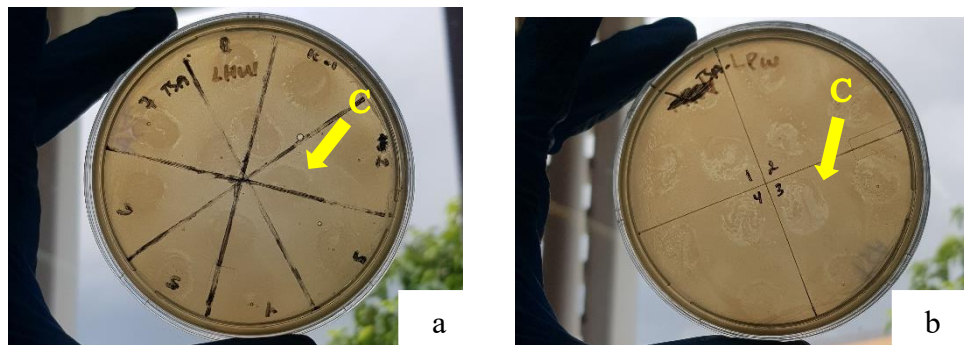


IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil *Spot test*

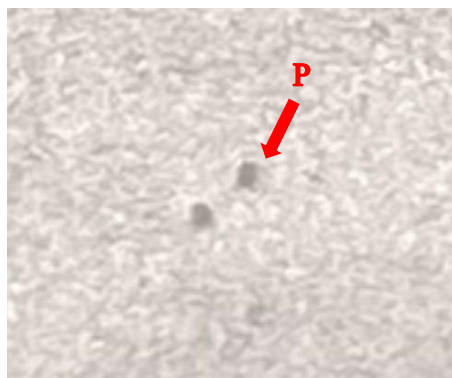
Berdasarkan hasil *spot test* dalam penelitian ini terdapat 2 sampel LHW dan LPW yang menunjukkan zona *clear* pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Hasil *spot test* LHW (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 yang menunjukkan zona *clear* pada plak dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan hasil perhitungan *plaque assay* dapat dilihat pada tabel di bawah ini (Tabel 4.1).



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	Negatif
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 plak lalu dilanjutkan dengan perhitungan titer bakteriofag berdasarkan jumlah plak 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:

$$\frac{\text{Jumlah plak yang dihitung (PFU)}}{\text{Volume plated (tn mL)}} \times \text{faktor pengenceran} = \text{titer} \left(\frac{\text{PFU}}{\text{mL}} \right)$$

Dari rumus tersebut maka diperoleh titer bakteriofag sebagai berikut:

Titer dari sampel LPW1 pengenceran 10^{-3}

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

4.2 Pembahasan

Hasil pada penelitian ini diperoleh dua sampel positif dari 20 koleksi sampel pada pengujian *spot test*, yaitu LPW dan LHW yang diperoleh dari 2 rumah burung walet. Dua sampel ini telah menunjukkan adanya bakteriofag yang ditunjukkan dengan zona *clear*, tetapi pada saat metode *plaque assay* hanya menunjukkan satu sampel yang positif yaitu LPW dengan titer $2,5 \times 10^5$ PFU/ml.

Variasi titer bakteriofag pada tiap pengenceran disebabkan karena adanya sistem pertahanan bakteri terhadap infeksi bakteriofag, sifat bakteriofag dan perlakuan pengenceran. Hal ini dikarenakan virus yang tidak mampu menginfeksi bakteri dapat disebabkan karena partikel bakteriofag yang dihasilkan selama infeksi memiliki beberapa bagian yang tidak sempurna. Selain itu terdapat faktor lain yaitu suhu. Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam mempengaruhi pertumbuhan dan daya tahan hidup bakteri. Suhu mempengaruhi reaksi kimia yang terjadi didalam tubuh bakteri sehingga tingkat pertumbuhannya juga ikut terpengaruhi. Selain suhu, pH atau tingkat keasaman juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Madigan *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini berhasil mengisolasi satu bakteriofag terhadap *Lysinibacillus* sp. yang terdapat pada limbah di lingkungan rumah burung walet. Bakteriofag yang telah menginfeksi sel inang *Lysinibacillus* sp. maka sel yang tumbuh akan menjadi semakin terkikis sehingga akan tampak zona bening yang disebut plak. Plak yang terbentuk dari hasil penelitian ini memiliki potensi bahwa bakteriofag mampu melisiskan 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 plak. Semakin tinggi pengenceran maka plak semakin terlihat renggang dan mudah di amati (Pratiwi, 2021).

Semakin banyak jumlah plak yang teramati, maka semakin tinggi pula konsentrasi bakteriofag di dalam sampel. Menurut (Rahaju, 2014), Interpretasi positif yang ditandai dengan adanya bakteriofag yaitu terbentuknya zona bening (*clear*). Hal ini dikarenakan virus menginjeksikan material genetiknya (DNA atau RNA) untuk bereplikasi dan berkembang menjadi partikel virus dengan menggunakan 'mesin reproduksi' sel bakteri dan menyebar dengan melisis sel tersebut. Bakteriofag hanya dapat menginfeksi satu atau beberapa strain atau spesies bakteri, dan akan menyerap ke daerah tertentu dari selubung sel inang kemudian menembus sel inang dengan seluruh virion masuk ke sel genom (Rahaju, 2014).

Bakteri *Lysinibacillus sphaericus* merupakan bakteri kelompok *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 (Martínez et al., 2017). *Lysinibacillus* banyak ditemukan di berbagai habitat alami dan sering tumbuh di media Nutrient Broth (NB) dan Lactose Broth (LB). Selain itu, MRS, media kaya nitrogen yang dilengkapi dengan mikronutrien seperti amonium asetat, kalium hidrogen sulfat mendukung pertumbuhan *Lysinibacillus* yang lebih baik daripada NB dan LB. Oleh karena itu, komponen dapat mendukung sintesis enzim atau komponen protein lain yang diperlukan untuk melakukan proses pendukung kehidupan sel bakteri yang diisolasi. Selain itu, keberadaan elemen seperti amonium asetat dalam media MRS mungkin terlibat dalam netralisasi asam, yang dihasilkan oleh aktivitas metabolisme sel bakteri yang diisolasi. pH perkembangan maksimum *Lysinibacillus* pada 6-10, tetapi pertumbuhan tertinggi antara pH 6 dan 8. *Lysinibacillus* dikatakan tumbuh paling baik antara 30°C – 37, cukup baik antara 20° dan 40°C, dan dengan jumlah pertumbuhan paling sedikit pada 4°C dibawah 20°C dan diatas 40°C (Ahmad et al., 2014).

Kontaminasi nitrit pada sarang burung walet terjadi saat sarang masih berada di habitatnya (Utomo et al., 2018). Kandungan nitrit ini diduga berkaitan dengan sumber makanan dari burung walet dan juga kondisi habitatnya. Umumnya pada sarang burung walet terdapat kotoran burung walet yang mengandung amoniak. Amoniak tersebut akan teroksidasi oleh oksigen menjadi nitrit yang

kemudian teroksidasi lagi menjadi nitrat (Chan *et al.*, 2013). Pembentukan nitrit pada sarang burung walet sebagai hasil proses alamiah dari adanya proses perubahan nitrogen yang ada di lingkungan rumah walet dan diduga dapat dipengaruhi oleh bakteri penghasil nitrit yang terdapat pada sarang burung walet dan mengubah nitrat menjadi nitrit sehingga diperlukan kajian lebih dalam mengenai jenis bakteri nitrifikasi, proses nitrifikasi serta peranan bakteri nitrifikasi tersebut pada sarang burung walet (Widiyani dkk., 2021).

Sarang burung walet memiliki kandungan nitrit yang beragam dan nitrit diketahui merupakan senyawa beracun apabila dikonsumsi dalam konsentrasi yang tinggi (Payder *et al.*, 2013). Nitrit seringkali dimanfaatkan sebagai zat aditif dalam bahan pangan. Penggunaan nitrit sangat dibatasi untuk mencegah keracunan pada konsumen (Saputro *et al.*, 2016).