics—Evaluation of DNA extraction and library building methods. *Forensic Science International: Genetics*, 76, 103234.
- Katsonis, P., Koire, A., Wilson, S. J., Hsu, T. K., Lua, R. C., Wilkins, A. D., & Lichtarge, O. (2014). Single nucleotide variations: biological impact and theoretical interpretation. *Protein Science*, 23(12), 1650-1666.
- Muzzi, A., & Donati, C. (2011). Population genetics and evolution of the pan-genome of *Streptococcus*

- pneumoniae. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(8), 619-622.
- Peker, N., Garcia-Croes, S., Dijkhuizen, B., Wiersma, H. H., van Zanten, E., Wisselink, G., & Couto, N. (2019). A Comparison of Three Different Bioinformatics Analyses of the 16S-23S rRNA Encoding Region for Bacterial Identification. *Frontiers in microbiology*, 10, 620. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00620>
- Reller, L. B., Weinstein, M. P., & Petti, C. A. (2007). Detection and Identification of Microorganisms by Gene Amplification and Sequencing. *Clinical infectious diseases*, 44(8), 1108-1114. <https://doi.org/10.1086/512818>
- Sabat, A. J., van Zanten, E., Akkerboom, V., Wisselink, G., van Slochteren, K., de Boer, R. F., & Kooistra-Smid, A. M. (2017). Targeted Next-Generation Sequencing of The 16S-23S rRNA Region for Culture-Independent Bacterial Identification-Increased Discrimination Of Closely Related Species. *Scientific reports*, 7(1), 3434. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03458-6>
- Saha, O., Hossain, M. S., & Rahaman, M. M. (2020). Genomic exploration light on multiple origin with potential parsimony-informative sites of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in Bangladesh. *Gene reports*, 21, 100951.
- Santosaningsih, D., Santoso, S., Setijowati, N., Rasyid, H. A., Budayanti, N. S., Suata, K., & Severin, J. A. (2018). Prevalence and Characterisation of *Staphylococcus aureus* Causing Community-Acquired Skin and Soft Tissue Infections on Java and Bali, Indonesia. *Tropical Medicine & International Health*, 23(1), 34-44. <https://doi.org/10.1111/tmi.13000>
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., & Tateda, K. (2019). Morphological and biological characteristics of *Staphylococcus aureus* biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug Resistance*, 25(5), 668-676. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0068>
- Severn, M. M., Williams, M. R., Shahbandi, A., Bunch, Z. L., Lyon, L. M., Nguyen, A., dan Horswill, A. R. (2022). The Ubiquitous Human Skin Commensal *Staphylococcus Hominis* Protects Against Opportunistic Pathogens. *MBio*, 13(3), e00930-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.00930-22>
- Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., & Lynch, S. V. (2015). Use of 16S rRNA Gene for Identification of a Broad Range of Clinically Relevant Bacterial Pathogens. *PloS one*, 10(2), e0117617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117617>
- Tindi, M., Mamangkey, N. G. F., & Wullur, S. (2017). The Dna Barcode And Molecular Phylogenetic Analysis Several Bivalve Species From North Sulawesi Waters Based On Coi Gene. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 1(2), 32-38.
- Turbawaty, D. K., Logito, V., & Tjandrawati, A. (2021). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Patterns And Antibiotic Susceptibility in Surgical and Non-Surgical Patients in a Tertiary Hospital in Indonesia. *Majalah Kedokteran Bandung*. 53(3), 148-154. <https://doi.org/10.15395/mkb.v53n3.2396>
- Větrovský, T., & Baldrian, P. (2013). The Variability of The 16S rRNA Gene In Bacterial Genomes and Its Consequens for Bacterial Community Analyses. *PloS one*, 8(2), e57923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057923>
- Yan, A., Kus, J. V., & Sant, N. (2025). The *Staphylococcus aureus* Complex: Implications fo the Clinical Microbiology Laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, e01276-24. <https://doi.org/10.1128/jcm.01276-24>
- Yuan, H., Xu, J., Wang, Y., Li, Y., Hao, Y., Long, J., & Yang, H. (2025). The Global Antimicrobial Resistance Trends of *Staphylococcus aureus* and Influencing Factors. *Microbiology Research*, 16(6), 118.