

## III. MATERI DAN METODE

### 3.1 Lokasi dan waktu

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

### 3.2 Materi Penelitian

#### 3.2.1 Alat Penelitian

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

#### 3.2.2 Bahan Penelitian

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.

### 3.3 Metode Penelitian

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*.

### 3.4 Parameter Penelitian

Parameter penelitian yang digunakan untuk mengetahui karakteristik tipe plak bakteriofag yang diisolasi dari sarang burung walet.

### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini yaitu variabel bebas yaitu karakteristik tipe plak bakteriofag dan variabel terikatnya adalah sarang burung walet.

### 3.6 Prosedur penelitian

#### 3.6.1 Pengkayaan Bakteri *Stenotrophomonas maltophilia*

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).

#### 3.6.2 *Spot Test*

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.

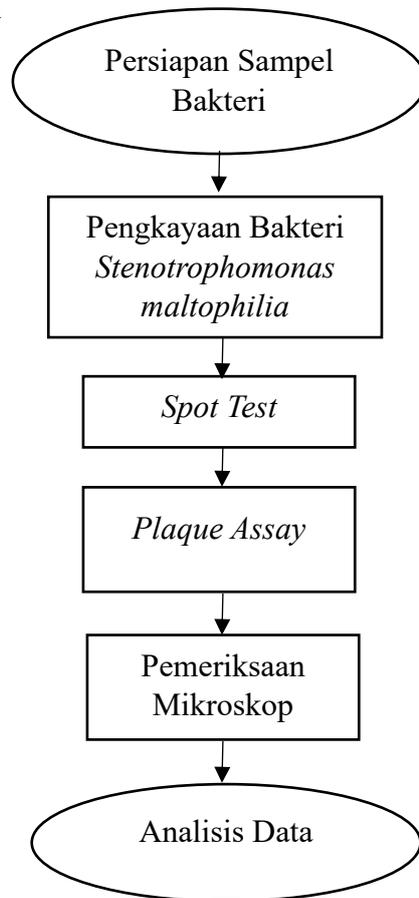
### 3.6.3 Plaque Assay

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).

### 3.6.3 Pengamatan dengan Mikroskop Digital

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.

### 3.7 Kerangka Penelitian



**Gambar 3.1** Kerangka Penelitian

### 3.8 Analisis Data

Hasil dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel dan gambar.