

## IV HASIL DAN PEMBAHASAN

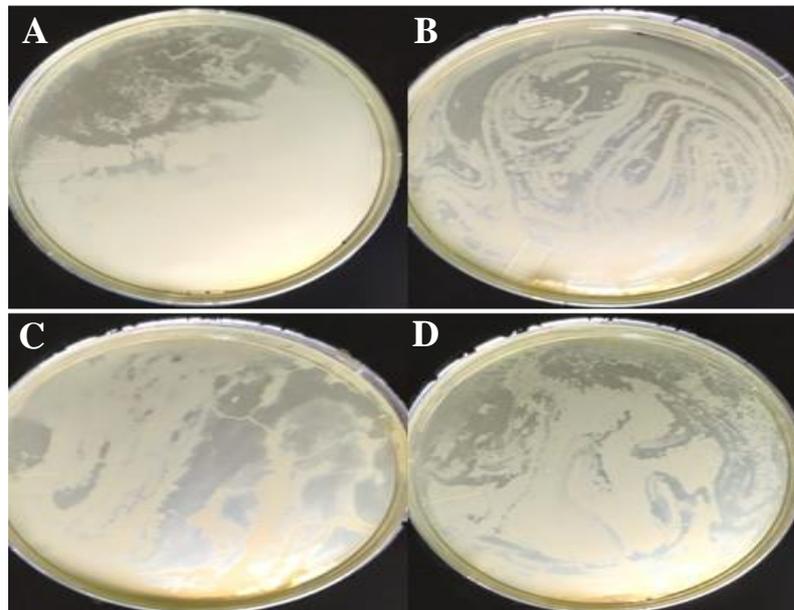
### 4.1. Hasil

Identifikasi bakteriofag melalui *spot test* menggunakan tanah yang ada di lingkungan rumah burung walet yang sudah diolah melalui tahap *enrichment*. Hasil positif berupa munculnya *clear zone* sedangkan negatif tidak ditandai dengan munculnya *clear zone* setelah diinkubasi. Hasil *spot test* dapat dilihat melalui Gambar 4.1



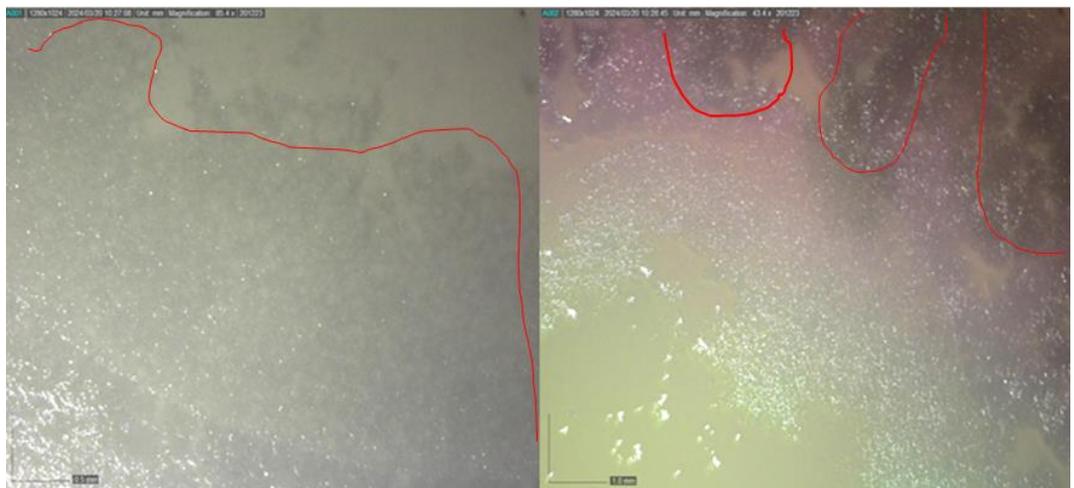
**Gambar 4. 1** Hasil *Spot test*

Pada hasil *spot test* didapatkan hasil positif dengan *clear zone* di sebagian area *spot test* dan diluar area *spot test*. Hal ini membuktikan tanah yang diambil di lingkungan rumah burung walet mengandung bakteriofag yang litik terhadap *Stenotrophomonas* sp. *Clear zone* yang terbentuk kemudian diambil dan dilanjutkan *plaque assay*. Hasil *plaque assay* dapat dilihat pada Gambar 4.2



**Gambar 4. 2** Hasil *Plaque Assay*, A. Pengenceran  $10^{-3}$  B. Pengenceran  $10^{-4}$  C. Pengenceran  $10^{-5}$  D. Pengenceran  $10^{-6}$

Hasil *plaque assay* pada media agar menunjukkan pembentukan plak yang menyebar dan tidak rata pada pengenceran  $10^{-3} - 10^{-6}$ .



**Gambar 4. 3** Hasil Mikroskop Perbesaran 1280x1024

Hasil mikroskop dari plak yang muncul menunjukkan adanya *clear zone* pada permukaan agar yang ditumbuhi bakteri. *Clear zone* yang muncul menunjukkan bakteri yang dapat terlisis oleh bakteriofag.

Hasil plak yang menyebar menyebabkan karakteristik tipe plak tidak dapat diidentifikasi dengan ciri-ciri yang tidak spesifik.

#### **4.2.Pembahasan**

Sarang burung walet merupakan bahan pangan asal hewan yang mempunyai nilai ekonomi yang sangat tinggi karena memiliki manfaat untuk kesehatan. Banyaknya permintaan ekspor untuk sarang burung walet menyebabkan kualitas sarang burung walet harus memenuhi standart sebagai upaya menjamin kesehatan masyarakat, salah satunya dengan kandungan nitrit yang rendah. Nitrit yang terdapat pada sarang burung walet berasal dari air liur burung walet dan kontaminasi dari lingkungan. Keberadaan nitrit di lingkungan dibantu oleh bakteri nitrifikasi yang dapat mengubah ammonia ( $\text{NH}_3$ ) dioksidasi menjadi nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) yang selanjutnya diubah menjadi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) (Ningrum, 2021).

Kandungan nitrit yang tinggi pada sarang burung walet dapat menjadi racun dan berbahaya karena dapat menyebabkan methemoglobinemia yang dapat menghambat aliran oksigen dan menyebabkan gangguan pernapasan (Setryawati & Kurnia, 2020). Nitrit yang terkonsusmsi berdampak buruk dengan menyebabkan kanker lambung, kanker vesika urinaria, dan kanker pancreas (Ningrum, 2021). Kadar nitrit yang memenuhi standart ekspor yaitu dibawah 30 ppm, oleh karena itu kadar nitrit dalam sarang burung walet harus diturunkan (Ningrum, 2023).

Bakteri *Stenotrophomonas* sp. adalah bakteri yang berperan sebagai agen denitrifikasi, yang dapat mengubah nitrat ( $\text{NO}_3$ ) menjadi gas nitrogen ( $\text{N}_2$ ). Bakteri ini banyak ditemukan salah satunya di tanah terutama *rhizosphere*. Pada kondisi yang beragam bakteri *Stenotrophomonas* sp. dapat bertahan dengan baik di alam. Sebagai bakteri denitrifikasi, bakteri *Stenotrophomonas* sp. berperan baik membantu mencegah terjadinya proses nitrifikasi yang dapat menyebabkan tingginya kandungan nitrit dalam sarang burung walet. Peran bakteri *Stenotrophomonas* sp., selain sebagai agen denitrifikasi yaitu sebagai resistensi dan detoksifikasi beberapa jenis logam berat seperti tembaga, emas, timbal, dan perak. Bakteri ini juga dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur (Rupaedah, dkk., 2018).

Bakteriofag merupakan virus yang dapat menginfeksi bakteri. Bakteriofag ini mempunyai dua siklus hidup yaitu yang bersifat litik dan bersifat lisogenik. Siklus litik menyebabkan lisis atau matinya sel bakteri yang membentuk plak atau bercak pada permukaan media agar (Wally, dkk., 2021). Siklus lisogenik, bakteriofag tidak melisiskan bakteri inang tetapi hanya memperlambat pertumbuhannya (Martin, 2016). Untuk mengetahui infeksi bakteriofag maka dibutuhkan uji *plaque assay*. Uji *plaque assay* merupakan suatu metode yang digunakan untuk menentukan unit infeksi virus yang ditandai dengan munculnya *clear zone* atau plak (Damayanti, dkk., 2016).

Mekanisme pembentukan plak dimulai dengan fag menginfeksi bakteri dan melisiskan satu sel bakteri inang. Kemudian fag yang baru terbentuk dilepaskan dari sel yang telah lisis dan fag akan menginfeksi sel bakteri di sekitarnya. Siklus ini akan terus berulang hingga sel bakteri yang ada di sekitar fag mengalami lisis dan terbentuk plak (Deshanda, dkk., 2018) Dalam penelitian ini, hasil *plaque assay* menunjukkan adanya plak atau *clear zone* yang terbentuk pada permukaan media agar. Bagian permukaan yang keruh tanpa munculnya plak dikarenakan *Stenotrophomonas* sp. tumbuh dengan baik dan sel bakteri inang tidak terinfeksi oleh bakteriofag. Hasil plak dari uji *plaque assay* menunjukkan bahwa bakteri *Stenotrophomonas* sp. dapat terlisiskan oleh bakteriofag, namun ciri-ciri plak tersebut tidak spesifik dan bentuknya yang menyebar tidak rata.

Bentuk plak bakteriofag ini tidak beraturan karena adanya variasi morfologi bakteriofag yang digunakan. Bakteriofag memiliki kapsid dengan bentuk polyhedral yang diselubungi oleh protein dan memiliki ekor menyerupai benang yang terdiri dari beberapa bagian. Variasi ini dapat menyebabkan bentuk plak yang tidak seragam dan bervariasi seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 4.1 (Hardanti, dkk., 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa morfologi plak yang bervariasi mengindikasikan beragamnya bakteriofag yang diperoleh (Nindita & Wardani, 2013).

Penelitian ini belum berhasil menunjukkan tipe karakteristik bakteriofag terhadap *Stenotrophomonas* sp. Faktor-faktor yang

menyebabkan kegagalan karakterisasi dalam penelitian ini yaitu, kondisi lingkungan yang berbeda, pertumbuhan inang, dan adanya sistem pertahanan bakteri terhadap bakteriofag (Saefunida, dkk., 2016). Kondisi lingkungan seperti suhu, pH, dan konsentrasi nutrisi dapat mempengaruhi aktivitas bakteriofag dan bentuk plak yang dihasilkan. Bakteri *Stenotrophomonas* sp. optimal pada suhu 37 °C selama 24 jam dan pH optimal 7. Konsentrasi nutrisi penting untuk pertumbuhan bakteri *Stenotrophomonas* sp. bakteri ini membutuhkan sumber nitrogen seperti dari ammonia, nitrit, dan nitrat serta sumber mineral yang sesuai. Ketersediaan nutrisi yang cukup dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri dan bentuk plak yang dihasilkan. Bakteri yang memerlukan nutrisi yang berbeda dapat menghasilkan bentuk plak yang berbeda pula (Kuswari, 2021). Dalam penelitian ini, bakteri *Stenotrophomonas* sp. diinkubasi pada suhu 30 °C dengan media yang memiliki pH 7,5 oleh karena itu bakteri ini tidak dapat tumbuh dengan maksimal. Pertumbuhan inang dapat mempengaruhi afinitas bakteriofag terhadap bakteri target dan jumlah bakteriofag yang dibutuhkan untuk menginfeksi bakteri target. Jika bakteri *Stenotrophomonas* sp. tumbuh lebih cepat, maka bakteriofag juga akan menyesuaikan tingkat produksi progeninya. Selain itu, sistem pertahanan bakteri terhadap infeksi bakteriofag dapat mempengaruhi kemampuan bakteriofag dalam melisis bakteri target. Jika sistem pertahanan lebih kuat, maka bakteriofag harus menyesuaikan strategi infeksi yang digunakan (Christin, dkk., 2022).