

Morfologi Bakteriofag Yang Di Isolasi dari Air Di Lingkungan Rumah Burung Walet (*Aerodramus fuciphagus*)

Junita Mutiara Putri¹, Siti Gusti Ningrum^{2*}

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya¹⁻²

*email korespondensi penulis: sitiningrum@uwks.ac.id

Abstrak

Latar belakang: Data tentang bakteriofag yang diisolasi dari air yang ditemukan di lingkungan rumah burung walet tidak ditemukan dalam sumber daya yang disediakan. Namun, beberapa sumber menemukan bakteri lain seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, *Erwina sp*, *Enterobacter*, dan *Shigella sp* pada feses dan sarang burung walet. **Tujuan:** Untuk mengetahui tipe *plaque* dari bakteriofag *Pseudomonas putida* yang diisolasi dari air di lingkungan rumah burung walet. **Metode:** Kultur Bakteri *Pseudomonas putida* media yang digunakan adalah BHIA dan BHIB. Kultur bakteri *Pseudomonas putida* pada media BHIA dengan teknik kuadran dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 30C°. Bakteri diambil koloni terpisah dengan ose bulat lalu dicelupkan pada erlen yang berisi BHIB dan diinkubasi sampai terlihat keruh pada *incubator shaker* dengan suhu 30C°. Jenis penelitian adalah penelitian deskriptif. Deskriptif yang dimaksud adalah dengan menerangkan dan memaparkan hasil dari penelitian yang didapat. **Hasil:** Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas putida* membentuk fag *turbid* mengindikasikan bahwa bakteriofag yang diisolasi tidak dapat secara efektif melisis atau menginfeksi bakteri tersebut. Fag *turbid* biasanya menghasilkan zona pertumbuhan bakteri yang tidak jelas atau buram di sekitar titik aplikasi fag pada media kultur. Fenomena ini menandakan kegagalan fag untuk membentuk lisis atau pembentukan zona jelas di sekitar area infeksi, yang biasanya terlihat sebagai area yang jernih atau "transparan" di sekitar tempat fag aktif dalam menginfeksi dan membunuh bakteri inang. Selain bakteri *Pseudomonas putida*, terdapat bakteri lain seperti *Ralstonia solanacearum* dan *Aerodramus fuciphagus* yang terdapat hasil *turbid*. **Kesimpulan:** Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, kesimpulan bahwa bakteriofag uji *Pseudomonas putida* yang diisolasi dari air di lingkungan rumah burung walet memiliki morfologi tipe plak *turbid* yang menunjukkan bahwa bakteriofag tersebut tidak efektif dalam melisis atau menginfeksi bakteri yang di uji (*Pseudomonas putida*).

Kata kunci: *Aerodramus fuciphagus*, air, *Pseudomonas putida*.

PROSIDING SEMINAR NASIONAL KUSUMA III
Kualitas Sumberdaya Manusia
“Refleksi Budaya Kemajapahitan: SDM Unggul Menuju Indonesia Emas
2045 berbasis Sainstek Berwawasan Lingkungan dan Kewirausahaan”

PENDAHULUAN

Sarang burung walet adalah produk dari sekresi saliva burung walet yang kemudian digunakan sebagai obat dan terapi fisik. Secara ilmiah, sarang burung walet terbukti memiliki berbagai manfaat kesehatan. Sarang burung walet mengandung senyawa bioaktif yang dapat membantu mencegah berbagai penyakit. Konsumsi sarang burung walet dapat meningkatkan respon imun tubuh, membuatnya lebih efektif melawan infeksi, dapat membantu memperbaiki fungsi pernafasan, menjadikan bermanfaat untuk penderita masalah pernafasan. Selain itu, sarang burung walet memiliki efek menenangkan pada system pencernaan, membantu mengurangi gangguan seperti kembung dan iritasi. Senyawa dalam sarang burung walet dapat merangsang regenerasi sel-sel kulit, membantu proses penyembuhan luka dan memperbaiki tekstur kulit. Sarang burung walet memiliki sifat antivirus yang dapat membantu melindungi tubuh dari berbagai infeksi virus (Haghani *et al.*, 2016).

Beberapa pulau di Indonesia memang menjadi habitat utama bagi burung walet, yang sangat bergantung pada kondisi lingkungan dan ketersediaan pakan. Burung walet dikenal dengan sarangnya yang bernilai ekonomi tinggi, terutama sarang yang terbuat dari air liur burung walet itu sendiri, yang sering digunakan dalam kuliner Asia. Burung walet membutuhkan kondisi lingkungan yang sesuai untuk bersarang dan berkembang biak termasuk suhu, kelembaban, dan ketersediaan tempat berlindung yang aman. Aktivitas manusia atau perubahan lingkungan yang mengganggu di habitat asli mereka bisa memaksa burung walet untuk mencari tempat tinggal baru yang lebih aman dan sesuai. Tingginya harga SBW di pasaran telah mendorong minat untuk membudidayakan burung walet. Burung walet dipelihara di rumah buatan yang menyerupai habitat aslinya. Pada awalnya, rumah burung walet (RBW) didirikan di dekat pantai, tetapi sekarang bisa ditemukan di pemukiman penduduk karena populasi burung walet yang harus meningkat. Burung walet merupakan burung liar yang sangat sensitif terhadap kondisi habitat, lingkungan, dan cuaca (Ibrahim *et al.*, 2015).

Faktor lingkungan yang mempengaruhi keberhasilan produksi SBW terutama berhubungan dengan kepadatan dan jarak dari pemukiman. RBW sebaiknya tidak terlalu dekat dengan kawasan penduduk untuk mengurangi gangguan dan stress pada burung walet. Ketersediaan sumber pakan alami seperti serangga sangat penting untuk menarik dan mempertahankan burung walet di sekitar RBW. Jalur migrasi burung walet, RBW perlu dibangun di jalur migrasi burung walet untuk memaksimalkan peluang dihuni oleh burung walet. Serta jarak dengan RBW lain terlalu berdekatan, itu dapat meningkatkan persaingan dan mengurangi peluang keberhasilan budidaya. Suhu dan kelembaban dalam RBW harus diatur agar sesuai dengan kondisi alam yang disukai burung walet. Suhu ideal biasanya berkisar antara 26-29°C dengan kelembaban relative 80-90%. Pencahayaan dalam RBW harus di

PROSIDING SEMINAR NASIONAL KUSUMA III

Kualitas Sumberdaya Manusia

“Refleksi Budaya Kemajapahitan: *SDM Unggul Menuju Indonesia Emas 2045 berbasis Sainstek Berwawasan Lingkungan dan Kewirausahaan*”

atur dengan baik, tidak terlalu terang namun cukup untuk membuat burung merasa nyaman dan aman. Tingkat keramaian dan aktivitas manusia di sekitar RBW perlu dikendalikan untuk mengurangi gangguan terhadap burung walet (Ibrahim *et al.*, 2021).

Ketersediaan pakan memang menjadi faktor krusial dalam perkembangbiakan burung walet. Sebagai negara tropis dengan curah hujan yang tinggi, Indonesia memiliki kondisi yang mendukung kelimpahan serangga, yang merupakan sumber pakan utama burung walet. Hujan yang sering turun meningkatkan kelembaban dan menyediakan air yang menjadi habitat bagi serangga, sehingga mendukung ketersediaan pakan bagi burung walet. (Fujita *et al.*, 2020). Kandungan nitrit dalam sarang burung walet (SBW) bersifat toksik bila dikonsumsi dalam konsentrasi yang tinggi. Kebersihan lingkungan rumah burung walet (RBW) memiliki peran penting dalam mengendalikan kandungan nitrit dalam sarang. Nitrit pada sarang burung walet diduga berasal dari proses konversi nitrat menjadi nitrit yang dipicu oleh aktivitas bakteri (Aislabie, 2018).

Data tentang bakteriofag yang diisolasi dari air yang ditemukan di lingkungan rumah burung walet tidak ditemukan dalam sumber daya yang disediakan. Namun, beberapa sumber menemukan bakteri lain seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, *Erwina sp*, *Enterobacter*, dan *Shigella sp* pada feses dan sarang burung walet. Penggunaan bakteriofag di bidang kedokteran hewan khususnya budidaya walet dengan cara mengidentifikasi bakteri penghasil nitrit dengan bakteriofag. Dalam penelitian ini, peneliti akan melakukan identifikasi morfologi bakteriofag yang diisolasi dari air di lingkungan rumah burung walet.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif observational laboratorik. Deskriptif yang dimaksud adalah memaparkan hasil penelitian dan memaparkan hasil penelitian yang didapatkan.

A. Kultur Bakteri *Pseudomonas putida*

Media yang digunakan adalah BHIA dan BHIB. Kultur bakteri *Pseudomonas putida* pada media BHIA dengan teknik kuadran dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 30°C. Bakteri diambil koloni terpisah dengan ose bulat lalu dicelupkan pada erlen yang berisi BHIB dan diinkubasi sampai terlihat keruh pada *incubator shaker* dengan suhu 30°C.

B. 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 dan tunggu hingga kering. Setelah itu, filtrat sampel diteteskan pada media sebanyak 10 µl secara merata dengan jarak 1 cm tiap tetesan. Setelah mengering, kemudian ditutup dan diberikan *plastic wrap* di sekeliling *petridish*. Media diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Jika muncul zona bening pada hasil *spot test* maka lakukan *scrubbing* menggunakan ose bulat. Hasil *scrub* dimasukkan ke dalam tube 1,5 ml yang sudah berisi 900 µl SM buffer. Hasil *scrub* kemudian di *centrifuge* dengan kecepatan 15.000 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan pada tube baru.

C. Plaque Assay

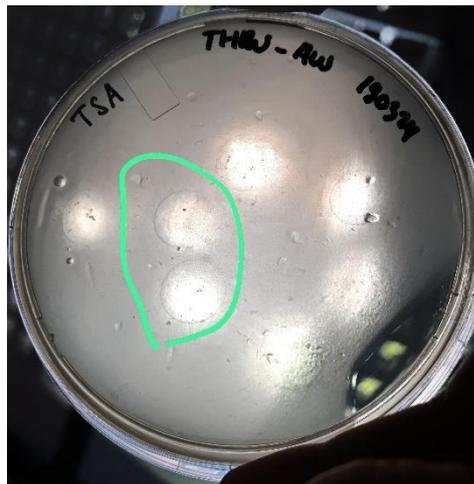
Plaque assay dilakukan dengan menambahkan 100 µl supernatan yang mengandung bakteriofag ke dalam 500 µl SM buffer untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Dilanjutkan dengan melakukan pengenceran serial hingga pengenceran 10^{-10} . Setiap tahap pengenceran melibatkan pengambilan 100 µl dari larutan sebelumnya dan menambahnya ke dalam 500 µl buffer baru. Pada setiap tahap pengenceran (10^{-1} hingga 10^{-10}), mengambil 100 µl dari masing-masing pengenceran dan tambahkan ke dalam 500 µl kultur host bakteri yang sudah dipersiapkan di tube yang berbeda sesuai dengan jumlah pengenceran. Homogenkan campuran ini dengan baik untuk memastikan bahwa bakteriofag tercampur rata dengan host bakteri. TSA dicampurkan dengan semisolid dengan masing-masing campuran pengenceran tadi dan homogenkan. Campuran ini lalu tuang ke dalam cawan petri yang sudah berisi TSA agar. Cawan petri diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.

D. Pengamatan Dengan Mikroskop Digital

Setelah inkubasi selama 24 jam, keluarkan cawan petri yang mengandung campuran TSA dan bakteri dari inkubator. Cawan petri dipastikan berada pada suhu ruangan agar tidak ada kondensasi yang dapat mengganggu pengamatan. Kemudian menghubungkan mikroskop digital USB ke laptop menggunakan kabel USB. Memastikan aplikasi mikroskop digital sudah terinstal dan siap digunakan pada laptop. Setelah itu, mikroskop digital dinyalakan dan membuka aplikasi mikroskop di laptop. Cawan petri ditempatkan di bawah mikroskop digital, dengan memastikan cawan petri dalam posisi yang stabil. Penelitian dilakukan dengan menggunakan fokus mikroskop digital yang sesuai untuk mendapatkan gambar plak yang jelas. Kemudian mengamati plak yang terbentuk dan catat karakteristiknya, seperti diameter, bentuk plak (berbentuk bulat, tidak beraturan, atau memiliki tepi yang jelas), kejernihan plak (transparan atau keruh).

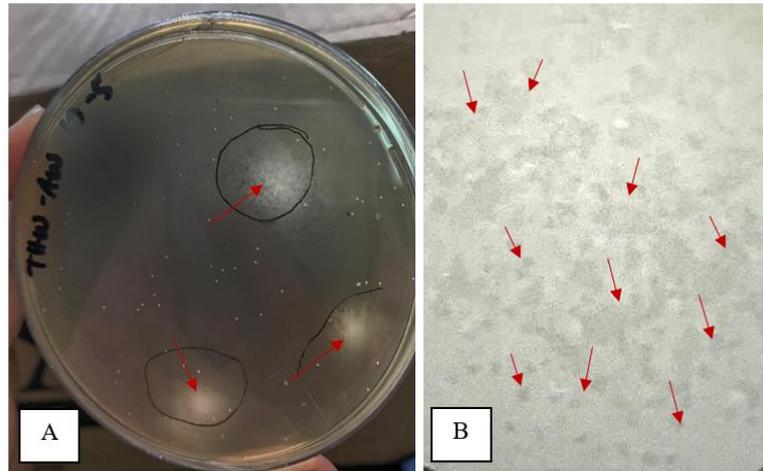
HASIL DAN PEMBAHASAN

Zona bening yang muncul pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) yang dilapisi oleh TSA semisolid yang mengandung bakteri *Pseudomonas putida* menunjukkan adanya aktivitas bakteriofag yang menginfeksi dan menghancurkan bakteri inang tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa fag yang diisolasi dari lingkungan rumah burung walet memiliki kemampuan untuk membentuk zona terang (*clear*) yang jelas pada media pertumbuhan.

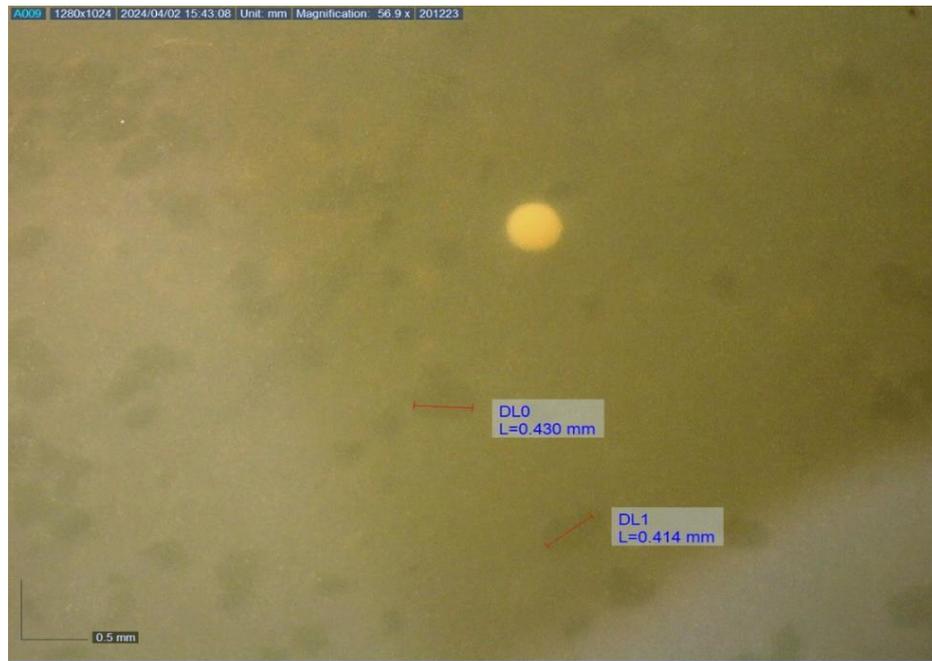


Gambar 1. Hasil *Spot test*

Hasil dari spot test kemudian dilakukan *plaque assay* untuk melihat *single* koloni dari bakteriofag dengan cara *scrubbing*. Uji *plaque assay* dilakukan untuk mengamati dan menganalisis pembentukan plak pada cawan petri yang telah diinokulasi dengan bakteriofag. Plak yang terbentuk kemudian diamati dan dianalisis karakteristiknya untuk menentukan jenis plak yang dihasilkan.



Gambar 2. Hasil plak yang muncul dari *spotting* (A) hasil zoom dari plak yang muncul (B)



Gambar 3. Hasil plak *turbid* (keruh) DL : Diameter Lebar

Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas putida* membentuk fag *turbid* mengindikasikan bahwa bakteriofag yang diisolasi tidak dapat secara efektif melisis atau menginfeksi bakteri tersebut. Fag *turbid* biasanya menghasilkan zona pertumbuhan bakteri yang tidak jelas atau buram di sekitar titik aplikasi fag pada media kultur. Fenomena ini menandakan kegagalan fag untuk membentuk lisis atau pembentukan zona jelas di sekitar area infeksi, yang biasanya

terlihat sebagai area yang jernih atau "transparan" di sekitar tempat fag aktif dalam menginfeksi dan membunuh bakteri inang. Selain bakteri *Pseudomonas putida*, terdapat bakteri lain seperti *Ralstonia solanacearum* dan *Aerodramus fuciphagus* yang terdapat hasil *turbid*.

Fag *turbid* mungkin hanya menyebabkan resistensi pada bakteri. Resistensi dapat terjadi melalui beberapa mekanisme, termasuk perubahan pada struktur permukaan bakteri yang membuatnya sulit diakses oleh fag, produksi enzim yang menghancurkan komponen fag, atau perubahan genetik pada bakteri yang membuatnya tidak rentan terhadap infeksi fag. *Pseudomonas putida* adalah salah satu dari banyak spesies *Pseudomonas* yang tidak dianggap sebagai patogen pada hewan.

Pseudomonas putida adalah bakteri yang ditemukan secara luas di lingkungan alami, seperti tanah dan air, dan juga dapat hidup sebagai komensal (tidak merugikan) di beberapa organisme, termasuk manusia. Beberapa strain *Pseudomonas putida* bahkan telah dimanfaatkan untuk aplikasi bioteknologi, seperti pemurnian limbah, degradasi polutan, dan produksi senyawa-senyawa bermanfaat (Amiruddin, 2020).

Hasil penelitian bakteriofag dari sampel air yang diisolasi dari bakteri *Pseudomonas putida* terlihat tipe plak *turbid* kemungkinan karena ada beberapa faktor yang mempengaruhi hasil pertumbuhannya yaitu sampel air yang sudah lama diambil atau terkontaminasi bisa mengurangi efektivitas isolasi bakteriofag, jumlah bakteriofag dalam sampel air mungkin terlalu rendah untuk memberikan hasil yang jelas ini disebabkan oleh konsentrasi alami bakteriofag yang rendah di lingkungan atau metode isolasi yang kurang efisien dan metode yang digunakan untuk mengisolasi dan mengkultur bakteriofag mungkin kurang optimal. Faktor-faktor seperti medium kultur, kondisi inkubasi (suhu, waktu, pH), dan teknik filtrasi dapat mempengaruhi hasil. Seharusnya, suhu inkubasi yang umumnya digunakan untuk membentuk plak atau zona pembersihan yang jelas pada agar dengan bakteri *Pseudomonas putida* adalah sekitar 25°C hingga 37°C. Namun, dalam prakteknya, menggunakan suhu inkubasi 30°C sehingga hasil dari fag terlihat kurang jelas.

Pseudomonas putida memiliki kemampuan pertumbuhan yang cepat dan menghasilkan sejumlah sel dalam waktu singkat. Hal ini menyebabkan media menjadi keruh karena tingginya konsentrasi sel bakteri. Bakteri ini dikenal mampu membentuk biofilm, yaitu lapisan sel bakteri yang melekat pada permukaan dan dilindungi oleh matriks ekopolisakarida. Biofilm ini dapat berkontribusi pada kekeruhan media. *Pseudomonas putida* memiliki kemampuan untuk mendegradasi berbagai zat organik, termasuk senyawa yang dapat menyebabkan media menjadi keruh saat dipecah. *Pseudomonas putida* memiliki flagella yang memungkinkan bergerak dengan aktif dalam media cair. Motilitas ini dapat menyebabkan distribusi

PROSIDING SEMINAR NASIONAL KUSUMA III

Kualitas Sumberdaya Manusia

“Refleksi Budaya Kemajapahitan: *SDM Unggul Menuju Indonesia Emas 2045 berbasis Sainstek Berwawasan Lingkungan dan Kewirausahaan*”

sel yang merata dan suspensi yang keruh. Beberapa strain *Pseudomonas putida* mampu menghasilkan pigmen yang bisa memberikan warna dan menambah kekeruhan pada media kultur (Palleroni, 2010).

Pseudomonas putida adalah bakteri aerob obligat yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya. Bakteri ini mampu tumbuh pada berbagai macam media nutrisi dan memiliki kapasitas metabolik yang luas untuk mendegradasi berbagai senyawa organik, termasuk hidrokarbon, alkohol, dan asam lemak. Kemampuan ini menjadikan *Pseudomonas putida* sebagai agen yang sangat adaptif dalam lingkungan yang bervariasi seperti dalam lingkungan hewan, termasuk sarang burung walet. Studi tentang hubungan antara *Pseudomonas putida* dan lingkungan burung walet dapat memberikan wawasan baru tentang interaksi mikrobas dalam ekosistem unik ini dan implikasinya bagi kesehatan dan produktivitas burung walet. *Pseudomonas putida* dapat ditemukan di lingkungan sarang burung walet, meskipun belum banyak penelitian yang mendalami prevelensinya. Isolasi bakteri ini dari sarang burung walet dapat dilakukan melalui teknik mikrobiologi standar, seperti pengkulturan pada media selektif (Molina, 2020). Bakteriofag memiliki kepentingan signifikan dalam lingkungan rumah burung walet. Bakteriofag adalah virus yang menginfeksi bakteri dan dapat membantu mengendalikan populasi bakteri yang berada di lingkungan rumah burung walet. Ketersediaan bakteriofag dalam lingkungan ini dapat membantu mengurangi jumlah bakteri yang berpotensi mengganggu kesehatan burung walet (Widiyani dkk.,2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, kesimpulan bahwa bakteriofag uji *Pseudomonas putida* yang diisolasi dari air di lingkungan rumah burung walet memiliki morfologi tipe plak *turbid* yang menunjukkan bahwa bakteriofag tersebut tidak efektif dalam melisis atau menginfeksi bakteri yang diuji (*Pseudomonas putida*).

DAFTAR PUSTAKA

- Aislabie. 2018. *Soil Microbes and Their Contribution to Soil Services*.<http://www.ecoclimatico.com/archives/¿se-puedhacercombustibleconrestosdecomida-3949>.
- Haghani, A., P. Mehrbod, N. Safi, N.A. Aminuddin, A. Bahadoran, A.R. Omar, and A. Ideris. 2016. *In vitro and in vivo mechanism of immunomodulatory and antiviral activity of Edible Bird's Nest (EBN) against influenza A virus (IAV) infection*. *Journal of Ethnopharmacology*. 185:327-340.
- Ibrahim, W.K.W., M.R. Yaacob, and A. Abdullah. 2015. The importance of technical knowledge in sustainability of Malay bird's nest industry in Malaysia. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*. 5:190-196.
- Ibrahim, W.K.W., M.A. Rahman, N.F.N.A. Jelani, and M.R. Yaacob. 2021. Suitable habitat and environmental conditions for successful edible bird nest swiftlet houses. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 3086-3096.
- Molina, L., Segura, A., Duque, E., & Ramos, J. L. (2020). The versatility of *Pseudomonas*



PROSIDING SEMINAR NASIONAL KUSUMA III
Kualitas Sumberdaya Manusia
“Refleksi Budaya Kemajapahitan: *SDM Unggul Menuju Indonesia Emas 2045 berbasis Sainstek Berwawasan Lingkungan dan Kewirausahaan*”

putida in the rhizosphere environment. In *Advances in applied microbiology* (Vol. 110, pp. 149-180). Academic Press.

Widiyani, P., Latif, H., Lukman, D. W., & Sudarwanto, M. B. (2021). Artikel Review: Bakteri Nitritasi dan Peranannya dalam Keberadaan Nitrit pada Sarang Burung.