

Analisis Metode *Next-Generation Sequencing* dalam Identifikasi Mutasi Genetik pada *Streptococcus pyogenes*

Terra Murti Balerura¹, Reva Laura Purba², Juneth Jennifer Sobalely³, Fitri Claudia Agathis Mahundingan⁴, Alifah Putri Safina⁵

^{1, 2, 3, 4, 5} Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Pelita Harapan, Indonesia

Email Correspondensi: 01091230009@student.uph.edu

ABSTRACT

This study is a literature review aimed at analyzing the role of whole-genome sequencing (WGS) in the genomic characterization of Streptococcus pyogenes, particularly in relation to virulence, antimicrobial resistance, and mobile genetic elements. The study is motivated by the high incidence of infections and the limitations of conventional methods in providing comprehensive genetic resolution. Data collection was conducted through a systematic search of scientific articles in indexed databases, with relevant and up-to-date publications serving as research instruments. Data analysis employed a descriptive-comparative approach to evaluate sequencing quality, depth of genetic variation detection, and the ability to identify foreign genetic elements. The results indicate that WGS using a hybrid assembly approach combining Illumina and Oxford Nanopore technologies produces complete genome sequences with high accuracy (Q30; >99.9%) and 100% sequence identity. Furthermore, this method effectively detects antimicrobial resistance genes, including msr(D), mef(A), erm(B), and tet(M), and identifies prophage regions associated with increased virulence. The findings demonstrate that WGS provides higher analytical resolution than conventional methods and has strong potential to support molecular diagnostics and epidemiological surveillance. This study contributes to improving pathogen identification accuracy and enabling integrated antimicrobial resistance monitoring.

ABSTRAK

Penelitian ini merupakan studi literatur yang bertujuan untuk menganalisis peran whole-genome sequencing (WGS) dalam karakterisasi genomik Streptococcus pyogenes, khususnya terkait virulensi, resistensi antimikroba, dan elemen genetik mobile. Latar belakang penelitian ini didasarkan pada tingginya angka kejadian infeksi serta keterbatasan metode konvensional dalam memberikan resolusi data genetik yang komprehensif. Teknik pengumpulan data dilakukan melalui penelusuran artikel ilmiah pada database terindeks, dengan instrumen berupa publikasi ilmiah yang relevan dan mutakhir. Teknik analisis data menggunakan pendekatan deskriptif-komparatif untuk mengevaluasi kualitas sekuensing, kedalaman deteksi variasi genetik, serta kemampuan identifikasi elemen genetik asing. Hasil kajian menunjukkan bahwa pendekatan WGS dengan strategi hybrid assembly Illumina-Oxford Nanopore mampu menghasilkan sekuens genom lengkap dengan tingkat akurasi tinggi (Q30; >99,9%) dan identitas sekuens mencapai 100%. Metode ini juga efektif dalam mendeteksi gen resistensi seperti msr(D), mef(A), erm(B), dan tet(M) serta mengidentifikasi wilayah prophage yang berperan dalam peningkatan virulensi. Pembahasan menunjukkan bahwa WGS memiliki resolusi

KEYWORDS:

antimicrobial resistance, Next-Generation Sequencing, prophage, Streptococcus pyogenes, whole-genome sequencing.

KATA KUNCI:

Next-Generation Sequencing, profag, resistensi antimikroba, Streptococcus pyogenes, whole-genome sequencing.

How to Cite:

“Balerura, T. M., Purba, R. L., Sobalely, J. J., Mahundingan, F. C. A., & Safina, A. P. (2026). Analisis Metode Next-Generation Sequencing dalam Identifikasi Mutasi Genetik pada Streptococcus pyogenes. *NAAFI: JURNAL ILMIAH MAHASISWA*, 2(2), 400–410.”

analisis yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional dan berpotensi besar dalam mendukung diagnostik molekuler serta surveilans epidemiologi. Penelitian ini memberikan kontribusi dalam meningkatkan akurasi identifikasi patogen dan pemantauan resistensi antimikroba secara terintegrasi.

PENDAHULUAN

Streptococcus pyogenes (Group A Streptococcus/ GAS) merupakan patogen manusia obligat yang menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas global. Bakteri ini bertanggung jawab atas lebih dari 500.000 kematian dan sekitar 600 juta kasus infeksi baru setiap tahunnya, yang menjadikannya salah satu dari sepuluh penyebab infeksi paling mematikan pada manusia. Spektrum manifestasi klinisnya sangat luas, mulai dari infeksi ringan, seperti faringitis akut, impetigo, dan selulitis, bahkan kondisi yang mengancam jiwa seperti necrotizing fasciitis, bakteremia, pneumonia berat, dan sindrom syok toksik streptokokal. Di luar fase akut, GAS juga memicu sekuele pascainfeksi serius yang mencakup demam rematik akut, penyakit jantung rematik (PJR), dan glomerulonefritis pascastreptokokal – kondisi yang hingga kini masih menjadi beban kesehatan signifikan terutama di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Di India khususnya, prevalensi PJR diperkirakan mencapai 1,5–2 per 1.000 orang di semua kelompok umur, setara dengan 2,0–2,5 juta pasien di seluruh negeri, sebuah angka yang mencerminkan betapa besarnya dampak GAS pada populasi Asia Selatan.

Faringitis streptokokal merupakan manifestasi klinis GAS yang paling sering dijumpai, terutama pada anak 4-7 tahun, dengan GAS dilaporkan bertanggung jawab atas 10-15% kasus faringitis pada kelompok usia ini. Deteksi dini dan tata laksana yang tepat sangat penting untuk mencegah penyebaran infeksi dan komplikasi jangka panjang, termasuk sekuele imunologis. Dalam beberapa tahun terakhir, dunia menyaksikan kebangkitan kembali (resurgence) infeksi GAS yang bermakna secara epidemiologis, dengan lonjakan kasus demam skarlatina dan peningkatan kasus invasif GAS yang dilaporkan di berbagai negara. Fenomena ini sebagian dikaitkan dengan kemunculan dan penyebaran lini baru *S.pyogenes* dengan karakteristik genomik yang meningkatkan ekspresi superantigen SpeA sebesar 5-10 kali lipat dibandingkan dengan klon progenitor M1 (global), suatu fitus yang secara molekuler dikaitkan dengan SNP tunggal pada posisi +5 G>C di sekuens leader 5' gen *ssrA* yang mendorong read-through transkripsi ke dalam gen *speA*.

Tingginya plastisitas genomik GAS – yang dimungkinkan oleh transfer gen horizontal melalui profag, elemen konjugatif integratif, dan elemen genetik lainnya – menjadikan karakterisasi genomik komprehensif sebagai kebutuhan mendesak dalam upaya surveilans dan pengendalian infeksi. Profag memainkan polilisogenik, mengandung dua hingga enam regio profag yang dapat mencakup hingga 12-17% total coding sequence dan membawa gen-gen penyandi superantigen, DNase, dan berbagai faktor virulensi lainnya. Variasi kandungan profag dan reportoar gen virulensi yang dibawa merupakan penentu utama perbedaan patogenesis antar-isolat. Di sisi lain, resistensi antimikroba GAS terhadap makrolida, lincosanamida, dan tetrasiklin juga semakin meningkat di berbagai kawasan – khususnya di Asia – dengan gen *msr(D)*, *mef(A)*, *erm(A)*, dan *tet(M)* menjadi determinan yang paling sering teridentifikasi, sering kali terbawa bersama melalui elemen genetik mobile yang sama.

Tinjauan Literatur

Pemahaman mendalam tentang epidemiologi dan karakteristik genomik *S. pyogenes* tidak dapat dilepaskan dari perkembangan teknologi whole-genome sequencing (WGS) yang kini menjadi alat standar dalam surveilans mikrobiologi klinis modern. Tagini et al. (2017) mendemonstrasikan secara langsung nilai praktis WGS dalam investigasi kluster kasus di setting diagnostik. Pada studi yang menginvestigasi peningkatan kasus infeksi invasif GAS di Swiss Barat, WGS berhasil menyingkirkan kemungkinan wabah klonal dalam waktu kurang dari 10 hari dengan mengidentifikasi 14-32 SNP perbedaan inti genom di antara isolat yang tampak berkaitan berdasarkan emm-typing dan MLST konvensional. Kemampuan diskriminasi WGS yang jauh melampaui metode konvensional ini – yang gagal membedakan isolat-isolat tersebut secara memadai – menegaskan bahwa WGS merupakan alat yang tidak tergantikan untuk investigasi wabah yang akurat dan cepat. Selain diskriminasi klonal, studi ini juga mendemonstrasikan kemampuan WGS dalam mengungkap mutasi pada gen regulator virulensi *covS* dan *rocA* yang berkaitan dengan fenotipe hipervirulen, memberikan wawasan mekanistik sekaligus epidemiologis dalam satu platform analisis yang terintegrasi.

Dalam konteks penyebaran global lini GAS baru, Davies et al. (2023) melaporkan ekspansi lini M1 (UK) di Australia dan mengungkap mekanisme molekuler yang mendasari peningkatan ekspresi superantigen SpeA. Analisis terhadap 318 isolat emm1 *S. pyogenes* dari Queensland dan Victoria menunjukkan bahwa M1 (UK) telah menggantikan M1 (global) sebagai genotipe dominan, mencapai lebih dari 60% isolat klinis emm1 pada tahun 2019. Studi ini secara definitif mengidentifikasi bahwa SNP tunggal pada posisi +5 G>C di sekuens leader 5' gen *ssrA* merupakan peristiwa molekuler yang diperlukan dan cukup untuk meningkatkan produksi SpeA melalui mekanisme *ssrA* terminator read-through yang menghasilkan transkrip bisistronik *ssrA-speA*. Temuan ini divalidasi melalui pendekatan loss-of-function dan gain-of-function menggunakan mutan isogenik, serta dikonfirmasi melalui sekuensing RNA native long-read dengan platform Oxford Nanopore Technologies. Selain itu, 26% sub-lini M1 (UK) di Australia juga mengakuisisi repertoar toksin tambahan (*ssa*, *speA*, *spd1*) melalui profag yang memiliki kemiripan tinggi dengan profag pada isolat demam skarlatina epidemik di Asia, menandakan berlanjutnya akuisisi elemen genetik mobile yang meningkatkan potensi virulensi klon ini.

Tinjauan genomik komprehensif oleh Arcari et al. (2025) yang menganalisis 1.418 genom GAS berkualitas tinggi dari hampir satu abad mengidentifikasi empat Global Pathogenic Lineages (GPL) yang bertanggung jawab atas sebagian besar kasus iGAS secara global, yakni GPL1 (ST28/emm1), GPL2 (ST315/emm3), GPL3 (ST52/emm28), dan GPL4 (ST39/emm89). Integrasi data genomik dengan metadata klinis dan geografis dalam tinjauan ini menyoroti heterogenitas bermakna dalam distribusi gen virulensi dan resistensi antimikroba antar kawasan, serta menggarisbawahi peran penting WGS sebagai alat surveilans genomik rutin yang memungkinkan deteksi dini lini-lini baru dan pemantauan dinamika transmisi secara real-time. Tinjauan ini juga mengakui secara eksplisit bias yang ditimbulkan oleh distribusi data genomik yang tidak merata secara geografis – dengan negara-negara berpenghasilan tinggi mendominasi basis data publik –

sehingga menegaskan kebutuhan mendesak akan penelitian genomik GAS dari kawasan-kawasan yang selama ini kurang terwakili, termasuk Asia Selatan dan Asia Tenggara.

Perkembangan platform teknologi NGS yang diulas secara komprehensif oleh Hu et al. (2021) menjadi fondasi teknis yang memungkinkan seluruh kemajuan di atas. Dua paradigma utama yang relevan untuk karakterisasi genomik bakteri adalah sekuensing short-read (generasi kedua) dan sekuensing long-read (generasi ketiga). Platform Illumina – berbasis sequencing by synthesis dengan reversible terminator berlabel fluoresens dan kemampuan paired-end-sequencing – menawarkan akurasi basa yang sangat tinggi dengan tingkat kesalahan 0,1% dan menjadi standar de facto untuk studi populasi GAS skala besar, analisis SNP, dan surveilans genomik rutin. Platform Ion Torrent menggunakan deteksi pH berbasis semikonduktor tanpa pencitraan optik, menawarkan waktu run yang lebih singkat (2,5-4 jam) meskipun lebih rentan terhadap kesalahan pada daerah homopolimer. Sementara itu, platform long-read seperti Pacific Biosciences (PacBio) dan Oxford Nanopore Technologies (ONT) mampu menghasilkan read berukuran >10 kb yang kritis untuk merekonstruksi daerah genomik berulang panjang seperti regio profag GAS, mendeteksi varian struktural, dan menghasilkan sekuens kromosom bakteri yang lengkap dan tertutup (closed). Meskipun akurasi raw read ONT (87-98%) masih lebih rendah dibandingkan Illumina, pendekatan hybrid assembly yang menggabungkan kekuatan kedua platform ini telah terbukti menghasilkan sekuens berkualitas setara dengan PacBio-solo.

Bukti definitif untuk hal tersebut diberikan oleh Salvà-Serra et al. (2020) yang untuk pertama kalinya menentukan sekuens genom lengkap galur tipe *S. pyogenes* (NCTC 8198(ΔT) = CCUG 4207(ΔT)) melalui dua strategi independen yang berjalan paralel. Pendekatan PacBio-solo (HGAP assembly) pada NCTC 8198 (ΔT) dan *hybrid assembly* Illumina-ONT (SPAdes) pada CCUG 4207 (ΔT) secara mengejutkan menghasilkan sekuens yang identik sempurna dalam panjang (1.914.862 bp) maupun konten sekuens (100% identitas). Hasil ini membuktikan bahwa pendekatan hybrid mampu mengeliminasi sepenuhnya laju kesalahan inherent Nanopore melalui koreksi oleh read Illumina berkualitas tinggi, dan bahwa SPAdes – sebagai assembler yang relatif mudah digunakan – dapat menghasilkan sekuens bakteri lengkap yang setara dengan pipeline PacBio yang lebih kompleks. Karakterisasi komprehensif mengidentifikasi lima regio profag mencakup 12,3% ukuran genom, sistem CRISPR-Cas kelas 1 subtipe dengan frameshift pada cas3 yang menyebabkan sistem tersebut kemungkinan non-fungsional, serta berbagai faktor virulensi termasuk speA, speB, speG, speJ, smeZ, sic, dan scpA. Sekuens ini kini berfungsi sebagai referensi genomik definitif untuk spesies ini dan digunakan sebagai acuan taksonomi dalam studi-studi genomik GAS berikutnya.

Pada aspek prediksi resistensi antimikroba berbasis genomik, Bortolaia et al. (2020) mengembangkan dan memvalidasi ResFinder 4.0 sebagai alat bioinformatika open-source yang memungkinkan prediksi fenotipe resistensi antimikroba langsung dari data WGS tanpa memerlukan keahlian bioinformatika khusus. Alat ini mengintegrasikan basis data 2.690 gen AMR, 266 mutasi kromosomal penanda resistensi pada 39 gen. Tabel translasi genotipe ke fenotipe yang dikurasi oleh para ahli untuk 57 agen antimikroba, serta panel antibiogram in silico yang spesifik untuk delapan spesies bakteri menunjukkan konkordansi genotipe-fenotipe >95% untuk sebagian besar kombinasi spesies-antimikroba yang dievaluasi. Sebagian besar diskordansi dapat dijelaskan oleh ambiguitas interpretasi nilai MIC pada atau dekat batas epidemiological cut-off (ECOFF) - yang

mencerminkan keterbatasan reproduksi metode fenotipik itu sendiri – dan kualitas sekuensing yang suboptimal bukan kinerja algoritma alat. ResFinder 4.0 juga mampu memproses langsung data raw reads (FASTQ) melalui k-mer based alignment menggunakan KMA, sehingga mengeliminasi kebutuhan perakitan genom terlebih dahulu dan mempercepat alur kerja analisis perakitan genom terlebih dahulu dan mempercepat alur kerja analisis secara signifikan. Kemampuan ini menjadikan ResFinder 4.0 sebagai alat yang sangat sesuai untuk integrasi ke dalam pipeline surveilans antimikroba rutin berbasis WGS di laboratorium diagnostik klinis.

Implementasi WGS untuk karakterisasi GAS di Asia Selatan telah dirintis oleh Dharmapalan et al. (2018) yang mempresentasikan laporan WGS pertama *S. pyogenes* dari India. Dua belas isolat dari kasus faringitis akut pada anak-anak di Navi Mumbai disekuensing menggunakan platform Ion Torrent PGM dengan kimia 400 bp, dirakit menggunakan SPAdes yang tertanam dalam Torrent Suite, dan dianotasi menggunakan PATRIC dan NCBI PGAP. Analisis MLST mengidentifikasi ST36 (emm12.0) pada 4 isolat, dan satu isolat ST55 (emm2.0). Analisis resistensi menggunakan ResFinder mengungkap dominasi gen *msr(D)*, dan *mef(A)* sebagai determinan resistensi makrolida pada sebagian besar isolat, sedangkan empat isolat membawa *erm(B)* - dan seluruh isolat mengandung gen pompa efluks *pmrA* dan transport MATE yang berkontribusi terhadap fenotipe resistensi streptolisin O dan S, *SpeC*, *SoeG*, dan *SmeZ* pada seluruh isolat, dengan distribusi superantigen lain seperti *SpeA* dan *SpeH* yang bervariasi tergantung lini klonal. Analisis profag menggunakan PHASTER mengidentifikasi profag 315.2 yang secara konsisten hadir pada seluruh isolat ST36, sementara isolat ST28 membawa kombinasi profag T12, 315.2, 315.3, dan Lactoc 28201 yang berbeda – mencerminkan hubungan erat antara lini klonal dan kandungan profag yang spesifik. Meskipun merupakan studi pionir dengan keterbatasan ukuran sampel, studi ini menegaskan keberadaan lini GAS yang relevan secara global (emm1 dan emm12) dalam populasi Asia Selatan sekaligus menjadi bukti konkret bahwa WGS menggunakan Ion Torrent yang dikombinasikan dengan alat bioinformatika berbasis web seperti ResFinder dan PHASTER merupakan pendekatan yang layak dan informatif untuk karakterisasi GAS di setting dengan sumber daya terbatas.

Alasan Diadakan Penelitian

Kemajuan yang didemonstrasikan oleh Salvà-Serra et al. (2020) menunjukkan bahwa hybrid assembly Illumina-ONT dapat menghasilkan sekuens bakteri lengkap berkualitas tinggi yang setara dengan PacBio, namun dengan biaya dan kompleksitas yang lebih rendah. Pendekatan ini belum pernah diaplikasikan secara sistematis untuk karakterisasi isolat GAS klinis dalam konteks studi epidemiologi di Asia. Sementara itu, ResFinder 4.0 yang divalidasi oleh Bortolaia et al. (2020) menawarkan platform prediksi resistensi *in silico* yang terstandarisasi dan dapat diandalkan, namun penerapan dan validasinya spesifik untuk GAS dalam setting klinis dengan epidemiologi yang khas di Asia belum terdokumentasi secara memadai. Integrasi ketiga kapabilitas ini – WGS berkualitas tinggi, karakterisasi virulom dan profag yang komprehensif, serta prediksi resistensi antimikroba belum pernah dilakukan untuk isolat GAS dari kawasan ini.

Pertanyaan dan Tujuan Penelitian

Berdasarkan kesenjangan yang diidentifikasi, penelitian ini dirancang untuk menjawab pertanyaan utama berikut : Bagaimana profil genomik, virulom, dan resistom isolat *Streptococcus pyogenes* dari kasus infeksi klinis berdasarkan analisis whole-genome sequencing menggunakan pendekatan hybrid Illumina-ONT dan apakah terdapat lini klonal dengan karakteristik genomik yang berkaitan dengan peningkatan virulensi pada populasi yang diteliti.

Secara spesifik, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas pendekatan hybrid assembly illumina-ONT dalam menghasilkan sekuens genom GAS yang lengkap dan berkualitas tinggi untuk keperluan karakterisasi genomik klinis, serta mengkaji potensi integrasi platform WGS dan alat bioinformatika terkait ke dalam alur kerja surveilans mikrobiologi diagnostik rutin.

METODE PENELITIAN

Penelusuran literatur dalam studi ini dilakukan secara komprehensif melalui media internet dengan mengakses berbagai database ilmiah bereputasi, di antaranya PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, Nature Portfolio, Oxford University Press, dan Wiley Online Library. Strategi pencarian dan seleksi artikel dilakukan dengan menerapkan kriteria PICO (*Population, Intervention, Comparison, Outcome*) untuk memastikan relevansi data terhadap analisis metode *Next-Generation Sequencing* (NGS) dalam identifikasi mutasi genetik pada bakteri *Streptococcus pyogenes*. Pencarian difokuskan pada studi yang membahas akurasi teknologi sekuensing, baik melalui pendekatan *hybrid assembly* maupun *whole genome shotgun sequencing*, guna memahami mekanisme resistensi dan evolusi genomik pada patogen tersebut.

Kata kunci (*keywords*) yang digunakan dalam proses pencarian literatur mencakup istilah teknis spesifik, yaitu "*Streptococcus pyogenes genome sequencing*", "*Next-Generation Sequencing overview*", "*hybrid assembly Illumina Oxford Nanopore*", serta "*Streptococcus pyogenes resistome and antimicrobial resistance prediction*". Selain itu, digunakan pula kata kunci pendukung seperti "*prophage detection*", "*genomic epidemiology*", "*emm-typing*", dan penggunaan *bioinformatics pipeline* seperti ResFinder serta database CARD untuk mengidentifikasi korelasi genotipe dan fenotipe resistensi. Melalui kombinasi parameter tersebut, diperoleh sumber primer yang valid untuk menganalisis penyebaran global dan karakteristik mutasi genetik pada infeksi invasif *Streptococcus pyogenes*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian berbasis literatur review ini menunjukkan bahwa implementasi *Next-Generation Sequencing* (NGS) memberikan resolusi data yang jauh lebih superior dibandingkan dengan metode konvensional dalam mengidentifikasi profil genetik *Streptococcus pyogenes*. Kekuatan metode ini dianalisis melalui tiga parameter utama, yaitu validitas penelitian genom, kedalaman deteksi variasi, dan identifikasi elemen genetik asing.

Berdasarkan studi oleh Salva-Serra et al. (2020), efektivitas NGS dibuktikan melalui konsentrasi hasil antara berbagai platform. Penggunaan strategi *hybrid assembly* yang menggabungkan pembacaan pendek (*short-read*) dari Illumina dengan pembacaan panjang (*long-read*) dari Oxford Nanopore menghasilkan sekuens genom yang tertutup sempurna (*closed genome*) sepanjang 1.914.862 bp. Data menunjukkan tingkat akurasi konsensus sebesar 100%, di mana tidak ditemukan perbedaan suatu nukleotida (*0 mismatch*) jika dibandingkan dengan platform referensi PacBio. Skor kualitas basa yang dihasilkan secara konsisten berada di atas Q30, yang secara teknis menjamin bahwa probabilitas kesalahan pembacaan basa hanya sebesar 0,1% atau memiliki tingkat akurasi 99,9%.

Analisis terhadap isolat klinis menggunakan platform *ion semiconductor sequencing* menunjukkan fleksibilitas NGS dalam memetakan variasi ukuran genom antara 1,69 Mb hingga 1,85 Mb (Dharmapalan et al., 2018). Presisi identifikasi mutasi pada target diperkuat oleh tingginya kedalaman pembacaan (*depth of coverage*), yang memungkinkan deteksi variasi genetik yang bertanggung jawab atas resistensi antibiotik secara spesifik. Sistem ini berhasil mengidentifikasi secara otomatis gen-gen data bioformatika (seperti CARD atau ResFinder). Kemampuan ini membuktikan bahwa jika metode yang sama diterapkan pada target gen kompleks seperti gen *mecA*, NGS memiliki kapasitas untuk mendeteksi polimorfisme nukleotida tunggal (SNP) dengan reliabilitas yang sangat tinggi.

Keunggulan lain yang ditemukan adalah kemampuan NGS dalam mendeteksi perubahan genetik akibat faktor ekstraseluler. Dalam genom *S. pyogenes*, NGS berhasil memetakan lima wilayah prophage yang terintegrasi secara stabil. Deteksi ini sangat krusial karena infeksi bakteriofag merupakan pemicu utama mutasi dan transfer gen virulensi horizontal pada bakteri. Resolusi NGS yang tinggi mampu membedakan urutan DNA asli bakteri dengan materi genetik virus yang menyisip, sehingga memungkinkan praktisi laboratorium untuk melacak evolusi patogenisitas bakteri secara akurat.

Parameter Abstrak	Hasil Temuan Teknis	Implikasi Laboratoris
Akurasi Basa	Skor Q30 (>99,9% Akurasi)	Memastikan validitas mutasi genetik asli
Identitas Sekuens	100% Match (<i>Hybrid Assembly</i>)	Gold Standard untuk diagnosis molekuler
Target Genetik	<i>msr(D)</i> , <i>mef(A)</i> , <i>erm(B)</i> , <i>tet(M)</i>	Prediksi resistensi antibiotik yang presisi
Elemen Mobile	5 Wilayah Prophage Terdeteksi	Identifikasi mutasi akibat infeksi bakteriofag infeksi

Tabel 1. Parameter Kualitas dan Kapasitas Deteksi NGS pada Isolat *Streptococcus pyogenes*

Penelitian berbasis literatur review ini secara konsisten menunjukkan bahwa implementasi *Next-Generation Sequencing* (NGS) memberikan peningkatan signifikan dalam resolusi data genom dibandingkan metode konvensional, khususnya dalam identifikasi profil genetik *Streptococcus pyogenes*. Temuan yang diperoleh tidak hanya menegaskan keunggulan teknis NGS, tetapi juga memperlihatkan implikasi praktis yang luas dalam bidang diagnostik molekuler, epidemiologi, serta pemantauan resistensi antibiotik. Pembahasan ini akan menguraikan keterkaitan antara hasil penelitian dengan teori yang mendasari, sekaligus melakukan generalisasi terhadap temuan yang ada.

Salah satu parameter utama yang dianalisis dalam penelitian ini adalah validitas penelitian genom. Berdasarkan hasil yang dilaporkan oleh Salva-Serra et al. (2020), penggunaan pendekatan *hybrid assembly*

yang mengombinasikan teknologi short-read dan long-read menghasilkan sekuens genom yang tertutup sempurna dengan panjang mencapai 1.914.862 bp. Hasil ini menunjukkan tingkat identitas sekuens sebesar 100% ketika dibandingkan dengan platform referensi berbasis teknologi long-read lainnya. Secara teoritis, validitas dalam analisis genom sangat dipengaruhi oleh kemampuan metode dalam mengurangi bias sekuensing serta meningkatkan akurasi pembacaan basa. Dalam konteks ini, NGS dengan pendekatan hybrid assembly mampu mengatasi keterbatasan masing-masing teknologi. Teknologi short-read memiliki akurasi tinggi namun kesulitan dalam membaca daerah repetitif, sementara long-read mampu mencakup fragmen panjang tetapi memiliki tingkat error yang relatif lebih tinggi. Kombinasi keduanya menghasilkan sinergi yang optimal, sehingga meningkatkan keakuratan keseluruhan data genom.

Selain itu, skor kualitas basa yang berada di atas Q30 menunjukkan bahwa probabilitas kesalahan pembacaan basa sangat rendah, yaitu sekitar 0,1%. Hal ini sejalan dengan teori kualitas sekuensing yang menyatakan bahwa nilai Q-score berbanding terbalik dengan tingkat error pembacaan. Dengan demikian, skor Q30 dapat dianggap sebagai standar minimal untuk data sekuensing berkualitas tinggi dalam analisis genom. Implikasi dari tingginya akurasi ini adalah meningkatnya kepercayaan terhadap identifikasi mutasi genetik yang ditemukan, sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam pengambilan keputusan klinis. Dalam konteks diagnostik, validitas data menjadi faktor krusial karena kesalahan interpretasi dapat berakibat pada kesalahan terapi.

Parameter kedua yang dianalisis adalah kedalaman deteksi variasi genetik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa NGS memiliki kemampuan yang sangat baik dalam mendeteksi variasi genetik, termasuk polimorfisme nukleotida tunggal (SNP). Kedalaman pembacaan atau depth of coverage menjadi faktor penting dalam hal ini. Secara teoritis, semakin tinggi depth of coverage, semakin besar kemungkinan suatu variasi genetik dapat terdeteksi secara akurat. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya redundansi data, sehingga memungkinkan validasi silang antar pembacaan. Dalam penelitian yang dikaji, penggunaan platform ion semiconductor sequencing menunjukkan fleksibilitas dalam mengidentifikasi variasi ukuran genom pada isolat klinis *S. pyogenes*.

Temuan ini memiliki implikasi penting dalam identifikasi gen resistensi antibiotik. Gen-gen seperti *msr(D)*, *mef(A)*, *erm(B)*, dan *tet(M)* dapat terdeteksi secara otomatis melalui integrasi dengan database bioinformatika seperti CARD dan ResFinder. Hal ini menunjukkan bahwa NGS tidak hanya berfungsi sebagai alat sekuensing, tetapi juga sebagai sistem analitik yang terintegrasi. Dalam perspektif teori resistensi antibiotik, keberadaan gen-gen tersebut berkaitan erat dengan mekanisme pertahanan bakteri terhadap tekanan seleksi antibiotik. Dengan kemampuan NGS dalam mendeteksi gen resistensi secara spesifik, maka metode ini dapat digunakan untuk memprediksi pola resistensi secara lebih akurat dibandingkan metode fenotipik konvensional.

Namun demikian, terdapat beberapa aspek yang perlu diperhatikan secara objektif. Meskipun NGS memiliki sensitivitas yang tinggi, hasil yang diperoleh sangat bergantung pada kualitas sampel dan proses preparasi. Kontaminasi DNA atau degradasi sampel dapat mempengaruhi hasil sekuensing. Selain itu, interpretasi data NGS memerlukan keahlian bioinformatika yang memadai, sehingga dapat menjadi tantangan dalam implementasi di laboratorium dengan sumber daya terbatas. Oleh karena itu, meskipun NGS menawarkan keunggulan yang signifikan, penggunaannya tetap memerlukan standar operasional yang ketat.

Parameter ketiga yang dianalisis adalah kemampuan identifikasi elemen genetik asing, khususnya prophage. Hasil penelitian menunjukkan bahwa NGS mampu mendeteksi lima wilayah prophage yang terintegrasi dalam genom *S. pyogenes*. Temuan ini sangat relevan dengan teori transfer gen horizontal, di mana bakteriofag berperan sebagai vektor utama dalam penyebaran gen virulensi. Dalam konteks patogenesis, keberadaan prophage dapat meningkatkan kemampuan bakteri dalam menyebabkan penyakit melalui ekspresi gen virulensi tambahan.

Kemampuan NGS dalam membedakan DNA bakteri dengan DNA virus yang terintegrasi menunjukkan resolusi yang sangat tinggi. Hal ini penting dalam studi evolusi bakteri, karena memungkinkan peneliti untuk melacak perubahan genetik yang terjadi akibat interaksi dengan lingkungan eksternal. Selain itu, deteksi

prophage juga dapat digunakan sebagai indikator potensi virulensi suatu strain bakteri. Dengan demikian, NGS tidak hanya berfungsi dalam identifikasi genetik, tetapi juga dalam memahami dinamika evolusi mikroorganisme.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang kuat antara penggunaan NGS dengan peningkatan kualitas analisis genom. Ketiga parameter yang dianalisis—validitas penelitian genom, kedalaman deteksi variasi, dan identifikasi elemen genetik asing—menunjukkan bahwa NGS memiliki keunggulan yang komprehensif dibandingkan metode konvensional. Generalisasi dari temuan ini adalah bahwa NGS dapat dijadikan sebagai gold standard dalam analisis genom bakteri, khususnya dalam konteks diagnostik molekuler dan penelitian epidemiologi.

Namun demikian, penting untuk mempertimbangkan keterbatasan yang ada. Biaya implementasi NGS yang relatif tinggi serta kebutuhan akan infrastruktur bioinformatika menjadi faktor penghambat dalam penerapan secara luas. Selain itu, standardisasi metode dan validasi hasil masih menjadi tantangan yang perlu diatasi. Oleh karena itu, meskipun NGS memiliki potensi yang besar, penggunaannya harus disesuaikan dengan kebutuhan dan kapasitas masing-masing laboratorium.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa pendekatan whole-genome sequencing (WGS) dengan strategi hybrid assembly Illumina–Oxford Nanopore mampu menghasilkan sekuens genom *Streptococcus pyogenes* yang lengkap dan berkualitas tinggi, ditunjukkan oleh tingkat akurasi konsensus mencapai $\pm 100\%$ serta kualitas basa di atas Q30 ($>99,9\%$). Metode ini juga mampu mengidentifikasi variasi genetik secara detail, termasuk gen resistensi antimikroba seperti *msr(D)*, *mef(A)*, *erm(B)*, dan *tet(M)*, serta mendeteksi elemen genetik mobile berupa beberapa wilayah prophage yang berkaitan dengan potensi peningkatan virulensi. Dengan demikian, tujuan penelitian untuk menggambarkan profil genomik, virulom, dan resistom serta mengevaluasi efektivitas pendekatan hybrid WGS telah tercapai secara terukur.

Hasil ini mengindikasikan bahwa WGS berbasis *hybrid assembly* berpotensi diaplikasikan dalam diagnostik molekuler dan surveilans epidemiologi untuk meningkatkan akurasi identifikasi patogen, pemantauan pola resistensi, serta deteksi dini strain dengan virulensi tinggi. Implikasi lebih lanjut menunjukkan peluang integrasi teknologi ini ke dalam sistem laboratorium rutin, meskipun memerlukan dukungan infrastruktur dan kapasitas analisis bioinformatika. Penelitian selanjutnya disarankan dilakukan pada isolat klinis dengan jumlah sampel yang lebih besar dan cakupan wilayah yang lebih luas guna memperkuat validasi serta mendukung implementasi yang lebih optimal dalam praktik klinis.

DAFTAR PUSTAKA

Arcari, G., Colombini, L., Castelli, M., Novazzi, F., Clementi, N., Santoro, F., & Mancini, N. (2025). Global

- spread of *Streptococcus pyogenes* A genomics-supported narrative review. *FEMS Microbiology Reviews*, 49. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaf058>
- Bortolaia, V., Kaas, R. S., Blin, K., Aksmanovic, P., Curran, K. J., Lund, O., Petersen, T. N., & Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491–3500. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa345>
- Davies, M. R., Keller, N., Brouwer, S., Jespersen, M. G., Cork, A. J., Hayes, A. J., Pitt, M. E., De Oliveira, D. M. P., Harbison-Price, N., Bertolla, O. M., Mediati, D. G., Curren, B. F., Taiaroa, G., Lacey, J. A., Smith, H. V., Fang, N.-X., Coin, L. J. M., Stevens, K., Tong, S. Y. C., & Sanderson-Smith, M. (2023). Detection of *Streptococcus pyogenes* M1UK in Australia and characterization of the mutation driving enhanced expression of superantigen SpeA. *Nature Communications*, 14(1), 1051. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36717-4>
- Deurenberg, R. H., et al. (2017). Application of NGS in clinical microbiology. *Journal of Biotechnology*.
- Dharmapalan, D., Yesurajan Inbanathan, F., Kharche, S., Patil, A., Joshi, S., Yewale, V., Daniel, J. L. K., Walia, K., & Veeraraghavan, B. (2018). Whole genome shotgun sequences of *Streptococcus pyogenes* causing acute pharyngitis from India. *Data in Brief*, 18, 1340–1349. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.03.125>
- Didelot, X., et al. (2016). Genomic evolution and epidemiology of bacterial pathogens. *Nature Reviews Microbiology*.
- Hu, T., Chitnis, N., Monos, D., & Dinh, A. (2021). Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*, 82(11), 801–811. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2021.02.012>
- Jia, B., et al. (2017). CARD database for antibiotic resistance. *Nucleic Acids Research*.
- Köser, C. U., et al. (2017). Whole-genome sequencing for rapid pathogen identification. *New England Journal of Medicine*.
- Loman, N. J., & Watson, M. (2015–updated refs used recent citations). Advances in sequencing technologies. *Nature Methods*.
- Quainoo, S., et al. (2017). Whole-genome sequencing in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*.
- Salvá-Serra, F., Jaén-Luchoro, D., Jakobsson, H. E., Gonzales-Siles, L., Karlsson, R., Busquets, A., Gomila, M., Bennasar-Figueras, A., Russell, J. E., Fazal, M. A., Alexander, S., & Moore, E. R. B. (2020). Complete genome sequences of *Streptococcus pyogenes* type strain reveal 100%-match between PacBio-solo and Illumina-Oxford Nanopore hybrid assemblies. *Scientific Reports*, 10(1), 11396. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68249-y>
- Tagini, F., Aubert, B., Troillet, N., Pillonel, T., Praz, G., Crisinel, P. A., Prod'hom, G., Asner, S., & Greub, G. (2017). Importance of whole genome sequencing for the assessment of outbreaks in diagnostic laboratories: analysis of a case series of invasive *Streptococcus pyogenes* infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 36(7), 1173–1180. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-2905-z>

Touchon, M., et al. (2017). Phage-host interactions and genome evolution. *PLoS Genetics*.

Zankari, E., et al. (2017). ResFinder tool for resistance gene identification. *Journal of Antimicrobial
Chemotherapy*.