

## Pemanfaatan Bakteriofaga untuk Deteksi dan Biokontrol *Foodborne Pathogen*

(The Use of Bacteriophage for Detection and Biocontrol of Foodborne Pathogen)

Tati Ariyanti

Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata No. 30, Bogor 16114  
[tatiariyanti@gmail.com](mailto:tatiariyanti@gmail.com)

(Diterima 20 Februari 2018 – Direvisi 27 Februari 2018 – Disetujui 3 Maret 2018)

### ABSTRACT

Bacteriophages are viruses that have ability to attack bacterial cells in specific receptors, infect, multiply in bacterial cells and eventually lyse bacterial cells. This unique bacteriophage character is highly beneficial because it is harmless to mammalian cells and does not interfere with natural microbes. Bacteriophages are easy to obtain because they are widespread in the environment such as soil, water, animal, and farm waste or food. This paper describes the potential use of bacteriophages to detect pathogen and foodborne pathogen biocontrol. Bacteriophages are very potential to control the growth of pathogenic bacteria both in food industry and environment. Bacteriophages act as antibiotics, detection tool for pathogenic bacteria in the food chain, food biopreservative from pathogen bacteria contamination, and foodborne disease prevention. Although research on bacteriophage in Indonesia has not been widely reported, research on bacteriophage utilization is being carried on.

**Key words:** Bacteriophage, foodborne disease, antibiotics, pathogen bacteria

### ABSTRAK

Bakteriofaga merupakan virus yang mempunyai kemampuan menyerang sel bakteri pada reseptor yang spesifik, menginfeksi, bermultiplikasi dalam sel bakteri dan akhirnya melisis sel bakteri. Sifat bakteriofaga yang unik ini, sangat menguntungkan karena tidak berbahaya pada sel mamalia dan tidak mengganggu mikroba alamiah. Bakteriofaga mudah diperoleh di lingkungan seperti tanah, air, limbah peternakan dan makanan. Makalah ini menguraikan pemanfaatan bakteriofaga yang potensial untuk mendeteksi bakteri patogen dan sebagai biokontrol *foodborne pathogen*. Bakteriofaga sangat potensial untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri patogen baik di bidang industri makanan dan lingkungan. Bakteriofaga juga dapat berperan sebagai antibiotika, alat deteksi bakteri patogen pada rantai makanan dan biopreservasi makanan agar bebas dari kontaminasi bakteri patogen. Pemanfaatan bakteriofaga di Indonesia belum banyak dilaporkan, namun penelitian bakteriofaga sedang berlanjut.

**Kata kunci:** Bakteriofaga, *foodborne disease*, antibiotika, bakteri patogen

### PENDAHULUAN

Wabah penyakit oleh *foodborne pathogen bacteria* yang terjadi di banyak negara di dunia sangat berbahaya terhadap kesehatan manusia. Bakteri yang tergolong *foodborne pathogen* antara lain *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7 dan *Listeria*. Strain *E. coli* O157:H7 dikenal sebagai penyebab wabah diare berdarah di Michigan pada tahun 1982 berkaitan dengan konsumsi daging, susu, bahan makanan mentah/segar, air dan lingkungan yang terkontaminasi bakteri (Yoichi et al. 2005). Bakteri ini berperan sebagai sumber kontaminasi paling umum untuk *foodborne*, *waterborne* dan infeksi pada hewan melalui kontak secara langsung (Sheng et al. 2006).

Sapi, domba dan ternak ruminansia merupakan *reservoir primer* *E. coli* O157:H7 dan dapat membawa

bakteri tersebut dalam tubuhnya selama beberapa hari sampai berbulan-bulan. Pada ruminansia yang sehat, hewan dapat berperan sebagai karier *E. coli* O157:H7 dalam saluran pencernaannya sementara waktu dan mensekresikan bakteri di dalam feses secara intermiten (Sheng et al. 2006). Salah satu rute transmisi serogrup *E. coli* O157 adalah melalui kontaminasi feses sapi ke daging selama proses pemotongan sapi di rumah potong hewan (O'Flynn et al. 2004).

Strategi untuk mengurangi cemaran mikroba pada bahan mentah telah diaplikasikan selama bertahun-tahun namun untuk menginaktivasi bakteri patogen pada makanan sampai saat ini belum sempurna, terbukti kasus *foodborne disease* yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli*, *Listeria* dan lainnya terus meningkat. Penanganan kasus *foodborne disease* dengan cara mengendalikan

bakteri patogen menggunakan antibiotika bersifat terbatas untuk terapi antimikrobial pada manusia dan mempunyai pengaruh yang negatif (Garcia et al. 2008). Pemakaian antibiotika biasanya tidak hanya berpengaruh terhadap target bakteri patogen tetapi juga mikroflora normal sehingga mengakibatkan gangguan keseimbangan mikroba alamiah dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan dapat menjadi efek sekunder yang serius termasuk penyakit pada saluran pencernaan. Munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotika menjadi masalah yang kritis akibat penggunaan obat-obatan yang tidak tepat (Yoichi et al. 2005). Meluasnya resistensi terhadap antibiotika pada beberapa patogen yang berkaitan dengan *foodborne disease* merupakan kasus yang serius sehingga menjadi alasan utama untuk mencari strategi pengendalian infeksi bakteri patogen pangan yang lebih aman dan alami (Sajjad et al. 2004).

Bakteriofaga (faga) pertama kali ditemukan secara tidak langsung oleh Frederick W Twort di Inggris pada tahun 1915 dan oleh Felix d'Herelle, Institute Pasteur di Paris pada tahun 1917 (Garcia et al. 2008; Sharma et al. 2009). Faga merupakan parasit obligat intraseluler yang hanya mampu memperbanyak diri di dalam sel hospes/sel bakteri. Makalah ini mengulas lebih luas mengenai bakteriofaga, kelebihan, kelemahan dan aplikasinya untuk alat deteksi serta biokontrol *foodborne* patogen khususnya *E. coli* O157:H7.

## BAKTERIOFAGA

### Sumber bakteriofaga

Faga tersebar luas di ekosistem dan berperan penting dalam ekologi bakteri. Secara alamiah, faga berada dalam saluran pencernaan manusia, hewan termasuk unggas, pada makanan dan berbagai macam sumber lingkungan seperti sampah, tanah dan air (Bielke et al. 2012; Tiwari et al. 2014). Faga mampu memelihara keanekaragaman, keseimbangan dan ekologi mikroba dalam saluran pencernaan sapi terutama rumen untuk beradaptasi terhadap perubahan konsumsi pakan dan air minum (Bielke et al. 2012). Faga relatif mudah diisolasi dari berbagai macam sumber termasuk lingkungan yang berasal dari air dilaporkan telah ditemukan beberapa faga yang berbeda famili (Grabow 2001). Faga dilaporkan telah diisolasi dari bermacam-macam makanan asal hewan maupun tumbuhan seperti sosis ayam, sosis babi, daging giling, ikan air laut, susu skim, keju, macam-macam daging, jamur, selada, adonan biskuit yang didinginkan dan gulai daging ayam beku (Sharma et al. 2009).

### Struktur dan morfologi bakteriofaga

Bakteriofaga tersusun dari molekul asam nukleat yang dikelilingi lapisan protein yang disebut kapsid. Kapsid ini dibentuk oleh subunit-subunit yang identik satu sama lain yang disebut kapsomer. Kapsomer terdiri dari subunit protein atau molekul yang disebut protomer. Beberapa faga juga mengandung lipida dan struktur tambahan seperti ekor atau bagian ujung yang tajam (Grabow 2001).

Berdasarkan morfologi dan kandungan asam nukleatnya, faga dapat diklasifikasikan ke dalam dua kelompok yaitu faga yang mempunyai kepala dan ekor digolongkan dalam Ordo *Caudovirales* (famili *Myoviridae*, *Siphoviridae* dan *Podoviridae*) dan faga yang hanya memiliki kepala saja tanpa ekor yaitu faga *Polyhedral DNA* (*Microviridae*, *Corticoviridae* dan *Tectiviridae*), faga *Polyhedral RNA* (*Leviviridae* dan *Cystoviridae*), faga *filamentous* (*Inoviridae* dan *Lipothrixviridae*) dan faga *Pleomorphic* (*Plasmaviridae* dan *Fuselloviridae*) (Grabow 2001; Ackermann 2005).

Famili *Myoviridae* mempunyai ciri kepala berbentuk *icosahedral* atau *elongated*, mengandung *dsDNA* dan ekor panjang yang bersifat kontraktil (contoh *coliphage* T4, P1 dan Mu). Ciri famili *Siphoviridae* mempunyai kepala berbentuk *icosahedral*, mengandung *linear dsDNA*, ekor panjang non-kontraktil (contoh *coliphage* T5 dan T1). Ciri famili *Podoviridae* mempunyai kepala berbentuk *icosahedral*, *linear dsDNA*, ekor pendek non-kontraktil (contoh *coliphage* T7 dan *enterobacter* faga P22). Famili *Microviridae* mempunyai kepala berbentuk *icosahedral* mengandung *ssDNA*, tanpa ekor (contoh faga fX174). Famili *Corticoviridae* mempunyai ciri kepala *icosahedral* mengandung lipida dengan *dsDNA* sedang famili *Tectiviridae* mempunyai kepala ganda yang mengandung lipida dan *dsDNA*. Famili *Leviviridae* mempunyai kepala *icosahedral* dengan *ssRNA* dan tidak berekor (contoh *enterobacteriophage* MS2 dan QB). Famili *Cystoviridae* mempunyai kepala berbentuk *icosahedral* disertai dengan lapisan pembungkus melingkar dan mengandung *segmented dsDNA*. Famili *Inoviridae* berbentuk filamen atau batang dengan *ssDNA*, tidak berekor (contoh faga f1, fd dan M13). Famili *Lipothrixviridae* berbentuk batang berselubung dengan *linear dsDNA*. Famili *Plasmaviridae* berbentuk *pleomorphic* berselubung dengan *sircular dsDNA* dan famili *Fuselloviridae* mempunyai kapsul berbentuk seperti buah lemon tanpa selubung, mengandung *sircular dsDNA* (Grabow 2001).

## Reseptor bakteriofaga

Spesifisitas faga ditentukan oleh reseptor (molekul protein) pada permukaan sel bakteri yang rentan. Faga tertentu hanya akan mengenal reseptor yang spesifik, kemudian menempel dan menginfeksi sel bakteri. Lokasi reseptor faga pada sel bakteri adalah pada dinding sel bakteri, fli, fimbria dan flagela sel bakteri. Faga yang mengenali tempat reseptor pada dinding sel bakteri dikenal sebagai *somatic phage* atau faga somatik. Faga somatik terdiri dari famili *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* dan *Microviridae*. Kolifaga seri T termasuk ke dalam faga somatik. Tempat reseptor faga yang lain berlokasi pada fimbria fertiliti (*sex*) dari sel bakteri. Faga yang secara khas menggunakan tempat reseptor pada fimbria fertiliti (*sex*) dikenal dengan nama faga *male-specific*. Jenis faga yang termasuk anggota *male-specific* adalah *Inoviridae* dan *Leviviridae* (Grabow 2001).

## Replikasi bakteriofaga

Replikasi faga somatik adalah dengan menempel pada permukaan sel bakteri dengan ekornya dan menembus ke dalam sel bakteri melalui dinding sel yang diikuti dengan menginjeksikan materi genetik. Kemungkinan lain adalah faga masuk ke dalam sel bakteri dengan sempurna dan memulai replikasi partikel faga. Faga menggunakan ribosom, faktor sintesis protein, asam amino dan energi dari sel hospes untuk replikasi. Oleh sebab itu, faga hanya dapat memperbanyak diri di dalam metabolisme bakteri yang menjadi hospes atau inangnya. Partikel faga selanjutnya disusun sehingga membentuk faga yang sempurna kemudian partikel-partikel faga baru yang terbentuk akan dikeluarkan dari sel bakteri dengan cara melisis dinding sel bakteri dan akhirnya sel bakteri menjadi mati (Higgins et al. 2005; Callaway et al. 2008; Viazis et al. 2011).

Berdasarkan cara replikasinya di dalam sel bakteri, faga dibagi menjadi dua grup yaitu faga litik dan lisogenik. Faga litik atau faga virulen merupakan faga yang mempunyai cara replikasi yang khas, yang dimulai segera setelah faga menginfeksi sel hospes, bermultiplikasi dan partikel faga-faga baru yang dihasilkan akan dilepaskan dari sel bakteri dalam jumlah yang banyak melalui lisisnya sel hospes dalam waktu paling sedikit 30 menit setelah infeksi. Satu sel bakteri yang terinfeksi dapat diproduksi sekitar 200 partikel faga baru. Faga tipe ini apabila ditumbuhkan pada media agar yang mengandung bakteri inangnya, morfologi faga dapat diamati dengan terbentuknya plak (*plaque*) yang jernih pada permukaan media agar.

Faga lisogenik atau *temperate phage*, replikasi di dalam sel bakteri tidak segera dilakukan setelah menginfeksi sel bakteri. Replikasi faga dilakukan

berdasarkan beberapa kondisi dengan menggabungkan sebagian asam nukleat ke dalam sel bakteri untuk memulai replikasi dan sebagian asam nukleat sisanya akan menginduksi dan memulai replikasi dan selanjutnya sel menjadi lisis. Faga lisogenik dapat melakukan replikasi secara langsung di dalam sitoplasma sel hospes tanpa menghasilkan partikel faga yang baru dan tanpa melisis sel hospes. Replikasi ini diperantarai oleh elemen genetik faga yang dikenal sebagai plasmid atau episom. Kondisi optimal untuk replikasi *somatic phage* maupun *male-specific phage* dalam sel bakteri yang ada di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas (Grabow 2001).

## Isolasi dan karakterisasi bakteriofaga

Faga dapat dideteksi secara kualitatif melalui tahapan pengkayaan dalam media pertumbuhan yang mengandung sel inang dari faga dan diinkubasi pada suhu yang sesuai untuk mendukung replikasi faga hingga terbentuk partikel faga yang baru. Faga yang murni dapat diperoleh dengan filtrasi menggunakan membran berpori yang berukuran 0,22 µm. Beberapa metode deteksi dapat dilakukan seperti teknik pertumbuhan faga pada *double layer agar* (DLA) untuk melihat morfologi plak pada permukaan media agar yang telah mengandung sel bakteri/inangnya. Plak tersebut merupakan daerah bening atau zona pada media agar yang menunjukkan daerah pertumbuhan bakteri yang dilisis oleh faga. Karakterisasi bakteriofaga dilakukan untuk mengetahui famili dari faga yang spesifik menginfeksi bakteri tertentu misalnya *E. coli* O157:H7. Faga yang spesifik menginfeksi *E. coli* O157:H7 dikenal sebagai *coliphage*. Metode karakterisasi faga antara lain adalah dengan mengamati morfologi faga menggunakan *transmission electron microscopy* (TEM), karakterisasi molekuler menggunakan metode *polymeration chain reaction* (PCR), *random amplified polymorphic DNA* (RAPD) dan sekuensing faga (Lee 2009; Santos et al. 2009; Tomat et al. 2013).

## APLIKASI BAKTERIOFAGA

Sejak faga ditemukan pertama kali, telah dimanfaatkan untuk bermacam-macam aplikasi, seperti deteksi cepat bakteri patogen, *phage typing*, *fluorescent bacteriophage assay*, *amplification technology*, terapi faga dan biokontrol terhadap *foodborne pathogen* (Shin et al. 2012). Faga dapat dimanfaatkan dalam pengendalian beberapa bakteri patogen pada manusia. Sebagai agen terapi maupun bakterisidal alam, faga mampu menghambat bakteri yang tidak diinginkan dan tidak bersifat toksik pada rantai makanan (Yoichi et al. 2005; Garcia et al. 2008).

Fungsi lain dari pemberian faga dapat meningkatkan kualitas dan keamanan produk makanan yang terkontaminasi oleh bermacam-macam bakteri *foodborne* termasuk *E. coli* O157:H7 karena faga mempunyai potensi dalam mengatur keseimbangan mikroba pada makanan (Kudva et al. 1999; Sharma et al. 2009; Coffey et al. 2011). Pengendalian pertumbuhan bakteri dapat dilakukan sejak awal produksi pangan asal hewan atau tumbuhan sampai masa penyimpanan dalam refrigerator (Greer 2005). Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa faga dapat membantu menurunkan kejadian wabah penyakit bakterial baik sebagai agen dalam deteksi cepat penyakit, sebagai agen terapi *foodborne pathogen* di peternakan maupun biokontrol pada rantai makanan (Hagens & Loessner 2007). Untuk kepentingan aplikasi, jenis faga yang biasa digunakan untuk mengeliminasi bakteri patogen adalah faga litik (Coffey et al. 2011).

### Bakteriofaga untuk deteksi bakteri patogen

Interaksi faga secara spesifik dengan sel bakteri bermanfaat untuk membedakan berbagai galur bakteri penyebab penyakit atau membedakan berbagai serotipe bakteri yang terlihat identik. Kemampuan faga ini berguna sebagai alat deteksi untuk mengetahui keberadaan bakteri patogen pada makanan, bahan makanan dan bahan asal lingkungan. Metode untuk mengidentifikasi bakteri patogen dengan menggunakan faga telah lama dikenal sebagai *phagetyping*. Metode ini biasanya digunakan sebagai metode epidemiologis yang penting, untuk membedakan serotipe bakteri yang terlihat identik dan membantu dalam menentukan cara penyebaran penyakit (Poernomo et al. 2006; Hagens & Loessner 2007; Garcia et al. 2008).

Metode yang dapat digunakan untuk menentukan karakterisasi bakteri faga diantaranya ribotiping, *random amplified polymorphic DNA-PCR fingerprinting* (RAPD) atau *pulsed field gel electrophoresis of enzyme-digested DNA* (PFGE), namun *phagetyping* tetap dipilih sebagai metode yang bermanfaat karena bersifat spesifik, cepat, relatif sederhana dan murah (Poernomo et al. 2006; Hagens & Loessner 2007).

Aplikasi faga untuk deteksi bakteri patogen di lapangan umumnya ditujukan untuk keamanan air, pangan, hasil pertanian dan kesehatan hewan (Hagens & Loessner 2007; Garcia et al. 2008), sedangkan sebagai alat diagnostik, faga telah banyak dikembangkan dengan cara memodifikasi faga secara genetik menggunakan aktivitas gen reporter. Beberapa gen reporter yang digunakan adalah gen *lux*, gen *luc*, gen *inaW* dan gen *lacZ*. Gen reporter dimasukkan ke dalam genom faga, selanjutnya faga reporter akan mentransduksi gen reporter ke dalam sel bakteri dan terjadi replikasi. Selanjutnya gen reporter akan

diekspresikan dan dideteksi sebagai signal pada luminometer. Teknik ini pertama kali dilaporkan oleh Ulitzur dan Kuhn pada tahun 1987 (Hagens & Loessner 2007).

Aplikasi faga untuk kepentingan medis dan farmasi dilakukan dengan pengembangan *phage antibody technology* (PAA). Deteksi bakteri patogen dalam bahan pangan yaitu dengan melabel DNA faga dengan pewarnaan *fluorescent*, yang berperan sebagai antibodi untuk mengidentifikasi secara spesifik target organisme (Goodridge et al. 2003).

*Phage amplification assay* atau *phage amplified biologically assay* (PhaB) merupakan metode yang tidak memodifikasi faga sebagai alat deteksi bakteri patogen. Hasil deteksi berupa terbentuknya plak atau zona bening pada media agar. Metode PAA atau PhaB relatif sederhana, tidak membutuhkan latihan khusus seperti metode molekuler, lebih mudah diaplikasikan, tidak mahal dan tidak membutuhkan alat khusus (Rees & Loessner 2005; Rees & Botsaris 2012).

### Bakteriofaga untuk pengendalian *E. coli* O157:H7 pada rantai makanan

Strategi pengendalian *E. coli* O157:H7 pada rantai makanan dengan memanfaatkan aplikasi faga telah terbukti potensial, penggunaan yang aman, penanganan yang relatif mudah, bersifat spesifik dan mempunyai aktivitas antimikrobial yang tinggi. Pengendalian yang efektif dilakukan pada setiap tahapan produksi pada rantai makanan, yang dimulai dari peternakan sampai dengan meja saji (*farm to fork*). Cara aplikasi faga pada setiap tahapan rantai makanan (*preharvest* dan *postharvest*) meliputi (1) Terapi faga untuk mencegah dan mengurangi kolonisasi dan penyakit pada hewan di peternakan; (2) Biosanitasi faga yang berguna untuk disinfeksi peralatan dan permukaan kontak pada beberapa material; (3) Biokontrol faga pada produk pangan, dapat berupa dekontaminasi pada karkas, produk bahan pangan mentah lainnya seperti buah-buahan segar dan sayuran; serta (4) Sebagai biopreservasi alam, yang bermanfaat untuk memperpanjang umur simpan produk akhir bahan pangan asal pabrik (Garcia et al. 2008; Sillankorva et al. 2012).

### Bakteriofaga untuk terapi infeksi *E. coli* O157:H7 pada ternak

Eliminasi *E. coli* O157:H7 pada stadium *preharvest* mempunyai peranan yang sangat penting dalam mencegah masuknya bakteri patogen ke dalam rantai makanan. Pengelolaan diet, terapi probiotik, vaksinasi dan penggunaan antibiotika *colicin* untuk mengurangi risiko infeksi *E. coli* O157:H7 pada ternak telah dilaporkan namun belum optimal, karena masih

ditemukan rekolonisasi bakteri patogen terutama *strain E. coli* O157:H7 pada ternak setelah beberapa strategi tersebut diaplikasikan (Kudva et al. 1999). Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa terapi faga pada hewan telah terbukti berhasil untuk mengurangi infeksi *E. coli* O157:H7 baik pada ternak sapi, domba maupun unggas (Sheng et al. 2006; Goodridge & Bisha 2011).

Dasar pemberian terapi faga pada ternak ruminansia adalah untuk menurunkan jumlah *shedding* bakteri patogen dalam feses. Cara yang dilakukan adalah dengan menurunkan konsentrasi *E. coli* O157:H7 dalam saluran gastrointestinal sapi sehingga dapat membatasi durasi *shedding* bakteri patogen. Penurunan *shedding* bakteri patogen dalam feses terlihat lebih bermakna apabila terapi faga diberikan pada ruminansia lepas sapih yang berusia 7-8 minggu (Goodridge & Bisha 2011).

Keberhasilan strategi terapi faga untuk mengendalikan atau mengurangi *E. coli* O157:H7 pada sapi dan ruminansia lainnya selama masa pertumbuhan, berguna untuk menurunkan risiko paparan *E. coli* O157:H7 pada manusia. Terapi faga pada sapi dewasa yang diberikan sebelum pematangan karkas, dapat mengurangi jumlah *E. coli* O157:H7 yang diekskresikan pada feses sapi dan dapat berpengaruh besar dalam menekan terjadinya kontaminasi *E. coli* O157:H7 pada karkas (Bach et al. 2003; Greer 2005; Sillankorva et al. 2012). Pemberian faga pada ruminansia dapat diberikan secara oral melalui air minum atau pakan namun aplikasi ini tidak cukup berhasil untuk menurunkan jumlah *E. coli* dalam saluran pencernaan.

Kegagalan pemberian faga secara oral pada ruminansia dilaporkan karena faga berikatan secara non-spesifik pada partikel makanan sehingga faga menjadi inaktif dalam abomasum karena kondisi asam dan jumlah faga yang diberikan secara oral tidak cukup mencapai saluran pencernaan ruminansia. Penurunan jumlah *E. coli* pada saluran pencernaan ruminansia dengan aplikasi oral dapat berhasil dengan pemberian *encapsulated phages* dalam matrik polimerik.

Pada umumnya, terapi faga tunggal dapat menimbulkan terjadinya resistensi sehingga aplikasinya digunakan beberapa jenis faga atau campuran faga untuk terapi pada ternak agar lebih efektif untuk mengendalikan *E. coli* O157:H7 (Goodridge & Bisha 2011). Pemberian campuran faga (CEV1 dan CEV2) secara oral pada domba dapat memberantas hampir 100% patogen (>99,9%) dibandingkan dengan penggunaan faga tunggal CEV1. Campuran faga (KH1 dan SH1) pada sapi yang diberikan secara langsung melalui rektal sebanyak  $10^{10}$  pfu selama tujuh hari dan secara oral melalui air minum dengan konsentrasi faga  $10^6$  pfu, mampu menurunkan konsentrasi *E. coli* O157:H7 pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan tingkat signifikansi

$P < 0,05$  (Goodridge & Bisha 2011; Sillankorva et al. 2012).

Terapi faga pada unggas dilaporkan berhasil mencegah terjadinya infeksi saluran pernafasan yang fatal pada ayam pedaging. Aplikasi faga secara aerosol *spraying* dan injeksi intramuskular memberikan hasil yang maksimal untuk menurunkan angka kematian pada ayam pedaging. Sedang pemberian faga yang ditambahkan dalam air minum tidak cukup efisien untuk melindungi unggas dari infeksi saluran pernafasan akibat *E. coli* (Goodridge & Bisha 2011; Sillankorva et al. 2012).

### **Bakteriofaga untuk biosanitasi**

Pemakaian bakteriofaga sebagai biosanitasi sangat menguntungkan karena mampu mengatasi kontaminan bakteri patogen yang tidak mudah dibersihkan walaupun sudah dilakukan sanitasi, termasuk adanya *biofilm* pada permukaan peralatan-peralatan yang digunakan dalam penanganan, penyimpanan atau pengolahan bahan pangan (Sillankorva et al. 2012). Goodridge & Bisha (2011) melaporkan bahwa campuran faga dapat digunakan untuk dekontaminasi permukaan benda-benda keras. Penggunaan campuran tiga jenis faga atau ECP-100 dengan konsentrasi yang berbeda ( $10^8$ ,  $10^9$  dan  $10^{10}$  pfu/ml) pada permukaan kaca dan gipsum, mampu mengurangi jumlah *E. coli* O157:H7 lebih dari 4 log.

### **Bakteriofaga untuk biokontrol *E. coli* O157:H7 pada makanan**

Pemanfaatan bakteriofaga dalam biokontrol bakteri pada makanan dapat diaplikasikan pada berbagai makanan baik makanan asal tumbuhan, makanan asal hewan maupun makanan yang mudah busuk. Eliminasi *E. coli* O157:H7 selama proses pengolahan bahan pangan menggunakan faga dilaporkan efektif (Kudva et al. 1999). Aplikasi dapat dilakukan secara langsung pada permukaan makanan seperti daging, produk segar, pangan olahan bahkan dicampur ke dalam susu. Pemberian campuran faga (ECP-100) yang diaplikasikan pada macam-macam makanan (tomat, bayam, brokoli dan daging sapi) secara penyemprotan (*spray*) dilaporkan juga efektif untuk mengurangi kontaminasi *E. coli* O157:H7 (Sharma et al. 2009; Goodridge & Bisha 2011; Sillankorva et al. 2012).

### **Bakteriofaga untuk biopreservasi**

Efektivitas faga sebagai agen biopreservasi ditunjukkan pada kemampuannya dalam melisis sel hospes baik bakteri patogen maupun bakteri psikotropik yang tumbuh pada bahan makanan yang

disimpan di dalam refrigerator. Faga tetap dapat mengontrol multiplikasi bakteri dalam makanan walaupun makanan tersebut telah dikeluarkan dari refrigerator dan diletakkan di suhu ruang. Faga juga mampu mencegah kontaminasi dan multiplikasi bakteri patogen pada makanan selama pemasaran bahan pangan (Goodridge & Bisha 2011).

### KEUNGGULAN DAN KELEMAHAN BAKTERIOFAGA

Beberapa keunggulan dari sifat faga yang dapat mendukung keberhasilan sebagai agen biokontrol adalah (1) Bersifat alamiah, komensal pada manusia dan hewan; (2) Terdapat di alam, dapat ditemukan di mana-mana termasuk pada ekosistem makanan dan siap diisolasi; (3) Stabil dalam makanan dan dapat hidup pada proses pengolahan makanan; (4) Pemberian faga tidak mempunyai efek samping pada kualitas makanan yaitu tidak ada perubahan pada makanan berupa perubahan fisik, bau dan rasa; (5) Mempunyai aktivitas dan spesifisitas yang tinggi pada sel hospes atau sel bakteri yang peka. Dalam proses adsorpsi, infeksi dan replikasi faga menggunakan spesifik *strain* dalam mengendalikan spesies target tanpa mempengaruhi keberadaan mikroflora normal dalam saluran pencernaan; (6) Mampu hidup dan bertahan terus-menerus karena mampu bereplikasi sendiri di dalam sel hospes; (7) Tidak bersifat toksik atau merusak sel eukariot; (8) Dapat aktif terhadap *biofilm*; (9) Preparasi dan aplikasi yang mudah; (10) Dapat diaplikasikan di sepanjang rantai makanan sebagai terapi faga, biosanitasi maupun biopreservasi; (11) Sebagai alat untuk deteksi bakteri patogen; dan (12) Sebagai sumber antimikrobia yang potensial karena mengandung endolisin dan hidrolase peptidoglikan (Greer 2005; Garcia et al. 2008; Bielke et al. 2012; Sillankorva et al. 2012).

Kelemahan sifat faga dalam aplikasinya, antara lain (1) Faga dapat bersifat resisten terhadap bakteri yang mutan; (2) Membutuhkan jumlah besar terhadap bakteri target di saluran pencernaan hewan ruminansia; (3) Berperan dalam proses transduksi, yang dapat mentransfer sifat-sifat yang tidak diinginkan seperti gen virulen dari satu organisme ke organisme yang lain; (4) Faga lisogenik/*temperate* mampu merubah bakteri normal menjadi patogen; (5) Dapat menimbulkan antigenisitas (respon imun dan alergenik); dan (6) Pertimbangan konsumen dengan penambahan virus ke dalam makanan (Greer 2005; Sillankorva et al. 2012).

### PEMILIHAN FAGA YANG OPTIMAL

Beberapa kelemahan faga dapat mempengaruhi keberhasilan aplikasi faga di lapang. Strategi yang dapat dilakukan untuk mengatasi terjadinya faga yang resisten adalah dengan menggunakan campuran beberapa jenis faga untuk terapi infeksi *E. coli* O157:H7 pada ternak. Penggunaan faga tunggal dalam terapi faga sebaiknya dihindari (Greer 2005; Sillankorva et al. 2012).

Perlu dipertimbangkan lingkungan pertumbuhan faga yang sesuai untuk dapat meningkatkan produksi faga secara maksimal, antara lain adalah penggunaan bakteri yang spesifik, kondisi fisiologis bakteri sebagai hospes, modifikasi pada medium pertumbuhan faga, tekanan oksigen, praperlakuan menggunakan bahan kimia maupun penambahan antibiotika seperti penisilin, beta-lactam, aztreonam dan cefixime. Beberapa antibiotika tersebut dilaporkan dapat menstimuli bakteri untuk memproduksi faga (You et al. 2002; Santos et al. 2009; Bielke et al. 2012). Pemilihan bakteri yang bersifat litik untuk aplikasi faga lebih sesuai daripada menggunakan bakteri yang bersifat lisogenik. Memberikan edukasi peternak, produser dan masyarakat umum mengenai keunggulan faga dalam aplikasinya di lapang. Keberhasilan aplikasi faga juga perlu mendapat dukungan dari komite etik penelitian dan regulasi pemerintah (Sillankorva et al. 2012).

### KESIMPULAN

Bakteriofaga dapat diaplikasikan untuk pengendalian *foodborne disease* seperti kontaminasi *E. coli* O157:H7, sebagai alternatif pengganti antibiotika dan dapat diaplikasikan secara luas dalam rantai makanan. Keberhasilan aplikasi faga didukung dengan pemberian dosis yang tepat berupa campuran faga dengan volume dan konsentrasi tertentu serta cara pemberian faga baik secara oral, intramuskular, rektal maupun *spray*. Aplikasi faga telah terbukti potensial karena aman, bersifat spesifik, penanganan yang relatif mudah dan mempunyai aktivitas antimikrobia yang tinggi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pustakawan di Balai Besar Penelitian Veteriner atas bantuan dan dukungannya. Terima kasih disampaikan kepada dosen kekhususan Program Doktor Ilmu

Biomedik Universitas Indonesia, Dr. Ir. Siswa Setyahadi, MSc., dari Pusat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT) atas bimbingan dan masukannya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ackermann HW. 2005. Bacteriophage classification. In: Kutter, Elizabeth, Sulakvelidze A, editors. Bacteriophage, biology and applications. Washington DC (US): CRC Press. p. 29-66.
- Bach SJ, McAllister TA, Veira DM, Gannon VPJ, Holley RA. 2003. Effect of bacteriophage DC22 on *Escherichia coli* O157:H7 in an artificial rumen system (rusitec) and inoculated sheep. *Anim Res*. 52:89-101.
- Bielke LR, Tellez G, Hargis BM. 2012. Successes and failures of bacteriophage treatment of Enterobacteriaceae Infections in the gastrointestinal tract of domestic animals. In: Kurtboke I, editor. Bacteriophages [Internet]. Rijeka (Croatia): InTech. p. 159-178. Available from: <https://www.intechopen.com/books/bacteriophages/successes-and-failures-of-bacteriophage-treatment-of-enterobacteriaceae-infections-in-the-gastrointe>
- Callaway TR, Edrington TS, Brabban AD, Anderson RC, Rossman ML, Engler MJ, Carr MA, Genovese KJ, Keen JE, Looper ML, et al. 2008. Bacteriophage isolated from feedlot cattle can reduce *Escherichia coli* O157:H7 populations in ruminant gastrointestinal tracts. *Foodborne Pathog Dis*. 5:183-191.
- Coffey B, Rivas L, Duffy G, Coffey A, Ross RP, McAuliffe O. 2011. Assessment of *Escherichia coli* O157:H7-specific bacteriophages e11/2 and e4/1c in model broth and hide environments. *Int J Food Microbiol*. 147:188-194.
- Garcia P, Martinez B, Obeso JM, Rodriguez A. 2008. Bacteriophages and their application in food safety. *Lett Appl Microbiol*. 47:479-485.
- Goodridge L, Gallaccio A, Griffiths MW. 2003. Morphological, host range, and genetic characterization of two coliphages. *Appl Environ Microbiol*. 69:5364-5371.
- Goodridge LD, Bisha B. 2011. Phage-based biocontrol strategies to reduce foodborne pathogens in foods. *Bacteriophage*. 1:130-137.
- Grabow WOK. 2001. Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. *Water SA*. 27:251-268.
- Greer GG. 2005. Bacteriophage control of foodborne bacteria. *J Food Prot*. 68:1102-1111.
- Hagens S, Loessner MJ. 2007. Application of bacteriophages for detection and control of foodborne pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*. 76:513-519.
- Higgins JP, Higgins SE, Guenther KL, Huff W, Donoghue AM, Donoghue DJ, Hargis BM. 2005. Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. *Poult Sci*. 84:1141-1145.
- Kudva IT, Jelacic S, Tarr PI, Youderian P, Hovde CJ. 1999. Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. *Appl Environ Microbiol*. 65:3767-3773.
- Lee HS. 2009. Somatic coliphage families as potential indicators of enteric viruses in water and methods for their detection [Dissertation]. [Chapel Hill (US)]: University of North Carolina.
- O'Flynn G, Ross RP, Fitzgerald GF, Coffey A. 2004. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for biocontrol of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*. 70:3417-3424.
- Poernomo S, Priadi A, Natalia L. 2006. *Phage typing* dan uji sensitivitas terhadap berbagai antibiotika dari isolat *Salmonella enteritidis* asal Indonesia. *JITV*. 11:157-166.
- Rees C, Botsaris G. 2012. The use of phage for detection, antibiotic sensitivity testing and enumeration. In: Cardona PJ, editor. Understanding tuberculosis - Global experiences and innovative approaches to the diagnosis. Rijeka (Croatia): InTech. p. 293-306.
- Rees C, Loessner M. 2005. Phage for detection of pathogenic bacteria. In: Elizabeth KSA, editor. Bacteriophage, biology and applications. Florida (US): CRC Press. p. 267-284.
- Sajjad M, Rahman SU, Hussain I, Rasool MH. 2004. Application of coliphage lysate: A preliminary trial to treat an experimental *Escherichia coli* infection in broiler chicken. *Int J Poult Sci*. 3:538-542.
- Santos SB, Carvalho CM, Sillankorva S, Nicolau A, Ferreira EC, Azeredo J. 2009. The use of antibiotics to improve phage detection and enumeration by the double-layer agar technique. *BMC Microbiol*. 9:1-10.
- Sharma M, Patel JR, Conway WS, Ferguson S, Sulakvelidze A. 2009. Effectiveness of bacteriophages in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut cantaloupes and lettuce. *J Food Prot*. 72:1481-1485.
- Sheng H, Knecht HJ, Kudva IT, Hovde CJ. 2006. Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Appl Environ Microbiol*. 72:5359-5366.
- Shin H, Lee JH, Kim H, Choi Y, Heu S, Ryu S. 2012. Receptor diversity and host interaction of bacteriophages infecting *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. *PLoS One*. 7:e43392.
- Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J, Sillankorva SM, Oliveira H, Azeredo J. 2012. Bacteriophages and their role in food safety. *Int J Microbiol*. 2012:1-13.
- Tiwari R, Dhama K, Chakraborty S, Kumar A, Rahal A, Kapoor S. 2014. Bacteriophage therapy for safeguarding animal and human health: A review. *Pakistan J Biol Sci*. 17:301-315.

- Tomat D, Mercanti D, Balagué C, Quiberoni A. 2013. Phage biocontrol of enteropathogenic and shiga toxin-producing *Escherichia coli* during milk fermentation. *Lett Appl Microbiol.* 57:3-10.
- Viazis S, Akhtar M, Feirtag J, Diez-Gonzalez F. 2011. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. *Food Microbiol.* 28:149-157.
- Yoichi M, Abe M, Miyanaga K, Unno H, Tanji Y. 2005. Alteration of tail fiber protein gp38 enables T2 phage to infect *Escherichia coli* O157:H7. *J Biotechnol.* 115:101-107.
- You L, Suthers PF, Yin J. 2002. Effects of *Escherichia coli* physiology on growth of phage T7 *in vivo* and *in silico*. *J Bacteriol.* 184:1888-1894.