

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 20 yang di masukkan dalam tabung centrifuge tube pack steril yang masing – masing berisi 50 ml.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah di lakukan dari 20 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 lapisi media TSA semisolid yang berisi bakteri *Lysinibacillus* sp menunjukkan hasil.



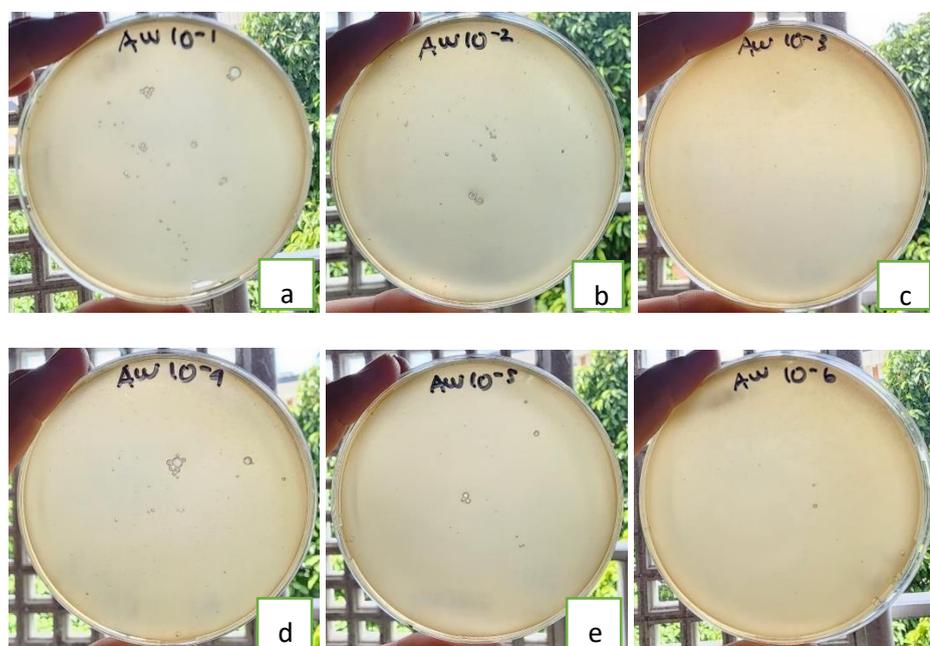
Gambar 4.1 Hasil plak pada *spot test* yang ditunjukkan dalam lingkaran merah

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 μ l dicampurkan ke dalam media TSA yang telah mengandung *Lysinibacillus* sp sebanyak 500 μ 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 diinkubasi dengan suhu 30°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* sp. 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).

Nitrifikasi adalah proses menghasilkan senyawa nitrat dari senyawa amonium. 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 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 0-20⁰C karena suhu ini mendorong perkembangan maksimal bakteri nitrifikasi, yang berdampak pada laju 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 8-9. Parameter-parameter tersebut mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri nitrifikasi, oleh karena itu laju nitrifikasi 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 burungwalet 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 di lakukan pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-6} Setiap pengenceran diambil 100 µl dicampurkan ke dalam media TSA yang telah mengandung *Lysinibacillus* sp sebanyak 500 µl setelah itu inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Hasil dari pengamatan gambar 4.1 menunjukkan bahwa plak tidak muncul ketika di lakukan 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* sp 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 β -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).