

Isolasi Bakteriofage *Escherichia coli* dan *Salmonella Sp* dari air isi ulang dan limbah peternakan

Isolation of Bacteriophage *Escherichia coli* and *Salmonella Sp* from drinking water refill and livestock waste

Ayu shaniyah¹⁾, Riya kasin²⁾, Sekar Lembayung³⁾, Riri novita sunarti⁴⁾

1)Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

2) Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

3) Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

4)Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

Jl. Pangeran Ratu, 5 Ulu, Kecamatan Seberang Ulu I, Kota Palembang, Sumatera Selatan 30267 (Kampus B)

Email: ririnovitasunarti_uin@radenfatah.ac.id

Abstrak

Penyebaran bakteri pathogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella Sp* dilingkungan, sangat berbahaya terutama bagi kesehatan manusia. Untuk itu perlu penanganan pengendalian bakteri pathogen tersebut yang ramah lingkungan. Salah satunya yaitu dengan menggunakan bakteriofag. Bakteriofag merupakan musuh alami bakteri di alam yang dapat menghancurkan bakteri, dan bersifat seperti antimikroba terhadap bakteri pathogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteriofag dari air minum isi ulang dan limbah peternakan. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimental. Sampel yang digunakan berupa sampel air minum isi ulang dan limbah peternakan. Keberadaan bakteriofag di indikasikan dengan adanya plak bening pada media soft agar yang digunakan. Hasil penelitian menunjuka *Escherichia coli* kode FgAm1, FgAm2, FgAm3 dari sumber air minum dan fage *Salmonella sp.* kode FgLp1, FgLp2, dan FgLp3. Fage yang telah berhasil diisolasi ini dapat dijadikan biokontrol pencemaran. bakteriofag *E.coli* dapat diisolasi dari air minum isi ulang dan bakteriofag *Salmonella Sp* dapat diisolasi dari limbah peternakan.

Kata kunci : Bakteriofag, *E. coli*, *Salmonella Sp*, Pathogen

Abstract

The spread of pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* and *Salmonella Sp* in the environment is very dangerous, especially for human health. For this reason, it is necessary to treat these pathogenic bacteria in an environmentally friendly manner. One of them is by using bacteriophages. Bacteriophages are natural enemies of bacteria in nature that can destroy bacteria, and act like antimicrobials against pathogenic bacteria. This study aims to isolate bacteriophages from drinking water refill and livestock waste. The method used in this research is experimental method. The samples used were samples of refill drinking water and livestock waste. The presence of bacteriophages is indicated by the presence of clear plaque on the soft agar medium used. The results showed *Escherichia coli* codes FgAm1, FgAm2, FgAm3 from drinking water sources and *Salmonella sp* phage. code FgLp1, FgLp2, and FgLp3. The phage that has been successfully isolated can be used as a biocontrol agent for pollution. *E.coli* bacteriophage can be isolated from drinking water refill and *Salmonella Sp* bacteriophage can be isolated from livestock waste.

Keywords: Bacteriophage, *E. coli*, *Salmonella Sp*, Pathogen.

PENDAHULUAN

E. coli dapat hidup dan bertahan pada tingkat keasaman yang tinggi di dalam tubuh manusia. *E. coli* juga dapat hidup dan bertahan diluar tubuh manusia yang penyebarannya melalui feses. Saluran pencernaan manusia merupakan habitat yang relatif stabil, hangat, bersifat anaerob, dan kaya nutrisi. Sementara itu, di luar saluran pencernaan, kondisi lingkungan dapat sangat beragam, jauh lebih dingin, aerobik, serta kandungan nutrisi yang lebih sedikit. *Escherichia coli* memiliki waktu generasi sekitar 30 sampai 87 menit bergantung pada suhu. Waktu generasi merupakan waktu yang dibutuhkan bagi sel *E. coli* untuk membelah diri menjadi dua kali lipat. Suhu optimum bagi pertumbuhan *E. coli* adalah 37°C dengan waktu generasi tersingkat, yaitu selama 30 menit (Rahayu, dkk, 2018).

Dari penelitian sebelumnya yang telah dilaporkan oleh surnarti (2015) bakteri *E coli* pada air isi ulang disekitaran kampus A UIN Raden Fatah Palembang bahwa sampel air minum isi ulang dinyatakan positif mengandung bakteri *E coli*. Hal tersebut merupakan sebagai acuan bagi peneliti dalam untuk isolasi bakteri *Esherichia coli*.

Kebutuhan masyarakat di sekitar kampus UIN Raden Fatah Palembang akan air minum terus meningkat tidak diimbangi dengan ketersediaan air bersih yang ada. Salah satu penyebabnya adalah sedikitnya tempat yang memiliki sumber air untuk diolah menjadi air minum. Sumber yang ditemukan disekitar kampus UIN Raden Fatah Palembang ialah air tanah atau air sumur. Namun, pencemaran air yang semakin meluas tak jarang membuat air tanah menjadi tidak layak untuk dikonsumsi. Menurut Pelczar (2009) air mungkin saja terlihat jernih, tidak berbau, dan tidak berasa, tetapi tidak aman untuk diminum. Air minum isi ulang adalah jawaban masyarakat disekitar kampus A UIN Raden Fatah sebagai salah satu sumber pemenuhan kebutuhan air minum, selain itu air minum isi ulang dirasa murah dan praktis. Meningkatnya permintaan masyarakat disekitar kampus A UIN Raden Fatah akan air minum isi ulang yang murah dan praktis menjadikan banyaknya usaha depot air minum isi ulang yang bermunculan. Menurut Marpaung dan Bowo (2013) air minum isi ulang memang dapat dijadikan salah satu solusi untuk memenuhi kebutuhan air minum, akan tetapi dikarenakan belum adanya standarisasi dalam peaturan untuk proses pengolahan air maka kualitas air minum isi ulang tidak dapat menjamin bahwa air yang diproduksi sesuai dengan kualitas standar air minum.

Bahaya bakteri *Esherichia coli* pada manusia bila dalam jumlah yang berlebihan maka dapat mengakibatkan diare dan bila bakteri ini menjalar ke sistem organ atau tubuh yang lain dapat menginfeksi seperti pada saluran kencing dapat mengakibatkan infeksi saluran kencing (ISK). juga termasuk bakteri yang dapat menyebabkan keluhan diare. Selain itu air yang bersih ialah tidak berbau, tidak berasa, dan tidak berwarna (Afif dkk, 2015).

Salmonella Sp merupakan salah satu bakteri patogen terpenting di Eropa dan sebagai sumber infeksi utama pada manusia yang mengkonsumsi daging babi. Kasus di Amerika dan Eropa di laporkan bahwa terjadi infeksi karena *Salmonella* berkaitan dengan konsumsi telur dan produknya yang dimasak kurang sempurna. Selain ditemukan pada unggas dan produknya. *Salmonella* juga dapat ditemukan pada daging babi, daging sapi, susu dan produknya. Studi yang dilakukan di China menunjukkan adanya *Salmonella* pada daging yang dijual di pasar (Velina, dkk., 2019). Pada umumnya, serotipe

Salmonella menyebabkan penyakit pada organ pencernaan. Penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella* disebut *Salmonellosis*. *Salmonellosis* adalah istilah yang menunjukkan adanya infeksi bakteri oleh bakteri *Salmonella* sp. Ciri-ciri orang yang mengalami *salmonellosis* adalah diare, mual muntah, kram perut dan demam pada waktu 8-72 jam setelah memakan makanan yang terkontaminasi oleh *Salmonella* (Jawetz, Melnick and Adelberg, 2017).

Bakteriofag merupakan virus yang menginfeksi bakteri dan mampu membunuh sel bakteri dengan mengintegrasikan DNA virus ke kromosom bakteri inang. Penggunaan bakteriofag ternyata relatif lebih efisien, spesifik dan cost effective (Rahaju, 2014). Virus dapat diisolasi dengan membentuk zona bening (plak) pada lapisan sel inangnya. Plak juga dapat dibentuk oleh phages pada pertumbuhan bakteri. Hal ini diasumsikan bahwa plak merupakan hasil dari infeksi sel oleh virion tunggal (Rahaju, 2014).

Bakteriofage dapat melisis sel bakteri patogen Maka dari itu fag ini memiliki kemampuan sebagai agen biokontrol yang cukup efektif, fag diperlukan memiliki kapasitas untuk melisis sel bakteri dan seperti fage litik dimana memiliki sifat alami (Lee et al, 2020). Menurut Jatmiko et al, (2018),

Dari penelitian isolasi bakteriofage terhadap cemaran *Escherichia coli* dan *Salmonella* Sp oleh sebab itu Maka perlu adanya solusi untuk menanggulangi penyebaran bakteri patogen yang dapat membahayakan kesehatan manusia, sehingga sangat penting untuk menggunakan bakteriofag sebagai biokontrol pengendalian cemaran bakteri. Sehingga perlu dilakukan penelitian ini lebih lanjut untuk menemukan kandidat spesifik bakteriofag *E.coli* dan *Salmonella* sp. dari air minum isi ulang dan limbah cair peternakan.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteriofag spesifik *E. coli* dan *salmonella* sp terhadap dari air minum isi ulang dan limbah peternakan.

METODELOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2022 di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang. Bahan yang digunakan :

"Produktivitas dan Pelestarian Biodiversitas Lahan Basah dalam Perwujudan Ekonomi Rendah Karbon menuju SDGs 2045"

limbah cair peternakan, air minum isi ulang, media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), Eosin *Methylene Blue Agar* (EMBA), *Laktose Broth* (LB), soft agar, *Nutrien Agar* (NA), alkohol 70%, aquades. Sedangkan alat yang digunakan: vortex, incubator shaker, Laminar air flow (LAF), *hot plate*, alat gelas, mikropipet, plastik wrap, aluminium foil, tisu, karet, kertas label, masker, dan sarung tangan.

Isolasi *Salmonella Sp*

Sampel limbah peternakan digoreskan pada media SSA menggunakan metode kuadrat setelah itu inkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media SSA dengan ciri-ciri terdapat plak berwarna hitam atau kecoklatan berarti terdapat bakteri *salmonella*.

Isolasi *E.coli*

Sampel air isi ulang digoreskan pada media Emba menggunakan metode kuadrat setelah itu inkubasi selama 24 jam. Koloni yang tumbuh pada media Emba dengan ciri-ciri terdapat goresan berwarna hijau metalik di media emba berarti terdapat bakteri *Escherichia coli*.

Isolasi Bakteriofage

Isolat *salmonella Sp* dan *E. coli* yang telah dimurnikan kemudian ditanam dalam 50 mL LB lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator shaker dengan kecepatan 100 rpm. Pencawaan fag dilakukan dengan menggunakan metode double layer yang terdiri dari media NA dan soft agar. Kultur *salmonella typi* dan *E coli* yang telah diinkubasi 24 jam pada 50 mL LB Cair sebelumnya diambil 100 mikro dan dicampur dengan 100 mikro supernatan yang telah difiltrasi dalam tabung reaksi steril lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Campuran tersebut kemudian ditambahkan 5 ml soft agar yang bersuhu 47°C, kemudian divortex agar homogen. Setelah itu dituangkan pada media NA yang sudah jadi. Inkubasi selama 24 jam dan diamati plak yang terbentuk dan menghitung kuantifikasi fag (Hum *et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel air minum dan sampel air limbah peternakan ke media LB yang mengandung *Escherichia coli* dan *Salmonella* sebagai inang dan menambahkan soft agar. Metode ini bertujuan untuk memudahkan perbanyakan fage litik yang ada dalam sampel air untuk berkembang biak di dalam inang. Plak bening yang terbentuk pada media double layer yang telah diinkubasi tersebut diindikasikan adanya bakteriofage.

Virus yang memulai infeksi pada sel inang akan membentuk zona bening yang disebut plak.. Menurut (Kusnadi dkk., 2003 dalam Rahmawati, 2012), wilayah

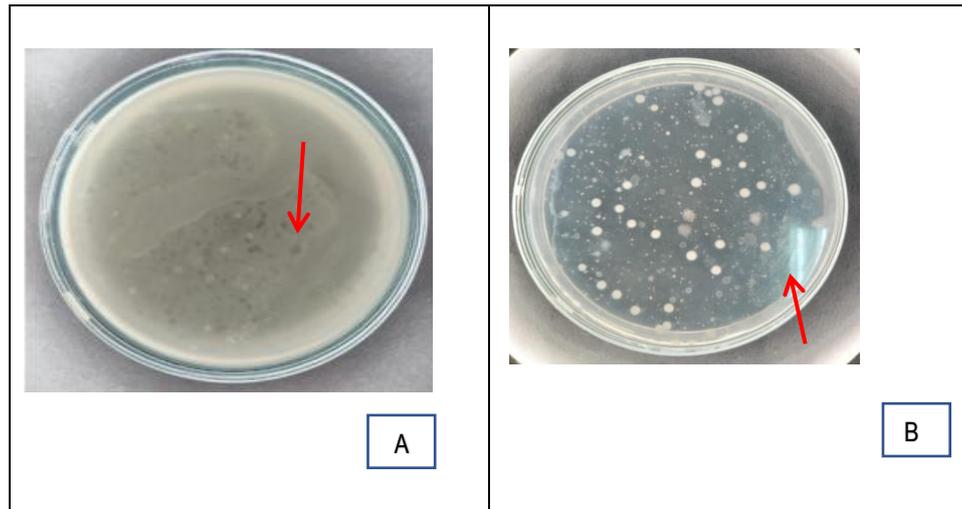
terang pada lapisan sel inang dinamakan plak yang diasumsikan bahwa setiap plak berasal dari satu partikel virus.. Hal ini menandakan bahwa bakteri *Salmonella* sp dan *Escherichia coli* dapat diinfeksi oleh bakteriofag *Salmonella* dan bakteri *Escherichia coli*

Dari sampel yang telah diisolasi, terdapat 6 sampel yang terindikasi adanya fage, Fag terdeteksi apabila terdapat zona bening yang tersebar di seluruh permukaan media double layer yang diinkubasi selama 24-48 jam. Sampel yang terindikasi adanya fage tersebut dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini..

Tabel 1. Hasil isolasi bakteriofage *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp.

No	Inang	Isolat fage	Sampel	Diameter	Karakteristik	Kuantifikasi (PFU/MI)
1	<i>Escherichia coli</i>	FgAm1	Air Minum	1 mm	Plak tidak jelas, disekitar plak.	$1,53 \times 10^{-7}$
2		FgAm2		1mm	Plak jelas (clear).	$1,70 \times 10^{-7}$
3		FgAm3		2 mm	Plak jelas (clear), disekitar plak.	$2,25 \times 10^{-7}$
4	Salmonella sp.	FgLp1	Limbah Peternakan	1 mm	Plak (clear).	$1,76 \times 10^{-7}$
5		FgLp2		1 mm	Plak tidak jelas, di sekitar plak	$1,60 \times 10^{-7}$
6		FgLp3		2 mm	Plak jelas (clear), disekitar plak.	$2,50 \times 10^{-7}$

Dari bakteriofage yang diperoleh merupakan bakteriofage litik bisa dilihat karakteristik terbentuk yaitu memiliki plak yang bening ini. Itu sesuai dengan Menurut Budiarti *et al.*, (2011), bahwa bakteriofage litik diindikasikan adanya plak bening pada agar. Sufa *et al.*, (2018),



Gambar 1. Hasil isolate fage *Salmonella Sp* dari limbah cair peternakan (A) dan isolate fage *Escherichia Coli* sampel air isi ulang (B).

Hasil isolasi fage dipilih menjadi 6 isolat fage berdasarkan bentuk plak yang dihasilkan. Setiap isolate fag dikodekan FgAm1, FgAm2, FgAm3, FgLp1, FgLp2, dan FgLp3.. Sehingga pendapat Taj *et al.*, (2014), yang menyatakan bahwa pertumbuhan inang merupakan faktor primer yang mempengaruhi produksi fage.. Menurut Los *et al.*, (2008), pembentukan plak dipengaruhi oleh pertumbuhan inang, jika pertumbuhan inang tidak optimal, maka sangat mempengaruhi fag dalam menginfeksi sel satu ke sel lainnya.. Oleh karena itu, hal ini terkait dengan kemampuan fage untuk bereplikasi dengan baik ketika sel inang berada dalam kondisi pertumbuhan yang optimal yaitu fase eksponensial.

Fage yang berhasil diisolasi dapat dijadikan agen biokontrol dalam pengendalian khususnya bakteri *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli.* Menurut Yang *et al.*, (2010), proses lisis sel inang dapat diidentifikasi dengan pembentukan plak dan digunakan sebagai standar keberhasilan dalam isolasi dan karakteristik fage.. Pengendalian bakteri patogen dengan menggunakan fage telah sering digunakan, Karena fage dianggap sebagai alternatif yang tepat untuk mengendalikan bakteri.

Kesimpulan

Fage yang berhasil diisolasi pada penelitian ini yaitu fage *Escherichia coli* dengan kode FgAm1, FgAm2, FgAm3 dari sumber air minum dan fage *Salmonella sp.* kode FgLp1, FgLp2, dan FgLp3..Fage yang telah berhasil diisolasi ini dapat dijadikan biokontrol pencemaran terutama pada bakteri *Salmonella sp.* dan bakteri *Escherichia coli.*

DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, Dkk. (2019). Media Ssa.Pengujian Salmonella Dengan MenggunakanMedia Ssa Dan E. Coli Menggunakan Media Emba Pada Bahan Pangan.Jurnal Indobiosains. Vol 1. No 1.Diakses Pada18 Oktober 2022.
- Bitton, G. (2002). Encyclopedia of environmetntal Microbiology. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Budiarti, S., Rus, I., & Sunarti, R. N. (2011). *Efektivitas Fage Litik Dari Lcrt Pada Pemecahan Sel Patogen Enterik Salmonella Sp . Resisten Antibiotik (E Ffectivity Of Lytic Phage to Salmonella sp . Resistant Antibiotic as Enteric Pathogen) Bakteri Salmonella merupakan anggota famili Enterobacteriac.* 2011.
- Carter J, Saunders V. (2007). Virology, Principles and Applications. England (GB):Wiley.
- Gallet R, Kannoly S, Wang I. 2011. Effects of bacteriophage traits on plaque formation. BMC Microbiol 11 (181): 1-16. DOI: 10.1186/1471-2180-11-181.
- Gu J, Liu X, Li Y, Han W, Lei L, Yang Y, Zhao H, Gao Y, Song J, Lu R, Sun C, Feng X. 2012. A method for generation phage cocktail with great therapeutic potential. PLoS One 7 (3): e31698. DOI: 10.1371/journal.pone.0031698.
- Lukman, C., Yonathan, C., Magdalena, S., & Waturangi, D. E. (2020). Isolation and characterization of pathogenic Escherichia coli bacteriophages from chicken and beef offal. *BMC Research Notes*, 1–7.
- Manjunath NS, Agsar D, Jagannath KV,Rangaswamy BE. (2013). Characterization and in vitro efficacy studies of wide host range lytic bacteriophage ϕ dmeC-1 infecting Escherichia coli isolated from pyogenic skin infections.
- Martanda,D.F., 2019. Identifikasi Salmonella Sp. Dan Staphylococcus Aureus Serta Hitung Jumlah Total Bakteri Pada Margarin. Jurnal SainHealth Vol. 3 No. 2 Edisi September.
- Nivas D, Ramesh N, Krishnakumar V, Rajesh P, Solomon EK, Kannan VR. Distribution, Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages against Multi- Drug Resistant and Extended-Spectrum of B-Lactamase Producing Pathogens from Hospital Effluents. Asian J Pharm Clin Res. 2015; 8(2):384-9.
- Rahayu,Dkk.2018.Escherichia Coli: Patogenitas, Analisis, Dan Kajian Resiko. Bogor :IpbPress. 26 Oktober 2022.
- Rohmi, (2017). Media Na. Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar TerhadapPertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. Jurnal Analis Medika BioSains.Vol 4 No 2. Diakses Pada23 Maret 2022.
- Saefunida, D. S., Wijanarka, Rukmi, M. . I., & Hidayat, N. N. (2016). IsolasiBakteriofag Escherichia coli Dari Sistem Distribusi Air Minum Isi Ulang Sebagai Antibiofilm. Jurnal Biologi, 5(2).

- Sari. Dkk. (2019). Media Lb. Angka Paling Mungkin Dan Deteksi Coliform Pada Sampel Lalapan Daun Kemangi (*Ocimum Bacilicum*) Di Kota Pontianak. *Jurnal Protobion*. Vol 8. No 1. Diakses Pada 18 Oktober 2022.
- Strydom, A., & Witthuhn, C. R. (2015). *Listeria monocytogenes*: A Target for Bacteriophage Biocontrol. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 694–704. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12153>
- Sufa, H. I., Budiarti, S. R. I., & Rusmana, I. (2018). *Diversity of uropathogenic Escherichia coli lytic phage from Cisadane River , West Java , Indonesia based on morphology and protein molecular weight characteristics*. 19(6), 2359–2364. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190646>.
- Suprobawati Dan Kurniati. 2018. *Virologi : Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik*. Jakarta: Kemenkes RI. Diakses Pada 26 Oktober 2022.
- Susanti. Dkk. (2018). Media Emba. Deteksi *Escherichia Coli* Pada Jamu Gendong Di Gunungpati Dengan Medium Selektif Diferensial. *Jurnal Unnesa*. Vol 7. No 2. Diakses Pada 18 Oktober 2022.
- Taj MK, Ling JX, Bing LL, Qi Z, Taj I, Hassani TM, Samreen Z, Yunlin W. (2014). Effect of dilution, temperature and ph on the lysis activity of T4 phage against *E. coli* BL21. *J Animal Plant Sci* 24 (4): 1252- 1255.
- Triana E. 2018. Aktivitas Antibiofilm Bakteri *Escherichia Coli* Oleh Bakteriofag Secara In Vitro. *Berita Biologi*. Vol 17. No 1. Diakses Pada 26 Oktober 2022.
- Velina, Dkk. 2019. *Salmonella Spp*: Identifikasinya Pada Telur Ayam Di Kabupaten Pringsewu Provinsi Lampung. *Jurnal Tadris Biologi*. Vol 10. No 1. Diakses Pada 26 Oktober 2022.
- Wally, Dkk. 2021. Bakteriofag Spesifik *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Berbagai Sumber Air Di Bogor Tengah, Kota Bogor Sebagai Antibiotika Alternatif. *Jurnal Biologi Udayana*. Vol 25. No 2. Diakses Pada 26 Oktober 2022.
- Zikra, W., dkk. 2018. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum di Rumah Makan dan Cafe di Kelurahan Jati serta Jati Baru Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 7(2).
- Zulaikha Dan Fitria. 2018. Aklimatisasi Ph Dan Pola Pertumbuhan *Bacillus Cereus* S1 Pada Medium Msm Modifikasi. *Jurnal Sains Dan Seni Its*. Vol 7. No 2. Diakses Pada 26 Oktober 2022.