

MODUL BAKTERIOFAG

BAKTERIOFAG SEBAGAI
KONTAMINAN DAN INDIKATOR
SERTA PERANNYA DALAM BIDANG
PERTANIAN DAN KESEHATAN

Penyusun:

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



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021



MODUL

BAKTERIOFAG

Bakteriophage Sebagai Kontaminan dan Indikator Serta Perannya dalam Bidang Pertanian dan Kesehatan

BAKTERIOFAG SEBAGAI KONTAMINAN DAN INDIKATOR

A. Tujuan Praktikum

Mahasiswa diharapkan dapat membedakan peranan bakteriofag sebagai kontaminan dan indikator dalam industri olahan susu dan fermentasi.

B. Uraian Konsep dan Teori

Fermentasi telah digunakan sebagai metode pengawetan makanan selama ribuan tahun. Bahkan saat ini, berbagai macam produk makanan diproduksi melalui fermentasi mikroba. Ini termasuk produk susu fermentasi seperti susu mentega, keju, krim asam, dan yogurt, serta produksi anggur, kecap, sosis, dan sayuran yang difermentasi. Proses fermentasi tidak hanya memperpanjang umur simpan produk ini, tetapi juga membawa sifat organoleptik baru (rasa, tekstur, dll.) yang tidak ditemukan dalam bahan mentah. Fermentasi juga dapat menghilangkan sifat yang tidak diinginkan. Misalnya, kedelai yang difermentasi mengandung lebih sedikit faktor perut kembung dibandingkan kedelai yang tidak difermentasi. Fermentasi juga dapat mengurangi senyawa berbahaya yang terdapat pada produk mentah seperti aflatoksin atau sianogen. Terakhir, produk fermentasi kemungkinan besar menyebabkan kondisi pertumbuhan yang merugikan bagi bakteri patogen. Misalnya, keberadaan asam organik, protein antimikroba, pH rendah, dan konsentrasi gula yang terbatas adalah beberapa di antara beberapa rintangan yang membatasi pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan.

Bakteriofag tidak diragukan lagi merupakan ancaman terbesar dalam produksi makanan fermentasi, terutama dalam industri susu, yang secara terbuka mengakui masalah bioteknologi ini. Industri susu menggunakan sejumlah besar sel bakteri (10^7 sel / ml) dalam pengolahan susu untuk menghasilkan keju, yogurt, buttermilk, dan produk fermentasi lainnya. Pada tahun 1935, Whithead dan Cox mendemonstrasikan bahwa proses fermentasi susu, yang didorong oleh bakteri asam laktat, dapat diperlambat atau bahkan dihentikan oleh fag yang mematikan. Selama dekade berikutnya, banyak publikasi melaporkan adanya fag yang menyebabkan masalah di pabrik susu industri. Kontaminasi fag sangat mempengaruhi, bahkan dalam konsentrasi rendah, karena dapat menyebabkan hilangnya produk sepenuhnya karena lisis strain bakteri yang disukai (Labrie dan Moineau, 2010).

Proses fermentasi kimchi dicirikan oleh fase heterofermentatif awal, diikuti oleh fase homofermentatif, dan produksi kimchi berkualitas tinggi bergantung pada suksepsi yang tepat

dari spesies BAL (bakteri asam laktat) yang berbeda. Bakteriofag telah dilaporkan mempengaruhi suksesi komunitas bakteri dalam fermentasi asinan kubis dan tampaknya bertanggung jawab atas variabilitas yang diamati dalam fermentasi sayuran tersebut. Dalam penelitian terbaru, kelimpahan DNA fag yang tinggi ditemukan dalam fermentasi kimchi. Hal ini menunjukkan bahwa bakteriofag kemungkinan besar juga mempengaruhi produksi kimchi (Kleppen *et al.*, 2012).

C. Metode Praktikum

Studi Kasus

Studi Kasus:

Suatu industri menengah yang merupakan industri olahan susu dimana memproduksi yogurt dan susu mengalami suatu permasalahan, dimana pembuatan keju dan yogurt yang dilakukan oleh industri ini mengalami kegagalan yaitu terjadinya penurunan kualitas produk atau tidak terbentuknya keju atau yogurt. Hal ini terjadi walaupun seluruh kegiatan produksi dilakukan sesuai prosedur baik dari faktor lingkungan kerja hingga pemberian bakteri yang dilakukan untuk mengolah keju dan yogurt. Setelah dilakukan penelitian didapatkan hasil dimana pada sampel terdapat bakteriofag.

Langkah Kerja

1. Lakukanlah studi literatur dan diskusi kelompok untuk memahami hubungan adanya bakteriofag dengan kegagalan produksi yang terjadi pada industri tersebut!
2. Diskusikan dengan kelompok anda mengenai bakteriofag sebagai kontaminan dan indikator pada kasus tersebut!

Isolasi Bakteriofag dari sampel makanan fermentasi

Alat dan Bahan

- Polypeptide
- NaCl
- *Yeast*
- Agar
- Appendorf
- Bakteri *Weissella cibaria*
- Sampel kimchi
- Aquades
- Syringe
- Filter membrane

- Plate
- Tabung reaksi
- Autoclave
- Mikropipet dan tip
- Enlemeyer
- Kulkas
- Microwave
- Inkubator
- Sentrifuge

Langkah kerja

Isolasi bakteriofag

1. Menyiapkan sampel kimchi, memotong kimchi dan memblender kimchi
2. Menginokulasikan bakteri yang telah diisolasi pada medium LB broth (24 jam)
 - Sampel dikulturkan pada medium *Luria Bertani Broth* (LB) yang sebelumnya pada medium ini telah diinokulasi dengan bakteri *Weissella cibaria* selama 24 jam.
3. Sentrifugasi selama 15 menit 6.000 rpm, 4°C
4. Mengambil supernatant dan disentrifugasi 10.200 rpm selama 3 jam, dan diambil supernatant
5. Supernatant difilter dengan menggunakan filter 0,2 µm
6. Hasil filter untuk spot assay/plaque assay

Plaque assay dan Plate lysate

3. Tumbuhkan inang bakteri dalam media *Luria Bertani broth* dan inkubasi pada suhu 37°C dalam semalam
4. Siapkan media LB *plate* dengan komponen 1% polypeptide, 1% NaCl, 0,5% yeast, dan 1,5% agar dan TOP agar 0,5% dengan komponen 1% polypeptide, 1% NaCl, 0,5% yeast, dan 0,75% agar
5. Hitung OD suspensi bakteri dengan standart OD 1 @1000 µl
6. Campurkan 300 µl bakteri *Weissella cibaria* dengan 100 µl bakteriofag yang telah sampel bakteriofag yang telah diisolasi pada TOP Agar pada suhu kuku hangat atau sekitar 50° C
7. Tuangkan pada LB plate dan inkubasi pada suhu 37°C dalam semalam
8. Lakukan pengamatan hasil dan lihat apakah ada zona bening.

9. Lakukan diskusi tentang pengaruh bakteriofag yang telah anda isolai dengan kualitas produk kimchi!
10. Diskusikan peranan bakteriofag sebagai kontaminan dan indikator pada produk fermentasi (lakukan studi literatur juga sebagai pendukung hasil diskusi anda!)

D. Daftar Pustaka

Labrie S, Moineau S. 2010. *Bacteriophages in Industrial Food Processing: Incidence and Control in Industrial Fermentation*, p 199-216. In Sabour P, Griffiths M (ed), *Bacteriophages in the Control of Food-and Waterborne Pathogens*. ASM Press, Washington, DC. doi: 10.1128/9781555816629.ch10

Hans Petter Kleppen, Helge Holo, Sang-Rok Jeon, Ingolf F. Nes, Sung-Sik Yoon. 2012. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (20) 7299-7308; DOI: 10.1128/AEM.00031-12

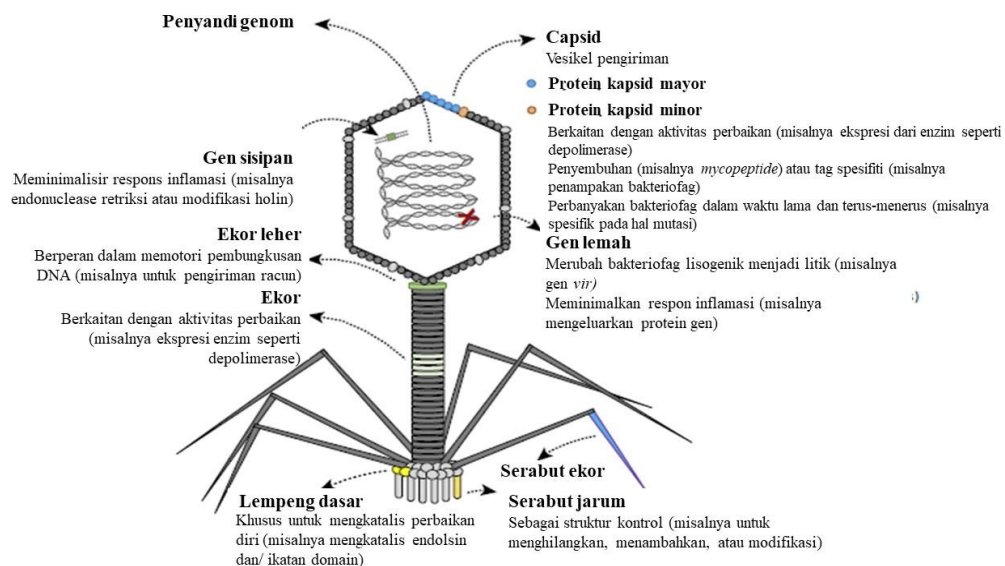
BAKTERIOFAG DALAM BIDANG PERTANIAN DAN KESEHATAN

A. Tujuan Praktikum

- Mahasiswa Mampu melakukan interpretasi data hasil analisis bakteriofag untuk penyakit layu semu pada tanaman.
- Mahasiswa Mampu melakukan interpretasi data hasil analisis bakteriofag untuk penyakit infeksius pada manusia

B. Uraian dan Teori

Bakteriofag atau fage merupakan virus, yang mana merupakan parasit obligat pada intraseluler bakteri (Doffkay *et al.*,2015). Semua fage mempunyai kepala protein atau kapsid berfungsi untuk perlindungan dan transpor materi genetik yang mengelilinginya. Didalam kapsid dapat ditemukan materi genetik baik single-stranded DNA, double-stranded DNA, single-stranded RNA, atau double-stranded RNA. Fage juga memiliki komponen protein umum seperti selubung ekor atau tail sheath, lempeng dasar atau baseplate, dan serabut ekor atau tail fiber sebagai sarana untuk perlekatan pada bakteri inang. Phage berikatan dengan reseptor di permukaan sel bakteri. Perbedaan reseptor mengekspresikan perbedaan spesies bakteri.



Gambar 1. Struktur Partikel Bakteriofag (Doffkay et al, 2015)

Aplikasi penggunaan bakteriofag dapat diterapkan dalam berbagai bidang, misalnya pada bidang pertanian yang dapat digunakan untuk menginfeksi bakteri yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman, sedangkan dalam bidang kesehatan dapat digunakan untuk menginfeksi bakteri yang menyebabkan penyakit infeksius pada manusia.

BAKTERIOFAG DALAM BIDANG PERTANIAN

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). Kehilangan hasil produksi tomat mencapai 75-100% apabila ditanam pada lahan yang terinfeksi bakteri *R. solanacearum* (Dahal *et al.*, 2009). Berdasarkan hal tersebut, bakteri *R. solanacearum* ditempatkan pada posisi kelima paling berbahaya di dunia (Elphinstone, 2005).

R. solanacearum merupakan jenis bakteri gram negative yang termasuk patogen tular tanah dan air dari famili Ralstoniaceae. Bakteri *R. solanacearum* memiliki kisaran inang yang luas sekitar 200 spesies dari 53 famili yang berbeda (Kawasaki *et al.*, 2007). *R. solanacearum* menginfeksi melalui perakaran tanaman tomat yang terluka atau melalui lubang alami pada akar. Bakteri akan mulai berkembang biak di dalam jaringan tanaman sehingga mengganggu transport air dan garam mineral karena tersumbat oleh jutaan bakteri (Yamada *et al.*, 2007). Tanaman yang terinfeksi bakteri *R. solanacearum* mengalami klorosis, kerdil, layu, dan biasanya mati dengan cepat (Meng, 2013) sehingga penyakit tersebut dikenal sebagai penyakit layu bakteri.

Alternatif pengendalian untuk mengendalikan penyakit layu bakteri pada tanaman yaitu dengan agen pengendalian hayati menggunakan mikroba. Penggunaan agensia hayati memiliki kelebihan diantaranya dapat mengurangi pencemaran lingkungan dari bahan kimia atau pestisida, bersifat lebih efisien, berkelanjutan, tidak merusak keragaman hayati, dan sesuai dengan cara pengendalian lainnya (Setiati *et al.*, 2016). Salah satu mikroba yang dapat mengendalikan penyakit layu bakteri adalah bakteriofag (Addy *et al.*, 2012).

BAKTERIOFAG DALAM BIDANG KESEHATAN

Phage therapy merupakan salah satu terapi yang digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri dengan menggunakan virus yang mampu membunuh bakteri. Virus yang mampu membunuh bakteri disebut bakteriofag. Bakteriofag memiliki sifat yang sangat spesifik, yaitu spesifik berdasarkan spesies bakteri inang dan spesifik berdasarkan strain bakteri

inang. Namun beberapa jenis bakteriofag bersifat polivalent dan dapat menginfeksi lebih dari satu jenis spesies atau strain bakteri, sehingga dapat dikatakan bahwa beberapa jenis bakteriofag memiliki bakteri inang lebih dari satu. Bakteriofag dengan spektrum yang luas biasa digunakan untuk keperluan terapi *phage*. Bakteriofag tersebut termasuk kedalam golongan ordo *Caudovirales*, Family *Myoviridae*, *Siphoviridae*, dan *Podoviridae*. Bakteriofag tersebut memiliki proteinaceous tail yang menyerang hanya dengan jalur litik (Manohar *et al.*, 2019). *Phage therapy* dapat dijadikan sebagai solusi untuk mengatasi infeksi bakteri yang memiliki sifat multi resisten terhadap pengobatan antibiotik atau biasa dikenal dengan *multidrug resistant*.

Multidrug-resistant yang semakin marak menjadikan peran bakteriofag sebagai obat pengganti antibiotik semakin dibutuhkan masyarakat. Pada penelitian terbaru dilaporkan semakin banyaknya strain MDR (*multidrug-resistant*) bakteri *Acinetobacter baumannii*. *Acinetobacter baumannii* adalah bakteri golongan coccobacillus non-fermentatif, Gram negatif, non-motil, oksidase-negatif yang umumnya ditemukan di lingkungan rumah sakit. Bakteri tersebut menjadi penyebab wabah infeksi nosokomial seperti infeksi aliran darah, pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih dan infeksi luka. Sebuah survei pada tahun 2007 oleh *Center for Disease Control*, Taiwan pada tahun 2007, menunjukkan *A. baumannii* menempati urutan pertama di antara patogen umum lainnya untuk infeksi nosokomial di ICU.

C. Latihan dan Tugas

Jawablah pertanyaan dibawah ini bersama dengan kelompok anda.

Pertanyaan	Jawaban
3. Bagaimana mekanisme yang dilakukan bakteriofag spesifik untuk mampu menginfeksi bakteri <i>R. solanacearum</i> ?	
4. Saat bakteriofag menginfeksi bakteri <i>R. solanacearum</i> pada akar tanaman tomat, apakah hal tersebut memberikan dampak terhadap metabolisme tanaman tomat?	

5. Apa yang dimaksud dengan penyakit infeksius? Jelaskan menurut pendapatmu!	
6. Bagaimana cara pengaplikasian bakteriofag untuk mengatasi penyakit infeksius pada manusia?	

D. Daftar Pustaka

- Addy HS, A. Askora, T. Kawasaki, M. Fujie, dan T. Yamada. 2012. Utilization of filamentous phage RSM3 to control bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Plant disease* 96(8): 1204-1209.
- Doffkay, Z., Dömötör, D., Kovács, T., Rákhely, R. 2015. Bacteriophage Therapy Against Plant, Animal and Human Pathogens. *Acta Biologica Szegediensis* 59: 291-302.
- Elphinstone JG. 2005. The Current Bacterial Wilt Situation: a global view. APS, Press, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 9e28.
- Kawasaki T, H. Satsuma, M. Fujie, S. Usami, dan T. Yamada. 2007. Monitoring of Phytopathogenic *Ralstonia solanacearum* Cells Using Green Fluorescent Protein-Expressing Plasmid Derived from Bacteriophage ϕ RSS1. *J. Bioscience and bioengineering*. 104(6): 451–456.
- Manohar, P., A. J. Tamhankar, C. S. Lundborg, dan R. Nachimuthu. 2019. Therapeutic Characterization and Efficacy of Bacteriophage Coxtails Infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* Species. *Frontiers in Microbiology*. 10 : 1 – 12.
- Meng F, 2013. *Ralstonia solanacearum* Species Complex and Bacterial Wilt Disease. *J. Bacteriol Parasitol* 4:2.
- Setiadi dan SF Nurulhuda. 2003. Kentang Varietas dan Pembudidayaan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Seleim MAA, a. Elyousr, A.Moneem, dan F. Saead. 2014. First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* Biovar 2 Race 1 on Tomato in Egypt. *J.Plant Pathol* 30 (3):299-303.
- Yamada T, T. Kawasaki, S. Nagata, A. Fujiwara A, S. Usami, M. Fujie. 2007. New bacteriophages that infect the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. *J. Microbiology* 153: 2630–2639.



FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2021