

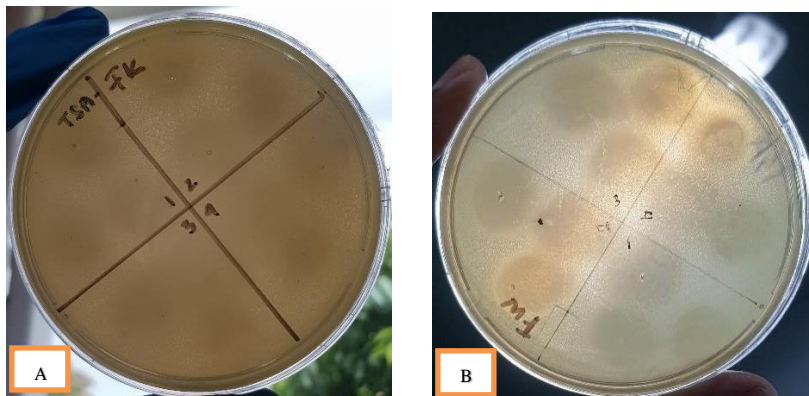
## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Hasil *Spot Assay*

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh penulis dari dua puluh sampel feses burung walet, sepuluh sampel feses burung walet dari rumah burung walet konvensional (sampel FK) dan sepuluh sampel feses burung walet dari rumah burung walet campuran (sampel FW). Fag dapat ditemukan menggunakan metode *spot assay*. *Spot assay* ini merupakan metode yang digunakan untuk tahap awal guna mengetahui apakah fag dapat tumbuh atau tidak, karena *spot assay* ini hanya memerlukan satu *plate* untuk tiap - tiap sampel, jadi cukup menguntungkan bagi penulis ketika melakukan penelitian ini. Hasil fag yang telah diperoleh dari *spot assay* kemudian dilanjutkan menggunakan metode *plaque assay*. Gambar 4.1 merupakan hasil *spot assay* pada penelitian yang telah dilakukan.

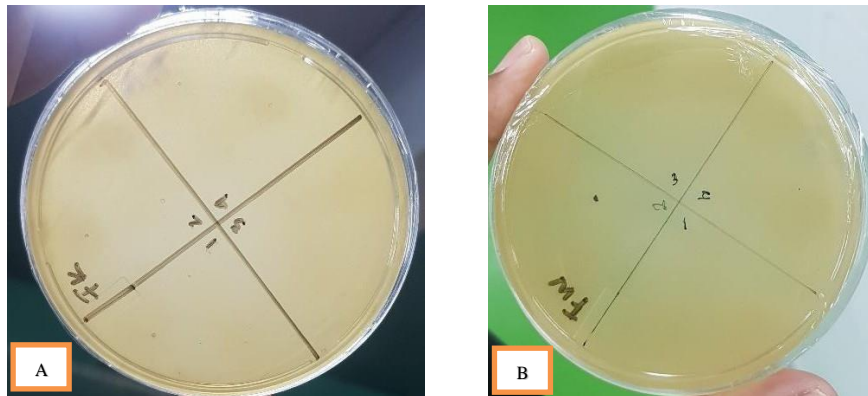
#### a) Hasil *Spot Assay* Positif



**Gambar 4.1** Hasil Positif *Spot Assay* Sampel FK (A) dan FW (B).

Hasil positif pada *spot assay* ditandai dengan munculnya *spot – spot clear zone* yang dapat dilihat seperti pada gambar 4.1 setelah melalui inkubasi selama 48 jam pada suhu 30<sup>0</sup>C. Gambar A merupakan hasil positif *spot assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet konvensional (sampel FK) dan gambar B merupakan hasil positif *spot assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet campuran (sampel FW).

b) Hasil *Spot Assay* Negatif



**Gambar 4.2** Hasil Negatif *Spot Assay* Sampel FK (A) dan FW (B).

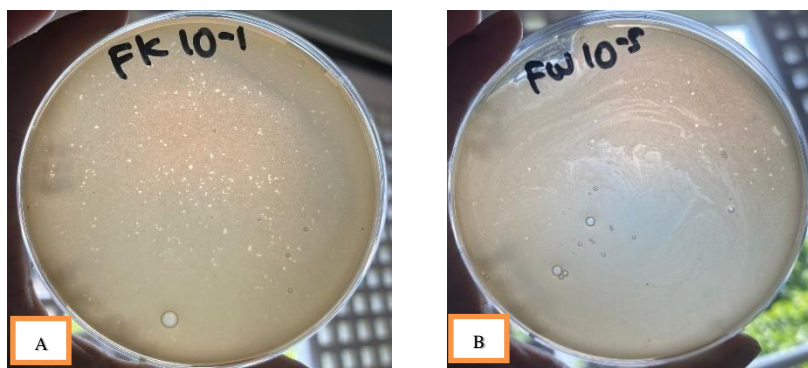
Hasil negatif pada *spot assay* tidak ditemukan munculnya *spot – spot clear zone* yang dapat dilihat seperti pada gambar 4.1, bahkan setelah melalui inkubasi selama 48 jam pada suhu 30<sup>0</sup>C fag tidak tumbuh. Gambar A merupakan hasil negatif *spot assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet konvensional (sampel FK) dan gambar B merupakan hasil negatif *spot assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet campuran (sampel FW).

#### 4.1.2 Hasil *Plaque Assay*

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh penulis, pada metode *plaque assay* ini penulis berhasil mendapatkan *plaque* setelah diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh penulis jurnal terdahulu sebagai dasar tolak ukur dilakukannya penelitian ini.

Penulis kemudian melakukan perhitungan jumlah *plaque* secara manual, perhitungan dilakukan tiap masing – masing *plate*. Menurut Choudhry (2016) meskipun penentuan jumlah *plaque* secara manual, semua *plaque* akan dihitung terlepas dari diameter dan bentuknya. Perhitungan jumlah *plaque* ini tentunya membutuhkan ketelitian penulis.

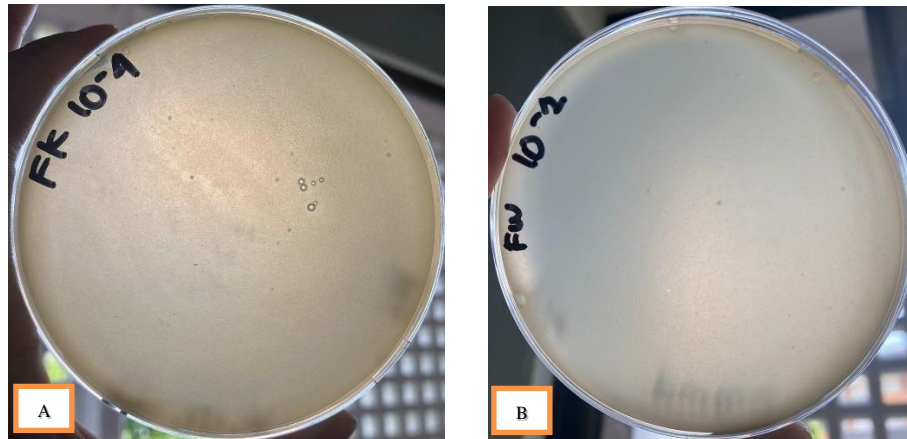
##### a) Hasil Positif *Plaque Assay*



**Gambar 4. 3** Hasil Positif *Plaque Assay* Sampel FK (A) dan FW (B).

Hasil positif pada *plaque assay* ditandai dengan munculnya *plaque*, dapat dilihat seperti pada gambar 4.3 setelah melalui inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Gambar A merupakan hasil positif *plaque assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet konvensional (sampel FK) dan Gambar B merupakan hasil positif *plaque assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet campuran (sampel FW).

b) Hasil Negatif *Plaque Assay*



**Gambar 4. 4** Hasil Negatif *Plaque Assay* Sampel FK dan FW

Hasil negatif pada *plaque assay* tidak ditemukan munculnya *clear zone* yang dapat dilihat seperti pada gambar 4.4, bahkan setelah melalui inkubasi selama 48 jam pada suhu 30<sup>0</sup>C *plaque* tidak didapatkan. Gambar A merupakan hasil negatif *plaque assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet konvensional (sampel FK) dan gambar B merupakan hasil negatif *plaque assay* yang diperoleh dari sampel feses burung walet yang berasal dari rumah burung walet campuran (sampel FW).

c) Tabel hasil perhitungan *plaque assay*

Setelah hasil *plaque assay* didapatkan maka *plaque* akan dihitung secara manual, yang kemudian hasil dari perhitungan berupa jumlah *plaque* dimasukkan kedalam tabel berikut:



### 4.1.3 Perhitungan Titer Bakteriofag

Perhitungan titer bakteriofag dapat dilakukan setelah dilakukan perhitungan jumlah *plaque*. Penulis melakukan perhitungan titer bakteriofag berdasarkan dari jumlah *plaque* yang telah diperoleh penulis pada metode *plaque assay*. Perhitungan titer bakteriofag, menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Dari rumus tersebut maka akan diperoleh titer sebagai berikut :

- a. Titer dari sampel FK

$$\frac{208}{10^{-1}} \times \frac{1}{10^{-2}} = 2,08 \times 10^5 = 2,1 \times 10^5 \text{ PFU/mL}$$

- b. Titer dari sampel FW

$$\frac{27}{10^{-1}} \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,7 \times 10^6 \text{ PFU/mL}$$

Jumlah *plaque* yang dipilih untuk dilakukannya perhitungan titer adalah jumlah *plaque forming units* (PFU) yang sesuai dengan faktor pengencerannya. Dimana ketika faktor pengencerannya rendah maka seharusnya jumlah *plaque* yang tumbuh adalah berbanding terbalik yaitu tinggi, sedangkan ketika faktor pengenceran tinggi maka seharusnya jumlah *plaque* yang didapatkan adalah berbanding terbalik yaitu rendah.

## 4.2 Pembahasan

Penelitian yang dilakukan oleh penulis ini berhasil menemukan dua bakteriofag yang berasal dari sampel yang berbeda, yaitu sampel FK dan FW dengan masing – masing titer yang diperoleh adalah  $2,1 \times 10^5$  PFU/mL merupakan titer yang diperoleh dari sampel FK dan  $2,7 \times 10^6$  PFU/mL merupakan titer yang diperoleh dari sampel FW. Bakteriofag yang ditemukan oleh penulis merupakan bakteriofag yang mampu menginfeksi bakteri *Lysinibacillus* sp. yaitu bakteri penghasil nitrit, kadar nitrit inilah yang tidak boleh terdapat pada sarang walet yang akan diolah kemudian nantinya akan dikonsumsi.

Perubahan nitrit dan nitrat mungkin disebabkan oleh perbedaan lingkungan gua dan peternakan burung walet, seperti kelembapan, pH, dan iklim. Usia sarang burung walet saat panen, kontaminasi selama panen dan proses pembersihan sarang burung walet yang dikumpulkan dapat menyebabkan perbedaan konsentrasi nitrat dan kadar nitrat (Paydar *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2020). Menurut Chan *et al.*, (2018) feses dan air dari lokasi rumah peternakan burung walet mengandung banyak nitrat bukan nitrit. Oleh karena itu, nitrit pada sarang burung walet mungkin disebabkan oleh pencemaran lingkungan dan nitrat serta mikroba nitrat reduktase.

Kandungan nitrit pada sarang burung walet harus dikendalikan untuk memastikan sarang burung walet dapat dimakan dengan aman. Proses pembersihan yang tepat dapat mengurangi konsentrasi nitrit dan nitrat dalam sarang burung walet (Chan G. 2013; Hamzah *et al.*, 2013). Jumlah kadar nitrit yang dapat diterima oleh *World Health Organization* (WHO) adalah 0–3,7 mg/kg berat badan per hari atau setara dengan 222 mg/hari untuk orang dewasa dengan berat badan 60 kg. Di dalam

tubuh, nitrit dapat diubah menjadi oksida nitrat (molekul pemberi sinyal) yang dapat menyebabkan pembuluh darah membesar dan menurunkan tekanan darah. Ketika nitrit dan asam amino hidup berdampingan, senyawa karsinogenik yang disebut nitrosamin terbentuk selama pemasakan pada suhu tinggi (Gunnars, 2020).

Ningrum *et al.*, (2022) menyatakan bahwa warna sarangburung walet menandakan kadar nitrit pada sarang burung walet tersebut. Semakin gelap warna sarang burung walet menunjukkan bahwa kandungan kadar nitrit pada sarang burung walet tersebut adalah tinggi. Begitu juga sebaliknya, semakin terang warna sarang burung walet menunjukkan bahwa kandungan kadar nitrit pada sarang burung walet tersebut adalah rendah. Hal tersebut yang mempengaruhi harga jual sarang burung walet.

Pengendalian terhadap kadar nitrit pada sarang burung walet yang telah dipanen bisa dilakukan dengan beberapa cara, tetapi masih banyak industri yang enggan untuk melakukan proses pencucian pada sarang burung walet sebelum dijual. Proses pencucian dapat menurunkan kadar nitrit pada sarang burung walet, tetapi jika kandungan nitrit terlalu tinggi pada sarang burung walet sangat sulit

untuk menurunkan kadar nitrit, maka proses pencucian harus dilakukan berulang kali yang mana hal tersebut memerlukan banyak air, waktu dan tenaga pekerja, karena proses pencuciannya harus dilakukan berulang kali hingga kadar nitritnya mencapai ambang batas kandungan nitrit yang dapat dikonsumsi manusia.

Penelitian yang telah dilakukan oleh penulis terhadap bakteriofag inilah diharapkan dapat menjadi solusi ketika industri enggan melakukan proses pencucian pada sarang burung walet sebelum dijual adalah dengan pengaplikasian



bakteriofag pada industri rumah burung walet untuk menghilangkan bakteri penghasil nitrit guna mengendalikan kadar nitrit pada rumah burung walet, tujuannya adalah untuk menghilangkan kadar nitrit pada sarang burung walet bahkan sebelum dipanen.

González *et al.*, (2020) mengkonfirmasi bahwa inang fag G adalah *Lysinibacillus megaterium*, identitas protein inang dalam analisis spektrometri massa, urutan genom inang fag G dan kisaran inang fag G.