

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteriofag

Virus yang menginfeksi bakteri, atau fag memainkan peran dalam ekologi mikroba. Infeksi fag diawali dengan perlekatan (adsorpsi) virus ke reseptor molekul ekstraseluler pada bakteri amplop sel. Adsorpsi ini diikuti dengan menyuntikkan materi genetik virus ke dalam bakteri, ekspresi fag replikasi gen serta DNA fag, akhirnya perakitan virion dan lisis sel (Ofir and Sorek, 2017).

Seperti virus lainnya, fag memiliki struktur sederhana, terdiri dari kapsid protein dan inti. Berdasarkan ciri morfologi dan strukturnya ada tiga jenis fag: *Caudovirales* yang terbagi menjadi *Siphoviridae*, *Podoviridae*, dan *Myoviridae*, *Ballabactivirus*, dan *Inoviridae* (Liang *et al.*, 2023). Bakteriofag sangat bergantung terhadap inang bakterinya untuk bertahan hidup dan berkembang biak, tetapi pertumbuhan bakteri dapat menjadi tidak stabil secara berkala bahkan dihabitatnya yang tidak bergizi (Venturini *et al.*, 2022).

Terapi menggunakan fag muncul sebagai salah satu alternatif yang efektif melawan bakteri yang resisten terhadap berbagai obat infeksi. Fag diyakini sebagai agen terapi yang efektif dan produk berbasis fag telah banyak digunakan dalam beberapa tahun terakhir (Ramesh *et al.*, 2019). Bakteri yang resisten terhadap berbagai antibiotik dikaitkan dengan morbiditas dan mortalitas yang jauh lebih tinggi. Kemungkinan untuk menemukan antibiotik baru sangatlah terbatas, namun terapi fag dengan menggunakan bakteriofag (virus yang dapat menginfeksi bakteri) untuk menyembuhkan infeksi akibat bakteri menjadi alternatif. Terapi

menggunakan fag telah banyak digunakan pada mamalia besar seperti babi, sapi, dan domba. Menambahkan fag ke dalam pakan dapat mengurangi indeks diare, mengatur aktivitas enzim pencernaan pada usus anak babi yang disapih (Liang *et al.*, 2023).

Plaque adalah populasi dari bakteriofag yang dibatasi secara spasial, terlihat oleh mata karena secara lokal dapat menghabiskan sejumlah bakteri yang rentan. *Plaque* akan tumbuh dan berkembang pada padat atau semi padat. Media tersebut biasanya terbuat dari bahan dasar agar (Abedon, 2021).

2.1.1 Morfologi Bakteriofag

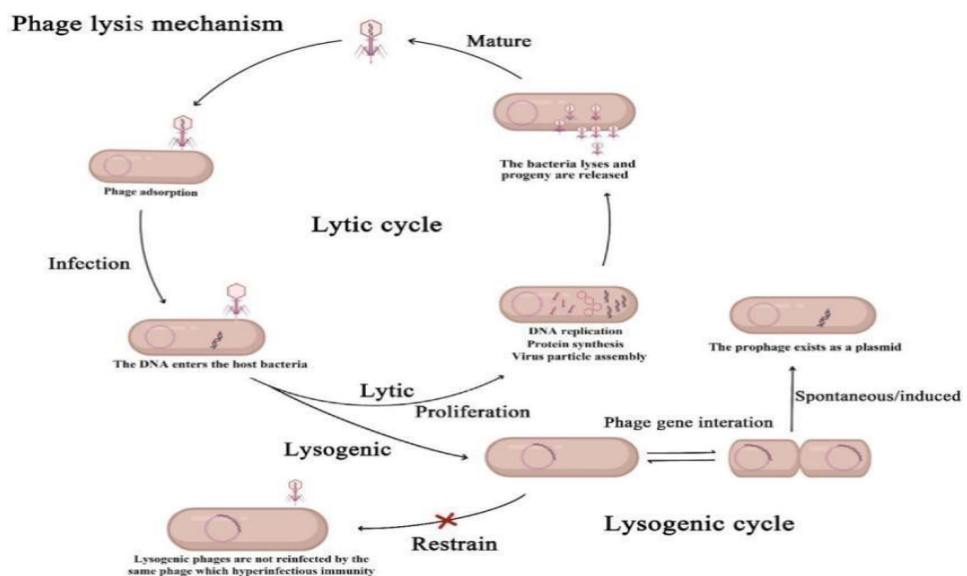
Morfologi *plaque* yang di bentuk oleh bakteriofag memiliki banyak faktor. Salah satu faktor yang berpengaruh besar adalah media dan suplemen yang digunakan pada agar sebagai media melakukan *plaque assay*, pada penelitian yang dilakukan oleh Ramesh *et al.*, (2019) morfologi *plaque* yang dibentuk oleh bakteriofag tampak berbeda pada semua agar, yaitu pada Nutrient Agar (NA), *Luria Bertani* agar (LB), *Brain Heart Infusion* Agar (BHIA), *Mueller Hinton* Agar (MHA), *Tryptic Soy* Agar (TSA). Perbedaan morfologi *plaque* pada fag litik dan lisogenik adalah fag litik akan menghasilkan *plaque* bening, sedangkan fag lisogenik akan menghasilkan *plaque* keruh.

Hampir semua fag yang diketahui terdiri dari kepala (kapsid) yang melekat pada ekor, dan berisikan DNA berantai ganda. Ekor pada bakteriofag sangat penting, karena fag akan menyuntikkan DNA ke dalam bakteri dengan menembus amplop pada sel agen bakteri (Kokko, 2023). Menurut Hardy *et al.*, (2022) terdapat tiga macam bentuk struktur ekor yang dimiliki oleh bakteriofag yaitu, bentuk ekor

kontraktil (*myovirus*), ekor pendek dan tidak kontraktil (*podovirus*), dan ekor panjang tidak kontraktil (*siphovirus*).

2.1.2 Siklus Hidup Bakteriofag

Bakteriofag memiliki dua keadaan utama yaitu keadaan litik dan keadaan lisogenik. Keadaan litik merupakan keadaan dimana bakteriofag sedang dalam keadaan sangat virulen, ditandai dengan produksi virion yang dapat melisis inangnya. Sedangkan keadaan lisogenik merupakan keadaan dimana bakteriofag hanya dapat mereplikasi asam nukleat, namun tidak adanya virion baru yang dapat terbentuk (Federici *et al.*, 2023).



Gambar 2.1 Mekanisme Kerja Fag Litik dan Fag Lisogenik.

Fag menginfeksi inang bakterinya melalui siklus hidup litik atau lisogenik. Fag litik membunuh inang bakterinya melalui lisis sel, sedangkan fag lisogenik berintegrasi dalam genom inang bakteri. Buttimer *et al.*, (2023) menjelaskan bahwa karakterisasi biologis, analisis genom dan filogenik dari enam fag terkait pada tingkat genus hingga subfamili yang menginfeksi.

2.2 Plaque Assay

Metode *Plaque assay* dilakukan karena konsentrasi sediaan bakteriofag yang masih terlalu tinggi untuk dihitung jumlah *plaque*-nya, hal ini berdasarkan dari hasil *spot assay* yang menunjukkan *clear zone* yang dihasilkan sangat jernih pada area yang ditetesi dengan menggunakan sediaan bakteriofag. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sanders, (2012) *plaque* bakteriofag *E. coli* yang terbentuk pada permukaan agar (*Enhanced Haemolysis Agar*) EHA berukuran 1mm. Pada penelitiannya, sediaan bakteriofag dengan konsentrasi 2×10^8 PFU/mL. *Plaque assay* merupakan *gold standart* yang harus digunakan dalam mengisolasi bakteriofag.

Menurut Cacciabue *et al.*, (2019) *plaque assay* telah digunakan sejak lama untuk menentukan titer infeksius dan mengkarakterisasi virus *prokariotik* dan *eukariotik* yang membentuk *plaque*. *Plaque assay* merupakan sistem *standart* kuantifikasi dalam virologi untuk memverifikasi bakteriofag. Perhitungan *plaque* dilakukan secara manual masing – masing *plate*. *Plaque* dihitung menggunakan *plate reader* yang digunakan untuk bakteri (Misol *et al.*, 2020).

2.3 Nitrifikasi

Proses nitrifikasi terjadi pada membran sel organisme (Nwankwo *et al.*, 2023). Nitrifikasi didefinisikan sebagai proses dua langkah dimana amonia (NH_3) atau amonium (NH_4^+) akan bereaksi dengan oksigen yang kemudian akan membentuk nitrit (NH_2^-). Setelah itu nitrit akan bereaksi dengan oksigen atau air membenruk nitrat (NO_3^-). Bakteri nitrifikasi merupakan inti pada proses nitrifikasi (Sloots, 2014).

Kadar nitrit pada sarang burung walet secara alami terbentuk sebagai hasil proses alamiah dari perubahan nitrogen menjadi nitrit oleh bakteri yang terdapat pada lingkungan rumah burung walet (Widiyani dkk., 2021). Bakteri pengoksidasi amonium (*Nitrosomonas* sp.) sebagai indikasi terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang disebabkan perubahan pH media akibat oksidasi amonium menjadi nitrit, sedangkan adanya bakteri penghasil nitrat (*Nitrobacter* sp.) diindikasikan dengan perubahan warna media dari bening menjadi keruh (Pratiwi, 2011).

Nitrit yang terkandung dalam makanan dapat menyebabkan kematian jika dikonsumsi dalam konsentrasi tinggi (Cvetković *et al.*, 2019). Menurut Chamandoost *et al.*, (2016) mengonsumsi makanan yang mengandung nitrit secara menerus dalam rentang waktu lama akan menyebabkan kanker gastrointestinal.

2.4 *Lysinibacillus* sp.

Menurut Wu *et al.*, (2023) Penghapusan nitrogen secara simultan melalui nitrifikasi *heterotrofik* dan denitrifikasi *aerobik* telah mendapat perhatian luas. Strain baru *Lysinibacillus fusiformis*, yang secara efektif menghilangkan polutan nitrogen melalui reaktor *aerobik* tanpa akumulasi nitrit. Ini menunjukkan efisiensi penyisihan nitrogen yang optimal, sitrat sebagai sumber karbon. Nitrogen amonium lebih sering dikonsumsi. Analisis keseimbangan nitrogen menunjukkan bahwa 83,25% amonium diubah menjadi gas nitrogen.

Menurut Ahmed *et al.*, (2007) *Lysinibacillus* terdiri dari 30 spesies. *Lysinibacillus* sp. merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dengan ujung membulat. Sel bersifat motil melalui flagela lateral. *Lysinibacillus* sp. tergolong

unik diantara famili *Bacillaceae* karena mereka dicirikan oleh peptidoglikan dinding sel khusus jenis A4 α (L-Lys–D-Asp), peptidoglikan mengandung asam amino alanin, lisin, glisin, dan asam aspartat. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Lu and Liu (2021) *Lysinibacillus* sp. dapat tumbuh pada media LB dengan suhu optimal 30°C dan pada pH optimal 7,0. Kemudian morfologi koloni dapat diamati setelah 24 jam inkubasi secara aerobik. *Lysinibacillus* sp tidak dapat tumbuh pada NaCl 10%.

2.5 Burung Walet

Burung walet termasuk burung yang memiliki sayap meruncing, bulu ekor panjang, dengan warna bulu hitam dan bagian bawah tubuhnya bulu berwarna coklat. Burung walet mempunyai ciri fisik yang berbeda dengan burung pada umumnya. Burung walet juga mempunyai nilai mistik pada setiap pergerakannya seperti harapan untuk kesuksesan, cinta kasih, kesuburan lingkungan dan alam sekitar. Terdapat banyak jenis burung walet, diantaranya adalah burung walet sarang putih, burung walet sarang hitam, dan burung walet gunung (Rifai, 2022).

Menurut Hamzah *et al.*, (2013) terdapat lebih dari 24 spesies burung walet ekolokasi pemakan serangga di seluruh dunia. Namun, saat ini hanya ada dua spesies burung walet yang bertanggung jawab menghasilkan sarang burung walet yang bernilai komersial. Mereka merupakan spesies dari suku *Apodidae*, *Collocalia*, yakni *Aerodramus fuciphagus* (walet sarang putih) dan *Aerodramus maximus* (walet sarang hitam).

2.5.1 Sarang Burung Walet

Menurut Zhao *et al.*, (2016) kebudayaan masyarakat Tiongkok percaya bahwa sarang burung walet merupakan makanan yang dapat meningkatkan imunitas. Pada masa pandemic Covid-19, permintaan produk dari sarang burung walet mengalami peningkatan dan hal tersebut mendorong perekonomian Indonesia karena Indonesia merupakan pemasok sarang burung walet terbesar di dunia (Jamalluddin *et al.*, 2019). Cina merupakan pasar terbesar yang melakukan impor sarang burung walet dari berbagai negara termasuk Indonesia (Ma *et al.*, 2018).

Sarang burung walet dibuat oleh burung walet dengan menggunakan cairan kelenjar ludahnya yang berada di bawah lidah. Sarangnya bisa dijadikan sebagai tempat berlindung burung kenari untuk berkembang biak dan bertengger (Yeo *et al.*, 2021). Selama reproduksi, glikoprotein musin disekresikan dalam air liur dari sepasang kelenjar sublingual unik di bawah lidah burung walet, berulang kali terjalin bersama untuk membangun sarang putih berbentuk setengah mangkuk, seukuran telapak tangan (Shim and Lee, 2018).