

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



(a)



(b)



(c)



(d)

BERITA BIOLOGI

Vol. 17 No. 1 April 2018

Terakreditasi Berdasarkan Keputusan Kepala Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
No. 636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015

Tim Redaksi (*Editorial Team*)

Andria Agusta (Pemimpin Redaksi, *Editor in Chief*)
(Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kusumadewi Sri Yulita (Redaksi Pelaksana, *Managing Editor*)
(Sistematika Molekuler Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Gono Semiadi
(Mamalia, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Atit Kanti
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Siti Sundari
(Ekologi Lingkungan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Evi Triana
(Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Kartika Dewi
(Taksonomi Nematoda, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dwi Setyo Rini
(Molekuler Tumbuhan Biologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Desain dan Layout (*Design and Layout*)

Muhamad Ruslan, Fahmi

Kesekretariatan (*Secretary*)

Nira Ariasari, Enok, Budiarmo, Liana

Alamat (*Address*)

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)
Jalan Raya Jakarta-Bogor KM 46,
Cibinong 16911, Bogor-Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067
Faksimili (021) 8765059
Email: berita.biologi@mail.lipi.go.id
jurnalberitabiologi@yahoo.co.id
jurnalberitabiologi@gmail.com

Keterangan foto cover depan: Perlakuan (a) empat baris *Crotalaria juncea*, (b) dua baris *Crotalaria juncea*, (c) kacang tanah, dan (d) pupuk kandang dalam tata tanam baris ganda benih ganda PKP 50/170 cm (*Treatments (a) four rows of Crotalaria juncea, (b) two rows of Crotalaria juncea, (c) groundnut, and (d) manure in double rows double seeds planting arrangement CTC 50/170 cm*) sesuai dengan halaman 23. (*as in page 23*).



P-ISSN 0126-1754
E-ISSN 2337-8751
636/AU3/P2MI-LIPI/07/2015
Volume 17 Nomor 1, April 2018

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

Berita Biologi	Vol. 17	No. 1	Hlm. 1 – 90	Bogor, April 2018	ISSN 0126-1754
----------------	---------	-------	-------------	-------------------	----------------

Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Ucapan terima kasih kepada
Mitra Bebestari nomor ini
17(1) – April 2018

Dr. Yopi Sunarya
(Bioteknologi, Pusat Penelitian Bioteknologi - LIPI)

Dr. Fikarwin Zuska
(Ekologi, FISIP - Universitas Sumatera Utara)

Ir. Eka Sugiyarta, MS
(Genetika dan Pemuliaan, Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia)

Prof. Dr. Ir. Yohanes Purwanto
(Etnobotani, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Ir. Hutwan Syarifuddin, M.P
(Konservasi dan Kebijakan Lingkungan, FAPET - Universitas Jambi)

Dr. Siti Sundari M.Si.
(Ekologi Lingkungan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Haryono M.Si.
(Ekologi Hewan, Pusat Penelitian Biologi - LIPI)

Dr. Livia Rossila Tanjung
(Biologi Molekuler dan Perikanan, Pusat Penelitian Limnologi - LIPI)

Dr. Daniel Natanael Lumbantobing
(Biosistemika Ikan, Division of Fishes Smithsonian National Museum of Natural History,
Washington DC, USA)

KOMUNIKASI PENDEK
SHORT COMMUNICATION

AKTIVITAS ANTIBIOFILM BAKTERI *Escherichia coli*
OLEH BAKTERIOFAG SECARA *IN VITRO*
[*Escherichia coli* biofilm in vitro eradication by bacteriophage]

Evi Triana

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jl. Raya Bogor Km. 46, Cibinong 16911
email: evitriana03@yahoo.com

ABSTRACT

Several *Escherichia coli* strains are pathogenic. Excessive and noncompliant use of antibiotics and disinfectants may cause bacteria to build resistance mechanisms. Forming biofilms cause eradication more difficult. An effective cleaning action required antibiofilm and antimicrobial agents that have different mechanisms with antibiotics and disinfectants. Bacteriophages are potential candidates because they meet these requirements. Bacteriophages produce specific polysaccharide lyase enzymes capable of degrading biofilm extracellular polymeric matrix. Study to determine concentrations of specific bacteriophage showing *Escherichia coli* antibiofilm activity was conducted. The results of this study showed that the most effective concentrations bacteriophage EC RTH 04 to prevent, inhibit, and degrade *Escherichia coli* EC 3 biofilms were 10^6 , 10^2 , and 10^2 respectively.

Keywords: *biofilm, antibiofilm, Escherichia coli, bacteriophage*

ABSTRAK

Beberapa strain bakteri *Escherichia coli* bersifat patogen. Penggunaan antibiotik dan disinfektan yang berlebihan dan tidak sesuai aturan dapat menyebabkan bakteri membangun mekanisme resistensi. Karakter resistensi tersebut diperkuat oleh kemampuannya membentuk biofilm, sehingga semakin sulit dieradikasi. Untuk membersihkan secara efektif biofilm yang terbentuk, dibutuhkan agen antibiofilm dan antimikroba yang bekerja dengan mekanisme berbeda dengan antibiotik dan disinfektan. Bakteriofag merupakan kandidat potensial karena memenuhi persyaratan tersebut. Bakteriofag menghasilkan enzim polisakarida lyase yang spesifik mampu mendegradasi senyawa matriks polimerik ekstraseluler pada biofilm. Penelitian untuk mengetahui konsentrasi bakteriofag spesifik yang bertujuan menunjukkan aktivitas antibiofilm terhadap bakteri *Escherichia coli* telah dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteriofag EC RTH 04 memiliki aktivitas pencegahan, penghambatan, dan degradasi biofilm *Escherichia coli* EC 3 dengan konsentrasi paling efektif secara berturut-turut sebesar 10^6 , 10^2 , dan 10^2 .

Kata kunci: *biofilm, antibiofilm, Escherichia coli, bakteriofag*

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan bagian dari flora normal. Flora normal adalah mikroorganisme yang sering dijumpai pada berbagai bagian tubuh individu sehat tanpa menimbulkan penyakit, sehingga dianggap tidak berbahaya. *Escherichia coli* berperan dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. Selain itu, *E. coli* juga berperan sebagai mekanisme pertahanan terhadap infeksi, karena menghasilkan kolisin yang melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogenik (Bentley dan Meganathan, 1982; Hudault *et al.*, 2001; Ryan, 2004a).

Namun demikian, *E. coli* dapat menjadi patogen jika mekanisme pertahanan tubuh menurun, mencapai bagian tubuh yang terlindung, atau jumlahnya berlebih, misalnya jumlah *E. coli* berlebih dalam saluran pencernaan dapat menyebabkan diare. *Strain* tertentu *E. coli* pada ureter dapat mencapai kandung kemih, sehingga menyebabkan infeksi

saluran urin akut. *Escherichia coli* pada vagina ibu hamil dapat menyebabkan meningitis pada bayi yang baru dilahirkan. Penyakit-penyakit lain yang disebabkan oleh *E. coli* adalah pneumonia, infeksi luka terutama di abdomen, bakterimia dan septisemia (Ryan, 2004b). *Escherichia coli* juga bertanggung jawab terhadap kasus-kasus infeksi yang berasosiasi dengan peralatan medis, misalnya katup jantung buatan, pin, sendi prostetik dan kateter (Reisner *et al.*, 2014).

Kemampuan *E. coli* bermutasi secara cepat untuk menghasilkan *strain* baru yang semakin patogen, dapat menyebabkan wabah. Salah satu contoh adalah *E. coli* yang bersifat enterotoksigenik (ETEC), enteropatogenik (EPEC), enteroinvasif (EIEC), enteroagregatif (EAEC), dan enterohemoragik (EHEC). *Strain* yang paling berbahaya adalah EHEC, yang menyebabkan diare berdarah dan gejala penyakit lain di luar saluran gastrointestinal karena menghasilkan shiga toksin (Tortora *et al.*, 2001; Forbes *et al.*, 2007).

Penggunaan antibiotik yang tidak tepat justru dapat membentuk mekanisme resistensi sebagai bentuk pertahanan diri bakteri. Semakin banyak jenis dan dosis antibiotik yang digunakan, semakin resisten bakteri tersebut (Ryan, 2004c). Selain itu, patogen tertentu juga dapat mengembangkan mekanisme resistensi antibiotik yang bersifat komunal, dengan cara membentuk biofilm.

Biofilm merupakan kumpulan mikroorganisme yang hidup bersama dan berikatan kuat pada permukaan biotik maupun abiotik pada lingkungan yang lembab dan diselubungi oleh matriks polisakarida. Biofilm dapat terdiri dari spesies mikroba tunggal atau beberapa jenis spesies yang membentuk lapisan (Costerton *et al.*, 1995; O'Toole *et al.*, 2000; Donlan, 2002).

Escherichia coli dapat membentuk biofilm dalam masa pertumbuhannya sebagai mekanisme pertahanan terhadap kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya nutrisi, oksigen dan antibiotika (Soto *et al.*, 2011), dengan membentuk matriks ekstraseluler polisakarida (EPS). Oleh karena itu, *E. coli* pembentuk biofilm lebih resisten terhadap antibiotik dan disinfektan daripada yang hidup planktonik (Beloin *et al.*, 2008; Zuroff *et al.*, 2010).

Masalah dapat diatasi dengan menggunakan agen antimikroba yang dapat mendegradasi biofilm dengan mekanisme berbeda dengan antibiotik dan disinfektan. Pemanfaatan bakteriofag merupakan salah satu metode yang efektif untuk mengontrol pertumbuhan biofilm. Bakteriofag memenuhi persyaratan/kebutuhan tersebut karena bersifat non toksik, spesifik, dan efektif. Bakteriofag sebagai agen antibiofilm berdasarkan beberapa penelitian ahli dinilai efektif untuk mendegradasi senyawa polisakarida penyusun matriks polimerik ekstraseluler biofilm (Chan dan Abedon, 2015; Esmat *et al.*, 2018).

Bakteriofag, sering disebut fag, merupakan virus yang secara spesifik menginfeksi dan bereplikasi pada sel inangnya. Menurut Sutherland *et al.*, (2004), bakteriofag menghasilkan enzim polisakarida lyase (depolimerase) yang spesifik mampu mendegradasi senyawa matriks polimerik ekstraseluler pada biofilm. Bakteriofag juga

memiliki kemampuan bereplikasi secara cepat dengan merusak sel bakteri dan mengekspresikan enzim yang dapat mendegradasi biofilm (Simoes *et al.*, 2010).

Bakteriofag *E. coli* maupun bakteri-bakteri lain ada yang bersifat litik atau lisogenik. Untuk mengendalikan atau terapi penyakit, fag litik yang digunakan (Azizian *et al.*, 2013; Esmat *et al.*, 2018). Penelitian dan aplikasi terapi fag lebih meluas di Eropa Timur dibandingkan dengan Amerika Utara dan Eropa Barat, yang lebih tertarik pada antibiotik. Beberapa penelitian di antaranya, untuk mengatasi penyakit disentri, meningitis, urologi, infeksi kulit, luka dan saluran pernafasan serta pencernaan yang disebabkan oleh *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *E. coli* dan *Pseudomonas* (Sulakvelidze dan Kutter, 2005; Azizian *et al.*, 2013).

Berdasarkan informasi-informasi tersebut, keunggulan-keunggulan fag dibandingkan antibiotik dan disinfektan, serta potensi fag dalam mendegradasi biofilm bakteri targetnya dan mengurangi kemampuan biofilm untuk beregenerasi, dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antibiofilm isolat bakteriofag EC RTH 04 dalam memberantas biofilm *E. coli* isolat EC 3 dan mengetahui konsentrasi efektif/optimumnya. Bakteriofag spesifik sebagai antibiofilm dapat menjadi solusi untuk terapi penyakit yang disebabkan bakteri tertentu, yang sulit dieradikasi menggunakan antibiotik dan disinfektan yang umum digunakan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bakteriofag uji

Bakteriofag EC RTH 04 yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Kesehatan, Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi LIPI. Isolat tersebut diisolasi dari air toilet di daerah Cimande, Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

Kultur *Escherichia coli* EC 3

Escherichia coli EC 3 diinokulasi dengan metode *streak* pada media *Eosin Metyl Blue Agar* (EMB), dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Media EMB terdiri dari 36 g *Eosin Metyl Blue Agar* dan 4,5 g agar 30% dalam 1 L akuades.

Penyiapan suspensi bakteri

Satu ose kultur *E. coli* diinokulasikan ke dalam media LB cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Kepadatan bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada 600 nm hingga diperoleh OD 0,2. Media LB cair dibuat dengan melarutkan 5 g *yeast extract*, 10 g tripton, 5 g NaCl dalam 1 L akuades, kemudian diotoklaf pada 121 °C selama 15 menit.

Kultur dan penghitungan bakteriofag (Adams, 1959 yang telah dimodifikasi).

- 1) Amplifikasi bakteri inang
Bakteri *E. coli* diinokulasi ke dalam LB cair 50 mL dan diinkubasi pada suhu 37 °C dalam *waterbath*. Pertumbuhan bakteri diukur hingga mencapai fase lag yaitu OD 0,2 (600 nm).
- 2) Pengenceran bakteriofag
Suspensi bakteriofag *E. coli* EC RTH 04 diencerkan berseri hingga 10^{-8} menggunakan PBS PBS terdiri dari 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,1 g K_2HPO_4 , dan 0,2 g KH_2PO_4 dalam 1 L akuades.
- 3) Menginfeksi bakteriofag ke dalam bakteri inang
Suspensi bakteri inang ditambahkan ke tiap pengenceran fag dari 10^{-3} hingga 10^{-8} dengan perbandingan volume 1:2, diinkubasi dalam *waterbath* 37 °C selama 10 menit. Suspensi dicampur dengan 6 mL LB 60% semi padat, kemudian disebar di atas media LB agar pada cawan petri, diinkubasi pada suhu 37 °C. Komposisi media LB 5 g *yeast extract*, 10 g tripton, 5 g NaCl, dan 15 g atau 9 g (LB semi solid) bacto agar dalam 1 L akuades.
- 4) Pengamatan plak bakteriofag
Pertumbuhan fag ditandai oleh plak, berupa zone bening pada hamparan bakteri inang. Jumlah plak dihitung dan diamati konsentrasi fag yang menghasilkan plak.
- 5) *Scrubbing* bakteriofag
Plak dikeruk (*scrub*) menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf yang berisi larutan PBS 1 mL, divortex, disentrifugasi, kemudian pellet dibuang. Untuk penyimpanan fag, sebanyak 1 tetes kloroform ditambahkan pada 2 mL supernatan.

Penyiapan bakteriofag

Suspensi fag *E. coli* EC RTH 04 diencerkan berseri hingga 10^{-8} dengan PBS Konsentrasi fag yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibiofilm adalah konsentrasi 10^2 , 10^4 , 10^6 , dan 10^8 .

Uji aktivitas antibiofilm (Peterson *et al.*, 2011 yang dimodifikasi)

1. Uji aktivitas pencegahan biofilm

Sebanyak 200 µL suspensi fag EC RTH 04 dimasukkan ke dalam *microplate*, ditutup dan diinkubasi selama 60 menit. Setelah diinkubasi, suspensi fag dibuang kemudian dimasukkan 100 µL media LB dan 100 µL *E. coli* EC 3. Kontrol negatif adalah 200 µL suspensi bakteri dan kontrol positif adalah Biorem, yang merupakan bahan pembersih yang umum digunakan dalam lingkungan industri. *Microplate* ditutup dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, isi *microplate* dibuang, *microplate* dicuci dengan air dan dikeringanginkan. *Microplate* diwarnai menggunakan 200 µL kristal violet 1%, diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, kristal violet dibuang, *microplate* dicuci dengan air dan dikeringanginkan. *Microplate* diisi 200 µL etanol 96% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Densitas optik (DO) diukur menggunakan *microplate reader* pada 595 nm. Persentase penghambatan biofilm dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Pencegahan biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100$$

2. Uji aktivitas penghambatan biofilm

Sebanyak 100 µL media LB cair, 50 µL bakteri *E. coli* EC 3 dan 50 µL fag EC RTH 04 dicampur dan dimasukkan ke dalam tiap sumur *microplate*, ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Campuran dibuang, *microplate* dicuci dengan air dan dikeringanginkan. *Microplate* diwarnai menggunakan 200 µL kristal violet 1%, diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, pewarna dibuang, *microplate* dicuci dengan air bersih dan dikeringanginkan. Setelah kering, sebanyak 200 µL etanol 96% dimasukkan ke dalam

microplate dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Densitas optik diukur menggunakan *microplate reader* pada 595 nm. Pengujian dilakukan triplo dan persentase penghambatan biofilm dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Penghambatan biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol negatif}} \times 100$$

3. Uji aktivitas degradasi biofilm

Sebanyak 100 µL media LB cair dan 100 µL suspensi bakteri *E. coli* EC 3 dimasukkan ke dalam tiap sumur *microplate*, kemudian ditutup dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Campuran dibuang, 200 µL fag dimasukkan ke dalam *microplate*. Kontrol negatif adalah tanpa pemberian fag. *Microplate* ditutup kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kontrol positif adalah 100 µL Biorem A yang diinkubasi selama 30 menit. Biorem A dibuang, diberi 100 µL Biorem B, dan diinkubasi kembali selama 30 menit. *Microplate* dicuci dengan air, dikeringanginkan, ditambahkan 200 µL kristal violet 1%, diinkubasi selama 15 menit, dicuci dengan air dan dikeringanginkan. *Microplate* diisi dengan 200 µL etanol 96% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Densitas optik diukur menggunakan

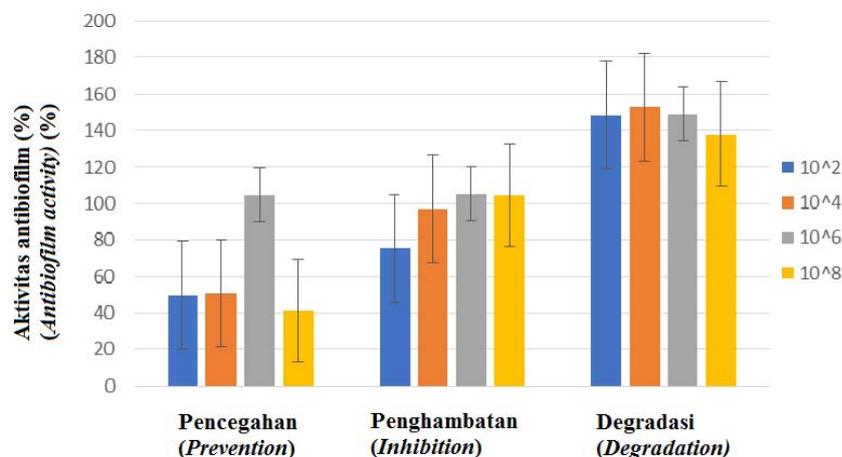
microplate reader pada 595 nm. Pengujian dilakukan triplo dan persentase degradasi biofilm dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Degradasi biofilm} = \frac{\text{DO Kontrol Negatif} - \text{DO perlakuan}}{\text{DO Kontrol Negatif}} \times 100$$

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fag EC RTH 04 memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *E. coli* EC 3, baik dalam pencegahan, penghambatan maupun degradasi biofilm. Aktivitas pencegahan pembentukan biofilm cenderung semakin tinggi seiring peningkatan konsentrasi fag (Tabel 1 dan Gambar 1). Aktivitas pencegahan terendah adalah pada konsentrasi 10² dengan nilai 49,808%, diikuti oleh konsentrasi 10⁴ dengan nilai 50,962%. Aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi 10⁶ dengan nilai 104,808%, namun menurun pada konsentrasi 10⁸ dengan nilai terendah, yaitu 41,587%.

Aktivitas pencegahan, sebagaimana aktivitas penghambatan, cenderung meningkat seiring meningkatnya konsentrasi fag (Tabel 1 dan Gambar 1). Pada konsentrasi 10² aktivitas penghambatan terendah dengan nilai 75,223%, diikuti konsentrasi 10⁴ dengan nilai 96,875%. Aktivitas penghambatan tertinggi dicapai pada



Gambar 1. Aktivitas Antibiofilm *E. coli* EC 3 oleh Bakteriofag EC RTH 04 (*Antibiofilm E.coli EC 3 activity of bacteriophage EC RTH04*)

konsentrasi 10^6 sebesar 105,357%. Aktivitas menurun kembali pada konsentrasi 10^8 dengan nilai 104,464%.

Keempat konsentrasi fag yang diuji (Gambar 1) menunjukkan aktivitas degradasi setara. Aktivitas degradasi pada konsentrasi 10^2 adalah 148,471%. Aktivitas meningkat dan mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 10^4 sebesar 152,446%, kemudian turun kembali pada konsentrasi 10^6 dengan nilai 149,235%. Aktivitas degradasi semakin menurun dan mencapai nilai terendah pada konsentrasi 10^8 yaitu 138,073%.

Efektivitas fag EC RTH 04 dalam mendegradasi biofilm *E. coli* EC 3 dikonfirmasi dengan melakukan perbandingan dengan pembersih komersial antibiofilm (Biorem). Hasil menunjukkan bahwa aktivitas degradasi oleh fag yaitu 152,446%, lebih tinggi dibandingkan dengan Biorem sebagai kontrol positif, yaitu 124,771% (Gambar 2).

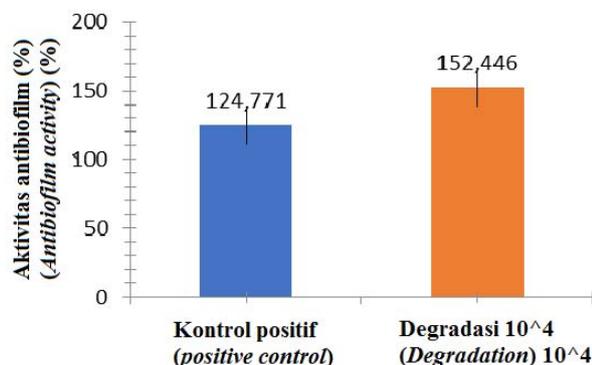
PEMBAHASAN

Escherichia coli dapat membentuk agregat dan berikatan dengan kuat pada suatu permukaan, sehingga sulit diberantas karena biofilm yang dibentuknya. Biofilm *E. coli* menghasilkan senyawa ekstraseluler polisakarida yang tidak dapat dihilangkan dengan pencucian ringan (Khan *et al.*, 2014). Struktur biofilm yang kompleks melindungi bakteri-bakteri pembentuknya dari serangan antibakteri dan predasi, antara lain radiasi, desikasi/kekeringan dan antibiotik (Harper *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian membuktikan kemampuan bakteriofag dalam eradikasi biofilm *E. coli*. Bakteriofag merupakan virus yang menginfeksi bakteri sehingga memberikan pendekatan yang sesuai secara alami, spesifik dan bersifat non-toksik untuk mengontrol beberapa mikroorganisme pembentuk biofilm (Azizian *et al.*, 2013). Infeksi biofilm oleh bakteriofag dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti temperatur, fase pertumbuhan, media dan konsentrasi bakteriofag. Di lain pihak, fag berinteraksi dengan biofilm berdasarkan kerentanan sel-sel pembentuk biofilm terhadap bakteriofag dan ketersediaan reseptor (Simoes *et al.*, 2010).

Bakteriofag memiliki setidaknya dua mekanisme degradasi biofilm yang potensial. Pertama, aktivitas enzim depolimerase/polisakarase, yang mencerna matriks polisakarida sehingga terdegradasi. Matriks yang terdegradasi memungkinkan sel-sel bakteri dalam biofilm terpapar, sehingga fag dapat kontak langsung dengan sel bakteri. Kedua, fag secara selektif menginfeksi sel bakteri pembentuk biofilm. Kerentanan terhadap serangan fag dipengaruhi oleh umur, aksesibilitas sel bakteri dan faktor lainnya. Fag di dalam sel bereplikasi dan dengan perantaraan enzim virolisin, sel bakteri pecah dan bakteriofag tersebar (Sutherland *et al.*, 2004; Parisien *et al.*, 2008; Soto *et al.*, 2011). Oleh karena itu, aktivitas eliminasi biofilm oleh fag sangat ditentukan oleh spesifikasi dan konsentrasi fag yang digunakan.

Aktivitas pencegahan pembentukan biofilm



Gambar 2. Perbandingan aktivitas degradasi biofilm tertinggi oleh fag dan kontrol positif (*Biofilm degradation activity comparison of phage and positive control*)

E. coli EC 3 cenderung meningkat seiring meningkatnya konsentrasi fag EC RTH 04. Aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi 10^6 . Semakin tinggi konsentrasi fag, semakin banyak sel bakteri terinfeksi, sehingga semakin sedikit bakteri yang bertahan hidup untuk membentuk biofilm. Pada konsentrasi 10^6 kemungkinan jumlah fag telah mencapai titik jenuh, sehingga aktivitas tidak lagi meningkat walaupun konsentrasi fag ditingkatkan. Oleh karena itu, konsentrasi bakteriofag EC RTH 04 yang efektif untuk pencegahan pembentukan biofilm *E. coli* EC 3 adalah 10^6 .

Data tersebut dikonfirmasi oleh hasil analisis sebaran, dengan membandingkan standar deviasi antar konsentrasi. Aktivitas pencegahan biofilm pada konsentrasi 10^6 berbeda nyata dan menunjukkan nilai tertinggi. Sedangkan konsentrasi fag yang lain memiliki aktivitas pencegahan yang tidak berbeda nyata/setara.

Pencegahan pembentukan biofilm terjadi karena fag EC RTH 04 telah terlebih dahulu menempel pada permukaan sumuran *microplate* sebelum penambahan bakteri *E. coli* EC 3. Setelah penambahan bakteri, fag langsung menginfeksi bakteri, bereplikasi di dalam sel inang menggunakan mesin replikasi inangnya dan menghambat sel inang untuk berekspresi atau membentuk biofilm (Sutherland *et al.*, 2004).

Aktivitas penghambatan pembentukan biofilm *E. coli* EC 3, sebagaimana pencegahan, cenderung meningkat seiring meningkatnya konsentrasi fag EC RTH 04. Aktivitas tertinggi dicapai pada konsentrasi 10^6 . Namun karena perbedaan yang tidak terlalu mencolok, secara statistika tidak mencerminkan perbedaan aktivitas pencegahan. Hasil analisis sebaran menunjukkan aktivitas yang setara. Dengan demikian, konsentrasi fag EC RTH 04 yang paling efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *E. coli* EC 3 adalah 10^2 .

Penghambatan pembentukan biofilm disebabkan bakteri *E. coli* EC 3 dikultur dalam *microplate* bersamaan dengan fag EC RTH 04, sehingga fag dengan mudah menginfeksi bakteri inangnya. Sel inang yang terinfeksi fag mati, sehingga secara komunal kehilangan sebagian potensinya membentuk biofilm. Oleh karena sangat efektif dalam menginfeksi sel inang, konsentrasi

yang rendah telah cukup untuk menghambat pembentukan biofilm.

Aktivitas degradasi biofilm tertinggi, di lain pihak, ditunjukkan oleh konsentrasi fag 10^4 . Namun analisis sebaran tidak menunjukkan perbedaan nyata pada aktivitas degradasi biofilm pada konsentrasi $10^2, 10^4, 10^6$ dan 10^8 karena perbedaan nilai yang sangat kecil. Hal tersebut menunjukkan kemampuan fag dengan berbagai konsentrasi adalah setara. Oleh karena itu, konsentrasi fag EC RTH 04 yang paling efektif dalam mendegradasi biofilm *E. coli* EC 3 adalah 10^2 .

Biofilm secara alami memiliki kemampuan melepaskan diri dari koloni induknya sebagai mekanisme dispersi untuk mencari tempat/daerah kolonisasi yang baru. Proses dispersi melibatkan komunikasi (*quorum sensing*) diantara bakteri-bakteri dalam biofilm untuk melepaskan diri dari biofilm induk. Untuk itu, bakteri akan menghasilkan enzim-enzim yang dapat menghidrolisis matriks biofilm (Costerton *et al.*, 1995). Matriks biofilm bakteri pada umumnya berupa polisakarida, sehingga dapat dicerna oleh enzim-enzim polisakarida liase yang termasuk enzim hidrolase atau depolimerase. Menurut beberapa penelitian, bakteriofag juga menghasilkan enzim depolimerase sehingga mampu mendegradasi matriks EPS biofilm (Chan dan Abedon, 2015). Hal tersebut menjadi dasar pemanfaatan bakteriofag untuk mendegradasi biofilm bakteri.

Aktivitas degradasi biofilm *E. coli* EC 3 terjadi karena biofilm yang telah lebih dahulu terbentuk, didegradasi oleh fag EC RTH 04. Kemampuan fag EC RTH 04 mendegradasi biofilm disebabkan aktivitas enzim polisakarida lyase (depolimerase) yang dihasilkannya. Enzim tersebut secara spesifik mendegradasi senyawa matriks polimerik ekstraselular pada biofilm. Selain itu, fag EC RTH 04 menyerang dan mampu melisis sel bakteri *E. coli* EC 3, sehingga sel-sel bakteri mati. Akibatnya komunikasi antar sel sebagian terputus sehingga pertahanan biofilm menurun dan fragmen biofilm terlepas. Menurut Labrie *et al.* (2010), fag menempel pada permukaan sel *E. coli* dan berikatan dengan reseptor fag. Selanjutnya DNA fag diinjeksikan ke dalam sel inang dan merusak

DNA bakteri yang dapat menghambat metabolisme dan menyebabkan kematian sel bakteri (Azeredo dan Sutherland, 2008). Aktivitas membunuh sel ini pada sebagian besar bakteriofag, ditentukan secara spesifik oleh gen virolysin yang memproduksi enzim muralitik untuk menghidrolisis peptidoglikan dinding sel. Virolysin umumnya dilengkapi dengan peptida *holin* yang membuat lesi di membran sel untuk membantu virolysin mencapai target lisis pada dinding sel (Sulakvelidze dan Kutter, 2005).

Efektivitas fag EC RTH 04 dalam mendegradasi biofilm *E. coli* EC 3 dikonfirmasi dengan membandingkan aktivitasnya dengan aktivitas degradasi biofilm oleh pembersih komersial antibiofilm (Biorem) sebagai kontrol positif. Aktivitas degradasi oleh fag EC RTH 04 lebih tinggi dibandingkan dengan Biorem. Hal tersebut mungkin disebabkan sifat fag yang lebih spesifik dibandingkan dengan Biorem, sehingga lebih efektif dalam mendegradasi biofilm. Bakteriofag *E. coli* menghasilkan enzim-enzim yang secara spesifik berkomplementasi dengan tempat pelekatan pada substratnya yaitu bakteri *E. coli*. Sedangkan Biorem terdiri dari senyawa-senyawa kimia dan enzim-enzim yang dihasilkan oleh organisme lain bahkan bahan sintetik yang bersifat umum, sehingga interaksi dengan substrat pada *E. coli* lebih rendah/sedikit karena tidak spesifik. Dengan demikian, fag EC RTH 04 memiliki potensi yang sangat baik untuk dikembangkan sebagai agen pendegradasi biofilm *E. coli*.

KESIMPULAN

Bakteriofag EC RTH 04 memiliki aktivitas pencegahan, penghambatan, dan degradasi biofilm *E. coli* EC 3. Untuk pencegahan pembentukan biofilm, konsentrasi yang paling efektif adalah 10^6 . Untuk penghambatan pembentukan biofilm, konsentrasi yang paling efektif adalah 10^2 . Sedangkan untuk degradasi biofilm, konsentrasi yang paling efektif adalah 10^2 . Dengan demikian, bakteriofag EC RTH 04 menunjukkan sifat spesifik sebagai antibiofilm terhadap biofilm *E. coli* EC3.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Proyek Tematik (DIPA) yang telah mendanai kegiatan penelitian. Terima kasih juga disampaikan kepada Dra. Titin Yulinery yang telah bekerja bersama-sama dalam penelitian ini dan Lusianawati yang telah membantu eksperimen di laboratorium dan pengolahan data.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.H., 1959. *Bacteriophages*. InterScience Publishers, Inc. New York.
- Azeredo, J. and Sutherland, W., 2008. The use of phages for the removal of infectious biofilms. *Current Biotechnology*, 9, pp. 261 – 266.
- Azizian, R., Nasab, S.D.M. and Ahmadi, N.A., 2013. Bacteriophages as a novel antibacterial agent in industry and medicine. *Journal of Paramedical Science*, 4(4), pp. 93 – 101.
- Beloin, C., Roux, A. and Ghigo, J.M., 2008. *Escherichia coli* biofilms. *Current Topics of Microbiology and Immunology*, 322, pp. 249 – 289.
- Bentley, R. and Meganathan, R., 1982. Biosynthesis of vitamin K (menaquinone) in bacteria. *Microbiological Reviews*, 46(3), pp. 241 – 280.
- Chan, B.K. and Abedon, S.T., 2015. Bacteriophage and their enzyme in biofilm control. *Current Pharmaceutical Design*, 21, pp. 85 – 99.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., Caldwell, D.E., Korber, D.R., and Lappin-Scott, H.M., 1995. Microbial Biofilms. Dalam: *Annual Review of Microbiology*. Vol. 49. Ornston, L.N., Ballows, A., and Greenberg, E.P. (eds) Annu Rev Inc. Palo Alto.
- Donlan, R.M., 2002. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Disease*, 8(9), pp. 881 – 890.
- Esmat, M.M., Abdelhamid, A.G., Esmal, A., Nasr-Eldin, M.A., Abolmaaty, S., Hassan, M.G. and Khattab, A.A., 2018. Antibiotics and phage sensitivity as intervention and controlling *Escherichia coli* isolated from clinical specimens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. doi://DX.DOI.ORG/10.22207/JPAM11.4.12
- Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S., 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 12th ed. Mosby Elsevier. St. Louis.
- Harper, D.R., Parracho, H.M.R.T. and Walker, J., 2014. Bacteriophages and biofilms. *Antibiotics*, 3, 270-284.
- Hudault, S., Guignot, J., and Servin, A.L., 2001. *Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against *Salmonella typhimurium* infection. *Gut*, 49(1), pp. 47 – 55. doi:10.1136/gut.49.1.47.
- Labrie, S.J., Samson, J.E. and Moineau, S., 2010. Bacteriophage resistance mechanisms. *National Review of Microbiology*, 8(5), pp. 317 – 327.
- O'Toole, G.A., Kaplan, H.B., and Kolter, R., 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, 54, pp. 49 – 79.
- Parisien, A., Allain, B., Zhang, J., Mandevillen, R. and Lan, C.G., 2008. Novel alternatif to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hidrolases and antimicrobial peptides. *Journal of Applied Microbiology*, 104, pp. 1 – 13.
- Peterson, S.B., Irie, Y., Borlee, B.R., Murakami, K., Harrison, J.J., Colvin, K.M. and Parsek, M.R., 2011. Different Methods for Culturing Biofilms In Vitro. Dalam: *Biofilm Infections*. Bjarnsholt, T., Jensen, P.O., and

- Christoffersen, L. (eds.) pp. 251 – 266. Springer, New York.
- Reisner, A., Maierl, M., Jorger, M., Krause, R., Berger, D., Haid, A., Tesic, D. and Zechner, E.L., 2014. Type 1 fimbriae contribute to catheter-associated urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 196, pp. 931 – 939.
- Khan, M.S.A., Ahmad, I., Sajid, M. and Cameotra, S.S., 2014. Current and Emergent Control Strategies for Medical Biofilms. Dalam: *Antibiofilm Agents: From Diagnosis to Treatment and Prevention*. Rumbaugh, K.P. and Ahmad, I. (eds.) pp. 117 – 159. Springer-Verlag, Berlin.
- Ryan, K.J., 2004a. Normal Microbial Flora. Dalam: *Sherris Medical Microbiology: An introduction to infectious disease*. 4th ed. Ryan, K.J. and Ray, C.G. (eds.) pp. 141 – 148. McGraw Hill, New York.
- Ryan, K.J., 2004b. Enterobacteriaceae. Dalam: *Sherris Medical Microbiology: An introduction to infectious disease*. 4th ed. Ryan, K.J. and Ray, C.G. (eds.) pp. 343 – 372. McGraw Hill, New York.
- Ryan, K.J., 2004c. Antimicrobial Resistance. Dalam: *Sherris Medical Microbiology: An introduction to infectious disease*. 4th ed. Ryan, K.J. and Ray, C.G. (eds.) pp. 215 – 228. McGraw Hill, New York.
- Simoes, M., Simoes, L.C. and Viera, M.J., 2010. A Review of current and emergent biofilm control strategies. *Food Science and Technology*, 43, pp. 573 – 583.
- Soto, S.M., Marco, F., Guiral, E. and Vila, J., 2011. Biofilm Formation in Uropathogenic *Escherichia coli* Strains: Relationship with Urovirulence Factors and Antimicrobial Resistance. Dalam: *Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection*. Nikibakhsh, A.A. (ed.) In Tech, Rijeka, Croatia.
- Sulakvelidze, A. and Kutter, E., 2005. Bacteriophages Therapy in Humans. Dalam: *Bacteriophages Biology and Application*. Kutter, E. and Sulakvelidze, A. (eds.) CRC Press, Boca Raton.
- Sutherland, I.W., Hughes, K.A., Skillman, L.C. and Trait, K., 2004. The interaction of phage and biofilms. *FEMS Microbiology Letter*, 232, pp. 1 – 6.
- Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L., 2001. *Microbiology: An Introduction*. 7th ed. Wesley Longman, Inc., New York.
- Zuroff, T.R., Bernstein, H., Randolfi, J.L., Taracido, L.J., Stewart, P.S. and Carlson, R.P., 2010. Robustness analysis of culturing perturbations on *Escherichia coli* colony biofilm beta-lactam and aminoglycoside antibiotic tolerance. *BMC Microbiology*, 10, pp. 185.

Pedoman Penulisan Naskah Berita Biologi

Berita Biologi adalah jurnal yang menerbitkan artikel kemajuan penelitian di bidang biologi dan ilmu-ilmu terkait di Indonesia. Berita Biologi memuat karya tulis ilmiah asli berupa makalah hasil penelitian, komunikasi pendek dan tinjauan kembali yang belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Masalah yang diliput harus menampilkan aspek atau informasi baru.

Tipe naskah

1. Makalah lengkap hasil penelitian (*original paper*)

Naskah merupakan hasil penelitian sendiri yang mengangkat topik yang *up to date*, tidak lebih dari 15 halaman termasuk tabel dan gambar. Pencantuman lampiran seperlunya, namun redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.

2. Komunikasi pendek (*short communication*)

Komunikasi pendek merupakan makalah hasil penelitian yang ingin dipublikasikan secara cepat karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar dapat segera diketahui oleh umum. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Hasil dan pembahasan boleh digabung.

3. Tinjauan kembali (*review*)

Tinjauan kembali merupakan rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik penelitian tertentu. Hal yang ditinjau meliputi segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan yang memberikan gambaran '*state of the art*', meliputi temuan awal, kemajuan hingga issue terkini, termasuk perdebatan dan kesenjangan yang ada dalam topik yang dibahas. Tinjauan ulang ini harus merangkum minimal 30 artikel.

Struktur naskah

1. Bahasa

Bahasa yang digunakan adalah Bahasa Indonesia atau Inggris yang baik dan benar.

2. Judul

Judul diberikan dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Judul harus singkat, jelas dan mencerminkan isi naskah dengan diikuti oleh nama serta alamat surat menyurat penulis dan alamat email. Nama penulis untuk korespondensi diberi tanda amplop cetak atas (*superscript*).

3. Abstrak

Abstrak dibuat dalam dua bahasa, bahasa Indonesia dan Inggris. Abstrak memuat secara singkat tentang latar belakang, tujuan, metode, hasil yang signifikan, kesimpulan dan implikasi hasil penelitian. Abstrak berisi maksimum 200 kata, spasi tunggal. Di bawah abstrak dicantumkan kata kunci yang terdiri atas maksimum enam kata, dimana kata pertama adalah yang terpenting. Abstrak dalam Bahasa Inggris merupakan terjemahan dari Bahasa Indonesia. Editor berhak untuk mengedit abstrak demi alasan kejelasan isi abstrak.

4. Pendahuluan

Pendahuluan berisi latar belakang, permasalahan dan tujuan penelitian. Perlu disebutkan juga studi terdahulu yang pernah dilakukan terkait dengan penelitian yang dilakukan.

5. Bahan dan cara kerja

Bahan dan cara kerja berisi informasi mengenai metoda yang digunakan dalam penelitian. Pada bagian ini boleh dibuat sub-judul yang sesuai dengan tahapan penelitian. Metoda harus dipaparkan dengan jelas sesuai dengan standar topik penelitian dan dapat diulang oleh peneliti lain. Apabila metoda yang digunakan adalah metoda yang sudah baku cukup ditulis sitasinya dan apabila ada modifikasi maka harus dituliskan dengan jelas bagian mana dan hal apa yang dimodifikasi.

6. Hasil

Hasil memuat data ataupun informasi utama yang diperoleh berdasarkan metoda yang digunakan. Apabila ingin mengacu pada suatu tabel/grafik/diagram atau gambar, maka hasil yang terdapat pada bagian tersebut dapat diuraikan dengan jelas dengan tidak menggunakan kalimat 'Lihat Tabel 1'. Apabila menggunakan nilai rata-rata maka harus menyertakan pula standar deviasinya.

7. Pembahasan

Pembahasan bukan merupakan pengulangan dari hasil. Pembahasan mengungkap alasan didapatkannya hasil dan arti atau makna dari hasil yang didapat tersebut. Bila memungkinkan, hasil penelitian ini dapat dibandingkan dengan studi terdahulu.

8. Kesimpulan

Kesimpulan berisi informasi yang menyimpulkan hasil penelitian, sesuai dengan tujuan penelitian, dan penelitian berikutnya yang bisa dilakukan.

9. Ucapan terima kasih

Bagian ini berisi ucapan terima kasih kepada suatu instansi jika penelitian ini didanai atau didukung oleh instansi tersebut, ataupun kepada pihak yang membantu langsung penelitian atau penulisan artikel ini.

10. Daftar pustaka

Pada bagian ini, tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses *peer review*. Apabila harus menyitir dari "laporan" atau "komunikasi personal" dituliskan '*unpublished*' dan tidak perlu ditampilkan di daftar pustaka. Daftar pustaka harus berisi informasi yang *up to date* yang sebagian besar berasal dari *original papers* dan penulisan terbitan berkala ilmiah (nama jurnal) tidak disingkat.

Format naskah

- Naskah diketik dengan menggunakan program Microsoft Word, huruf New Times Roman ukuran 12, spasi ganda kecuali Abstrak. Batas kiri-kanan atas-bawah masing-masing 2,5 cm. Maksimum isi naskah 15 halaman termasuk ilustrasi dan tabel.
- Penulisan bilangan pecahan dengan koma mengikuti bahasa yang ditulis menggunakan dua angka desimal di belakang koma. Apabila menggunakan Bahasa Indonesia, angka desimal ditulis dengan menggunakan koma (,) dan ditulis dengan menggunakan titik (.) bila menggunakan bahasa Inggris. Contoh: Panjang buku adalah 2,5 cm. Length of the book is 2.5 cm. Penulisan angka 1-9 ditulis dalam kata kecuali bila bilangan satuan ukur, sedangkan angka 10 dan seterusnya ditulis dengan angka. Contoh lima orang siswa, panjang buku 5 cm.
- Penulisan satuan mengikuti aturan international system of units.
- Nama takson dan kategori taksonomi ditulis dengan merujuk kepada aturan standar yang diakui. Untuk tumbuhan menggunakan *International Code of Botanical Nomenclature* (ICBN), untuk hewan menggunakan *International Code of Zoological Nomenclature* (ICZN), untuk jamur *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi and Plant* (ICFAFP), *International Code of Nomenclature of Bacteria* (ICNB), dan untuk organisme yang lain merujuk pada kesepakatan Internasional. Penulisan nama takson lengkap dengan nama author hanya dilakukan pada bagian deskripsi takson, misalnya pada naskah taksonomi. Penulisan nama takson untuk bidang lainnya tidak perlu menggunakan nama author.
- Tata nama di bidang genetika dan kimia merujuk kepada aturan baku terbaru yang berlaku.
- Ilustrasi dapat berupa foto (hitam putih atau berwarna) atau gambar tangan (*line drawing*).
- Tabel
Tabel diberi judul yang singkat dan jelas, spasi tunggal dalam bahasa Indonesia dan Inggris, sehingga Tabel dapat berdiri sendiri. Tabel diberi nomor urut sesuai dengan keterangan dalam teks. Keterangan Tabel diletakkan di bawah Tabel. Tabel tidak dibuat tertutup dengan garis vertikal, hanya menggunakan garis horisontal yang memisahkan judul dan batas bawah. Paragraf pada isi tabel dibuat satu spasi.
- Gambar
Gambar bisa berupa foto, grafik, diagram dan peta. Judul gambar ditulis secara singkat dan jelas, spasi tunggal. Keterangan yang menyertai gambar harus dapat berdiri sendiri, ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris. Gambar dikirim dalam bentuk .jpeg dengan resolusi minimal 300 dpi, untuk *line drawing* minimal 600dpi.

9. Daftar Pustaka

Sitasi dalam naskah adalah nama penulis dan tahun. Bila penulis lebih dari satu menggunakan kata 'dan' atau et al. Contoh: (Kramer, 1983), (Hamzah dan Yusuf, 1995), (Premachandra *et al.*, 1992). Bila naskah ditulis dalam bahasa Inggris yang menggunakan sitasi 2 orang penulis maka digunakan kata 'and'. Contoh: (Hamzah and Yusuf, 1995). Penulisan daftar pustaka, sebagai berikut:

a. **Jurnal**

Nama jurnal ditulis lengkap.

Agusta, A., Maehara, S., Ohashi, K., Simanjuntak, P. and Shibuya, H., 2005. Stereoselective oxidation at C-4 of flavans by the endophytic fungus *Diaporthe* sp. isolated from a tea plant. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 53(12), pp.1565-1569.

b. **Buku**

Merna, T. and Al-Thani, F.F., 2008. *Corporate Risk Management*. 2nd ed. John Welly and Sons Ltd. England.

c. **Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya.**

Fidiana, F., Triyuwono, I. and Riduwan, A., 2012. Zakah Perspectives as a Symbol of Individual and Social Piety: Developing Review of the Meadian Symbolic Interactionism. *Global Conference on Business and Finance Proceedings. The Institute of Business and Finance Research*, 7(1), pp. 721 - 742

d. **Makalah sebagai bagian dari buku**

Barth, M.E., 2004. Fair Values and Financial Statement Volatility. Dalam: Borio, C., Hunter, W.C., Kaufman, G.G., and Tsatsaronis, K. (eds.) *The Market Discipline Across Countries and Industries*. MIT Press. Cambridge.

e. **Thesis, skripsi dan disertasi**

Williams, J.W., 2002. Playing the Corporate Shell Game: The Forensic Accounting and Investigation Industry, Law, and the Management of Organizational Appearance. *Dissertation*. Graduate Programme in Sociology. York University. Toronto. Ontario.

f. **Artikel online.**

Artikel yang diunduh secara online ditulis dengan mengikuti format yang berlaku untuk jurnal, buku ataupun tesis dengan dilengkapi alamat situs dan waktu mengunduh. Tidak diperkenankan untuk mensitasi artikel yang tidak melalui proses peer review misalnya laporan perjalanan maupun artikel dari laman web yang tidak bisa dipertanggung jawabkan kebenarannya seperti wikipedia.

Himman, L.M., 2002. A Moral Change: Business Ethics After Enron. San Diego University Publication. <http://ethics.sandiego.edu/LMH/oped/Enron/index.asp>. (accessed 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa inggris atau (diakses 27 Januari 2008) bila naskah ditulis dalam bahasa indonesia

Formulir persetujuan hak alih terbit dan keaslian naskah

Setiap penulis yang mengajukan naskahnya ke redaksi Berita Biologi akan diminta untuk menandatangani lembar persetujuan yang berisi hak alih terbit naskah termasuk hak untuk memperbanyak artikel dalam berbagai bentuk kepada penerbit Berita Biologi. Sedangkan penulis tetap berhak untuk menyebarkan edisi cetak dan elektronik untuk kepentingan penelitian dan pendidikan. Formulir itu juga berisi pernyataan keaslian naskah yang menyebutkan bahwa naskah adalah hasil penelitian asli, belum pernah dan tidak sedang diterbitkan di tempat lain.

Penelitian yang melibatkan hewan

Setiap naskah yang penelitiannya melibatkan hewan (terutama mamalia) sebagai obyek percobaan / penelitian, wajib menyertakan 'ethical clearance approval' terkait animal welfare yang dikeluarkan oleh badan atau pihak berwenang. Penelitian yang menggunakan mikroorganisme sebagai obyek percobaan, mikroorganisme yang digunakan wajib disimpan di koleksi kultur mikroorganisme dan mencantumkan nomor koleksi kultur pada makalah.

Lembar ilustrasi sampul

Gambar ilustrasi yang terdapat di sampul jurnal Berita Biologi berasal dari salah satu naskah yang dipublikasi pada edisi tersebut. Oleh karena itu, setiap naskah yang ada ilustrasinya diharapkan dapat mengirimkan ilustrasi atau foto dengan kualitas gambar yang baik dengan disertai keterangan singkat ilustrasi atau foto dan nama pembuat ilustrasi atau pembuat foto.

Proofs

Naskah *proofs* akan dikirim ke penulis dan penulis diwajibkan untuk membaca dan memeriksa kembali isi naskah dengan teliti. Naskah *proofs* harus dikirim kembali ke redaksi dalam waktu tiga hari kerja.

Naskah cetak

Setiap penulis yang naskahnya diterbitkan akan diberikan 1 eksemplar majalah Berita Biologi dan *reprint*. Majalah tersebut akan dikirimkan kepada *corresponding author*

Pengiriman naskah

Naskah dikirim secara online ke website berita biologi: http://e-journal.biologi.lipi.go.id/index.php/berita_biologi

Alamat kontak

Redaksi Jurnal Berita Biologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Cibinong Science Centre, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong 16911
Telp: +61-21-8765067, Fax: +62-21-87907612, 8765063, 8765066,
Email: jurnalberitabiologi@yahoo.co.id atau
jurnalberitabiologi@gmail.com

BERITA BIOLOGI

Vol. 17 (1)

Isi (*Content*)

April 2018

P-ISSN 0126-1754

E-ISSN 2337-8751

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

KEANEKARAGAMAN, PERSEBARAN DAN POLA TATA RUANG TUMBUHAN EPIFIT PADA HUTAN BEKAS TEBANGAN DI KIYU, PEGUNUNGAN MERATUS, KALIMANTAN SELATAN [Diversity, Distribution and Spatial Patterns of Epiphytic Plants at The Logged Over Forest in Kiyu Forest, Meratus Mountain, South Kalimantan] <i>Asep Sadili dan Mohammad Fathi Royyani</i>	1 – 8
PERTUMBUHAN IKAN BANDENG (<i>Chanos chanos</i>) ANTARA BENIH <i>HATCHERY</i> SKALA RUMAH TANGGA DAN GENERASI KEDUA (G-2) TERSELEKSI [Growth Performance of Milkfish (<i>Chanos chanos</i>) between Small Scale Hatcheries and of Selected Second- Generation (G-2) Sources] <i>Daniar Kusumawati, Zafnan Jamaris dan Titiek Aslianti</i>	9 – 20
PENGARUH SUMBER PUPUK ORGANIK TERHADAP PENAMPILAN TEBU (<i>Saccharum officinarum</i> L.) PADA TATA TANAM BARIS GANDA BENIH GANDA [Effect of Organic Fertilizer Resources on Sugarcane (<i>Saccharum officinarum</i> L.) Performances in Double Rows Double Seeds Planting Arrangement] <i>Djumali, Sri Mulyaningsih dan Teger Basuki</i>	21 – 29
KAJIAN ETNOBOTANI RAMUAN PASCA MELAHIRKAN PADA MASYARAKAT ENGGANO [The Ethnobotanical Study of Postpartum Concoction on Enggano People] <i>Mohammad Fathi Royyani, Vera Budi Lestari Sihotang, Andria Agusta dan Oscar Efendy</i>	31 – 38
KERAGAMAN IKTIIOFAUNA MUARA SUNGAI CIMANUK, INDRAMAYU, JAWA BARAT [Ichthyofaunal Diversity of Cimanuk Estuary, Indramayu, West Java] <i>Prawira A.R.P. Tampubolon, Yunizar Ernawati dan M.F. Rahardjo</i>	39 – 48
POTENSI VEGETASI DAN DAYA DUKUNG UNTUK HABITAT GAJAH SUMATERA (<i>Elephas maximus sumatranus</i>) DI AREAL PERKEBUNAN SAWIT DAN HUTAN PRODUKSI KECAMATAN SUNGAI MENANG, KABUPATEN OGAN KOMERING ILIR [Vegetation Potency and Carrying Capacity for Sumatran Elephant (<i>Elephas maximus sumatranus</i>) Habitat at Palm Oil Plantation and Forest Production Area in Sungai Menang Districts, Ogan Komering Ilir Regency] <i>R.Garsetiasih, Anita Rianti dan Mariana Takandjandji</i>	49 – 64
KARAKTERISASI GALUR HIBRIDA HASIL PERSILANGAN IKAN GURAMI (<i>Osphronemus goramy</i> Lac.) ASAL JAMBI, KALIMANTAN SELATAN DAN JAWA BARAT BERDASARKAN METODE <i>TRUSS</i> MORFOMETRIK [Hybrid Strain Characterization Result of Crossbred Giant Gouramy (<i>Osphronemus goramy</i> Lac.) Origin of Jambi, South Kalimantan and West Java Based on Morphometric Truss Method] <i>Suharyanto, Rita Febrianti, Sularto dan Ade Anom Abimanyu</i>	65 – 75
<u>KOMUNIKASI PENDEK (SHORT COMMUNICATION)</u>	
AKTIVITAS ANTIBIOFILM BAKTERI <i>Escherichia coli</i> OLEH BAKTERIOFAG SECARA <i>IN VITRO</i> [<i>Escherichia coli</i> biofilm in vitro eradication by Bacteriophage] <i>Evi Triana</i>	77 – 84
KARAKTERISASI GENETIK IKAN LELE DUMBO BERDASARKAN MARKER RAPD FINGERPRINTING [Genetic Characterization of African Catfish Revealed by RAPD Fingerprinting Markers] <i>Estu Nugroho dan Sabara Putera</i>	85 – 90