

Morfologi Bakteriofag Yang Diisolasi Dari Sarang Burung Walet

Gea Oktafiani Selon^{1*}

^{1*} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
email: geaoktafianiselon@gmail.com

Abstract

*This study aims to determine the morphology of bacteriophages isolated from swiftlets nests. The quality and health of swiftlet and their environment need to be considered, especially regarding pathogenic and nitrite-producing bacteria which can affect the quality of swiftlet nests. *Stenotrophomonas maltophilia* is a denitrifying and nitrite oxidoreductase bacteria. The research was carried out by enriching bacterial samples with BHIB and BHIA media, then spot testing was carried out to see phage growth. After the phage appears, a plaque assay is carried out to see the plaque formed with a dilution of 10^{-1} to 10^{-10} with an incubation temperature of 30°C for 24 hours. The potential for bacteriophages to infect bacteria can be seen from the morphology using a digital microscope with a magnification of 55.5X. The results obtained are clear halo plaque formation, where bacteriophages can only inhibit bacterial growth and cannot lyse bacteria completely.*

Keywords : *Bacteriophage, Stenotrophomonas maltophilia, Edible bird nest, plaque type.*

PENDAHULUAN

Sarang burung walet merupakan rajutan liur yang berasal dari burung walet yang berbentuk mangkok. Burung walet sendiri memiliki sekitar 24 spesies, tetapi hanya empat spesies saja yang dapat membentuk sarang dengan air liurnya dan dapat dikonsumsi oleh manusia. Spesies burung walet yang dapat membentuk sarang dengan air liurnya antara lain, *Collacalia fuchiphaga*, *Collacalia germanis*, *Collacalia maxima*, dan *Collocalia unicolor*. Sarang burung walet termasuk sumber daya alami yang banyak ditemukan di wilayah Asia Tenggara. Secara alami, sarang burung walet biasanya terbentuk di gua atau rumah yang cukup lembab dengan pencahayaan yang cukup gelap. Sarang burung ini menempel di langit-langit dan biasanya digunakan sebagai tempat

beristirahat maupun berkembang biak. Sarang burung walet dipercaya kaya akan manfaat dalam bidang kesehatan (Dewi, 2020).

Indonesia merupakan negara penghasil sarang burung walet terbesar di dunia. Pada tahun 2011, Indonesia memproduksi sekitar 70-80% dari total produksi sarang burung walet di dunia (Pazli *et al.*, 2014). Dalam sisi perdagangan internasional, Indonesia adalah negara produsen sarang burung walet terbesar dengan pasokan lebih dari 78% kebutuhan pasar dunia. Indonesia telah mengeskpor 1.510 ton sarang burung walet dengan nilai USD 517 juta atau setara dengan Rp 7,1 triliun ke beberapa negara di dunia antara lain Tiongkok, Hongkong, Vietnam, Singapura, USA, Kanada, Thailand, Australia, Malaysia, Jepang, Laos dan Korea (Rakhmadi *et al.*, 2022).

Tiongkok merupakan konsumen sarang burung walet terbesar dengan mengonsumsi hampir 60% pasar sarang burung walet dunia. Tiongkok sebagai konsumen sarang burung walet terbesar dunia menginginkan sarang burung walet yang memiliki kualitas yang baik dan aman untuk dimakan. Salah satu syarat sarang burung walet yang diinginkan Tiongkok adalah kandungan nitrit sarang burung walet harus dibawah 30 ppm. Selain itu, lingkungan rumah burung walet juga berpengaruh pada kualitas sarang burung walet. keberadaan bakteri patogen di lingkungan rumah burung walet, selain mengancam kualitas sarang burung walet juga mengancam kesehatan manusia terutama saat memasuki lingkungan rumah burung walet maupun saat pengambilan sarang burung walet (Utomo *et al.*,2015).

Kandungan nitrit yang tinggi dalam sarang burung walet disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu kontaminasi lingkungan, liur walet dan bakteri penghasil nitrit (Susilo *et al.*,2016). Konsumsi pangan yang mengandung nitrit berlebihan secara terus-menerus dapat menyebabkan kanker gastrointestinal (Ningrum, 2021). Salah satu metode untuk mengendalikan populasi bakteri penghasil nitrit dan bakteri patogen adalah dengan pengaplikasian bakteriofag.

Bakteriofag adalah virus yang dapat menginfeksi bakteri. Bakteriofag mengandung DNA atau RNA dan protein reseptor spesifik yang cocok pada target bakteri inang, sehingga kerjanya sangatlah spesifik. Bakteriofag merupakan virus yang memiliki sifat *parasite obligat* terhadap bakteri. Fag litik adalah musuh alami bagi bakteri yang dapat digunakan dalam terapi

bakteriofag karena bakteriofag menunjukkan infeksi yang cepat pada kisaran inang spesifik (Iqbal, 2021).

Penggunaan bakteriofag dapat digunakan sebagai alternatif pencegahan *foodborne disease* dengan cara menginfeksi dan membunuh bakteri patogen pada makanan. Selain itu, bakteriofag digunakan sebagai pengobatan infeksi bakteri dan pengendalian tanaman (Universitas Brawijaya, 2022). Penggunaan bakteriofag masih sangat minim khususnya dalam bidang sarang burung walet belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan tipe *plaque* bakteriofag yang diisolasi dari sarang burung walet.

Penggunaan bakteriofag di bidang Kedokteran Hewan khususnya budidaya walet dengan cara menginfeksi bakteri penghasil nitrit dan bakteri patogen dengan bakteriofag. Dalam penelitian ini, peneliti akan melakukan identifikasi morfologi bakteriofag yang diisolasi dari sarang burung walet. Dengan menentukan morfologi bakteriofag yang ada di sarang burung walet diharapkan dapat digunakan di penelitian selanjutnya.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Terapan, BRIN, Cibinong pada bulan Maret 2024.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop digital, ose bulat, laminar air flow, tube, bunsen, inkubator, cawan petri, tip, mikropipet, tabung reaksi, vorteks, centrifuge, dan membran filter.

Bahan yang digunakan untuk mendukung penelitian adalah BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*), BHIB

(*Brain Heart Infusion Broth*) bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* isolasi BRIN, SM Buffer, TSA (*Tryptic Soy Agar*) dan bakteriofag uji yang diisolasi dari sarang burung walet.

Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif observasional. Deskriptif yang dimaksud adalah dengan menerangkan dan memaparkan hasil dari penelitian yang di dapat. Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan secara *purposive sampling*.

Pengamatan dilakukan dengan kultur bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* pada media BHIB dengan tujuan untuk menumbuhkan bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* dengan suhu 30°C selama 24 jam di inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Pengambilan bakteri dilakukan dengan ose bulat yang sudah di sterilisasi dengan api bunsen. Bakteri diambil dengan hanya menempelkan sedikit pada permukaan ose bulat. Tahap selanjutnya, ose digores pada permukaan BHI Agar secara kuadran. Semua tahapan dilakukan di dekat api bunsen, untuk menjaga agar tetap steril. Bakteri yang sudah dikultur, kemudian diinkubasi dengan suhu 30°C selama 48 jam (Djojuroto, 2021).

Isolat bakteri yang sudah ditanam pada media BHIB ditambahkan pada media TSA semisolid dan divorteks. Media yang sudah dihomogenkan dituang kedalam cawan petri secara merata. Filtrat sampel diteteskan pada media yang sudah mengering sebanyak 10 µl secara merata dengan jarak 1 cm tiap tetesan. Inkubasi media pada suhu 30°C selama 24 jam. Jika muncul zona bening pada hasil *spot test* lakukan *scrubbing* menggunakan ose bulat. Hasil *scrub* dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml

yang sudah berisi 900 µl SM buffer. Sentrifus hasil scrub dengan kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan pada tube baru.

Supernatan sebanyak 100 µl ditambahkan ke dalam SM buffer sebanyak 500 µl (sampai pengenceran 10⁻¹⁰). Tahap pengenceran (10⁻¹ s.d 10⁻¹⁰) bakteriofag diambil 100 µl pada tiap-tiap pengenceran untuk ditambahkan ke dalam 500 µl host pada tube yang berbeda sesuai jumlah pengenceran dan dihomogenkan. TSA semisolid dicampurkan dengan masing-masing pengenceran dan dihomogenkan. Suspensi dituang ke dalam cawan petri berbeda yang telah berisi TSA agar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Plak yang terbentuk di *picking* dan dilakukan pengenceran kembali sampai pengenceran 10⁻¹⁰. *Plaque* yang terbentuk pada cawan petri yang memenuhi syarat (kisaran 25-250 plaque) diamati (University of Santo Tomas, 2023).

Pengamatan bakteriofag dilakukan menggunakan mikroskop digital USB. *Plaque* yang muncul diamati menggunakan mikroskop, dengan meletakkan cawan petri dibawah mikroskop. Sambungkan usb pada laptop yang sudah terinstal aplikasi mikroskop. Amati karakteristik *plaque* yang terbentuk pada setiap *plaque* yang muncul.

HASIL

Hasil dari penelitian ini menunjukkan adanya bakteriofag yang dapat menginfeksi bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* dengan tipe plak bakteriofag *Stenotrophomonas maltophilia* yang diisolasi dari sarang burung walet adalah tipe clear halo. Plak yang terbentuk memiliki karakteristik yang khas dan

dapat dibedakan dari tipe plak yang lain. Spot test dilakukan dengan pengujian isolat bakteri pada media TSA untuk melihat adanya zona bening yang menandakan adanya bakteriofag. Hasil spot test yang positif menunjukkan adanya bakteriofag yang aktif terhadap bakteri *S. maltophilia*. Plaque assay dilakukan untuk mengamati pembentukan plak pada cawan petri yang mengandung bakteriofag. Plak yang terbentuk diamati dan karakteristiknya dianalisis untuk mengetahui tipe plak yang dihasilkan.



Gambar 1. hasil spot test

Plaque assay dilakukan dengan mengambil dari hasil *spotting* sampel yang pertama serta dilakukan pengenceran. Tahap ini dilakukan *plating* tahap pertama dengan melihat pertumbuhan bakteriofag. Biasanya bakteriofag yang muncul masih belum jelas.



Gambar 2. hasil *plaque* masih belum jelas, terlihat *plaque* berbentuk seperti bulan sabit

Hasil akhir yang diambil merupakan hasil pada *plating* tahap kedua yang bertujuan untuk memurnikan bakteriofag. Sampel yang digunakan merupakan sarang burung walet putih. Rata-rata bakteriofag yang tumbuh dalam penelitian yaitu kisaran 24-48 jam. Fag yang tumbuh pada 24 jam pertama biasanya akan tampak lebih samar atau bahkan tidak muncul sama sekali, untuk memastikan hal tersebut maka waktu inkubasi dilakukan selama 48 jam jika diperlukan. Untuk fag yang muncul pertama kali setelah *spotting* pertama, akan dilakukan pemurnian dengan melakukan *plating* hingga tahap dua.



Gambar 3. hasil *plaque* tipe halo, terdapat cincin bening disekitaran *plaque*.

PEMBAHASAN

Karakterisasi tipe plak ini penting untuk memahami sifat dan aktivitas bakteriofag terhadap bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*. Dengan mengetahui tipe plak yang dihasilkan,

dapat diketahui potensi bakteriofag dalam mengendalikan pertumbuhan bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*. Tipe plak *clear halo* yang ditemukan menunjukkan adanya aktivitas lisis terhadap bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteriofag yang diisolasi memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen pengendali bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* yang berpotensi merugikan tanpa merusak mikroorganisme lain yang berguna. Selain itu, kemungkinan terbentuknya plak *clear halo* karena kurangnya suhu dan waktu optimum dalam pertumbuhan bakteri yang dimana bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* tumbuh pada suhu optimum 37°C selama 48 jam (Nuryati, 2018).

Tipe *clear halo* terjadi karena bakteriofag hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Martin, 2016). Tipe bakteriofag ini termasuk kedalam fase litik dan lisogenik, yang dimana sebagian fag dapat memasuki fase litik dan fag yang resisten hanya dapat sampai pada tahap lisogenik (Iqbal, 2021).

Bakteriofag hanya dapat hidup jika terdapat bakteri inangnya, beberapa faktor yang mempengaruhi bakteriofag tidak dapat melisis bakteri inangnya antara lain karena beberapa bakteri dapat memiliki sistem pertahanan lainnya yang mencegah masuknya bakteriofag ke dalam sel mereka. Kondisi lingkungan seperti pH, suhu, atau keberadaan senyawa kimia tertentu juga dapat mempengaruhi kemampuan bakteriofag untuk menginfeksi dan melisis bakteri inangnya (Pratiwi, 2021).

Plak yang terbentuk dari hasil penelitian ini memiliki potensi bahwa bakteriofag masih mampu melisis bakteri inangnya. Beberapa faktor perlu

diperhatikan seperti suhu dan pH. Adanya faktor lain seperti penyimpanan dan perlakuan sampel dengan benar juga penting. Faktor pengenceran juga berpengaruh pada kemunculan plak. Semakin tinggi pengenceran maka plak semakin terlihat lebih renggang dan mudah di amati (Pratiwi, 2021).

Hasil penelitian ini menunjukkan plak dengan ukuran yang berbeda. Ukuran plak yang berbeda-beda dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain dari jenis bakteriofag nya. Bakteriofag memiliki bentuk yang berbeda-beda tergantung pada jenisnya, sehingga ukuran plak yang terbentuk juga berbeda-beda. Suhu juga dapat mempengaruhi ukuran plak yang terbentuk, dengan suhu yang lebih tinggi dapat menyebabkan ukuran plak yang lebih besar (Jatmiko *et al.*, 2018).

Jumlah bakteri inang dapat memengaruhi ukuran plak yang terbentuk, dengan jumlah bakteri yang lebih banyak dapat menyebabkan ukuran plak yang lebih besar. PH dapat mempengaruhi ukuran plak yang terbentuk, dengan pH yang lebih tinggi dapat menyebabkan ukuran plak yang lebih besar. Perbedaan ukuran plak ini dapat mempengaruhi efektivitas bakteriofag dalam melawan infeksi bakteri, dengan ukuran plak kecil dapat lebih efektif dalam menginfeksi dan menghancurkan bakteri inang. Plak yang lebih kecil memiliki keterjangkauan yang lebih baik, memiliki efisiensi yang lebih tinggi, memiliki kemampuan lisis yang lebih baik dan memiliki keteraturan yang lebih baik. Ukuran plak yang efektif juga bergantung pada spesies bakteri inang dan kondisi lingkungan (Jatmiko *et al.*, 2018).

Bakteriofag yang didapatkan merupakan bakteriofag dari bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* umumnya merupakan bakteri komensal yang merupakan patogen oportunistik dan merupakan bakteri denitrifikasi dan nitrifikasi (Jayol *et al.*, 2018). Bakteri ini juga merupakan bakteri yang resisten antibiotik. Penemuan bakteriofag merupakan salah satu alternatif dalam penanganan bakteri ini.

Bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* dapat menyebar melalui beberapa cara diantaranya melalui kontaminasi makanan yang tidak steril, seperti makanan yang disimpan pada suhu yang tidak sesuai atau yang tidak dikemas dengan baik. *Stenotrophomonas maltophilia* dapat menyebar melalui tanah yang terkontaminasi seperti pada rizosfer atau tanah di sekitar akar tanaman. Selain itu bakteri ini juga dapat menyebar melalui kontaminasi limbah, air dan udara.

Penyebaran bakteri ini pada rumah burung walet, tentunya melalui lingkungan sekitar rumah burung walet. Air liur walet yang akan memproduksi sarang burung walet akan terkontaminasi apabila burung walet makan atau minum ditempat yang telah terinfeksi oleh bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*. Alat yang digunakan untuk mengambil sarang burung walet juga dapat menjadi perantara bakteri ini untuk mencemari sarang burung walet. Sarang yang terkontaminasi bakteri, memungkinkan adanya timbul penyakit yang menyebabkan diare, muntah, sakit perut, dehidrasi, demam dan kemungkinan resistensi antibiotik bila termakan oleh manusia. Keberadaan bakteri ini juga dapat mempengaruhi kualitas dari sarang burung walet yang menyebabkan

tingginya kandungan nitrit pada sarang burung walet. Tingginya kandungan nitrit akan mengakibatkan kanker gastrointestinal bila dikonsumsi secara terus-menerus (Ningrum, 2021). Pentingnya penemuan bakteriofag dalam penelitian yang dapat mengendalikan bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteriofag *Stenotrophomonas maltophilia* yang diisolasi dari sarang burung walet memiliki karakteristik tipe plak *clear halo*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteriofag tersebut memiliki kemampuan untuk membentuk zona bening di sekitar koloni bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*, yang mengindikasikan aktivitas lisis terhadap bakteri tersebut. Implikasi dari karakterisasi tipe plak ini adalah potensi penggunaan bakteriofag *Stenotrophomonas maltophilia* sebagai agen pengendali bakteri *Stenotrophomonas maltophilia* yang patogen.

REFERENSI

- Dewi, M. E. 2020. *Manfaat konsumsi sarang burung walet*. *Jurnal Kedokteran Ibnu Nafis*, 9(1), 12-16.
- Djojuroto, M. I. 2021. *Isolasi dan Enumerasi Bakteri Nitrifikasi (Nitrobacter sp.) Pada Ecological Floating Bed (EFB)*. Universitas Islam Indonesia.
- Iqbal, M. 2021. *Modul Bakteriofag: Konsep Dasar Bakteriofag*. Universitas Jember.
- Jatmiko, Y., D., Purwanto, A., P., Ardyati, T. 2018. *Uji Aktivitas Bakteriofage Litik dari Limbah Rumah Tangga terhadap*

- Salmonella Typhi*. Jurnal Biodjati, 3 (2), 134-147.
- Jayol, A., Carlouer, C., Haenni, M., Darty, M., Maillard, K., Desroches, M., Lamy, B., Jumas-Bilak, E., Jean-Yves, M., Jean-Winoc, D. 2018. *Are animals a source of Stenotrophomonas maltophilia in human infections? Contributions of a nationwide molecular study*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease.
- Martin, A. 2016. *Re: How To explain the Turbid and Halo Plaques formed by some Bacteriophages*.
- Nuryati, S. 2018. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag sebagai Agen Pengendali Patogen Tumbuhan*. Jurnal Ilmu Pertanian, 5(1), 78-85.
- Pazli, S., Elvi. 2014. *Re-orientasi Kebijakan Ekspor Sarang Burung Walet Indonesia Ke Cina Tahun (2012-2014)*. Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Ilmu Sosial dan Ilmu Politik Universitas Riau, 1(2).
- Pratiwi, R., H. 2021. *Virus Bakteri Sebagai Terapi Untuk Penyakit Infeksi*. Bioedusains : Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains, 4 (2):193-204.
- Rakhmadi, R., Hadiawan, A., Muhammad, D., Zahratu, S. 2022. *Potensi Ekspor Sarang Burung Walet Provinsi Lampung*. Jurnal Hubungan Internasional Indonesia. utomo Universitas Brawijaya. 2022. *Pemanfaatan Bakteriofag Sebagai Pencegah Keracunan Makanan*.
- University of Santo Tomas. 2023. *Bacteriophage Workshop In South East Asia*.
- Utomo, B., Rosyidi, D., Radiate, L. E., Purnomo, H. 2015. *Metode Penurunan Kandungan Nitrite Dengan Pencucian*

Menggunakan Asam Askorbat Pada Tiga Jenis Sarang Burung Walet Asal Indonesia.