

**AKTIVITAS ANTIBIOFILM BAKTERIOFAG ASAL
AIR LIMBAH TERHADAP *Mycobacterium smegmatis*
ATCC 14468 SEBAGAI MODEL ANTIBIOFILM
PADA BAKTERI TUBERKULOSIS**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**Laila Ramanda
1308621007**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2025**

ABSTRAK

LAILA RAMANDA. Aktivitas Antibiofilm Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 sebagai Model Antibiofilm pada Bakteri Tuberkulosis. Skripsi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Juli 2025.

Pengembangan bakteriofag untuk mengatasi penyakit infeksi akibat bakteri menjadi solusi yang potensial, karena bakteriofag mampu menghambat dan merusak biofilm bakteri, contohnya pada *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteriofag asal air limbah yaitu Mt, Cm, dan Kc dalam menghambat dan merusak biofilm bakteri *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pembentukan biofilm; penghambatan biofilm dengan metode *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration*; perusakan biofilm dengan metode *Minimum Biofilm Eradication Concentration* (MBEC); pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya dengan metode MBEC dan *Total Plate Count*; visualisasi kerusakan biofilm menggunakan mikroskop cahaya. *M. smegmatis* ATCC 14468 dikategorikan sebagai bakteri dengan kekuatan produksi biofilm yang sedang berdasarkan nilai indeks biofilm. Nilai penghambatan biofilm terbesar yaitu 70.04% dihasilkan oleh bakteriofag Cm. Hasil uji analisis variansi (ANAVA) tiga arah menunjukkan kombinasi umur biofilm, isolat bakteriofag, dan pengenceran titer bakteriofag berpengaruh signifikan terhadap perusakan biofilm. Hasil ANAVA dua arah menunjukkan kombinasi bakteriofag dan antibiotik tidak berpengaruh signifikan terhadap perusakan biofilm. Penurunan persentase CFU.mL⁻¹ biofilm terbesar yaitu 80,82% dihasilkan oleh kombinasi bakteriofag Cm dan antibiotik etambutol. Visualisasi biofilm menunjukkan kerusakan biofilm akibat bakteriofag Mt, Cm, dan Kc. Ketiga bakteriofag dapat digunakan sebagai antibiofilm *M. smegmatis* ATCC 14468 dan dapat dikembangkan untuk penanganan biofilm pada *Mtb*.

Kata kunci. Penghambatan biofilm, Perusakan biofilm, Resistansi antibiotik.

ABSTRACT

LAILA RAMANDA. Antibiofilm Activity of Bacteriophages from Wastewater against *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 as an Antibiofilm Model in Tuberculosis Bacteria. Thesis, Biology Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Jakarta State University. July 2025.

The development of bacteriophages to treat bacterial infections is a potential solution, as bacteriophage capable of inhibiting and destroying bacterial biofilms, such as *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). This study aims to test the ability of wastewater-derived bacteriophages, Mt, Cm, and Kc, to inhibit and disrupt bacterial biofilms of *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468. The research steps included biofilm formation; biofilm inhibition using Minimum Biofilm Inhibitory Concentration method; biofilm destruction using Minimum Biofilm Eradication Concentration (MBEC) method; administration of bacteriophages, antibiotics, and their combinations using MBEC and Total Plate Count methods; visualization of biofilm damage using a light microscope. *M. smegmatis* ATCC 14468 was categorized as bacterium with moderate biofilm production strength. The highest biofilm inhibition value of 70.04% was produced by bacteriophage Cm. The results of the three-way analysis of variance (ANOVA) showed that the combination of biofilm age, bacteriophage isolate, and bacteriophage titer dilution significantly affected biofilm damage. The results of the two-way ANOVA showed that the combination of bacteriophage and antibiotic did not significantly affect biofilm damage. The greatest reduction in biofilm CFU.mL⁻¹ percentage, 80.82%, was achieved by combination of bacteriophage Cm and antibiotic ethambutol. Biofilm visualization showed damage by bacteriophages Mt, Cm, and Kc. All bacteriophages can be used as antibiofilms for *M. smegmatis* ATCC 14468 and can be developed for biofilm management in *Mtb*.

Keywords. *Biofilm inhibition, Biofilm destruction, Antibiotic resistance.*

LEMBAR PENGESAHAN

AKTIVITAS ANTIBIOFILM BAKTERIOFAG ASAL AIR LIMBAH TERHADAP *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 SEBAGAI MODEL ANTIBIOFILM PADA BAKTERI TUBERKULOSIS

Nama : Laila Ramanda
Nomor Registrasi : 1308621007

Penanggung Jawab

Nama

Fanda Tungan

Tanggal

13/08-2025

Dekan

: Dr. Hadi Nasbey, S.Pd., M.Si.
NIP. 197909162005011004



Wakil Penanggung Jawab

Wakil Dekan I

: Dr. Mciliasari, S.Pd., M.Sc.
NIP. 197905042009122002

[Signature]

14/08-2025

Ketua

: Dr. Reni Indrayanti, M.Si.
NIP. 196202311998032002

[Signature]

13/08-2025

Sekretaris/Penguji II

: Rizky Priambodo, S.Si., M.Si.
NIP. 198912232019031014

[Signature]

13/08-2025

Anggota

Pembimbing I

: Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si.
NIP. 196603161992032001

[Signature]

13/08-2025

Pembimbing II

: Dr. Rina Hidayati Pratiwi, M.Si.
NIDN. 0320018203

[Signature]

13/08-2025

Penguji I

: Prof. Dr. Dalia Sukmawati, M.Si.
NIP. 197309142006042001

[Signature]

13/08/25

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 30 Juli 2025

LEMBAR PERNYATAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **“Aktivitas Antibiofilm Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 sebagai Model Antibiofilm pada Bakteri Tuberkulosis”** yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi Universitas Negeri Jakarta adalah karya ilmiah saya dengan arahan dari dosen pembimbing.

Sumber informasi yang diperoleh dari penulis lain yang telah dipublikasikan yang disebutkan dalam teks skripsi ini, telah dicantumkan dalam Daftar Pustaka sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 1 Juli 2025



Laila Ramanda



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN

Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220

Telepon/Faksimili: 021-4894221

Laman: lib.unj.ac.id

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Laila Ramanda
NIM : 1308621007
Fakultas/Prodi : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Biologi
Alamat email : lailarmnd07@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah:

☒ Skripsi ☐ Tesis ☐ Disertasi ☐ Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Aktivitas Antibiofilm Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 sebagai Model Antibiofilm pada Bakteri Tuberkulosis

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di internet atau media lain secara **fulltext** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta

Penulis

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi berjudul “Aktivitas Antibiofilm Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468 sebagai Model Antibiofilm pada Bakteri Tuberkulosis”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penyelesaian skripsi ini tentu saja tidak lepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi dan Pengabdian Kepada Masyarakat; Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi; Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi, atas hibah Penelitian Kerja Sama Dalam Negeri antara Universitas Indraprasta PGRI dan Universitas Negeri Jakarta dengan nomor kontrak yaitu 105/E5/PG.02.00.PL/2024; 797/LL3/AL.04/2024; 0831/SKP.LT/LPPM/UNINDRA/2024. Terima kasih kepada ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si., dan ibu Dr. Rina Hidayati Pratiwi M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, nasehat, solusi, dan dukungan instrumen maupun moril selama penelitian hingga penulisan skripsi. Terima kasih kepada ibu Prof. Dr. Dalia Sukmawati, M.Si., dan bapak Rizky Priambodo, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji serta ibu Dr. Reni Indrayanti, M.Si., selaku ketua sidang atas saran dan masukan untuk perbaikan skripsi ini. Terima kasih kepada ibu Dr. Elsa Lisanti, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik.

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada kedua orang tua serta keluarga yang senantiasa mendukung, memberikan motivasi dan doa, sehingga penulis tetap semangat dalam menjalankan perkuliahan. Kepada Pranata Laboratorium Penelitian yaitu ibu Desi, kak Allika, kak Leini, kak Sayid, dan kak Reza yang membantu jalannya penelitian. Teruntuk teman satu tim penelitian, Ade La Yusup, terima kasih atas kerjasama dan dukungan selama penelitian hingga penyelesaian skripsi. Kepada teman-teman di biologi khususnya Inayati, Mutiara, dan Nurul yang saling mendukung selama perkuliahan. Kepada Indira, teman seperjuangan penulis di mikrobiologi. Kak Shelavina dan kak Miladya yang membantu dalam penelitian maupun penulisan skripsi, serta pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Demikian kata pengantar ini penulis sampaikan. Penulis berharap skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca. Penulis menyadari skripsi ini memiliki kekurangan, oleh karena itu penulis terbuka akan saran dan masukan agar penelitian ini menjadi lebih baik kedepannya.

Jakarta, 1 Juli 2025

Laila Ramanda

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
 BAB II KAJIAN PUSTAKA	 5
A. Resistansi Antibiotik pada Pengobatan Tuberkulosis	5
B. Definisi, Struktur, Pembentukan, dan Fungsi Biofilm	8
C. Bakteriofag sebagai Agen Antibiofilm	14
D. Bakteri dan Biofilm pada <i>Mycobacterium smegmatis</i>	19
E. <i>Mycobacterium smegmatis</i> sebagai Bakteri Model dari <i>Mycobacterium tuberculosis</i> dalam Uji Antibiofilm	21
F. Terapi Bakteriofag dan Antibiotik	25
G. Pengukuran Biofilm dalam Uji Antibiofilm	27
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 28
A. Tempat dan Waktu Penelitian	28
B. Metode Penelitian	28
1. Alat dan Bahan	32
2. Prosedur Penelitian	33
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	40
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 41
A. Bakteri <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	41
B. Bakteriofag Asal Air Limbah	42
C. Biofilm Bakteri <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	44
D. Hasil Penghambatan Pembentukan Biofilm oleh Bakteriofag	53
E. Hasil Perusakan Biofilm oleh Bakteriofag pada Umur Biofilm Berbeda	59
F. Hasil Perusakan Biofilm dengan Pemberian Bakteriofag, Antibiotik, dan Kombinasinya	62
G. Hasil Visualisasi Kerusakan Biofilm oleh Bakteriofag	67

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	71
A. Kesimpulan	72
B. Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	91



DAFTAR TABEL

	Halaman
1 Perbandingan bakteriofag dan antibiotik	26
2 Kombinasi perlakuan penghambatan pembentukan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 oleh bakteriofag asal air limbah	29
3 Kombinasi perlakuan kerusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada umur biofilm dua dan enam hari oleh bakteriofag asal air limbah	30
4 Perlakuan pengaruh pemberian bakteriofag asal air limbah, antibiotik, dan kombinasinya terhadap kerusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	31
5 Interpretasi kekuatan produksi biofilm pada bakteri	36
6 Kekuatan produksi biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	48
7 Uji <i>Duncan's Multiple Range Test</i> pengaruh isolat bakteriofag terhadap penghambatan pembentukan biofilm	54
8 Uji <i>Duncan's Multiple Range Test</i> pengaruh pengenceran titer bakteriofag terhadap penghambatan pembentukan biofilm	58
9 Uji <i>Duncan's Multiple Range Test</i> kombinasi pemberian bakteriofag terhadap kerusakan biofilm pada umur biofilm berbeda	60
10 Uji <i>Duncan's Multiple Range Test</i> pengaruh pemberian bakteriofag terhadap kerusakan biofilm pada percobaan pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya	65
11 <i>Total Plate Count</i> Biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	94
12 Analisis variansi dua arah pemberian bakteriofag terhadap penghambatan produksi biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	95
13 Analisis variansi tiga arah pemberian bakteriofag terhadap kerusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada umur biofilm 2 dan 6 hari	95
14 Analisis variansi dua arah pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya terhadap kerusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	96

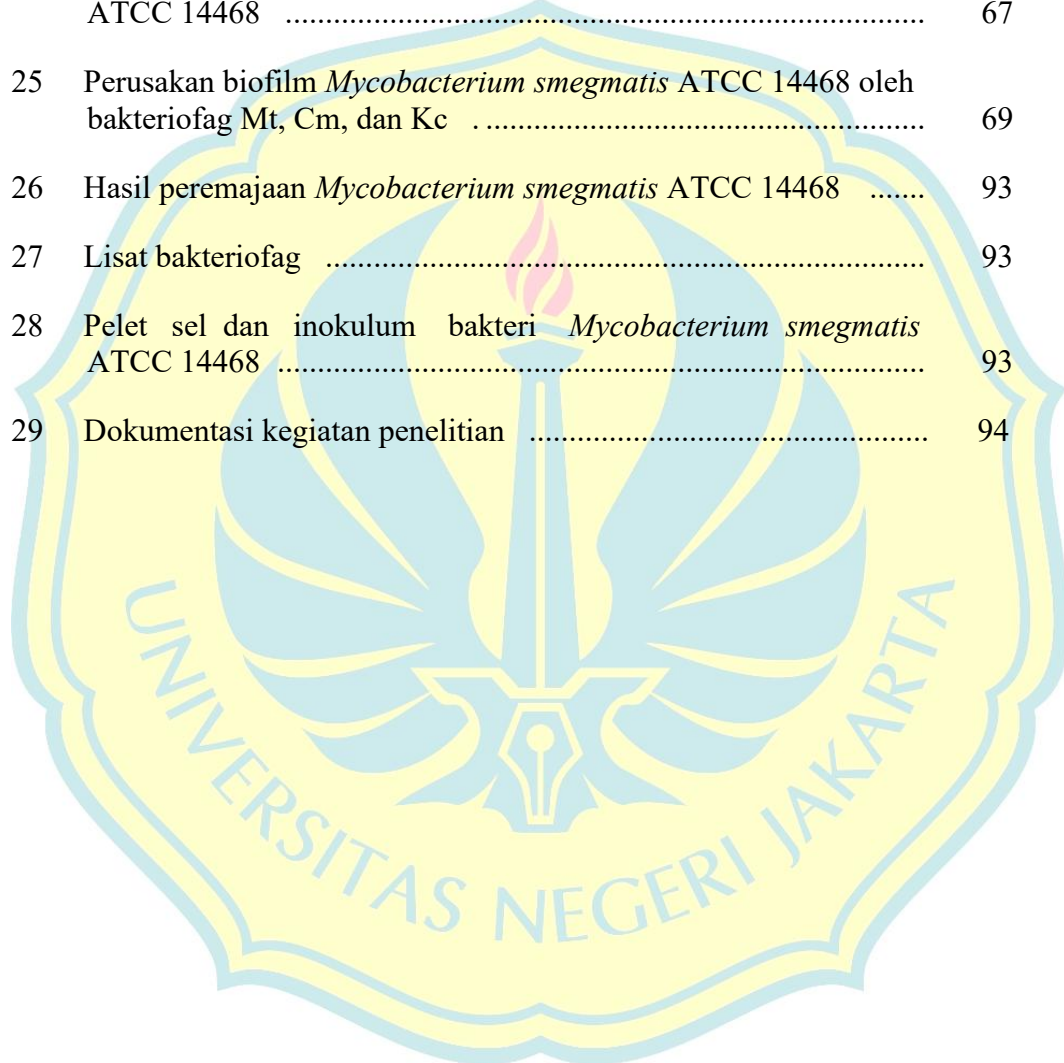
15	Rata-rata jumlah koloni dan nilai <i>Colony Forming Unit</i> biofilm setelah pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya	96
16	<i>Total Plate Count</i> perusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 dengan pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya	97



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 <i>Mycobacterium tuberculosis</i> pada mikroskop elektron transmisi	6
2 Target dan mekanisme kerja obat antituberkulosis	7
3 Resistansi antibiotik pada <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	8
4 Struktur dan fisiologis sel pada biofilm	12
5 Struktur bakteriofag secara umum	15
6 Siklus litik dan lisogenik pada bakteriofag	16
7 Morfologi virion bakteriofag	17
8 Perusakan biofilm <i>Enterohaemorrhagic Escherichia coli</i> oleh bakteriofag	17
9 Bakteriofag membunuh bakteri yang hidup di biofilm	18
10 Pewarnaan Ziehl-Neelsen pada <i>Mycobacterium smegmatis</i>	19
11 <i>Mycobacterium smegmatis</i> dalam serial ultra tipis dan CryoTEM	20
12 Koloni <i>Mycobacterium smegmatis</i>	20
13 Biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i>	20
14 Tahap pembentukan biofilm pada <i>Mycobacterium</i>	21
15 Metode pembentukan biofilm <i>microtiter plate</i>	27
16 Biofilm pada tutup pasak	27
17 Diagram alir penelitian	33
18 Biofilm bakteri <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada pasak 96-well plate	47
19 Biomassa biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada 96-well plate	48
20 Biomassa biofilm pada percobaan penghambatan pembentukan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 oleh bakteriofag	53
21 Biomassa biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada 96-well plate setelah perusakan biofilm oleh bakteriofag pada umur biofilm 2 hari	57

22	Biomassa biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada 96 -well plate setelah perusakan biofilm oleh bakteriofag pada umur biofilm 6 hari	60
23	Biomassa biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 pada 96-well plate setelah perusakan oleh bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya.....	60
24	Pengaruh pemberian bakteriofag, antibiotik, dan kombinasinya terhadap nilai CFU.mL ⁻¹ biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	67
25	Perusakan biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 oleh bakteriofag Mt, Cm, dan Kc	69
26	Hasil peremajaan <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	93
27	Lisat bakteriofag	93
28	Pelet sel dan inokulum bakteri <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	93
29	Dokumentasi kegiatan penelitian	94



DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
1	Pembuatan Larutan dan Media	91
2	Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	88
3	<i>Total Plate Count</i> Biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	89
4	Hasil Analisis Variansi Dua Arah Percobaan Penghambatan Biofilm	90
5	Hasil Analisis Variansi Tiga Arah Percobaan Perusakan Biofilm pada Umur Biofilm Berbeda	90
6	Hasil Analisis Variansi Dua Arah Percobaan Pemberian Bakteriofag, Antibiotik, dan Kombinasinya terhadap Kerusakan Biofilm	91
7	Hasil Kuantifikasi <i>Total Plate Count</i> Biofilm Setelah Pemberian Bakteriofag, Antibiotik, dan Kombinasinya	91
8	Dokumentasi Hasil <i>Total Plate Count</i> Perusakan Biofilm <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468 dengan Pemberian Bakteriofag, Antibiotik, dan Kombinasinya	92
9	Dokumentasi Kegiatan Penelitian	94