

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOFAG
ASAL AIR LIMBAH SERTA UJI AKTIVITAS LITIK
TERHADAP BAKTERI *Mycobacterium smegmatis*
ATCC 14468**

Skripsi

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



**Ade La Yusup
1308621076**

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

LEMBAR PENGESAHAN

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERIOFAG ASAL AIR LIMBAH SERTA UJI AKTIVITAS LITIK TERHADAP BAKTERI *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468

Nama : Ade La Yusup
Nomor Registrasi : 1308621076

	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penanggung Jawab			
Dekan	: <u>Dr. Hadi Nasbey, S.Pd., M.Si.</u> NIP. 197909162005011004		18/08 - 2025
Wakil Penanggung Jawab			
Wakil Dekan I	: <u>Dr. Meiliasari, S.Pd., M.Sc.</u> NIP. 197905042009122002		14/08 - 2025
Ketua	: <u>Dr. Reni Indrayanti, M.Si.</u> NIP. 196210231998032002		13/08 - 2025
Sekretaris/Penguji II	: <u>Rizky Priambodo, S.Si., M.Si.</u> NIP. 198912232019031014		13/08 2025
Anggota			
Pembimbing I	: <u>Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si.</u> NIP. 196603161992032001		13/08 - 2025
Pembimbing II	: <u>Dr. Rina Hidayati Pratiwi, M.Si.</u> NIDN. 0320018203		13/08 - 2025
Penguji I	: <u>Prof. Dr. Dalia Sukmawati, M.Si.</u> NIP. 197309142006042001		13/08/2025

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 30 Juli 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul **"Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Asal Air Limbah serta Uji Aktivitas Litik terhadap Bakteri *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468"** 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, 6 Juli 2025



1000
Rp
METERAI
TEMPEL
9EB1DAMX201018981

Ade La Yusup

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI



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 : Ade La Yusup
NIM : 1308621076
Fakultas/Prodi : FMIPA/Biologi
Alamat email : adelayusufcollege@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 :

Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Asal Air Limbah serta Uji Aktivitas Litik terhadap Bakteri *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468

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, 19 Agustus 2025

Penulis

(Ade La Yusup)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT. karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Asal Air Limbah serta Uji Aktivitas Litik terhadap Bakteri *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468” dengan baik. Penelitian ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat akademis demi memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis tentunya menghadapi berbagai tantangan dalam menyelesaikan penelitian ini. Oleh karena itu, penulis sangat berterima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dari masa pelaksanaan penelitian hingga penyusunan skripsi ini. Penulis menyampaikan terima kasih dengan sepuh hati kepada Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si. selaku dosen pembimbing pertama sekaligus Koordinator Program Studi Biologi dan Ibu Dr. Rina Hidayati Pratiwi, M.Si. selaku dosen pembimbing kedua, yang selalu memberi arahan dan dukungan hingga penelitian ini terselesaikan. Ibu Prof. Dr. Dalia Sukmawati, M.Si. selaku dosen penguji pertama dan Bapak Rizky Priambodo, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji kedua dan pembimbing akademik yang telah membimbing dan mendukung penulis selama kegiatan perkuliahan.

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 Kerjasama Dalam Negeri (PKDN) antara Universitas Indraprasta PGRI (Unindra) dan Universitas Negeri Jakarta (UNJ) yang telah memberikan dana penelitian dengan nomor kontrak 105/E5/PG.02.00.PL/2024, 797/LL3/AL.04/2024; 0831/SKP.LT/LPPM/UNINDRA/2024.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua penulis, yang selalu mendoakan dan mendukung penulis. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada teman seperjuangan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi, yaitu Laila Ramanda yang selalu membantu dan menyelesaikan tantangan bersama. Terima kasih juga untuk laboran program studi Biologi, yaitu ibu Desi, kak Allika, kak Leni, kak Sayid, dan kak Reza, yang telah membantu jalannya penelitian di laboratorium.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis menerima kritik dan saran dari berbagai pihak demi pengembangan dan perbaikan skripsi ini. Skripsi ini diharapkan dapat memberikan manfaat baik bagi penulis maupun pembaca serta dapat digunakan sebaik-baiknya.

Jakarta, 6 Juli 2025

Ade La Yusup

ABSTRAK

ADE LA YUSUP. Isolasi dan Karakterisasi Bakteriofag Asal Air Limbah serta Uji Aktivitas Litik terhadap Bakteri *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468. Skripsi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Juli 2025.

Pengembangan bakteriofag untuk menghambat bakteri *Mycobacterium tuberculosis* menjadi alternatif yang potensial untuk mengatasi penyakit tuberkulosis. Pengujian secara *in vitro* pada umumnya menggunakan *Mycobacterium smegmatis* sebagai model. Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteriofag asal air limbah yang mampu melisis *M. smegmatis* ATCC 14468, serta mengetahui aktivitas litik terbaik dari kombinasi jenis bakteriofag dan dosis *multiplicity of infection* (MOI). Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok faktorial 3x3 dengan variabel bebas berupa jenis bakteriofag dan dosis MOI (0,01; 0,1; dan 1). Variabel terikat berupa aktivitas litik (PhageScore) dianalisis melalui ANOVA dua arah signifikansi 95% dan uji lanjut DMRT. Tiga jenis bakteriofag, yaitu Kc, Cm, dan Mt berhasil diisolasi dari air limbah. Ketiga bakteriofag tersebut memiliki karakteristik serupa, yaitu spesifik terhadap *M. smegmatis* ATCC 14468, tidak mampu menginfeksi sel inang pada fase lag, dan hanya stabil pada pH 7. Tingkat stabilitas bakteriofag Mt dapat mencapai suhu 45°C, sementara pada bakteriofag Kc dan Cm pada suhu 37°C. Aktivitas litik terbaik dimiliki oleh bakteriofag Cm pada dosis *multiplicity of infection* (MOI) 1 dengan nilai PhageScore sebesar 0,6920. Bakteriofag yang berhasil diisolasi memiliki karakteristik yang rentan terhadap aspek fisiologis manusia, seperti suhu dan pH. Perlu optimasi lebih lanjut terhadap ketiga bakteriofag yang ditemukan sehingga karakteristik dan aktivitasnya menjadi lebih baik. Penelitian ini berhasil mendapatkan bakteriofag asal air limbah yang bersifat litik terhadap *M. smegmatis* dan bakteriofag Cm berpotensi dikembangkan sebagai agen terapeutik untuk penyakit tuberkulosis.

Kata Kunci. *Multiplicity of infection*, PhageScore, Stabilitas suhu dan pH, Terapi fag, Tuberkulosis

ABSTRACT

ADE LA YUSUP. Isolation and Characterization of Bacteriophage from Wastewater and Lytic Activity Assessment for Bacteria *Mycobacterium smegmatis* ATCC 14468. Mini Thesis, Biologi Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Jakarta. July 2025.

The development of bacteriophages to inhibit *Mycobacterium tuberculosis* is a potential alternative for treating tuberculosis. In vitro testing generally uses *Mycobacterium smegmatis* as a model. This study aimed to isolate and characterize bacteriophages from wastewater capable of lysing *M. smegmatis* ATCC 14468, and to determine the optimal lytic activity from the combination of bacteriophage type and Multiplicity of Infection (MOI) doses. The study used a 3x3 factorial randomized block design with the independent variables being the type of bacteriophage and the MOI dose (0.01, 0.1, and 1). The dependent variable, lytic activity (PhageScore), was analyzed using a two-way ANOVA with 95% significance and Duncan's Multiple Range Test (DMRT) for post-hoc analysis. Three types of bacteriophages, namely Kc, Cm, and Mt, were successfully isolated from wastewater. These three bacteriophages shared similar characteristics: they were specific to *M. smegmatis* ATCC 14468, unable to infect host cells during the non-logarithmic (lag) phase, and were only stable at pH 7. The stability of bacteriophage Mt could reach a temperature of 45°C, while bacteriophages Kc and Cm were stable at 37°C. The best lytic activity was exhibited by bacteriophage Cm at a Multiplicity of Infection (MOI) of 1, with a PhageScore of 0.6920. The isolated bacteriophages have characteristics that are susceptible to human physiological conditions, such as temperature and pH. Further optimization of bacteriophages is necessary to improve their characteristics and activity. This research successfully isolated a wastewater-derived bacteriophage lytic to *M. smegmatis* with the potential to be developed as a therapeutic agent for tuberculosis, especially bacteriophage Cm.

Keywords. Multiplicity of infection, PhageScore, Phage therapy, Thermal and pH stability, Tuberculosis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
 BAB II KAJIAN PUSTAKA.....	 5
A. Bakteri <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Penyebab Tuberkulosis.....	5
B. <i>Mycobacterium smegmatis</i> sebagai Bakteri Model Pengujian Tuberkulosis.....	6
C. Bakteriofag dan Potensinya sebagai Agen Pengendalian Bakteri.....	7
D. Isolasi Bakteriofag Dilakukan melalui Metode <i>Double Layer Assay</i>	10
E. Mikobakteriofag Memiliki Prospek yang Menjanjikan untuk Menangani Infeksi Mikobakterium	11
F. Air Limbah sebagai Reservoir Bakteriofag	12
G. <i>Multiplicity of Infection</i> Mempengaruhi Dinamika Infeksi Bakteriofag.....	13
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	 14
A. Tempat dan Waktu Penelitian	14
B. Metode Penelitian	14
1. Alat dan Bahan.....	14
2. Prosedur Penelitian.....	15
C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	21
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 23
A. <i>Mycobacterium smegmatis</i> sebagai Bakteri Model Tuberkulosis.....	23
B. Bakteriofag Asal Air Limbah yang Virulen (Memiliki Aktivitas Litik) terhadap <i>Mycobacterium smegmatis</i>	26
C. Karakteristik Bakteriofag Asal Air Limbah	33

D. Aktivitas Litik Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	44
A. Kesimpulan	44
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN.....	54
RIWAYAT PENULIS	80



DAFTAR GAMBAR

		Halaman
1	Struktur bakteriofag T4, nomor mengindikasikan gen yang mengkode struktur	7
2	Mekanisme infeksi bakteriofag.....	8
3	Mekanisme litik holin endolisin	10
4	Penyebaran bakteriofag dari sel pertama ke sel sekitar membentuk plak.....	11
5	Alur penelitian	15
6	Koloni <i>M. smegmatis</i> pada media Middlebrook 7H10. (a) <i>M. smegmatis</i> ATCC 14468, (b) <i>M. smegmatis</i> ATCC 14468 ^{RIF} , dan (c) <i>M. smegmatis</i> ATCC 14468 ^{INH}	24
7	Kurva pertumbuhan <i>M. smegmatis</i> dengan agistasi (a) pada suhu 28°C dan (b) pada suhu 42°C (Tran & Cook, 2005)	25
8	Zona bening atau plak (tanda panah) pada bakteri <i>M. smegmatis</i> yang terbentuk akibat infeksi bakteriofag (b) Kc (Kali Cakung), (c) Cm (Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo), dan (d) Mt (Matraman).....	30
9	Ukuran plak pada bakteri <i>M. smegmatis</i> yang dibentuk oleh bakteriofag (a) Kc, (b) Cm, dan (c) Mt.....	33

DAFTAR TABEL

		Halaman
1	Kombinasi perlakuan bakteriofag dan dosis <i>multiplicity of infection</i> (MOI) terhadap aktivitas litik (PhageScore).....	14
2	Karakteristik air limbah yang digunakan.....	28
3	Hasil deteksi bakteriofag <i>M. smegmatis</i> yang ditandai dengan terbentuknya plak	31
4	Karakteristik bakteriofag <i>M. smegmatis</i> asal air limbah	34
5	Data stabilitas pH bakteriofag <i>M. smegmatis</i>	34
6	Data stabilitas suhu bakteriofag <i>M. smegmatis</i>	36
7	Kemampuan bakteriofag melisiskan berbagai <i>strain M. smegmatis</i>	37
8	Kemampuan bakteriofag melisiskan sel inang pada fase pertumbuhan berbeda.....	38
9	Aktivitas litik (PhageScore) bakteriofag <i>M. smegmatis</i> asal air limbah pada berbagai dosis <i>multiplicity of infection</i> (MOI).....	41
10	Total aktivitas litik (Total PhageScore) bakteriofag <i>M. smegmatis</i> asal air limbah.....	42

DAFTAR LAMPIRAN

		Halaman
1	Pembuatan Bahan dan Media	54
2	Dokumentasi Kultur Bakteri <i>M. smegmatis</i> yang Merata dalam Media Cair Middlebrook 7H9	57
3	Sumber Air Limbah	58
4	Dokumentasi Hasil Penapisan Bakteriofag Virulen <i>M. smegmatis</i> Asal Air Limbah	61
5	Dokumentasi Hasil Uji Variasi Rentang Inang Bakteriofag Asal Air Limbah.....	64
6	Dokumentasi Hasil Uji Kemampuan Bakteriofag Asal Air Limbah Menginfeksi Sel Inang pada Fase Non-log	67
7	Dokumentasi Hasil Uji Stabilitas Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap pH.....	69
8.	Dokumentasi Hasil Uji Stabilitas Bakteriofag Asal Air Limbah terhadap Suhu	73
9	Hasil Uji Statistik Aktivitas Litik Bakteriofag Asal Air Limbah...	77

