

# SKRIPSI\_20820106\_FIRMAN SUPRIADIANSYAH

*by* FKH UWKS

---

**Submission date:** 24-Jun-2024 07:40AM (UTC+0530)

**Submission ID:** 2407515229

**File name:** SKRIPSI\_20820106\_FIRMAN\_SUPRIADIANSYAH.docx (365.33K)

**Word count:** 4219

**Character count:** 26285

# ISOLASI BAKTERIOFAG DARI AIR DI RUMAH BURUNG WALET MENGGUNAKAN METODE *PLAQUE ASSAY*

FIRMAN SUPRIDIANSYAH

## ABSTRAK

Latar Belakang. Bakteriofag adalah virus yang menargetkan bakteri. Bakteriofag memberikan solusi alternatif terhadap masalah infeksi bakteri berbahaya. Bakteriofag dianggap lebih efektif dibandingkan antibiotik. Tujuan penelitian untuk mengisolasi bakteriofag dari air dilingkungan rumah burung walet menggunakan metode *Plaque Assay* dan mengetahui agen pathogen di dalam air rumah burung walet dimana air tersebut sebagai sumber air minum burung walet. Metode. Jenis penelitian ini merupakan penelitian metode deskriptif labolatorik yakni penelitian bertujuan untuk mengetahui informasi secara alamiah tentang bakteriofag yang di isolasi dari air lingkungan rumah burung walet. Pengamatan dilakukan dengan Mikroskopis dengan cara mengamti plaque assay pada media TSA yang di isolasi bakteriofag. penelitian ini dianalisis secara deskriptif menggunakan grafik dan tabulasi. Hasil. Berdasarkan hasil metode spot test, Ditemukan adanya bakteriofag *Lysinibacillus Sp* pada air dilingkungan rumah burung walet, akan tetapi saat dilakukan uji *plaque assay* tidak terdapat *plaque* pada media yang telah diisolasi bakteriofag. Kesimpulan. hasil metode spot test, terdapat bakteriofag *Lysinibacillus Sp* pada air dilingkungan rumah burung walet, akan tetapi penelitian gagal karena tidak dapat terisolasi oleh bakteriofag dengan menggunakan metode *plaque assay*.

**Kata kunci** : Bakteriofag, air rumah burung walet, *Lysinibacillus sp*, *plaque assay*

# **ISOLATION OF BACTERIOPHAGES FROM Swallow's House Environment Using PLAQUE ASSAY METHOD**

**FIRMAN SUPRIDIANSYAH**

## **ABSTRACT**

*Background. Bacteriophages are viruses that target bacteria. Bacteriophages provide an alternate solution to the problem of harmful bacterial infections. Bacteriophages are thought to be more effective than antibiotics. The aim of the research is to isolate bacteriophages from the water in the swallow house environment using the Plaque Assay method and determine the pathogen agents in the swallow house water where the water is a source of swallow drinking water. Method. This type of research is a descriptive laboratory research method, namely research aimed at finding out natural information about bacteriophages isolated from the water in the swallow house environment. Observations were carried out microscopically by observing the plaque assay on TSA media in which bacteriophages were isolated. This research was analyzed descriptively using graphs and tabulations. Results. Based on the results of the spot test method, the presence of Lysinibacillus Sp bacteriophage was found in the water around the swallow house, however, when the plaque assay was carried out there was no plaque in the media from which the bacteriophage had been isolated. Conclusion. The results of the spot test method showed that there were Lysinibacillus Sp bacteriophages in the water around the swallow house, but the research failed because the bacteriophage could not be isolated using the plaque assay method.*

**Key words:** *Bacteriophages, swallow house water, Lysinibacillus sp, plaque assay*

## 4 I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bakteriofag adalah virus yang menargetkan bakteri. Bakteriofag memberikan solusi alternatif terhadap masalah infeksi bakteri berbahaya. Antibiotik dianggap kurang efektif dibandingkan bakteriofag. Bakteriofag secara eksklusif menginfeksi patogen tertentu, memastikan mikroflora normal di usus tidak terpengaruh. Bakteriofag berkembang biak dalam bakteri dan menghancurkan sel bakteri inang secara total melalui proses lisis, menghilangkan bakteri yang menjadi inangnya (Hardanti dkk, 2018).

5  
Penggunaan bakteriofag ternyata relatif lebih efisien, spesifik dan *cost effective*. Virus dapat diisolasi dengan membentuk zona bening (plak) pada lapisan sel inangnya. Plak juga dapat dibentuk oleh phages pada pertumbuhan bakteri. Hal ini diasumsikan bahwa plak merupakan hasil dari infeksi sel oleh virion tunggal. Sejarah penemuan bakteriofag telah menjadi bahan perdebatan panjang, termasuk kontroversi mengenai klaim prioritas. Sejak dahulu kala, bakteriofag telah mengendalikan pertumbuhan dan penyebaran bakteri di seluruh dunia. (Ritonga dan Savira, 2023).

Fag adalah parasit obligat intraseluler yang bereplikasi menggunakan mesin bakteri. Tanpa inang (bakteri) mereka tidak dapat bereplikasi di alam. Fag mungkin merupakan organisme paling kuno dan paling banyak ditemukan di bumi dan dapat ditemukan dalam jumlah yang sangat besar. Fag ditemukan di lingkungan yang sangat beragam, misalnya di tinja, tanah, air, dan lain-lain. Dengan memanfaatkan mesin inang, mereka mensintesis komponen seluler yang berbeda, seperti protein

dan glikoprotein yang diperlukan untuk replikasi, enkapsidasi, dan lisis (Ackermann, 2014).

Indonesia adalah produsen dan eksportir sarang burung walet terbesar di dunia, dengan rata-rata pengiriman tahunan sebesar 115 ton. Hampir seluruh produksi nasional diekspor ke pasar luar negeri, dengan Hong Kong dan Singapura menjadi pelanggan utamanya. Burung walet (*Aerodramus fuciohagus*) merupakan salah satu burung pembuat sarang yang mempunyai nilai ekonomi cukup besar. Burung walet mempunyai kepentingan ekologis selain nilai ekonomi, karena mereka berperan penting dalam mengendalikan serangga hama yang berkumpul saat terbang. Keberadaan burung walet dan ciri-ciri sarangnya (sarang burung walet) telah dikenal sejak berabad-abad yang lalu. Selama ini sarang burung walet konon mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit, antara lain paru-paru, sakit maag, kanker, obat awet muda, melancarkan peredaran darah dan saluran pernafasan, bahkan penyakit didapat *Immunodeficiency Syndrome* (AIDS). Sarang burung walet memiliki nilai ekonomi yang besar karena berbagai keunggulannya, bahkan menjadi barang ekspor yang eksklusif. Sarang burung walet pada awalnya merupakan hasil alam yang dibuat oleh burung walet yang bersarang di dalam gua (Arifin dkk., 2012).

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini yaitu apakah terdapat cemaran bakteri pada air di lingkungan rumah burung walet?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian untuk mengisolasi bakteriofag dari air di lingkungan rumah burung walet menggunakan metode *Plaque Assay*. Selain itu, penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kemampuan mahasiswa S1 Kedokteran Hewan khususnya bakteriofag. Penelitian ini bertujuan sebagai syarat kelulusan mahasiswa S1 Kedokteran Hewan.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini bertujuan untuk mengetahui informasi secara alamiah tentang bakteriofag yang diisolasi dari air di lingkungan rumah burung walet.

### 1.5 Hipotesis

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

H<sub>0</sub> : Menunjukkan bahwa tidak terdapat bakteriofag pada air di lingkungan rumah burung walet

H<sub>1</sub> : Menunjukkan bahwa terdapat bakteriofag pada air di lingkungan rumah burung walet

## II. TINJAUANA PUSTAKA

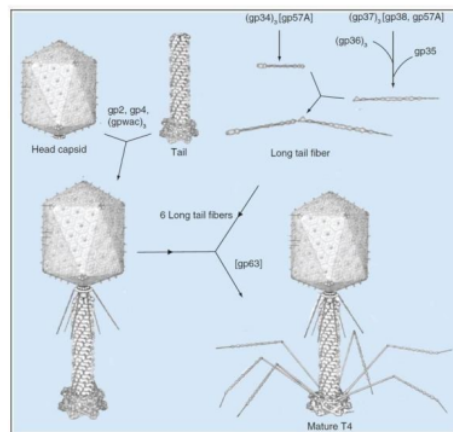
### 2.1 Bakteriofag

Bakteriofag merupakan virus bakteri yang memiliki materi genetic 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 terlibat dalam injeksi DNA fag ke dalam sel inang (Iqbal, M., 2021).

Bakteriofag pada bakteri penyebab infeksi memiliki dua jenis bakteri, yaitu bakteriofag litik dan bakteriofag lisogenik. Bakteri litik atau disebut virulen dapat menyebabkan lisis dan kematian pada sel bakteri inang dengan cepat. Pada saat yang sama, bakteriofag lisogenik (sedang) memiliki fase kehidupan dimana beberapa fase kehidupannya dalam kondisi dormant disebut dengan profage (Bhardwaj *et al.*, 2015).

Siklus litik dimulai dari penempelan bakteriofag bakteriofag ke inang. Bakteriofag menempel pada reseptor yang terletak di kapsul bakteri. Proses ini disebut tahap adsorbs, setelah terjadi adsorbs, 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 baru berkembang biak, virus ini akan melisiskan sel bakteri inang. Dalam satu tahap lisis, partikel bakteriofag terdapat sekitar 10-100 bakteriofag (Vidurupola dan Linda, 2014).

Bakteriofag sangat bergantung pada metabolisme inang untuk menghasilkan bahan organik dan mesin pencetakan asam nukleat yang diperlukan untuk replikasi dan produksi struktur bakteriofag baru. Bakteriofag terikat erat dengan semua bakteri yang diketahui, dan sebagian besar kultur bakteri mencakup probakteriofag lengkap atau fragmen virus. Bakteriofag dapat ditemukan di berbagai lingkungan, termasuk tanah, rizosfer, laut, air bersih, gurun, tumbuhan, di luar atau di dalam tubuh manusia dan hewan, serta industri makanan dan fermentasi (Duerkop *et al.*, 2014). Berikut gambaran bakteri Bakteriofag, pada gambar 1.



**Gambar 2.1** Gambaran bagteriofag (Ackermann, 2016)

## 2.2 Rumah Burung Walet

Permintaan sarang burung walet yang tinggi di pasar global, banyak masyarakat yang membudidayakannya di Indonesia. Sebelumnya, gua adalah satu-satunya tempat di mana burung bisa berkembang biak. Sekarang kamu bisa.



Dibudidayakan secara lokal. Para petani burung walet membuat rumah khusus yang menyerupai ekologi gua burung walet. Bangunan tersebut merupakan habitat yang dibuat khusus bagi burung walet untuk membuat sarang pada musim kawin. Pembuatan gendang walet menjadi lebih sering terjadi baik di lokasi perkotaan maupun pedesaan (Susilowati, 2018)

Rumah burung walet merupakan tempat burung walet tinggal, berkembang biak, dan membangun sarang. Burung walet biasanya hidup di gua dengan suhu dingin dan kelembapan tinggi. Namun, penghuni gua tidak terbatas hanya pada burung walet saja; banyak spesies lain, seperti gantu, gantu, dan lainnya, hidup di gua dan merupakan ancaman bagi burung walet. Hal ini menyebabkan koloni burung walet mencari rumah baru, dan beberapa koloni membangun tempat tinggal kosong dengan suhu dan kelembapan sebanding dengan gua sebagai tempat tinggal. Rumah burung walet selain untuk menghindari hama predator juga berfungsi sebagai tempat berkembang biak dengan tujuan menjaga atau meningkatkan kualitas sarang burung walet. Sarang yang berkualitas dapat meningkatkan pendapatan masyarakat dari peternakan burung walet (E. Alfianto, 2016). Rumah penangkaran burung walet harus memenuhi sejumlah kebutuhan dasar budidaya burung walet. Suhu, kelembaban, dan pencahayaan (Dewi, 2018).

### 1. Suhu

Suhu rumah walet menurut ahli dalam bidang walet merekomendasikan kisaran suhu 26°C - 29°C untuk performa optimal. Untuk mencapai suhu RBW yang optimal, perhatikan ketebalan dan material dinding, model pemasangan atap, luas dan tinggi ruangan, serta banyaknya ukuran tertentu yang harus ditata dengan benar. Sinar matahari mempengaruhi suhu, sehingga arah fajar dan terbenamnya juga harus diperhatikan (Alfianto, 2016).

### 2. Kelembaban

RBW memiliki tingkat kelembapan yang sangat baik untuk kenyamanan burung walet, berkisar antara 75-95% RH. Kelembapan ruangan yang tinggi dapat membahayakan sarang burung walet sehingga menyebabkan kadar udara sarang meningkat dan berubah menjadi merah. Sebaliknya kelembapan ruangan yang sangat rendah menyebabkan bentuk sarang menjadi tidak sempurna, kering, dan mudah retak. Oleh karena itu, kelembapan yang sesuai di rumah walet harus dijaga. (Dewi dkk., 2018).

### 3. Pencahayaan

Banyaknya cahaya pada rumah burung walet berdampak pada kualitas sarangnya. Intensitas cahaya merupakan ukuran mendasar untuk mengukur kekuatan emisi cahaya per satuan sudut (R. Friadi dan Junadhi, 2019). Sarang yang berasal dari daerah yang tingkat intensitas cahayanya rendah biasanya memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan sarang yang berasal dari daerah yang relatif terang (tidak sempurna dan tipis). (Dede, 2022).



**Gambar 2.2** Contoh rumah burung walet di Pulau Jawa (Abd Rahman, 2019).

### **2.3 Sumber Air Di Rumah Burung Walet**

Penyediaan air rumah walet berupa kolam yang dibuat di dalam atau di luar hunian. Kolam air rumah walet tidak hanya berfungsi sebagai penyedia air minum, tetapi juga sebagai pelembab udara. Jumlah air dalam kolam dikontrol karena kelembapan yang terlalu tinggi akan mendorong berkembangnya jamur dan menurunkan kualitas sarang walet. Kolam air di rumah burung walet dapat menjadi tempat berkembang biaknya serangga terbang. Serangga air ini memberikan makanan tambahan bagi burung walet di rumah walet. Suplai air pada kolam Rumah Burung Walet sebagian besar berasal dari sumur (Dede, 2022).

Jumlah hunian walet dengan kolam udara luar mencapai 47,7%. Kolam di luar rumah burung walet dapat dimanfaatkan oleh burung walet untuk membasahi tubuh sebelum masuk (Setiawan 2013).

Umumnya, pasokan air di luar rumah walet baik. Sumber air alami di dekat rumah walet mencapai 61,4%. Sumber air alami seringkali berupa sungai yang panjangnya kurang dari satu kilometer. Kalimantan memiliki banyak sungai di sekitar tempat tinggal burung walet. Kolam-kolam air di luar tempat tinggal burung walet seringkali tidak tersedia. Genangan air di luar tempat tinggal burung walet. dapat di lihat <sup>23</sup> pada Gambar 2.



**Gambar 2.3** Air di bagian luar rumah burung walet (Dede, 2022).

#### 2.4 Metode Plaque Assay

Metode Uji *Plaque Assay* adalah salah satu dari beberapa teknik untuk menentukan unit infeksi virus. Ketika partikel virus mulai menginfeksi lapisan sel inang, kemudian menyebar ke permukaan medium, maka akan muncul zona lisis atau zona hambat, sehingga timbul bercak terang pada lapisan sel inang. Bercak cemerlang ini dikenal sebagai plak, dan masing-masing bermula dari satu partikel virus. *Plaque* merupakan jendela menuju lapisan sel inang hidup yang menutupi permukaan media agar. *Plaque* dapat diamati ketika partikel virus (bakteriofag) digabungkan dengan lapisan tipis inang bakteri yang dikultur pada media agar. (Sihombing., 2002).

Media *Plaque Assay* sering digunakan untuk perbanyakan atau penggandaan *Plaque*, tetapi juga dapat digunakan untuk uji virulensi atau menentukan kapasitas infeksi bakteriofag terhadap bakteri (Nuralita, 2020). Daerah tertentu pada permukaan medium yang tampak lebih terang menunjukkan bahwa virus telah mulai menginfeksi bakteri lain, melisiskannya dan membentuk zona bening. Daerah cemerlang ini disebut sebagai *Plaque*, dan setiap plak terdiri dari dua partikel virus. Plakat adalah jendela menuju lapisan inang yang meluas ke permukaan media agar-agar. Plak adalah partikel virus yang membentuk lapisan tipis bakteri yang dibiakkan pada media agar (Bro ck,2016).

## 2.5 *Lysinibacillus*

*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*, yang sering digunakan sebagai pengendalian hama biologis. *Sel L. sphaericus* dalam keadaan vegetatif juga efektif melawan larva *Aedes aegypti*, vektor penting virus demam kuning dan demam berdarah (Sananta dkk., 2019).

Spesies *Lysinibacillus* sebelumnya diklasifikasikan sebagai anggota genus *Bacillus*. Bersama dengan spesies baru (*Lysinibacillus boronitolerans*), dua spesies yang sebelumnya diklasifikasikan, *Bacillus sphaericus* dan *Bacillus fusiformis*, direklasifikasi ke genus baru *Lysinibacillus* berdasarkan komposisi peptidoglikan unik, fisiologi, dan posisi filogenetik molekuler berdasarkan urutan gen 16S rRNA.

Dalam peptidoglikan dinding sel, lisin dan asam aspartat hadir sebagai asam aminodiagnostik, mewakili jenis peptidoglikan dinding sel A4a (Lys-Asp). Karena adanya peptidoglikan jenis Lys-Asp pada dinding sel, maka dinamakan *Lysinibacillus*. *Difosfatidilgliserol*, *fosfatidilgliserol*, dan *fosfoglikolipid* positif ninhidrin adalah lipid polar utama, dan menaquinone MK-7 adalah sistem lipokuinon pernapasan dominan dari genus tersebut. Iso-C15:0 adalah asam lemak seluler utama. Kandungan G+C adalah 35–38 mol%. Mereka positif untuk uji oksidase dan katalase, dan negatif untuk uji produksi indol dan H<sub>2</sub>S, reduksi nitrat, dan  $\gamma$ -galaktosidase (ONPG). Sel-selnya bersifat motil, berbentuk batang, dan menghasilkan endospora berbentuk bola atau ellipsoidal (Hersanti dkk., 2023).

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Observasi berlangsung pada bulan Januari – Februari 2024

#### 3.2 Materi Penelitian

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu sarung tangan laboratorium, botol semprot, kertas/tisu, plastic, kapas, karet tabung 50ml, tabung 15 ml, tempat sampah, kaldu TSB (*Tryotone Soya Agar*), labu Erlemenyar, piring agar TSA, plat TSA, pipet dan ujung pipet, inkubator, tabung mikrosentrifugasi, sentrifuge, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kertas label, dan spidol permanen.

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu air yang diambil dari lingkungan rumah burung walet, alkohol 70%, aquades steril, larutan buffer SM steril, media nitrifikasi.

#### 3.3 Metode Penelitian

##### 3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian metode deskriptif laboratorium yakni penelitian bertujuan untuk mengetahui informasi secara alamiah tentang bakteriofag yang di isolasi dari air lingkungan rumah burung walet.

### 3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variable bebas, varabel terikat dan variabel kontrol.

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah bakteri Bakteriofag
2. Variabel terikat dalam penelitian ini ialah air lingkungan sarang burung walet
3. Variable kontrol adalah variable kendali pada penelitian ini yaitu suhu pada air di lingkungan rumah rurung walet

### 3.3.3 Teknik Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini, sampel yang di gunakan air pada lingkungan rumah burung walet. Air yang di gunakan pada penlitian ini sebanyak 15 sampel yang di ambil menggunakan metode *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah teknik yang digunakan untuk mengumpulkan atau mengidentifikasi sampel dalam keadaan tertentu (Fauzy, 2019). Sampel yang digunakan berupa air yang di ambil dari lingkungan burung walet yang didapatkan dari Sumedang.

## 3.4 Tahap Penelitian

### 3.4.1 Pembuatan Media

#### 3.4.1.1 Media TSA

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan lalu timbang media TSA menggunakan perkamen setelah itu masukkan TSA ke dalam Erlenmeyer lalu tambahkan aquades, masukkan magnet dalam Erlenmeyer untuk menghomogenkan dengan stirrer setelah homogen lakukan cek PH (jika kurang



basah/naik tetesan NaOH, jika kurang asam/turun teteskan HCL). Lalu ssesuaikan PH yang diinginkan, setelah itu masukkan agar dan hommogenkan kembali. Setelah hommogen keluarkan magnet pasang sumbat, plastic, kertas dan karet. Lalu masukkan ke dalam autoclaf dan tunggu kurang lebih 2 jam jika sudah tidak terlalu panas, maka siap dicetak pada cawan petri ( lakukan didalam laminar dan nyalakan UV selama 15 menit untuk mensterilkan media, setelah itu bungkus dan masukkan lemari pendingin.

#### **3.4.1.2 Media Nitrifikasi**

Siapkan seluruh bahan beserta alat yang akan digunakan lalu timbang bahan satu persatu dengan dialan kertas perkamen pada timbangan pastian menimbang bahan dengan akurat setelah semua bahan ditimbang tambahkan aquades sebanyak 1000 ml masukkan magnet pada tabung Erlenmeyer kemudian letakkan tabung Erlenmeyer diatas *hot plate stirrer* pastikan magnet berada ditengah kemudian nyalakan *hot plate stirrer* dan atur kecepatannya. Setelah bahan homogen matikan *hot plate stirrer* kemudian cek PH larutan dengan menggunakan PH meter pastikan larutan mengandung PH 7,8 (Max 7,82) lalu tuang dan bagi larut sebanyak 300 ml pada erlenmeyer 500 ml sumbat tabung Erlenmeyer beri kertass penutup dan plastic kemudian diberi karet setelah itu masukkan kedalam autoclaf tunggu hingga mesin mati dan suhu dibawah 70°C keluarkan.

### 3.4.2 Isolasi Bakteriofag

Sebanyak 15 sampel air yang diperoleh dari air di lingkungan rumah burung walet Sumedang. Sampel dikumpulkan secara aseptik dalam vial 50 mL dan dikirim ke Laboratorium Mikrobiologi Terapan BRIN di Cibinong. Untuk mengekstrak supernatan, 50 mL masing-masing sampel disentrifugasi pada 4000 rpm dan 4°C selama 20 menit. Supernatan dikumpulkan sebanyak 20 mL, dicampur dengan 10 mL kaldu kedelai triptik (TSB) dalam botol kultur 100 mL dan 5 mL kultur (*Lysinibacillus* sp) secara aseptik, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, suspensi dipindahkan ke tabung sentrifugasi 15 mL dan disentrifugasi tiga kali pada 2500 rpm, suhu 4°C, masing-masing selama 10 menit. Filtrat bakteriofag diperoleh dengan menyaring supernatan melalui membran yang memiliki diameter pori 0,22  $\mu\text{m}$  dan 0,45  $\mu\text{m}$ .

### 3.4.3 Spot Assay

*Spot assay* dilakukan dengan meneteskan 10  $\mu\text{L}$  sediaan yang akan diuji pada *double layer agar*. Oleskan 10  $\mu\text{L}$  setiap fag yang diencerkan ke bagian yang ditandai pada plate agar. Tempatkan plate agar di tempat di bawah pembakar bunsen yang telah menyala dengan tutup bagian atas sedikit terbuka selama kurang lebih 5 menit, atau hingga larutan yang bernoda mengeras. Inkubasi plate selama 48 jam pada suhu 30°C. keesokan harinya, plak dihitung pada titik

pengenceran yang sesuai. Pembentuk plak dihitung per milimeter (PFU/mL) menggunakan rumus berikut;

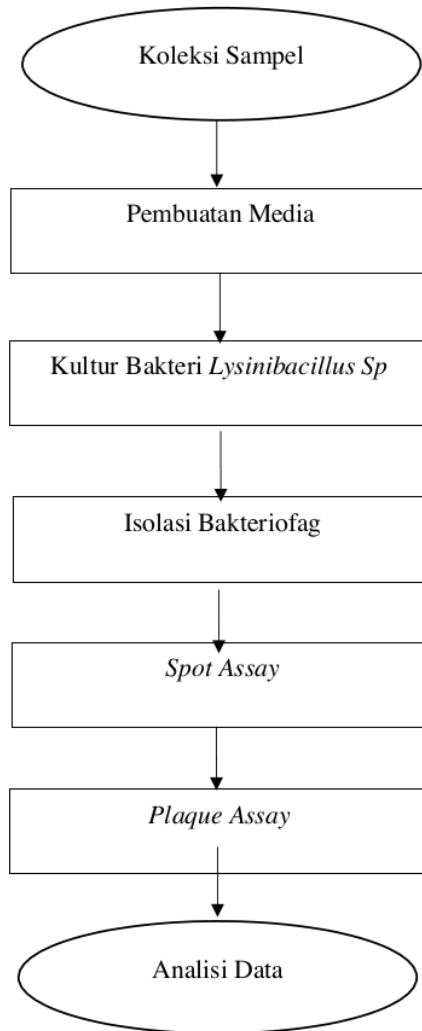
$$\frac{\text{Number of plaques counted (PFU)}}{\text{Volume plated (in mL)}} \times \text{dilution factor} = \text{titre} \left( \frac{\text{PFU}}{\text{mL}} \right)$$

#### 3.4.4 Plaque Assay

Stok bakteriofag sebanyak 0,1 mL dicampur dengan 0,9 mL NaCl 0,85% (pengenceran  $10^{-6}$ ). Setelah setiap langkah pengenceran ( $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ ), 100  $\mu$ l bakteriofag ditambahkan ke 4 mL TSA 0,6% dengan 500  $\mu$ l kultur bakteri *Lysinibacillus* fase log awal dan dihomogenisasi. Suspensi kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri terpisah yang mengandung TSA dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Plaque yang dihasilkan pada cawan petri yang memenuhi kriteria (kisaran 25-250 plak) diperiksa dan dihitung menggunakan rumus berikut:

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

### 3.5 Kerangka Prosedur Penelitian



#### **4** **3.6 Analisis Data**

Semua data dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif menggunakan grafik dan tabulasi.

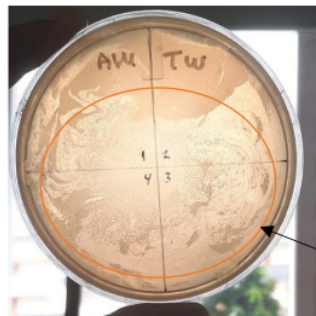
18

## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian berikut memiliki tujuan untuk mendapatkan informasi mengenai isolasi bakteriofag dari air di lingkungan rumah burung walet. Pengambilan sampel air di lingkungan rumah burung walet yang di dapatkan dari sumedang dengan jumlah sampel 15 yang di masukkan dalam tabung centrifuge tube pack steril yang masing – masing berisi 50 ml.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah di lakukan dari 15 sampel air di lingkungan rumah burung walet yang masing – masing berisi 50 ml di lakukan uji *spot test* pada sampel menggunakan media *Tryptone Soya Agar* (TSA) yang kemudian di lapiasi media TSA semisolid yang berisi bakteri *lysini bacillus* menunjukkan hasil.



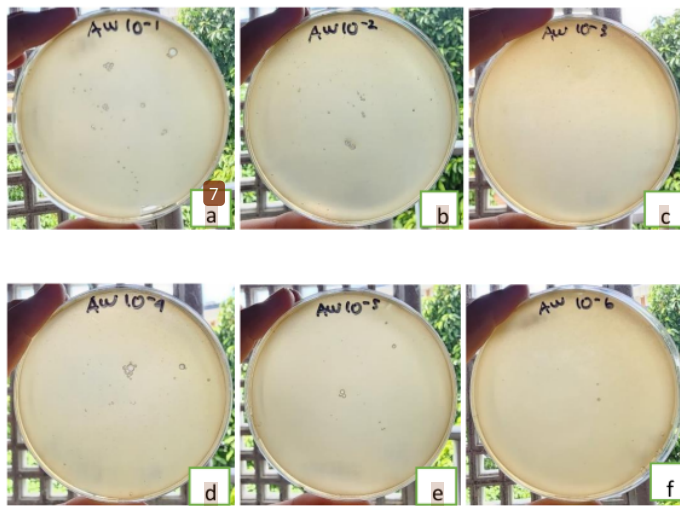
**Gambar 4.1** Hasil plak pada *spot test* yang ditunjukkan dalam lingkaran merah

Hasil pengamatan dari gambar 4.1 setelah melakukan inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam Plak belum muncul setelah pengamatan 48 jam. Akan tetapi, plak muncul pada hari ke 7 inkubasi. Plak yang muncul diduga adalah bakteriofag terhadap *Lysinibacillus sp.*

**Tabel 4.1** Hasil titer bakteriofag daya *spot test* 2 *plaque assay*

Sample ID	<i>Spot test</i>	<i>Plaque assay</i>
AW 1	Tbud	Negatif
AW 2	Tbud	Negatif
AW 3	Tbud	Negatif
AW 4	Tbud	Negatif
AW 5	Tbud	Negatif
AW 6	Tbud	Negatif
AW 7	Tbud	Negatif
AW 8	Tbud	Negatif
AW 9	Tbud	Negatif
AW 10	Tbud	Negatif
AW 11	Tbud	Negatif
AW 12	Tbud	Negatif
AW 13	Tbud	Negatif
AW 14	Tbud	Negatif
AW 15	Tbud	Negatif
AW 16	Tbud	Negatif
AW 17	Tbud	Negatif
AW 18	Tbud	Negatif
AW 19	Tbud	Negatif
AW 20	Tbud	Negatif

Hasil dari *spot test* kemudian dilakukan uji *plaque assay* untuk melihat single koloni dari bakteriofag dengan cara *scrubbing* dan dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ . Setiap pengenceran diambil  $100 \mu\text{l}$  dicampurkan ke dalam media TSA yang telah mengandung *Lysinibacillus* sebanyak  $500 \mu\text{l}$  setelah itu inkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Hasil dari pengamatan Gambar 4.1 menunjukkan bahwa plak tidak muncul ketika dilakukan pengamatan setelah diinkubasi dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam



**Gambar 4.1** Hasil *plaque assay* (a) pengenceran  $10^{-1}$ , (b) pengenceran  $10^{-2}$ , (c) pengenceran  $10^{-3}$ , (d) pengenceran  $10^{-4}$ , (e) pengenceran  $10^{-5}$ , (f) pengenceran  $10^{-6}$

#### 4.2 Pembahasan

Bakteri *Lysinibacillus sp* adalah bakteri gram positif, pembentuk spora, dan motil. Genus ini sebelumnya ditetapkan sebagai *Bacillus spp.* di bawah keluarga *Bacillaceae* dari filum *Firmicutes*. Untuk jangka waktu yang lama, *Lysinibacillus sp* terkenal dengan aktivitas insektisidanya terhadap berbagai serangga, termasuk



nyamuk yang merupakan vektor beberapa penyakit pada manusia (Ahsan And Masafumis., 2021). Bakteri *Lysinibacillus sp* berpotensi mengikat nitrogen dan merupakan bakteri nitrifikasi. Selain itu, bakteri ini juga dapat memproduksi Indole Acetic Acid (IAA) (Cahyamurti dan Hari., 2021).

<sup>11</sup> Nitrifikasi adalah proses menghasilkan senyawa nitrat dari senyawa amonium. <sup>2</sup> Ion amonium dioksidasi menjadi ion nitrit, yang kemudian diubah menjadi ion nitrat. Proses ini dapat terjadi di tanah, air laut, maupun air tawar. Nitrifikasi terjadi secara alami di lingkungan karena adanya bakteri nitrifikasi tertentu. Berbagai kondisi lingkungan mempengaruhi kecepatan terjadinya proses nitrifikasi. Parameter ini meliputi konsentrasi <sup>27</sup> substrat dan oksigen, suhu, pH, dan keberadaan bahan kimia berbahaya atau penghambat. Semua bakteri nitrifikasi sensitif terhadap suhu. Variasi suhu yang tiba-tiba tidak berpengaruh pada laju pertumbuhan bakteri itu sendiri, juga tidak berdampak pada laju proses nitrifikasi. Suhu optimal untuk proses nitrifikasi adalah 0-20oC karena suhu ini mendorong perkembangan maksimal bakteri nitrifikasi, yang berdampak pada laju <sup>2</sup> nitrifikasi. Selain itu, kandungan oksigen mempengaruhi kecepatan proses nitrifikasi. Ini terkait dengan bakteri nitrifikasi yang membutuhkan oksigen. PH lingkungan juga menentukan laju reaksi nitrifikasi. Proses nitrifikasi paling cepat terjadi pada pH <sup>8</sup>-9. Parameter-parameter tersebut mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri nitrifikasi, oleh karena itu laju nitrifikasi <sup>11</sup> sangat bergantung pada keberadaan bakteri nitrifikasi (Setiawan dan Bayu, 2014). Manfaat penggunaan Bakteriofag pada rumah burung wallet adalah infeksinya menjadikannya alternatif untuk pengendalian bakteri dan keamanan lingkungan pada rumah burung walet, sebagai alat bioteknologi melawan bakteri patogen, termasuk bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

Penerapannya dapat langsung pada lingkungan rumah burung yang berhubungan dengan sarang burung walet sebagai agen biokontrol pembentukan biofilm. Selain itu, bakteriofag digunakan untuk pelacakan sumber mikroba dan sebagai indikator tinja (Rogovskiet al., 2021).

Pada hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada saat uji spot test pada sampel menggunakan media *Tryptone Soya Agar (TSA)* yang kemudian di lapisi media TSA semisolid yang berisi bakteri *Lysinibacillus sp* menunjukkan hasil. Setelah melakukan inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam plak belum muncul setelah pengamatan 48 jam. Akan tetapi, plak muncul pada hari ke 7 inkubasi. Plak yang muncul diduga adalah bakteriofag terhadap *Lysinibacillus sp*. Kemudian dilakukan uji *plaque assay* untuk melihat single koloni dari bakteriofag dengan cara *scrubbing* dan dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$ . Setiap pengenceran diambil 100  $\mu$ l dicampurkan ke dalam media TSA yang telah mengandung *Lysinibacillus sp* sebanyak 500  $\mu$ l setelah itu inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Hasil dari pengamatan gambar 4.1 menunjukkan bahwa plak tidak muncul ketika dilakukan pengamatan setelah di inkubasi dengan suhu 30°C selama 48 jam. Bakteriofag *Lysinibacillus sp* pada uji *spot test* yang terdapat pada air di rumah burung walet menunjukkan adanya kontaminasi fekal bakteri. Bakteriofag *lysinibacillus* secara alami tidak akan bereplikasi tanpa adanya *Lysinibacillus sp*. Oleh karena itu bakteriofag *Lysinibacillus sp* dapat digunakan sebagai pendeteksi adanya air tercemar. Kehadiran *Lysinibacillus sp* akan langsung diinfeksi dan dilisiskan oleh bakteriofag. penggunaan bakteriofag *Lysinibacillus sp* dapat menjadi indikator dalam mengevaluasi pengolahan air karena bakteriofag memiliki sifat toleran terhadap air (Saefunida dkk., 2016).

Bakteriofag menginfeksi inangnya dengan melepaskan enzim lisozim, yang menciptakan lubang di dinding sel bakteri, memungkinkan DNA masuk dan melisiskan *Lysinibacillus* sp. Bakteriofag dari tubuh inang akan menginfeksi sel *Lysinibacillus* sp. Menurut Madigan dkk. (2012), enzim lisozim yang dihasilkan oleh bakteriofag dapat mendegradasi peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Enzim tersebut memecah ikatan  $\beta$ -1,4-glikosidik dengan N-asetilglukosamin, menyebabkan lubang pada dinding sel bakteri ketika bakteriofag masuk dan melisiskan inang.

Namun pada saat dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *plaque assay* tidak muncul plak dikarenakan bakteriofag yang tidak mampu melisiskan sel *Lysinibacillus* sp. Hal ini sesuai dengan pendapat Charles dan Moineau (Buana dan Agustin, 2014) yang berpendapat bahwa ketidakmampuan bakteriofag dalam melisiskan inangnya dapat disebabkan oleh variasi keadaan lingkungan, perkembangan inang yang lebih cepat, dan sistem pertahanan bawaan terhadap infeksi bakteriofag. Jumlah plak yang dihasilkan juga dikendalikan oleh masing-masing bakteri. Virus yang tidak mampu menginfeksi bakteri dapat dibentuk oleh partikel bakteriofag yang dihasilkan selama infeksi yang memiliki banyak kelemahan. Selain itu, ada faktor lain: suhu. Suhu sangat mempengaruhi pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri. Suhu mempengaruhi proses kimia yang terjadi di dalam tubuh bakteri, sehingga mempengaruhi laju perkembangannya. Selain suhu, pH atau tingkat keasaman juga mempengaruhi perkembangan bakteri (Madigan *et al.* 2012).

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil metode *spot test*, Ditemukan adanya bakteriofag *Lysinibacillus Sp* pada air dilingkungan rumah burung walet, akan tetapi penelitian gagal karena tidak dapat terisolasi oleh bakteriofag dengan menggunakan metode *plaque assay*.

12

## 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka beberapa saran yang dapat di anjurkan yaitu :

Penelitian selanjutnya optimasi waktu, optimasi media, optimasi suhu dan kontrol lingkungan.

# SKRIPSI\_20820106\_FIRMAN SUPRIADIANSYAH

---

## ORIGINALITY REPORT

---

14%

SIMILARITY INDEX

14%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

3%

STUDENT PAPERS

---

## PRIMARY SOURCES

---

1	<a href="http://ejournal3.undip.ac.id">ejournal3.undip.ac.id</a> Internet Source	2%
2	<a href="http://bungdus.com">bungdus.com</a> Internet Source	1%
3	<a href="http://erepository.uwks.ac.id">erepository.uwks.ac.id</a> Internet Source	1%
4	<a href="http://docplayer.info">docplayer.info</a> Internet Source	1%
5	<a href="http://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id">semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id</a> Internet Source	1%
6	<a href="http://123dok.com">123dok.com</a> Internet Source	1%
7	<a href="http://prosiding.unimus.ac.id">prosiding.unimus.ac.id</a> Internet Source	1%
8	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Internet Source	1%
9	<a href="http://ereport.ipb.ac.id">ereport.ipb.ac.id</a> Internet Source	<1%

---

10	<a href="http://idoc.pub">idoc.pub</a> Internet Source	<1 %
11	<a href="http://repository.unair.ac.id">repository.unair.ac.id</a> Internet Source	<1 %
12	<a href="http://repository.upnjatim.ac.id">repository.upnjatim.ac.id</a> Internet Source	<1 %
13	<a href="http://docslib.org">docslib.org</a> Internet Source	<1 %
14	<a href="http://etheses.uin-malang.ac.id">etheses.uin-malang.ac.id</a> Internet Source	<1 %
15	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
16	<a href="http://repositori.uma.ac.id">repositori.uma.ac.id</a> Internet Source	<1 %
17	<a href="http://repository.unja.ac.id">repository.unja.ac.id</a> Internet Source	<1 %
18	<a href="http://rama.unimal.ac.id">rama.unimal.ac.id</a> Internet Source	<1 %
19	<a href="http://repository.upi.edu">repository.upi.edu</a> Internet Source	<1 %
20	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet Source	<1 %
21	<a href="http://lib.unnes.ac.id">lib.unnes.ac.id</a> Internet Source	<1 %

22	<a href="http://repository.ub.ac.id">repository.ub.ac.id</a> Internet Source	<1 %
23	<a href="http://eprints.binadarma.ac.id">eprints.binadarma.ac.id</a> Internet Source	<1 %
24	<a href="http://id.123dok.com">id.123dok.com</a> Internet Source	<1 %
25	<a href="http://njihidayat.wordpress.com">njihidayat.wordpress.com</a> Internet Source	<1 %
26	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet Source	<1 %
27	<a href="http://id.wikipedia.org">id.wikipedia.org</a> Internet Source	<1 %
28	<a href="http://rawal06matematika-mathematic.blogspot.com">rawal06matematika-mathematic.blogspot.com</a> Internet Source	<1 %
29	<a href="http://repositori.uin-alauddin.ac.id">repositori.uin-alauddin.ac.id</a> Internet Source	<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off



# SKRIPSI\_20820106\_FIRMAN SUPRIADIANSYAH

---

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

---