



**AGROPROSS**

National Conference  
Proceedings of Agriculture

**Proceedings:  
Penguatan Potensi Sumberdaya Lokal Guna Pertanian  
Masa Depan Berkelanjutan**

Tempat : Politeknik Negeri Jember  
Tanggal : 5-7 Juli 2023

**Publisher :**  
**Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture**  
E-ISSN : 2964-0172  
DOI : 10.25047/agropross.2023.491

## **Deteksi Molekuler Bakteri Patogen pada Makanan Fermentasi Tempe Dage Berdasarkan Marka Gen 16S rRNA**

*Molecular Detection of Pathogenic Bacteria in Tempe Dage Fermented Food Based on 16S rRNA Gene Markers*

*Author(s):* Yuriza Eshananda<sup>(1)\*</sup>; Nabela Fikriyya<sup>(2)</sup>; Synta Haqqul Fadlilah<sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman

<sup>(2)</sup> Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman

<sup>(3)</sup> Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman

\* Corresponding author: [yuriza.eshananda@unsoed.ac.id](mailto:yuriza.eshananda@unsoed.ac.id)

### **ABSTRAK**

Tempe Dage merupakan makanan produk fermentasi yang berasal dari Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah. Kenampakan tempe Dage sedikit berbeda dengan tempe pada umumnya dengan banyaknya titik-bintik hitam di permukaan Dage. Walaupun sudah sering dikonsumsi oleh masyarakat Banyumas, belum terdapat informasi mengenai keberadaan bakteri patogen pada tempe Dage yang berpotensi membahayakan Kesehatan manusia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keanekaragaman jenis bakteri patogen pada mikrobioma tempe Dage dengan pendekatan Next Generation Sequencing (NGS). Tahapan penelitian dari kultur bakteri dengan medium Reasoner's 2A (R2A), ekstraksi DNA genom, sekuensing berbasis platform Illumina berdasarkan daerah Variabel pada gen 16S rRNA, dan analisis bioinformatika. Hasil analisis bioinformatika pada webserver EZBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/contents/16smtp>) menunjukkan bahwa pada sampel tempe Dage terdapat beberapa bakteri patogen yang terdeteksi seperti *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio metschnikovii* dan *Salmonella bongori*. Hasil tersebut memberikan informasi baru mengenai keberadaan bakteri patogen pada makanan tradisional Dage yang dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan pendekatan kultur konvensional.

### **Kata Kunci:**

Tempe Dage;  
gen 16S rRNA;  
bakteri patogen

### **Keywords:**

*Tempe Dage;*  
*16S rRNA gene;*  
*pathogenic*  
*bacteria.*

### **ABSTRACT**

*Tempe Dage is fermented food product originating from Banyumas Regency, Central Java. The appearance of Dage tempeh is slightly different from tempeh in general with lots of black spots on its surface. Even though it is often consumed by the people of Banyumas, there is no information regarding the presence of pathogenic bacteria in Dage tempeh which have the potential to harm human health. Therefore, this study aims to detect the diversity of pathogenic bacteria in the Tempe Dage microbiome using the Next Generation Sequencing (NGS) approach. The research steps were from bacterial culture with Reasoner's 2A (R2A) medium, genomic DNA extraction, Illumina platform-based sequencing based on the Variable region of the 16S rRNA gene, and bioinformatics analysis. The results of bioinformatics analysis on the EZBioCloud webserver (<https://www.ezbiocloud.net/contents/16smtp>) showed that the Dage tempe samples contained several pathogenic bacteria which were detected, such as *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio metschnikovii* and *Salmonella bongori*. These results provide novel information regarding the presence of pathogenic bacteria in traditional Dage food which can be further analyzed using a conventional culture approach.*



## PENDAHULUAN

Makanan fermentasi merupakan jenis makanan atau minuman yang dihasilkan dari perubahan komponen makanan melalui proses enzimatik atau keterlibatan mikroorganisme dalam jumlah tertentu. Secara umum terdapat dua metode dalam proses fermentasi makanan yaitu secara alami dan menggunakan starter mikroorganisme (Dimidi et al., 2019). Selama proses fermentasi, mikroorganisme mengurai karbohidrat menjadi beberapa produk akhir seperti asam organik, karbondioksida, alkohol, dan beberapa metabolit antimikroba seperti bakteriosin. Makanan fermentasi juga merupakan makanan yang dilestarikan secara turun temurun sebagai bagian dari kebudayaan dan tradisi (Şanlıer et al., 2019). Salah satu makanan fermentasi yang masih dilestarikan di daerah Banyumas adalah Dage.

Dage berasal dari akronim kata kata Bahasa Jawa yaitu *didag age-age*, yang berarti makanan yang lebih enak dimakan segera setelah digoreng. Dage dapat diolah menjadi beberapa jenis makanan seperti tempe goreng dan keripik (Handayani dan Haryadi, 2001). Tempe Dage terbuat dari bahan dasar sisa ekstraksi minyak kelapa yang diinokulasikan dengan starter *Rhizopus* spp. dan dibungkus dengan daun pisang (Romulo & Surya, 2021). Namun demikian, informasi mengenai penelitian yang berkaitan dengan tempe Dage, masih sangat terbatas, termasuk mengenai deteksi bakteri patogen yang terdapat pada Dage,

Bakteri Patogen Pada makanan fermentasi. Bakteri patogen dapat menyerang berbagai jenis makanan, termasuk makanan fermentasi seperti sereal, susu, kacang, buah, dan sayuran. Keberadaan bakteri patogen tersebut dikarenakan prosedur produksi dan penanganan makanan yang kurang higienis, serta terdapatnya mikroflora asli yang terdapat pada makanan fermentasi

(Oyedeki et al., 2023). Deteksi bakteri patogen tersebut dapat dilakukan dengan beberapa metode, termasuk deteksi molekuler berbasis Polymerase Chain Reaction (PCR) pada gen 16S rRNA (Aris et al., 2013). Deteksi bakteri patogen pada makanan fermentasi penting dilakukan dalam identifikasi factor resiko dalam memastikan keamanan pangan (Chen & Alali, 2018).

Deteksi secara molekuler memiliki kelebihan yaitu akurasi yang lebih baik dibandingkan dengan metode fenotipik. Selain itu, gen 16S rRNA merupakan gen yang bersifat universal pada seluruh bakteri sehingga dapat digunakan dalam menganalisis hubungan kekerabatan antar bakteri (Clarridge, 2004). Tujuan dari penelitian ini adalah mendeteksi keanekaragaman jenis bakteri patogen pada mikrobioma Dage berdasarkan gen 16S rRNA. Analisis dilakukan dengan teknologi Next Generation Sequencing yang dapat mendeteksi bakteri yang bersifat *culturable* dan *unculturable* pada makanan (Lazarevic et al., 2022).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret hingga bulan April 2023. Lokasi pengambilan sampel tempe Dage dilakukan di tempat pembuatan tempe Dage di Kabupaten Banyumas. Kultur pengayaan bakteri pada medium Reasoners 2 A(R2A) dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi dan Laboratorium Riset Universitas Jenderal Soedirman.

Sampel tempe Dage ditimbang sebanyak 10-gram untuk kemudian digerus secara aseptis. Sampel kemudian dimasukkan kedalam 90 ml medium R2A untuk diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 30o C pada kecepatan 150 rpm. Isolasi DNA yang berasal dari tanah dilakukan menggunakan ZymoBIOMICS DNA/RNA Mini Kit (Zymo Research, California, USA) berdasarkan protokol

produsen. Elektroforesis produk hasil amplifikasi divisualisasi menggunakan The Agilent 2100 Bioanalyzer system. Sekuensing gen variable V3-V4 pada gen 16S rRNA dilakukan menggunakan metode Next Generation Sequencing (NGS) dengan mesin sekuensing Illumina Mi-Seq ukuran 2X300 bp yang dilakukan oleh PT. Genetika Science Indonesia (GSI).

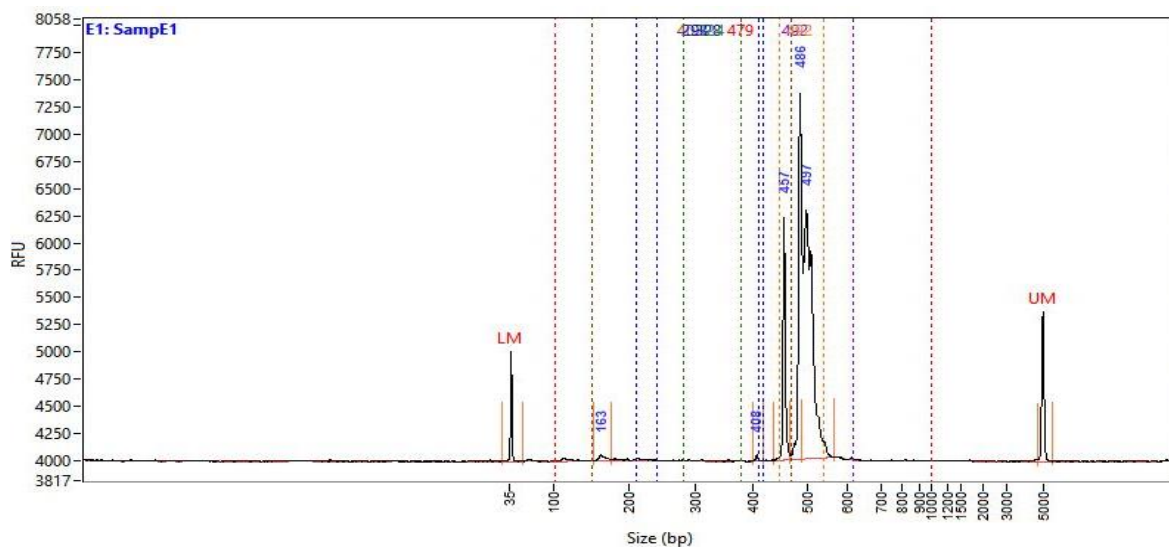
Analisis Bioinformatika dilakukan menggunakan webserver EZBioCloud ([https://www.ezbiocloud.net/contents/16s\\_mtp](https://www.ezbiocloud.net/contents/16s_mtp)) (Yoon et al., 2017). Data berupa sekuens forward dan reverse dengan format .fastq.gz diupload pada website tersebut. Hasil analisis berupa identitas dan sekuens fasta bakteri patogen secara otomatis akan diperoleh dari laman tersebut.

Analisis filogenetik dilakukan menggunakan software MEGA7 dengan metode Neighbor-joining dengan Kimura-

2parameter dan pensejajaran menggunakan MUSCLE (Kumar et al., 2016). Sekuens yang digunakan dalam analisis filogenetik memiliki Panjang 300 sampai 400 pasang basa.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil elektroforesis menggunakan perangkat The Agilent 2100 Bioanalyzer system seperti pada Gambar 1. memberikan visualisasi berupa kualitas dalam bentuk Relative Fluorescent Unit (RFU) dan kuantitas sampel dalam panjang basa yang berhasil diamplifikasi. Dibandingkan dengan elektroforesis menggunakan gel konvensional, kuantifikasi menggunakan Bioanalyzer memberikan beberapa keuntungan berupa pemisahan basa yang cepat serta volume sampel minimal 1 µl. Selain itu, paparan zat kimia berbahaya juga dapat diminimalisir (Davies et al., 2016).

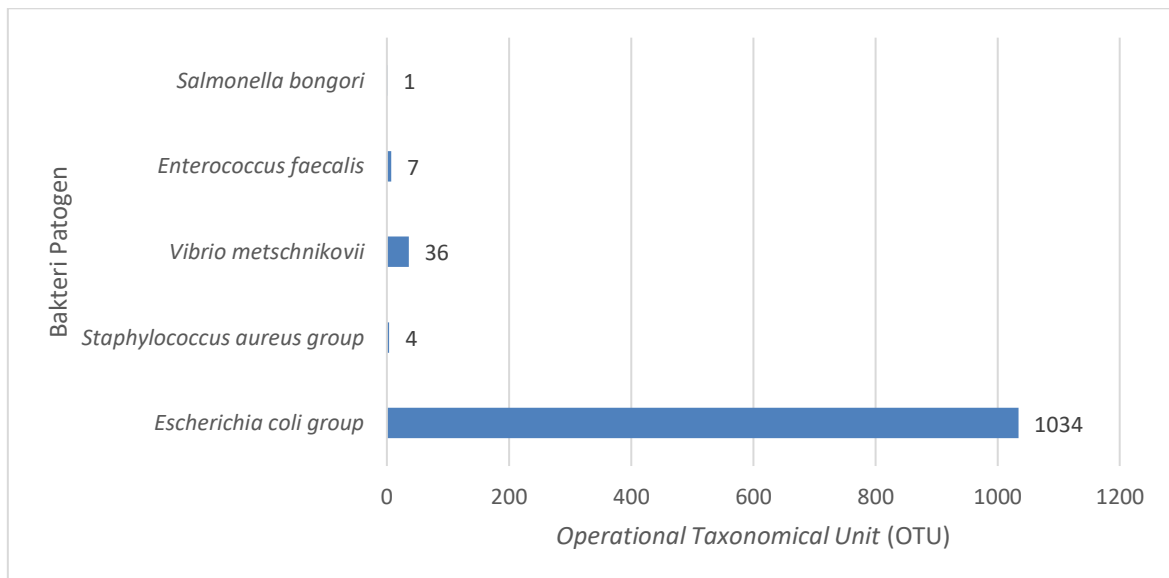


Gambar 1. Hasil elektroforesis sampel Dage. LM merupakan Lower Marker sedangkan UM adalah Upper Marker.

Hasil elektroforesis juga menunjukkan bahwa sampel DNA genomik pada sampel Dage berhasil diamplifikasi dengan panjang 486 pasang basa yang ditunjukkan dengan puncak kromatogram tertinggi. Hal tersebut sesuai dengan penelitian terdahulu

yaitu daerah Hypervariable (V) 3 dan V4 pada gen 16S rRNA memiliki panjang kurang lebih 400 pasang basa. Selain itu, bagian V3 dan V4 juga banyak digunakan dalam deteksi komunitas bakteri dengan

menggunakan pendekatan Next Generation Sequencing (Bukin et al., 2019).



Gambar 2. Hasil analisis bakteri patogen pada webserver EZBioCloud.

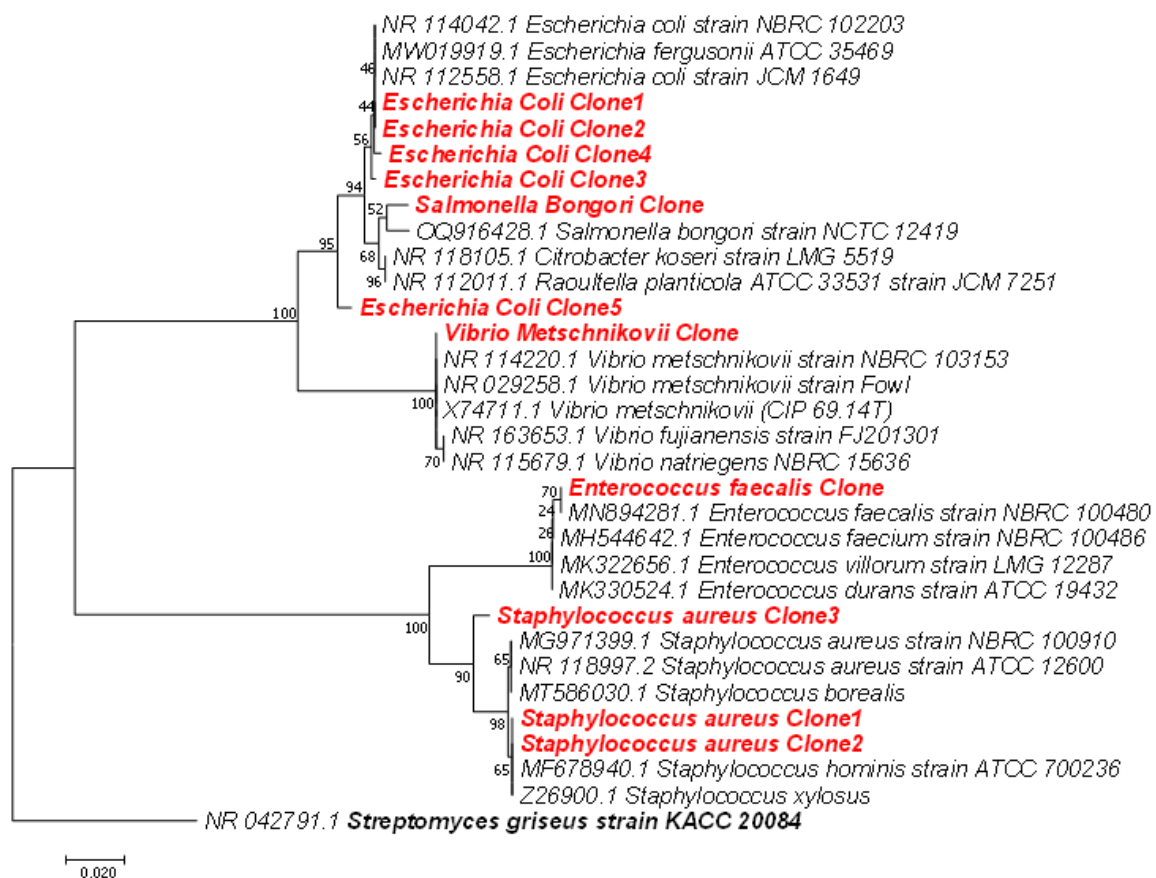
Hasil analisis pada database yang terdapat pada webserver EZBioCloud menunjukkan bahwa terdapat lima jenis bakteri patogen yang terdeteksi pada sampel Dage. Kelompok bakteri *Escherichia coli* menjadi bakteri yang paling banyak terdeteksi di makanan dengan jumlah Operational Taxonomic Unit (OTU) sebesar 1034. Terdeteksinya bakteri *E.coli* pada makanan menunjukkan indikasi keadaan yang kurang higienis dan adanya kontaminasi fekal (Ekici & Dümen, n.d.). Selain itu, *E. coli* juga merupakan salah satu mikroorganisme paling penting yang digunakan dalam monitoring kesehatan dan keamanan pangan. Penelitian sebelumnya menggunakan metode Polymerase Chain Reaction telah berhasil mendeteksi keberadaan *E.coli* pada sampel makanan berbasis daging seperti ikan, sapi dan ayam dengan jumlah yang bervariasi (Hariri, 2022). Spesies *Vibrio metschnikovii* terdeteksi pada sampel Dage dengan kelimpahan sebanyak 36 OTU. Berdasarkan penelitian terdahulu, *V. metschnikovii* memiliki habitat pada lingkungan akuatik dan bersifat patogen. Spesies tersebut dapat

menyebabkan sepsis dan diare pada manusia serta menghasilkan toksin yang bersifat hemolitik (Xiao et al., 2022). Namun demikian, meskipun bersifat zoonosis, kasus infeksi *V. metschnikovii* jarang ditemukan pada manusia (Linde et al., 2004). Keberadaan *V. metschnikovii* pada sampel kemungkinan berasal dari air yang digunakan dalam proses pembuatan Dage.

Genus *Enterococcus* dapat ditemukan pada makanan fermentasi dikarenakan resistensi terhadap desinfektan dan adaptasi pada lingkungan yang tidak menguntungkan (Mariam, 2021). Salah satu genus *Enterococcus* yang ditemukan pada sampel Dage adalah *Enterococcus faecalis* yang terdeteksi sebanyak 7 OTU. *E. faecalis* merupakan spesies *enterococcus* yang paling banyak ditemukan di makanan. Selain itu, spesies tersebut juga memiliki beberapa vektor virulensi yang berperan dalam proses infeksi serta menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik (Barel et al., 2023). Penggunaan *E. faecalis* sebagai agen fermentasi pada makanan juga telah dilarang di Negara Taiwan (Fang, 2020).

*Staphylococcus aureus* dan *Salmonella bongori* pada sampel Dage ditemukan dalam jumlah yang paling sedikit yaitu masing masing 1 dan 4 OTU. *S. aureus* menyebabkan kontaminasi pada produk makanan saat proses preparasi, pengolahan maupun pasca pengolahan. Bakteri tersebut dapat bertahan hidup pada permukaan tangan manusia dalam jangka waktu yang lama dan dapat berikatan dengan bagian permukaan tubuh lainnya. *S. aureus* juga merupakan bakteri patogen

penyebab signifikan food-borne disease yang menimbulkan ratusan ribu kasus penyakit di Amerika Serikat (Kadariya et al., 2014). Sedangkan untuk *S. bongori*, bakteri tersebut pertama kali ditemukan pada makanan (keju) di Italia pada tahun 1999. Meskipun biasa ditularkan kepada manusia melalui kontak dengan reptil, infeksi *S. bongori* yang berasal dari makanan belum pernah dilaporkan (Giammanco et al., 2002).



Gambar 3. Hasil analisis Filogenetik seluruh OTU bakteri patogen pada sampel dage dengan menggunakan software MEGA 7 berdasarkan metode Neigbor-joining. Analisis filogenetik dilakukan berdasarkan 404 posisi basa nukleotida pada daerah V3 dan V4 gen 16S rRNA.

Analisis filogenetik merupakan metode rekonstruksi hubungan kekerabatan antar organisme untuk memberikan informasi mengenai proses evolusi yang direpresentasikan dalam suatu sistem percabangan (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Berdasarkan analisis

OTU pada website EZBioCloud, spesies *Escherichia coli* memiliki 5 klon, *Staphylococcus aureus* 3 klon, dan tiga spesies lain masing masing hanya memiliki 1 klon. Spesies pembanding yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari spesies *type strain*, yaitu spesies yang

sudah dipublikasikan dan divalidasi oleh kultur koleksi internasional (Shi et al., 2021), pada database *National Centre for Biotechnological Information* (NCBI). *Streptomyces griseus* merupakan *outgroup* yang digunakan sebagai kontrol positif,

Hasil analisis filogenetik pada kelompok genus *Escherichia* menunjukkan bahwa sebanyak empat dari lima klon (*Clone 1* sampai *Clone 4*) bakteri *Escherichia coli* pada sampel Dage membentuk percabangan yang monofiletik dengan spesies type strain, kecuali pada *Clone 5*. Sedangkan pada klad *Salmonella*, klon *Salmonella bongori* membentuk sister taxa dengan *Salmonella bongori strain NCTC 12419*. Kelompok bakteri *Escherichia* dan kelompok *Salmonella* pada pohon filogenetik membentuk percabangan dengan nilai *Bootstrap* 95.

Berdasarkan hasil analisis filogenetik, dapat diamati bahwa kelompok *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, dan *Vibrio metschnikovii* pada tempe Dage juga membentuk klad yang monofiletik dengan spesies type strain dan menunjukkan nilai *Bootstrap* pada cabang berkisar antara 90 sampai 100. Analisis *Bootstrap* adalah metode yang menguji seberapa akurat data model yang digunakan dalam analisis filogenetik dengan melakukan pengulangan pembentukan cabang atau pohon. Nilai *Bootstrap* yang mendekati 100 menunjukkan pohon atau cabang yang terbentuk dari sekuens informatif yang digunakan dalam penyusunan pohon filogenetik semakin akurat (Holmes, 2003). Hal tersebut juga memberikan informasi bahwa deteksi molekuler yang dilakukan menggunakan gen 16S rRNA pada penelitian ini berhasil mengelompokkan sebagian besar bakteri patogen secara akurat dengan kelompok *type strain*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan deteksi molekuler,

terdapat beberapa bakteri patogen yang terdeteksi pada sampel tempe Dage yaitu *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio metschnikovii* and *Salmonella bongori*.

## ACKNOWLEDGEMENT

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Afifah Mariana, S.Si. atas bantuan yang diberikan preparasi alat dan bahan di laboratorium.

## SUMBER DANA PENELITIAN

Penelitian ini didanai oleh hibah Riset Peningkatan Kompetensi Universitas Jenderal Soedirman tahun 2023 dengan nomor kontrak: 27.316/UN23.37/PT.01.03/II/2023 kepada Yuriza Eshananda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aris, M., Harris, E., Fatuhcri Sukadi, M., & Yuhana, M. (2013). *Identifikasi molekular bakteri patogen dan desain primer PCR (Molecular identification of pathogenic bacteria and PCR specific primer design)* (Vol. 1, Issue 3).
- Barel, M., Celik, E., Gungor, G., Akcay, A., Gungor, C., Al, S., Hlzllsoy, H., Onmaz, N. E., Ylldrlm, Y., & Gonulalan, Z. (2023). Meta-Analysis of the Global Prevalence of *Enterococcus* spp. in Foods: Antibiotic Resistance Profile of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Annals of Animal Science*, 23(1), 107–120. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0067>
- Bukin, Y. S., Galachyants, Y. P., Morozov, I. V., Bukin, S. V., Zakharenko, A. S., & Zemskaya, T. I. (2019). The effect of 16s rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. *Scientific Data*, 6. <https://doi.org/10.1038/sdata.2019.7>

- Chen, L., & Alali, W. (2018). Editorial: Recent discoveries in human serious foodborne pathogenic bacteria: Resurgence, pathogenesis, and control strategies. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 9, Issue OCT). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02412>
- Clarridge, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 17, Issue 4, pp. 840–862). <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.840-862.2004>
- Davies, J., Denyer, T., & Hadfield, J. (2016). Bioanalyzer chips can be used interchangeably for many analyses of DNA or RNA. *BioTechniques*, 60(4), 197–199. <https://doi.org/10.2144/000114403>
- Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11081806>
- Ekici, G., & Dümen, E. (n.d.). *Escherichia coli and Food Safety*. [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
- Fang, S. Bin. (2020). Enterococci and food safety – Are all probiotics beneficial? In *Pediatrics and Neonatology* (Vol. 61, Issue 3, pp. 359–360). Elsevier (Singapore) Pte Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2020.01.004>
- Giammanco, G. M., Pignato, S., Mammina, C., Grimont, F., Grimont, P. A. D., Nastasi, A., & Giammanco, G. (2002). Persistent endemicity of salmonella bongori 48:z35:- In southern Italy: Molecular characterization of human, animal, and environmental isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(9), 3502–3505. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.9.3502-3505.2002>
- Handayani, T. & Haryadi. (2001). Makanan Tradisional Berbahan Dasar Terigu di Purwokerto. *Jurnal Agritech*, vol 32. No.2, pp 49-54, 2001, doi: <https://dx.doi.org/10.22146/agritech.13600>
- Hariri, S. (2022). Detection of Escherichia coli in Food Samples Using Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.32808>
- Holmes, S. (2003). Bootstrapping Phylogenetic Trees: Theory and Methods. In *Statistical Science* (Vol. 18, Issue 2).
- Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2014). Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. In *BioMed Research International* (Vol. 2014). Hindawi Publishing Corporation. <https://doi.org/10.1155/2014/827965>
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSW054>
- Lazarevic, V., Gaïa, N., Girard, M., Mauffrey, F., Ruppé, E., & Schrenzel, J. (2022). Effect of bacterial DNA enrichment on detection and quantification of bacteria in an infected tissue model by metagenomic next-generation sequencing. *ISME Communications*,

- 2(1).  
<https://doi.org/10.1038/s43705-022-00208-2>
- Linde, H. J., Kobuch, R., Jayasinghe, S., Reischl, U., Lehn, N., Kaulfuss, S., & Beutin, L. (2004). *Vibrio metschnikovii*, a rare cause of wound infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(10), 4909–4911. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.10.4909-4911.2004>
- Mariam, S. H. (2021). A sampling survey of enterococci within pasteurized, fermented dairy products and their virulence and antibiotic resistance properties. *PLoS ONE*, 16(7 July). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254390>
- Oktafia, R. E., & Badruzsaufari, D. (2021). *ANALISIS FILOGENETIK GARCINIA SPP. BERDASARKAN SEKUENS GEN rRNA (Phylogenetic Analysis of Garcinia spp. Based on rRNA Gene Sequences)*. 46.
- Oyedepi, A. B., Green, E., Jeff-Agboola, Y. A., Olanbiwoninu, A. A., Areo, E., Martins, I. E., El-Imam, A. M. A., & Adebo, O. A. (2023). Presence of pathogenic microorganisms in fermented foods. *Indigenous Fermented Foods for the Tropics*, 519–537. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-98341-9.00037-2>
- Romulo, A., & Surya, R. (2021). Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits. In *International Journal of Gastronomy and Food Science* (Vol. 26). AZTI-Tecnalia. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100413>
- Şanlıer, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2019). Health benefits of fermented foods. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 59, Issue 3, pp. 506–527). Taylor and Francis Inc. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>
- Shi, W., Sun, Q., Fan, G., Hideaki, S., Moriya, O., Itoh, T., Zhou, Y., Cai, M., Kim, S. G., Lee, J. S., Sedlacek, I., Arahal, D. R., Lucena, T., Kawasaki, H., Evtushenko, L., Weir, B. S., Alexander, S., Dénes, D., Tanasupawat, S., ... Ma, J. (2021). gcType: A high-quality type strain genome database for microbial phylogenetic and functional research. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D694–D705. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa957>
- Xiao, Z., Li, X., Xue, M., Zhang, M., Liu, W., Fan, Y., Chen, X., Chu, Z., Gong, F., Zeng, L., & Zhou, Y. (2022). *Vibrio metschnikovii*, a Potential Pathogen in Freshwater-Cultured Hybrid Sturgeon. *Animals*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/ani12091101>
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(5), 1613–1617. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001755>