

MODUL BAKTERIOFAG

BAKTERIOFAG SEBAGAI ALAT
DAN AGEN PENGENDALI HAYATI

Penyusun:

Mochammad Iqbal., S.Pd., M.Pd.



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021



MODUL

BAKTERIOFAG

Bakteriofag Sebagai Alat Dan Agen Pengendali Hayati

APLIKASI BAKTERIOFAG SEBAGAI APH DALAM PERTANIAN

A. Tujuan Praktikum

Mahasiswa mampu menjelaskan bakteriofag sebagai alat dan agen pengendali hayati dalam bidang pertanian.

B. Uraian Konsep dan Teori

Pengendalian bakteri patogen tanaman adalah suatu upaya untuk mengurangi aktivitas penyakit yang disebabkan bakteri patogen. Bakteri patogen tanaman lebih tahan hidup di dalam jaringan internal tanaman daripada di habitat lainnya (Jones *et al.*, 2014). Resistensi bakteri patogen tanaman yang semakin meningkat menyebabkan upaya pengendalian semakin sulit. Lindow dan Brandl (2003) dalam penelitiannya mencatat bahwa laju transfer plasmid sangat tinggi pada bakteri yang hidupnya parasit di dalam sel tumbuhan. Berdasarkan uraian tersebut, diperlukan adanya solusi alternative yang dapat mengatasi bakteri pathogen pada tanaman, yaitu menggunakan bakteriofag. Beberapa penelitian telah membuktikan pengendalian penyakit – penyakit pada tanaman menggunakan bakteriofag memperoleh hasil yang menjanjikan. Siklus hidup bakteriofag dibedakan menjadi dua, yaitu lisogenik dan litik.

Bakteriofag litik dapat menginfeksi dan menyebabkan lisis pada sel bakteri inang. Berbeda dengan bakterisida, bakteriofag sebagai biokontrol bakteri patogen tanaman terjadi secara alami serta tidak membahayakan manusia dan lingkungan sekitar. Bakteriofag hanya mampu bertahan selama bakteri inang masih ada (Jones *et al.*, 2010; Jones *et al.*, 2012). Penggunaan bakteriofag sebagai biokontrol tidak menimbulkan sifat resistens pada bakteri inang, sehingga cocok digunakan dalam pertanian yang ramah lingkungan.

Aplikasi penggunaan bakteriofag dalam bidang pertanian, antara lain sebagai agen pengendali penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman tomat. Tomat tidak termasuk kedalam lima komoditas sayuran semusim dengan produksi terbesar, hal ini dikarenakan terdapat kendala dalam budidaya tomat yang disebabkan oleh salah satunya penyakit layu pada tanaman tomat. Penyakit layu dapat merusak budidaya tomat di daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia (Saleim *et al.*, 2014). Solusi yang dapat mengendalikan penyakit layu bakteri serta mengurangi pencemaran lingkungan dari bahan kimia yang disebabkan oleh penggunaan pestisida dan

tidak merusak keragaman hayati yaitu dengan menggunakan bakteriofag (Setiati *et al.*, 2016; Addy *et al.*, 2012).

C. Metode Praktikum

Alat dan bahan

- Tanah
- Kompos
- Formalin 4%
- Benih tanaman tomat varietas permata
- Bakteri *R. solanacearum*
- Aquades steril
- Media NB
- Bakteriofag spesifik bakteri *R. solanacearum*
- Sentrifuge
- Rumah kaca

Langkah kerja

1. Membuat media tanam yang terdiri dari tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1
2. Mensterilisasikan media tanam dengan menggunakan formalin 4% selama 2 minggu
3. Mengkultur Bakteri *R. solanacearum*, kemudian dipanen dan dihomogenkan dengan aquades steril dengan kerapatan 10⁸ CFU/ml
4. Melukai perakaran tanaman tomat dengan cara memotong beberapa bagian bulu akar
5. Menuangkan suspensi bakteri sebanyak 10 ml di atas permukaan tanah
6. Membiakkan bakteriofag pada media NB yang sudah berisi kultur bakteri *R. solanacearum* selama 18 jam
7. Membiakkan kembali bakteriofag dan bakteri *R. solanacearum* selama 48 jam.
8. Mensentrifug suspensi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit
9. Mengencerkan supernatan yang didapatkan dengan berbagai tingkat pengenceran dan akan digunakan untuk percobaan skala rumah kaca
10. Mengaplikasi bakteriofag dengan berbagai pengenceran sebanyak 10 ml dengan cara dituangkan ke permukaan tanah setelah inokulasi bakteri *R. solanacearum* yang telah diinkubasi selama 1x24 jam (Zhang *et al.*, 2014).
11. Variable pengamatan pengujian rumah kaca yaitu masa inkubasi penyakit layu bakteri, kejadian penyakit (Choliq *et al.*, 2020).

D. Daftar Pustaka

Brock, T. D., M. T. Madigan. 1991. *Biology of Microorganisms*. 6th Ed. Prentice-Hall International, Inc. New Jersey.

Jamal, Muhsin., T., Hussain., C., R. Das., and S., Andleeb. 2015. Isolation and Characterization of a *Myoviridae* MJ1 Bacteriophage Against Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* 3. *Jundishapur J Microbiol.* 8(11): e25917. doi: 10.5812/jjm.25917.

Narulita E, Addy HS, Kawasaki T, Fujie M, Yamada T. 2016. The involvement of the PilQ secretin of type IV pili in *phage* infection in *Ralstonia solanacearum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 469 : 868 872

APLIKASI BAKTERIOFAG SEBAGAI APH DALAM KESEHATAN

A. Tujuan Praktikum

Mahasiswa mampu menjelaskan bakteriofag sebagai alat dan agen pengendali hayati dalam bidang kesehatan.

B. Uraian Konsep dan Teori

Penggunaan bakteriofag sebagai biosanitasi sangatlah menguntungkan, karena bakteriofag memiliki kemampuan untuk mengatasi kontaminasi dari bakteri patogen. Bakteri patogen adalah mikroba yang tidak mudah untuk dibersihkan meski telah dilakukan sanitasi. Hal itu dibuktikan dengan masih adanya biofilm pada permukaan benda atau peralatan yang digunakan dalam pengelolaan bahan pangan. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa campuran bakteriofag dapat diaplikasikan untuk dekontaminasi pada permukaan benda-benda (Ariyanti, 2018).

Kontaminasi yang terus terjadi di lingkungan rumah sakit dan adanya sifat resistensi antimikroba diketahui sebagai penyebab utama infeksi terkait perawatan kesehatan. Pengendalian patogen penyebab kontaminasi telah dilakukan dengan sanitasi konvensional, dengan menggunakan pembersih dan desinfektan berbahan kimia, seperti klorin, triklosan, klorheksidin dan lain-lain. Metode tersebut tidak mampu menurunkan kontaminasi mikroba secara stabil. Pembersihan secara kimiawi membunuh semua mikroba baik mikroba patogenik maupun mikroba yang berpotensi menguntungkan (D'Accolti, 2019). Sanitasi yang berbasis bakteri probiotik dianggap kurang efektif, karena tergolong lambat dan tidak spesifik dalam membunuh bakteri. Hal tersebut meningkatkan resiko infeksi penyakit pada para pasien yang ada di rumah sakit selanjutnya karena tidak dapat membunuh bakteri secara tepat sasaran (D'Accolti, 2019).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa sanitasi berbasis bakteriofag sebagai metode dekontaminasi karena memiliki kemampuan yang cepat dalam membunuh bakteri target. Aplikasi bakteriofag sebagai sanitasi dapat diaplikasikan di lingkungan perawatan kesehatan, seperti rumah sakit. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang umum ditemukan di lingkungan rumah sakit, sehingga keberadaannya yang tinggi dapat menimbulkan infeksi pada pasien. Penelitian tentang aktivitas antibiofilm bakteri *Escherichia coli* oleh bakteriofag secara in vitro dapat dijadikan sebagai acuan untuk mencari solusi sanitasi

pada bakteri tertentu, yang sulit dieradikasi menggunakan disinfektan yang umum digunakan (Triana, 2018).

C. Metode Penelitian

1. Alat dan Bahan

- Suspensi fag
- Microplate
- Media LB
- Bakteri *E. coli*
- Biorem
- Kristal violet 1%
- Etanol 96%
- Microplate reader
- Incubator

2. Langkah Kerja

a. Uji Aktivitas Pencegahan Biofilm

- 200 μ L suspensi fag dimasukkan ke dalam microplate, ditutup dan diinkubasi selama 60 menit
- Suspensi fag dibuang kemudian dimasukkan 100 μ L media LB dan 100 μ L *E. coli*. (Kontrol negatif = 200 μ L suspensi bakteri dan kontrol positif = Biorem)
- Microplate ditutup dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Membuang isi microplate dan dicuci dengan air dan dikeringanginkan
- Memasukkan 200 μ L kristal violet 1% pada mikroplate dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang
- Membuang kristal violet dibuang dan mencuci microplate dengan air dan dikeringanginkan
- Memasukkan 200 μ L etanol 96% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Densitas optik (DO) diukur menggunakan microplate reader pada 595 nm
- Persentase penghambatan biofilm dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Pencegahan biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100$$

b. Uji aktivitas penghambatan biofilm

- 100 μ L media LB cair, 50 μ L bakteri *E. coli* dan 50 μ L fag dicampur dan dimasukkan ke dalam tiap sumur microplate, ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam
- Campuran dibuang, microplate dicuci dengan air dan dikeringanginkan
- Microplate diwarnai menggunakan 200 μ L kristal violet 1% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang
- Membuang pewarna dan microplate dicuci dengan air bersih dan dikeringanginkan
- Memasukkan 200 μ L etanol 96% dimasukkan ke dalam microplate dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang
- Mengukur Densitas Optik menggunakan microplate reader pada 595 nm. (Pengujian dilakukan triplo)
- Menghitung persentase penghambatan biofilm menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Penghambatan biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100$$

c. Uji aktivitas degradasi biofilm

- 100 μ L media LB cair dan 100 μ L suspensi bakteri *E. coli* dimasukkan ke dalam tiap sumur microplate, kemudian ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam
- Campuran dibuang, 200 μ L fag dimasukkan ke dalam microplate. (Kontrol negatif adalah tanpa pemberian fag)
- Microplate ditutup kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam
- Kontrol positif adalah 100 μ L Biorem A yang diinkubasi selama 30 menit
- Biorem A dibuang, diberi 100 μ L Biorem B, dan diinkubasi kembali selama 30 menit, kemudian microplate dicuci dengan air, dikeringanginkan
- Menambahkan 200 μ L kristal violet 1% dan diinkubasi selama 15 menit, dicuci dengan air dan dikeringanginkan
- Mengisi microplate dengan 200 μ L etanol 96% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Densitas optik diukur menggunakan microplate reader pada 595 nm
- Persentase degradasi biofilm dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Degradasi biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol Negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol Negatif}} \times 100$$

D. Daftar Pustaka

- Ariyanti, Tati. 2018. Pemanfaatan Bakteriofaga untuk Deteksi dan Biokontrol *Foodborne Pathogen*. *WARTAZOA*. 28(1): Hlm. 033-040.
- D'Accolti., Maria., Soffritti, Irene ., Lanzoni, Luca., Bisi, Matteo., Volta, Antonella., Mazzacane, Sante and Caselli, Elisabetta. 2019. Effective elimination of Staphylococcal contamination from hospital surfaces by a bacteriophage–probiotic sanitation strategy: a monocentric study. *Microb Biotechnol*. 12(4): 742–75.
- Triana, E. 2018. Aktivitas Antibiofilm Bakteri *Escherichia Coli* Oleh Bakteriofag Secara In Vitro. *Berita Biologi* 17(1) : 77 – 84.



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021