

SKRIPSI_20820083_ANANDA MAUDYA SAVITRI

by hafidernanda@gmail.com 1

Submission date: 01-Jul-2024 10:47AM (UTC+0530)

Submission ID: 2411062559

File name: SKRIPSI_20820083_ANANDA_MAUDYA_SAVITRI.docx (396.25K)

Word count: 3716

Character count: 23026

ISOLASI BAKTERIOFAG DARI LIMBAH BURUNG WALET

MENGGUNAKAN METODE PLAQUE ASSAY

Ananda Maudya Savitri

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi bakteriofag dari limbah di lingkungan rumah burung walet menggunakan metode *Plaque assay*. Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan secara acak dengan menggunakan metode *purposive sampling*. Sampel diambil dari 2 rumah burung walet yaitu rumah burung walet campuran (tidak berpemilik) dan rumah burung walet wild (berpemilik), dengan jumlah 20 sampel limbah burung walet yang diperoleh dari rumah burung walet di Sumedang. Hasil spot test dalam penelitian ini terdapat 2 sampel LHW dan LPW yang menunjukkan zona clear, hasil plaque assay diperoleh satu sampel LPW. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, isolasi bakteriofag dari limbah burung walet menggunakan metode *plaque assay* dapat mengisolasi satu bakteriofag terhadap bakteri penghasil nitrit *Lysinibacillus sp.*

Kata Kunci : Bakteriofag, Rumah burung walet, Plaque assay

ISOLATION OF BACTERIOPHAGES FROM SWALLOW BIRD WASTE USING PLAQUE ASSAY METHOD

Ananda Maudya Savitri

ABSTRACT

This research was conducted how to isolate bacteriophages from waste in the swallow house environment using the Plaque assay method. Sampling in this research was carried out randomly using the purposive sampling method. Samples were taken from 2 swiftlet houses, namely the mixed swiftlet house (unowned) and the wild swiftlet house (owned), with a total of 20 swallow waste samples obtained from swiftlet houses in Sumedang. The spot test results in this study contained 2 LHW and LPW samples which showed a clear zone, the plaque assay results obtained were one LPW sample. Based on the results of research that has been carried out, the isolation of bacteriophages from swiftlet waste using the plaque assay method can isolate one bacteriophage against the nitrite-producing bacteria *Lysinibacillus sp.*

Keywords : Bacteriophage, Swallow nests, Plaque assay

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteriofag atau *phage* adalah virus yang menyerang sel bakteri. Pada kasus bakteriofag jenis litik, bakteriofag dapat mengganggu metabolisme bakteri dan menyebabkan bakteri menjadi lisis (pecah) (Ritonga *et al.*, 2023).

Karena fag adalah musuh alami bakteri yang sering terdapat dalam air limbah, fag dapat digunakan sebagai agen biokontrol yang efisien untuk mikroorganisme berbahaya bawaan. Bakteriofag alami, atau virus bakteri yang menginfeksi dan berkembang biak di air limbah, banyak ditemukan di sana. dan pada inang tertentu yang tahan terhadap perubahan suhu dan pH. Fag dapat menampilkan siklus hidup litik atau lisogenik (Bhardwaj *et al.*, 2015).

Manfaat bakteriofag adalah kemampuannya menghasilkan enzim lisozim, yang memungkinkan mereka menginfeksi dan melisiskan bakteri tertentu. Ini adalah salah satu manfaat penggunaan bakteriofag untuk melakukan biokontrol bakteri dengan cara yang lebih aman. Unit penular virus dipastikan menggunakan metode uji plak, yang digunakan untuk pengujian dalam penyelidikan ini. Efek samping yang umum dari infeksi virus pada sel inang adalah pembentukan plak. Selanjutnya adanya interpretasi positif terhadap keberadaan plak berasal dari lapisan sel inang; Warna bening pada lapisan sel inang ini disebut plak, dan diperkirakan menandakan bahwa setiap plak berasal dari satu partikel virus (Damayanti *etal.*, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah dapat ditemukan bakteriofag pada limbah di lingkungan rumah burung walet?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan penelitian ini yaitu untuk mengisolasi bakteriofag dari limbah di lingkungan rumah burung walet menggunakan metode Plaque assay. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan mahasiswa S1 Kedokteran Hewan dalam meneliti di bidang Kedokteran Hewan khususnya bakteriofag. Penelitian ini khususnya bertujuan sebagai syarat kelulusan mahasiswa S1 Kedokteran Hewan

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah dapat mengetahui secara alamiah bakteriofag yang diisolasi dari limbah burung walet. Penelitian ini akan menghasilkan berupa jurnal nasional bereputasi dan skripsi

1.5 Hipotesa

Berdasarkan rumusan masalah dalam penelitian ini maka hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Menunjukkan bahwa tidak terdapat bakteriofag pada limbah di lingkungan rumah burung walet

H1 : Menunjukkan bahwa terdapat bakteriofag pada limbah di lingkungan rumah burung walet

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteriofag

Bakteriofag berfungsi sebagai agen biokontrol bakteri, bakteriofag, juga dikenal sebagai virus bakteri, atau ³⁹ fag, adalah parasit intraseluler wajib yang hanya dapat berkembang biak dengan menggunakan sel bakteri sebagai inang. Karena fag bersifat spesifik terhadap inang, maka fag hanya dapat menginfeksi ⁴ spesies tertentu dalam kelompok bakteri. Spesifisitas fag ⁴ inilah yang memungkinkan mereka digunakan dalam berbagai cara untuk menghancurkan dinding sel bakteri berbahaya. Spesifisitas fag didasarkan pada pengenalan protein fag terhadap reseptor sel bakteri yang teridentifikasi, sehingga fag dapat digunakan sebagai agen biokontrol patogen. (Hardanti *et al.*, 2018).

²⁸ Kandungan nitrit yang tinggi dalam sarang burung walet disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu kontaminasi lingkungan, liur walet dan bakteri penghasil nitrit (Susilo *et al.*, 2016). Konsumsi pangan yang mengandung nitrit berlebihan secara terus-menerus dapat menyebabkan kanker gastrointestinal (Ningrum, 2021). Salah satu metode untuk mengendalikan populasi bakteri penghasil nitrit adalah dengan aplikasi bakteriofag. Bakteriofag merupakan virus bakteri yang memiliki materi genetik berupa DNA dan RNA. Bakteriofag memiliki ekor berserat yang digunakan untuk melekat pada sel bakteri. Panjang fisik ekor ditentukan oleh pita pengukur protein, yang membentang pada tabung ekor. Protein tidak hanya bertanggung jawab untuk penentuan panjang ekor, tetapi juga telah terlibat dalam injeksi DNA fag ke dalam inang sel (Allen *et al.*, 2017).

Keberadaan bakteriofag di suatu lingkungan dapat diverifikasi asalkan terdapat jumlah bakteri yang cukup. Bakteriofag berkembang biak dan tumbuh di dalam bakteri. Virus yang dikenal sebagai bakteriofag menginfeksi bakteri, yang tersebar luas di lingkungan. Dapat disimpulkan bahwa lingkungan yang kotor, seperti tempat pembuangan sampah rumah tangga, adalah rumah bagi musuh virus atau bakteriofag (Jatmiko *et al.*,2018).

Siklus litik dimulai dari penempelan bakteriofag ke inang. Bakteriofag menempel pada reseptor yang terletak di kapsul bakteri. Proses ini disebut tahap adsorpsi. Setelah terjadi adsorpsi, bakteriofag akan menyuntikkan DNA atau RNA ke dalam sel bakteri. Tahap ini disebut tahap infeksi. Selanjutnya DNA atau RNA bakteriofag akan mengambil alih sel bakteri yang terinfeksi, yang kemudian dilanjutkan dengan produksi asam nukleat dan protein untuk pembuatan partikel virus baru. Setelah virus berkembang biak, virus ini akan melisis sel bakteri inang. Dalam satu tahap lisis, partikel bakteriofag terdapat sekitar 10-100 bakteriofag (Vidurupola *et al.*, 2014).

1.1.1 Siklus Hidup Bakteriofag

Bakteriofag diklasifikasikan menjadi dua kelompok menurut siklus hidupnya: fag litik, juga dikenal sebagai fag virulen, dan fag suhu. Selain itu, beberapa fag menjalani gaya hidup *pseudotemperate* atau *pseudolisogenik*, di mana asam nukleat fag tidak berintegrasi ke dalam kromosom inang melainkan bertahan sebagai keadaan linier atau plasmid melingkar (Fortier and Sekulovic, 2013).

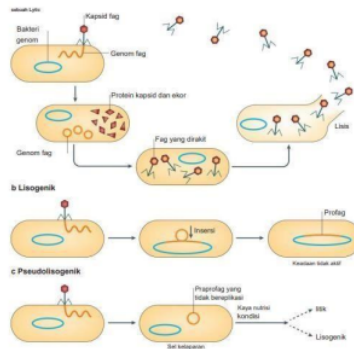
Berdasarkan siklusnya bakteriofag dibagi menjadi dua yaitu:

1. Siklus litik

Fag virus didefinisikan sebagai bakteriofag yang menjalankan siklus litik saat mereka bereplikasi (Davies *et al.*, 2016). Sepanjang siklus litik, asam nukleat bakteriofag melakukan sintesis protein menggantikan peralatan biosintetik inang dan m-RNA unik bakteriofag. Di akhir siklus hidupnya, fag yang mematikan melisis sel inangnya dan membunuhnya. Siklus litik terdiri dari dua tahap: adsorpsi dan penetrasi. Adsorpsi melibatkan penyuntikan asam nukleat fag ke dalam sitoplasma sel inang melalui dinding sel dan sitoplasma. Setelah itu, siklus bakteriofag disebut berada pada periode gerhana. Tidak ada partikel bakteriofag di dalam atau di luar sel bakteri selama fase gerhana (Hungaro *et al.*, 2014).

2. Siklus Lisogenik

Ketika jumlah bakteriofag relatif besar dibandingkan sel inang atau ketika kondisi nutrisi dan kepadatan inang tidak sesuai kebutuhan, bakteriofag memulai siklus lisogenik. Fag beriklim sedang adalah bakteriofag yang memiliki kemampuan untuk bereplikasi melalui siklus lisogenik. Beberapa menit setelah DNA fag disuntikkan ke dalam sitoplasma sel inang, fag beriklim mengintegrasikan DNA fag ke dalam kromosom bakteri inang untuk menghasilkan profag, yang memungkinkannya memilih antara dua siklus hidupnya litik atau lisogenik (Davies *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 Siklus Hidup Bakteriofag (Feiner *et al.*, 2015)

2.2 Rumah Burung Walet

Banyak masyarakat di Indonesia yang menanam sarang burung walet karena tingginya permintaan di pasar global. Budidaya burung walet, yang selama ini hanya terbatas di gua-gua, kini bisa dilakukan di kawasan berpenduduk. Struktur khusus yang dibuat oleh pembudidaya burung walet dimodelkan setelah lingkungan yang ditemukan di gua burung walet.

Bangunan tersebut merupakan habitat buatan yang dibuat khusus bagi burung walet untuk bersarang pada musim kawin. Struktur kandang walet mulai terlihat baik di pedesaan maupun perkotaan (Susilowati, 2018).

Bangunan tempat tinggal, berkembang biak, dan membuat sarang burung walet dikenal dengan nama Rumah Burung Walet. Burung layang-layang sering menghuni gua-gua dengan kelembapan tinggi dan suhu rendah. Burung walet bukan satu-satunya hewan yang hidup di gua; kelelawar, burung hantu, dan spesies lain juga tinggal di sana dan dapat berbahaya bagi burung walet. Akibatnya, koloni burung walet mencari lokasi baru, dan beberapa koloni

membangun tempat tinggal terbungkalai yang memiliki tingkat kelembapan dan suhu yang hampir sama dengan gua. Rumah burung walet berfungsi sebagai tempat berkembang biak dengan tujuan ganda yaitu menjaga atau meningkatkan kualitas sarang burung walet selain untuk menangkal ancaman hama predator. Mereka yang memelihara burung walet bisa mendapatkan keuntungan lebih jika sarangnya berkualitas tinggi (Alfianto, 2016). Beberapa kebutuhan dasar kenyamanan dalam beternak walet harus didukung oleh adanya rumah penangkaran walet. Spesifikasi ini mencakup pencahayaan, kelembapan, dan suhu (Dewi, 2018).



Gambar 2.2 Rumah Burung Walet (Gusti, 2022)

2.2.1 Faktor penunjang intensitas lingkungan

1. Suhu

Spesialis burung walet merekomendasikan suhu rumah burung walet (RBW) antara 26 dan 29 derajat Celsius. Luas dan tinggi ruangan, jenis pemasangan atap, ketebalan dan material dinding, serta jumlah ventilasi yang ditempatkan secara khusus semuanya perlu diperhatikan saat menentukan suhu optimal untuk rumah walet. Karena sinar matahari mempengaruhi suhu, penting juga untuk memperhitungkan arah fajar dan matahari terbenam.

2. Kelembaban

Pada tingkat 75–95%, RBW menawarkan kelembapan sempurna untuk kenyamanan menelan. Sarang burung walet dapat dipengaruhi oleh kelembaban ruangan yang tinggi sehingga menyebabkan kadar air meningkat dan membuat sarang menjadi kuning. Sebaliknya, kelembapan ruangan yang terlalu rendah mengakibatkan bentuk sarang tidak rata, terlalu kering, dan pecah-pecah. Oleh karena itu, tingkat kelembapan optimal rumah walet harus dijaga.

3. Pencahayaan

Kualitas sarang burung walet dipengaruhi oleh intensitas cahaya di dalam rumah burung walet, oleh karena itu anda harus mewaspadainya. Menurut Faraidi dkk. (2019), intensitas cahaya merupakan besaran dasar yang digunakan untuk menghitung daya pancaran cahaya per satuan sudut. Lingkungan dengan cahaya redup biasanya menghasilkan sarang dengan kaliber lebih tinggi daripada lingkungan yang terang, yang menghasilkan sarang yang tipis dan cacat.

2.3 Limbah Rumah Burung Walet

Pengertian limbah adalah sisa atau limbah dari suatu perusahaan atau kegiatan manusia berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 18 Tahun 1999 Jo.PP 85/1999. Sampah adalah bahan terbuang yang tidak dapat digunakan lagi, yang jika tidak dikelola dengan baik akan menimbulkan dampak buruk bagi masyarakat. Pengelolaan air limbah rumah tangga dan industri yang tidak tepat dapat berdampak buruk bagi kesehatan tubuh.

Limbah rumah burung walet umumnya merujuk pada kotoran atau sisa-sisa material yang dihasilkan oleh burung walet dalam proses membuat sarang. Burung walet menggunakan air liur mereka untuk membuat sarang di dinding gua atau struktur bangunan, dan sisa-sisa ini kemudian dapat menjadi limbah. Limbah ini dikenal sebagai “sarang burung walet” atau “sarang walet”. Limbah pada rumah burung walet terdiri dari pecahan telur, feses, dan juga bulu.



Gambar 2.3 Limbah rumah burung walet (Dokumentasi pribadi, 2024)

2.4 Metode Plaque Assay

Tes plak adalah salah satu teknik yang digunakan untuk menghitung unit infeksi virus. Zona lisis, juga dikenal sebagai zona penghambatan, berkembang ketika partikel virus mulai menginfeksi lapisan sel inang dan menyebar ke permukaan medium, membuat daerah terang pada lapisan sel inang terlihat. Dengan asumsi bahwa setiap bercak cemerlang ini disebabkan oleh satu partikel

virus, maka bercak tersebut disebut sebagai plak. Lapisan sel inang hidup yang tersebar di seluruh permukaan media agar disebut plak, dan mempunyai jendela di dalamnya. Ketika lapisan tipis inang bakteri yang tumbuh pada media agar digabungkan dengan partikel virus (bakteriofag), plak dapat diamati. (Narulita *et al.*, 2020).

Metode *plaque assay* pada umumnya digunakan untuk propagasi atau perbanyakan plaque serta plaque assay biasanya juga digunakan untuk virulence assay atau uji kemampuan infeksi bakteriofag kepada bakteri (Narulita *et al.*, 2020).

2.5 *Lysinibacillus sp.*

Lysinibacillus adalah bakteri gram positif, mesofilik, berbentuk batang yang biasa ditemukan di tanah. Ia dapat membentuk endospora resisten yang toleran terhadap suhu tinggi, bahan kimia, dan sinar ultraviolet serta dapat bertahan dalam jangka waktu lama. Hal ini menjadi perhatian khusus bagi Organisasi Kesehatan Dunia karena efek larvasida dari beberapa strain terhadap dua genera nyamuk (*Culex dan Anopheles*), lebih efektif dibandingkan *Bacillus thuringiensis* dalam keadaan vegetatif juga efektif melawan larva *Aedes aegypti*, vektor penting virus demam kuning dan demam berdarah (Sananta dkk., 2019).

27

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu

Pembuatan bakteriofag yang diisolasi dari limbah di lingkungan rumah burung walet yang dikerjakan di laboratorium Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Observasi berlangsung pada bulan Februari 2024

8

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah centrifuge, autoklaf, laminar air flow, falcon, erlenmeyer steril, inkubator, bunsen, cawan petri, pipet, mikro pipet, tabung reaksi, ose bulat, tip, vorteks, *epENDORF*

7

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk mendukung penelitian adalah limbah yang di ambil dari lingkungan rumah burung walet konvensional dan campuran, media *Brain Heart Infusion Agar (BHIA)*, *Brain Heart Infusion Broth (BHIB)*, *Tryptic Soy Agar (TSA)* solid, *TSA* semisolid, *SM Buffer*, dan isolat *Lysinibacillus* sp.

8

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif observational. Deskriptif yang dimaksud adalah memaparkan hasil penelitian dan memaparkan hasil penelitian yang didapatkan.

40

¹⁹ 3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan beberapa variabel, yaitu :

- a. Variabel bebas : Bakteriofag
- b. Variabel kontrol : *Host Lysinibacillus* sp

⁵ 3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan secara acak dengan menggunakan metode purposive sampling. *Purposive sampling* adalah teknik yang digunakan untuk mengumpulkan atau mengidentifikasi sampel tertentu (Fauzy, 2019). Sampel tertentu yang dimaksud yaitu sampel diambil dari 2 rumah burung walet yaitu rumah burung walet campuran (tidak berpemilik) dan rumah burung walet wild (berpemilik).

¹ 3.3.4 Kultur Bakteri

Kultur bakteri yang digunakan sebagai inang untuk isolasi bakteriofag adalah *Lysinibacillus* sp. *Lysinibacillus* sp diperbanyak 10 ml di dalam media *Braint Heart Infusion* (BHIA) agar. Biakan bakteri *lysinibacillus* sp kemudian diinokulasikan ke dalam media BHI semisolid dan diinkubasikan selama 48 pada suhu 30°C.

⁷ 3.4 Prosedur Penelitian

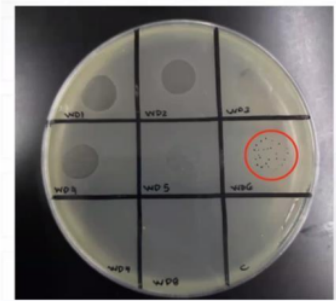
3.4.1 Isolasi Bakteri

Setelah dikumpulkan dari rumah burung walet di Sumedang, total ada dua puluh sampel kotoran burung walet yang dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi Terapan, BRIN, Cibinong. Untuk mengekstrak supernatan, sebanyak 50 mL masing-masing sampel ¹⁰ disentrifugasi dengan kecepatan 400 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C. Hingga 20 mL supernatan dikumpulkan,

dan 10 mL TSB dimasukkan ke dalam botol kultur Lysinibacillus 100 mL, 5 mL secara aseptik per botol. Botol kemudian dikultur pada suhu 30°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, suspensi dimasukkan ke dalam tabung centrifuge 15 mL dan disentrifugasi tiga kali berturut-turut selama 10 menit pada suhu 4°C dan 3500 rpm. Untuk memperoleh filtrat bakteriofag, supernatan dikumpulkan dan disaring melalui membran filter dengan diameter pori 0,22 μm dan 0,45 μm .

3.4.2 Spot Test

Setelah dikultur pada media BHIB, isolat bakteri dipindahkan ke media TSA semipadat dan divorteks. Cawan petri diisi dengan bahan yang telah dihomogenisasi secara merata. Filtrat sampel ditambahkan secara merata ke dalam media kering dengan penambahan 10 μl , dipisahkan 1 cm di antara setiap tetes. Selama sehari penuh, inkubasi media pada suhu 30°C. Gosok dengan siklus melingkar jika hasil spot test menunjukkan zona bersih. 900 μl buffer SM dimasukkan ke dalam tabung 1,5 ml bersama dengan temuan scrub. Sentrifugasi hasil scrub selama 15 menit dengan kecepatan 15.000 rpm. Pindahkan supernatan ke dalam tabung segar.



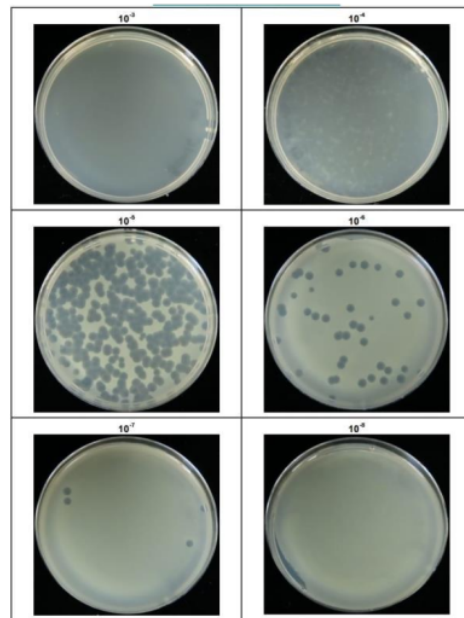
Gambar 3.1 Hasil Spot test (Siti Gusti Ningrum, 2023)

3.4.3 Plaque Assay

Supernatan sebanyak 100 μ l ditambahkan ke dalam SM buffer sebanyak 500 μ l (sampai pengenceran 10^{-6}). Tahap pengenceran (10^{-1} s.d 10^{-6}) bakteriofag diambil 100 μ l pada tiap – tiap pengenceran untuk ditambahkan ke dalam 500 μ l yang mengandung kultur bakteri *Lysinibacillus* sp pada tube yang berbeda sesuai jumlah pengenceran dan dihomogenkan. TSA semisolid dicampurkan dengan masing – masing pengenceran dan dihomogenkan. Suspensi dituang ke dalam cawan petri berbeda yang telah berisi TSA agar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Plaque yang terbentuk di *picking* dan dilakukan pengenceran kembali sampai pengenceran 10^{-6} . Plaque yang terbentuk pada cawan petri yang memenuhi syarat (kisaran 25 – 250 plaque) diamati (University of Santo Tomas, 2023).

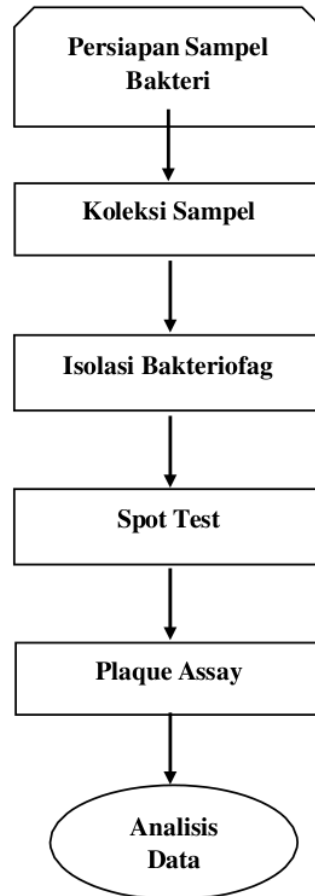
Kemudian hasil dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\frac{\text{Number of plaques counted (PFU)}}{\text{Volume plated (in mL)}} \times \text{dilution factor} = \text{titre } \left(\frac{\text{PFU}}{\text{mL}}\right)$$



Gambar 3.2 Hasil Plaque Assay (Virtual Southeast Asia Phage Workshop, 2022)

3.5 Kerangka Operasional Penelitian



18 3.6 Analisis Data

Hasil dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel dan gambar.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Spot test

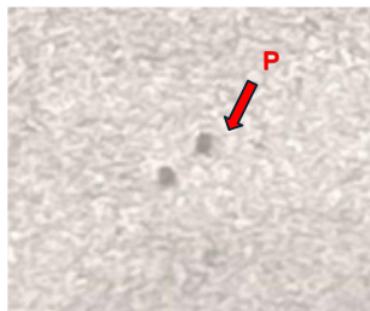
Berdasarkan hasil spot test dalam penelitian ini terdapat 2 sampel LHW dan LPW yang menunjukkan zona clear (Gambar 4.1)



Gambar 4.1 Hasil *spot test* LH (a) dan LPW (b) pada media terlihat zona clear (C) tanda panah berwarna kuning

4.1.2 Hasil Plaque assay

Berdasarkan hasil plaque assay diperoleh satu sampel LPW. Hasil perhitungan plaque assay dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Tabel 1.1) dan hasil yang menunjukkan zona clear pada plaq dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil *plaque assay* (P) tanda panah berwarna merah.

Tabel 4.1 Hasil perhitungan *plaque assay* berdasarkan masing – masing pengenceran sebanyak 20 sampel

Kode Sampel	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
LHW1	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW2	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW3	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW4	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW5	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW6	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW7	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW8	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW9	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LHW10	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	25
LPW1	44	33	28	13	6	4
LPW2	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW3	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW4	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW5	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW6	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW7	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW8	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW9	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
LPW10	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

4.1.3 Perhitungan titer bakteriofag

Setelah melakukan perhitungan plaque lalu dilanjutkan dengan perhitungan titer bakteriofag berdasarkan jumlah plaque yang telah diperoleh pada metode plaque assay. Jumlah titer bakteriofag yang menginfeksi sel bakteri dapat ditentukan melalui perhitungan *Plaque Forming Units* (PFU) dengan rumus berikut:

$$\frac{\text{Number of plaques counted (PFU)}}{\text{Volume plated (in mL)}} \times \text{dilution factor} = \text{titre} \left(\frac{\text{PFU}}{\text{mL}} \right)$$

Dari rumus tersebut maka diperoleh titer bakteriofag sebagai berikut:

- a. Titer dari sampel LPW1 pengenceran 10^{-1}

$$\frac{44}{10^{-1}} \times \frac{1}{10^{-3}} = 2,5 \times 10^2 \text{ PFU/ml}$$

- b. Titer dari sampel LPW1 pengenceran 10^{-2}

$$\frac{33}{10^{-1}} \times \frac{1}{10^{-3}} = 2,5 \times 10^2 \text{ PFU/ml}$$

- c. Titer dari sampel LPW1 pengenceran 10^{-3}

$$\frac{28}{10^{-1}} \times \frac{1}{10^{-3}} = 2,5 \times 10^2 \text{ PFU/ml}$$

4.2 Pembahasan

Hasil pada penelitian ini diperoleh dua sampel pada pengujian spot test, yaitu LPW dan LHW. Pada pengujian plaque assay diperoleh satu sampel (LPW). Plaque yang terbentuk dari hasil penelitian ini memiliki potensi bahwa bakteriofag mampu melisis bakteri inangnya. Beberapa faktor perlu diperhatikan seperti suhu dan pH. Adanya faktor lain seperti penyimpanan dan perlakuan sampel dengan benar juga penting. Faktor pengenceran juga berpengaruh pada kemunculan plaque. Semakin tinggi pengenceran maka plaque semakin terlihat renggang dan mudah diamati (Pratiwi, 2021).

Konsentrasi bakteriofag dalam sampel meningkat seiring dengan jumlah plak yang terlihat. (Rahaju, 2014) menyatakan bahwa keberadaan bakteriofag yaitu terciptanya zona bening (plak) menunjukkan interpretasi ²⁹ yang baik. Hal ini disebabkan oleh fakta bahwa virus menggunakan "mesin reproduksi" sel bakteri untuk menyuntikkan materi genetiknya (DNA atau RNA) untuk bereproduksi, tumbuh menjadi partikel virus, dan berkembang biak dengan melisis sel-sel tersebut. Hanya satu atau lebih strain atau spesies bakteri yang dapat terinfeksi oleh bakteriofag, yang menyerap ke wilayah tertentu pada selubung sel inang sebelum menembus sel inang dan memungkinkan semua virion memasuki genom sel (Rahaju, 2014). Dalam penelitian ini, *Lysinibacillus sp.* sel inang terinfeksi oleh bakteriofag, yang menyebabkan sel-sel yang berkembang semakin larut hingga muncul zona bening yang dikenal sebagai plak.

Uji spot menghasilkan dua sampel yang mengandung bakteriofag, ditandai dengan zona bening; sebaliknya, metode uji plak menghasilkan satu sampel positif. Hal ini ⁶ karena partikel bakteriofag yang tercipta selama infeksi mengandung beberapa komponen yang rusak, sehingga mencegah virus menginfeksi bakteri. Selain itu, ada suhu, yang merupakan unsur lainnya. Salah satu elemen utama yang mempengaruhi perkembangan dan kelangsungan hidup bakteri adalah suhu. Laju pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh suhu karena

berdampak pada proses kimia yang terjadi di dalam tubuhnya. Selain suhu, derajat keasaman atau pH juga mempengaruhi perkembangan bakteri. (Madigan *et al.*, 2012).

Bakteriofag yang diperoleh pada penelitian ini merupakan bakteriofag yang mampu menginfeksi bakteri *Lysinibacillus* sp. Bakteri *Lysinibacillus sphaericus* merupakan bakteri kelompok bakteri *Lysinibacillus*. Bakteri ini awalnya merupakan anggota genus *Bacillus* yang ditemukan Meyer dan Neide pada tahun 1904 dengan nama awalnya adalah *Bacillus sphaericus*. Ahmed *et al.* (2007)

mengusulkan untuk mengubah genus *L. Sphaericus* yang awalnya *Bacillus* menjadi *Lysinibacillus*. Hal ini berdasarkan komposisi kimia yang meliputi asam lemak selular dan lemak polar serta genotipnya (Saraswati., 2020). Bakteri *L. Sphaericus* berpotensi mengikat nitrogen dan merupakan bakteri nitrifikasi. Selain itu, bakteri ini juga dapat memproduksi Indole Acetic Acid (IAA) (Martínez *et al.*, 2017).

Proses pengubahan senyawa nitrogen alami atau nitrifikasi dimulai dengan konversi amonia (NH_4^-) menjadi senyawa nitrit (NO_2^-). Molekul nitrit ini tetap merupakan bahan kimia yang tidak stabil hingga mengalami oksidasi menjadi nitrat (NO_3^-). Ada beberapa prasyarat untuk menyelesaikan operasi ini, salah satunya adalah udara. Kompresor atau blower dapat menyediakan pasokan udara yang sesuai. Selain kebutuhan bakteri yaitu nitrat. Udara juga membutuhkan mikroorganisme nitrifikasi (Leonanda *et al.*, 2018).

Ketika sarang burung walet masih berada di habitat aslinya, terjadi pencemaran nitrit (Utomo *et al.*, 2018). Dipercaya bahwa habitat dan persediaan makanan burung layang-layang berhubungan dengan konsentrasi nitrit ini. Kotoran burung walet yang mengandung amonia biasanya terlihat pada sarang burung walet. Oksigen akan mengoksidasi amonia menjadi nitrit, yang kemudian akan teroksidasi lagi menjadi nitrat (Chan *et al.*, 2013). Diperlukan lebih banyak penelitian untuk mengetahui jenis bakteri nitrifikasi spesifik yang berkontribusi terhadap pembentukan nitrit di sarang burung walet. Nitrit terbentuk secara alami di lingkungan rumah burung walet dan diyakini dipengaruhi oleh bakteri penghasil nitrit ketika mereka mengubah nitrat menjadi nitrit. Proses nitrifikasi dan fungsi bakteri nitrifikasi pada sarang burung walet (Widiyani dkk., 2021).

Sarang burung walet adalah sarang berbagai kandungan nitrit yaitu nitrit beracun apabila dikonsumsi dalam konsentrasi yang tinggi (Payder et al., 2013). Nitrit sering digunakan sebagai zat aditif pada bahan pangan. Memanfaatkan nitrit adalah cara yang sangat efektif untuk membuat konsumen tidak merasa sendirian. (Saputro et al., 2016).

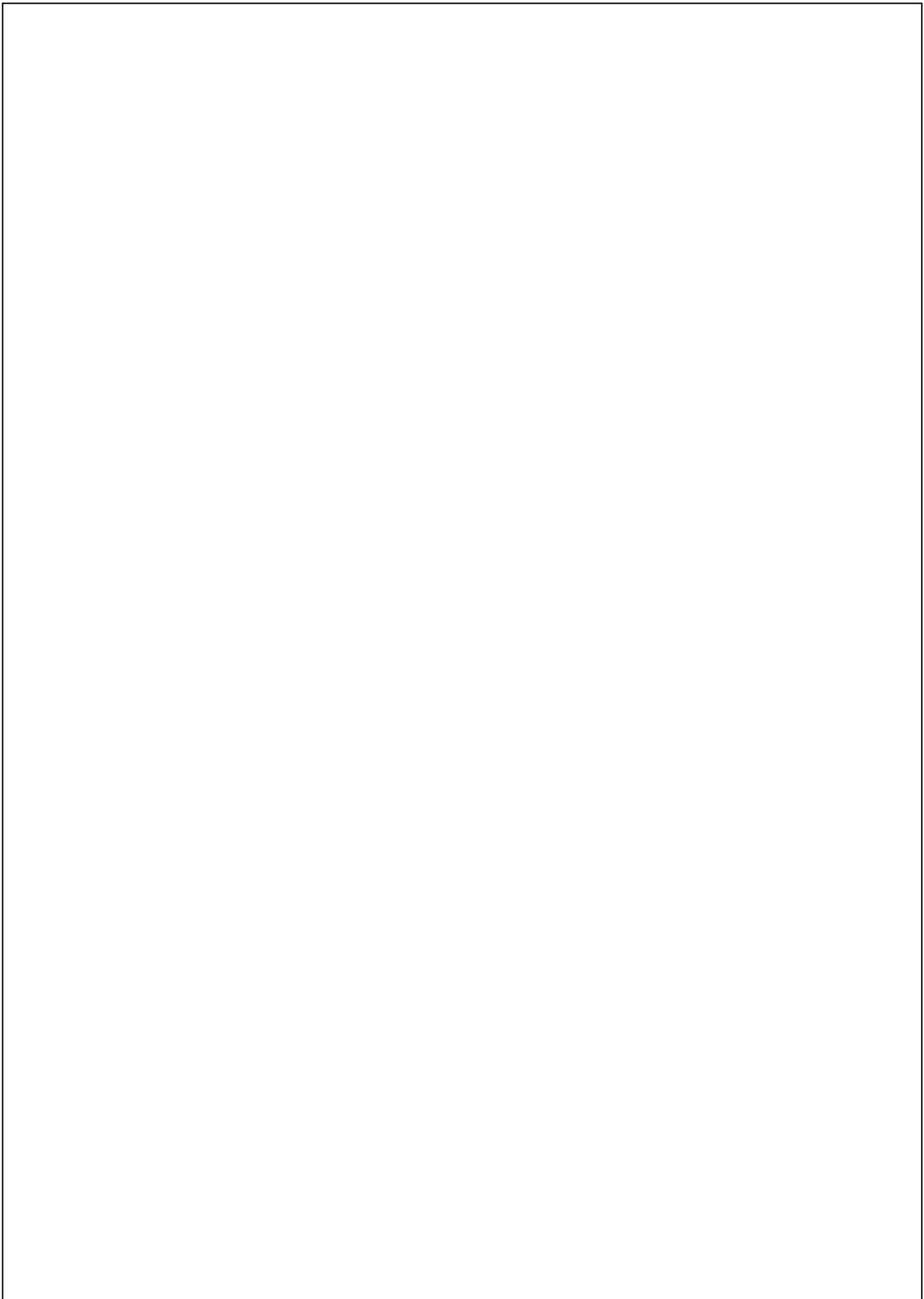
V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, isolasi bakteriofag dari limbah burung walet menggunakan metode plaque assay dapat mengisolasi satu bakteriofag terhadap bakteri penghasil nitrit *Lysinibacillus* sp.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, diharapkan penelitian ini dikembangkan dan dilanjutkan guna mengetahui lebih dalam jenis fag dan penerapan bakteriofag agar dapat terhindar dari bakteriofag penghasil nitrit pada sarang burung walet. Sehingga sarang burung walet yang akan dipanen terhindar dari kadar nitrit yang tinggi.



ORIGINALITY REPORT

21%

SIMILARITY INDEX

20%

INTERNET SOURCES

8%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	repository.ub.ac.id Internet Source	3%
2	Submitted to iGroup Student Paper	3%
3	ejurnal.undana.ac.id Internet Source	1%
4	Rina Hidayati Pratiwi. "Virus Bakteri sebagai Terapi untuk Penyakit Infeksi", BIOEDUSAINS:Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains, 2021 Publication	1%
5	docplayer.info Internet Source	1%
6	ejournal3.undip.ac.id Internet Source	1%
7	repository.unair.ac.id Internet Source	1%
8	erepository.uwks.ac.id Internet Source	1%

9	journal.uinsgd.ac.id Internet Source	1 %
10	nanopdf.com Internet Source	1 %
11	123dok.com Internet Source	<1 %
12	Submitted to IAIN Bengkulu Student Paper	<1 %
13	booksreadr.net Internet Source	<1 %
14	repository.trisakti.ac.id Internet Source	<1 %
15	Submitted to Forum Perpustakaan Perguruan Tinggi Indonesia Jawa Timur Student Paper	<1 %
16	Submitted to unigal Student Paper	<1 %
17	idoc.pub Internet Source	<1 %
18	repository.uin-suska.ac.id Internet Source	<1 %
19	sinta.unud.ac.id Internet Source	<1 %
20	dspace.uii.ac.id	

Internet Source

<1 %

21

eprints.walisongo.ac.id

Internet Source

<1 %

22

repository.unj.ac.id

Internet Source

<1 %

23

www.scribd.com

Internet Source

<1 %

24

journal.poltekkesjambi.ac.id

Internet Source

<1 %

25

skripsipedia.wordpress.com

Internet Source

<1 %

26

text-id.123dok.com

Internet Source

<1 %

27

docslib.org

Internet Source

<1 %

28

eprints.unika.ac.id

Internet Source

<1 %

29

fx-blogparts.com

Internet Source

<1 %

30

generasi46.blogspot.com

Internet Source

<1 %

31

id.123dok.com

Internet Source

<1 %

32	id.scribd.com Internet Source	<1 %
33	ind.topview-engineering.com Internet Source	<1 %
34	repository.umsu.ac.id Internet Source	<1 %
35	seputarinformasiperikanan.blogspot.com Internet Source	<1 %
36	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
37	www.kompas.com Internet Source	<1 %
38	www.scilit.net Internet Source	<1 %
39	www.slideshare.net Internet Source	<1 %
40	digilib.iain-palangkaraya.ac.id Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off

SKRIPSI_20820083_ANANDA MAUDYA SAVITRI

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12

PAGE 13

PAGE 14

PAGE 15

PAGE 16

PAGE 17

PAGE 18

PAGE 19

PAGE 20

PAGE 21

PAGE 22

PAGE 23

PAGE 24

PAGE 25

PAGE 26

PAGE 27

PAGE 28
