

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

Firman Supriadiansyah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Email: firmansupriadiansah@gmail.com

## ***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*

## **PENDAHULUAN**

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).

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).

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan pengambilan air yang di ambil dari lingkungan rumah burung walet. Sampel diidentifikasi di laboratorium Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Observasi berlangsung pada bulan Januari – Februari 2024.

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

Alat yang digunakan antara lain sarung tangan laboratorium, botol semprot, kertas/tisu, plastic, kapas, karet tabung 50ml, tabung 15 ml, tempat sampah, kaldu TSB (*Tryptone Soya Agar*), labu Erlenmeyer, piring agar TSA, plat TSA, pipet dan ujung pipet, inkubator, tabung mikrosentrifugasi, sentrifuge, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kertas lebel, dan spidol permanen. Bahan yang digunakan yaitu air yang di ambil dari lingkungan rumah burung walet, alkohol 70%, aquades steril, larutan buffer SM steril, media nitrifikasi.

Teknik pengambilan sampel penelitian dengan mengambil air pada lingkungan rumah burung walet. Air yang di gunakan pada penelitian 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 rumah burung walet yang didapatkan dari Sumedang.

Sampel yang telah dikoleksi selanjutnya dimasukkan kedalam media TSA, media nitrifikasi, lalu isolasi bakteri, metode *spot assay* dan metode *plaque assay*.

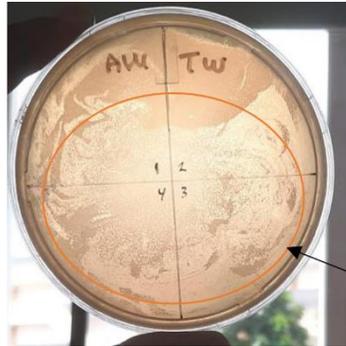
## HASIL

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 lapisi media TSA semisolid

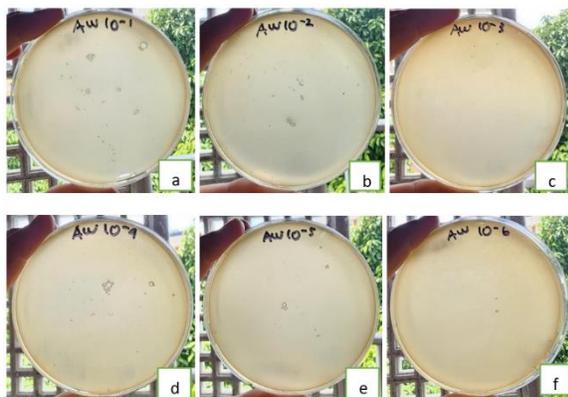
yang berisi bakteri *Lysinibacillus* menunjukkan hasil.

**Gambar 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.*

**Gambar 2.** Hasil plaque assay (a) pengenceran 10<sup>-1</sup>, (b) pengenceran 10<sup>-2</sup>, (c) pengenceran 10<sup>-3</sup>, (d) pengenceran 10<sup>-4</sup>, (e) pengenceran 10<sup>-5</sup>, (f) pengenceran 10<sup>-5</sup>



## 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).

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 0-20°C 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 walet 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 (Rogovski et 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 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 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 *lysini bacillus* 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 dilisis 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 melisis *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 melisis inang.

Namun pada saat dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *plaque assay* tidak muncul plak dikarenakan bakteriofag yang tidak mampu melisis sel *Lysinibacillus sp*. Hal ini sesuai dengan pendapat Charles dan Moineau (Buana dan Agustin, 2014) yang berpendapat bahwa ketidakmampuan bakteriofag dalam melisis 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).

## 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*.

## REFERENSI

AbdRahman, M., Ghazali, P. L., Lian, C. J., Basari, N., Mamat, M., Foziah, H., and Afthanorhan, A. 2019. *suitable ranching practices in successful edible bird nest swiftlet houses in Terengganu*.

- International Journal of Recent Technology and Engineering.7(4):60-64.
- Ackermann, H. W. 2014. *Klasifikasi bakteriofag. Bakteriofag*, 2, 8-16.
- Ahsan. N., and Masafumi. S., 2021. *Lysinibacillus Species: Their Potential as Effective Bioremediation, Biostimulant, and Biocontrol Agents*. 2 Faculty of Applied Biological Sciences. Gifu University. Japan. *Reviews in Agricultural Science*, 9: 103–116.
- Alfianto, E. 2016. *Rancang Bangun Rumah Budidaya Burung Walet Dengan Sistem Pengendalian Suhu Otomatis Sederhana Menggunakan Arduino UNO*. e-NARODROID, 2(1).
- Arifin, M. S., Rahayuningsih, M., & Ngabekti, S. 2012. *Distribusi Walet (Collocalia sp) di Kabupaten Grobogan*. *Life Science*, 1(1)
- Bhardwaj, N., Bhardwaj, S. K., Deep, A., Dahiya, S., dan Kapoor, S. 2015. *Lytic Bacteriophages as Biocontrol Agents of Foodborne Pathogens*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 10 (11): 708- 723.
- Brock, T. D. M. T., Madigan. 2016. *Biology of Microorganisms*. 6th Ed. Prentice- Hall International, Inc. New Jersey.
- Buana, E. dan A. K. Wardani. 2014. *Isolasi Bakteriofag Litik Sebagai Agen Biosanitasi Pada Proses Pelisisan Bakteri Pembentuk Biofilm*. *J. Pangan dan Agroindustri* 2 (2) : 36-42.
- Cahyamurti. R. A., dan Hari. P., 2021. *Tingkat Serangan Grayak Spodoptera litura Pada Cabai Rawit (Capsicum frutescens) Dengan Pemberian Bakteri Lysinibacillus sphaericus*. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Vol. 23, No. 2, Hal. 149-158.
- Dede, S.W., Handri, L., Mirnawati, b., Sudarwanto., Chaerul, B. 2022. *Swiftlets Management in Main Islands Producing Edible Bird Nesis in Indonesia*.
- Dewi, M. E. 2020. *Manfaat Konsumsi Sarang Burung Walet*. *Jurnal Kedokteran Ibnu*
- Dewi, S. K., Nyoto, R. D., & Marindani, E. D. 2018. *Perancangan Prototipe Sistem Kontrol Suhu dan Kelembapan Pada Gedung Walet dengan Mikrokontroler Berbasis Mobile*. *J. Edukasi dan Penelit. Inform*, 4(1), 36-42.
- Duerkop, B. A., Palmer, K. L., and Horsburgh, M. J. 2014. *Enterococcal Bacteriophages and Genome Defense*. *Enterococcal Bacteriophages and Genome Defense*.
- Elfita L. 2016. *Analisis profil protein dan asam amino sarang burung walet (Collocalia fuchiphaga) asal Painan*. *Valensi*.4(1):61-69.
- Gray, N. (2017). *Water technology*: CRC Press
- Hardanti, S., Wardani, A. K., & Rukmi, W. D. 2018. *Isolasi dan karakterisasi bakteriofag spesifik Salmonella typhi dari kulit ayam*. *Jurnal teknologi pertanian*, 19(2), 107-11..
- Hersanti., Siska, R., Refiona S. S. 2023. *Uji Kemampuan Bacillus subtilis dan Lysinibacillus sp. dalam Campuran Carbon Fiber dan Silica Nano untuk Mengendalikan Nematoda Puru Akar (Meloidogyne spp.) pada Tanaman Tomat*. *Jurnal Agrosains dan Teknologi*. Volume 8 No. 1 e-ISSN 2528-3278.
- Iqbal, M. 2021. *Modul Bakteriofag: Konsep Dasar Bakteriofag*. Universitas Jember.
- Johnson, J. R., & Russo, T. A. 2018. *Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic Escherichia coli*. *EcoSal Plus*. Vol. 8 No.1: 10-1128.
- Martin, A. 2016. *Re: How To explain the Turbid and Halo Plaques formed by some Bacteriophages*. *Nafis*, 9(1), 12-16.
- Madigan, M., J. Martinko., P. Dunlap, dan D. Clark. 2012. *Brock Biology of Microorganism. Thirteenth Edition*. Pearson Benjamin Cummings. United States America.

- Ritonga, B. F., & Savira, M. 2023. *Isolasi bakteriofag dari limbah cair dengan aktivitas litik terhadap Escherichia coli*. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala, 23(1).
- Rogovski P, Cadamuro RD, da Silva R, de Souza EB, Bonatto C, Viancelli A, Michelin W, Elmahdy EM, Treichel H, Rodríguez-Lázaro D, Fongaro G. 2021. Uses of *Bacteriophages as Bacterial Control Tools and Environmental Safety Indicators*. Front Microbiol. 30;12:793135. doi: 10.3389/fmicb.2021.793135. PMID: 34917066; PMCID: PMC8670004.
- Saefunida, D. S., Wijanarka., Rukmi, M. G. I., Novik, N. H. 2016. *Isolasi Bakteriofag Escherichia Coli Dari Sistem Distribusi Air Minum Isi Ulang Sebagai Antibiofilm*. Jurnal Biologi, Volume 5 No 2 Hal. 68-75.
- Safa, H., Portanguen, S. and Mirade, P. S. 2017. *Reducing The Levels of Sodium, Saturated Animal Fat, and Nitrite in Dry-Cured Pork Meat Products: A Major Challenge*. Food and Nutrition Sciences. 8: 419–443.
- Santana-Martinez, JC; Silva, JJ; Dussan, J (2019). *"Khasiat Lysinibacillus sphaericus terhadap kultur campuran larva Aedes aegypti dan Culex quinquefasciatus yang dikumpulkan di lapangan dan di laboratorium"*. Buletin Penelitian Entomologi . 109 (1): 111–118.
- Schrader, K., Probert, W. S., and Mcquid, C. 2014. *Isolation and Identification of an Enterobacter cloaca Strain Producing a Novel Subtype of Shiga Toxin Type 1*. Jurnal Clin Microbiol. 52(7): 2346-2351.
- Setiawan, T. H., 2013. *Studi penelitian pembangunan rumah walet studi kasus rumah walet Rawaluku Propinsi Bandar Lampung*. Jurnal Teknik Sipil UAJY. 12(2):14166.
- Setiawan, A., dan Bayu, H. N., 2014. *Karakteristik Proses Klarifikasi Dalam Sistem Nitrifikasi-Denitrifikasi Untuk Pengolahan Limbah Cair Dengan Kandungan N-Nh3 Tinggi*. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Sloots, P. 2014. *Basistheorie milieuchemie 2. Redoxreacties in het milieu*. 3-16.
- Vidurupolaa., Sukhitha, W., dan Linda, J. S., Allena. 2014. *Impact of Variability in Stochastic Models of Bacteria-Phage Dynamics Applicable to Phage Therapy. Stochastic Analysis and Application*. 32: 427–449.
- Widiani, P. 2022. *Kadar Nitrit pada Sarang Burung Walet dan Analisis Metagenomik Bakteri pada Kotoran Rumah Burung Walet Asal Pulau Sumatera*. Doctoral dissertation IPB University.