

**EFEKTIVITAS FAGE LITIK DARI LCRT PADA PEMECAHAN SEL
PATOGEN ENTERIK *Salmonella sp.* RESISTEN ANTIBIOTIK**
(Effectivity of Lytic Phage to *Salmonella sp.* Resistant Antibiotic as
Enteric Pathogen)

Sri Budiarti, Iman Rusmana, Riri Novita Sunarti¹⁾

¹⁾Dep. Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB

ABSTRAK

Penggunaan fage litik sebagai biokontrol telah dilaporkan dapat menurunkan populasi bakteri resisten antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan fage litik yang mampu melisis *Salmonella Sp.* Resisten antibiotik yang diisolasi dari penderita diare. Fage litik diisolasi dari limbah cair rumah tangga, isolate fage diperbanyak dan diuji kemampuan menurunkan populasi inangnya, perpecahan sel inang diamati pada mikroskop electron SEM. Hasil isolasi dan pemurnian faga diperoleh empat isolat faga, ialah faga FR 15, FR 19, FR 38 dan FR 84. Setiap faga spesifik untuk inang masing-masing. Penambahan konsentrasi faga dari $\pm 10\ 000$ PFU mL⁻¹ dari isolat FR 38 memiliki aktivitas tertinggi. Faga ini mampu mengurangi kekeruhan populasi sel *Salmonella sp.* setelah 5 jam diinokulasi faga. Selain itu pada kepadatan $\pm 30\ 000$ PFU mL⁻¹ dari isolat FR 84 memiliki aktivitas melisis sel tertinggi. Faga ini mampu mengurangi sel *Salmonella sp.* secara signifikan dalam waktu 1 jam. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diterapkan sebagai biokontrol air dan makanan.

Kata kunci: *Salmonella Sp.*, fage litik, resisten antibiotik, *Salmonellosis*

ABSTRACT

Lytic phage has been reported use as biocontrol for decreasing antibiotic resistant bacteria population. The aim of this research is to get lytic phage that could lysised antibiotic resistant *Salmonella sp.* that isolated from patients with diarrheal disease. Lytic phage was isolated from household water waste, isolated phage was multiplied and ability for decreasing the host population was tested, observed in SEM electron microscope. There are four results of phage isolation and purification, namely FR 15, FR 19, FR 38, and FR 85. Every phage was specific for each host. Increment of phage concentration from ± 10000 PFU mL⁻¹ of FR 38 has a highest activity. This phage could decrease *Salmonella sp.* cell population after 5 hour inoculation, but in $\pm 30\ 000$ PFU mL⁻¹ density FR 84 have a highest activity for cell lysing. This phage could decrease *Salmonella sp.* cell significantly in 1 hour. The result of this research could be expected as environmental biocontrol for *Salmonella* contamination.

Keyword: *Salmonella Sp.*, *Lytic Phage*, *antibiotic-resistant*, *Salmonellosis*

PENDAHULUAN

Bakteri *Salmonella* merupakan anggota famili *Enterobacteriaceae*, gram negatif, anaerob fakultatif, tidak berspora dan berbentuk batang. Lebih dari 2000 serotip *Salmonella* adalah patogen (Madigan *et al.* 2009). Infeksi *Salmonella* pada

manusia disebut *Salmonellosis* dapat berupa sindrom gastroenteritis (Cox 2000; Chung *et al.* 2003).

Di Negara-negara maju telah banyak dilaporkan kasus *salmonellosis*. Swiss pada tahun 2001 melaporkan terjadinya 2.677 serangan *salmonellosis* pada manusia (tingkat insiden 32 kasus/100.000 penduduk/tahun), kejadian ini meningkat 8 persen dari tahun 2000 (Sauli *et al.* 2003). Insiden *Salmonellosis* di Ontario Kanada dari tahun 1997-2001 menduduki peringkat ke-2 (22,6 kasus/100.000 penduduk). Penularan penyakit diketahui melalui makanan (80,1%), air (3,2%), antar individu manusia (6,3%), dan kontak dengan hewan (4,3%) (Lee & Middleton 2003).

Munculnya bakteri-bakteri patogen yang resisten terhadap antibiotik telah menjadi masalah dalam kedokteran modern. Penggunaan antibiotik yang berlebihan pada penyakit *Salmonellosis* di samping menimbulkan bahaya efek samping, juga dapat berisiko timbulnya resistensi bakteri terhadap antibiotik. Hal ini telah banyak dilaporkan oleh pakar-pakar antibiotik baik di luar maupun di dalam negeri. Hasil penelitian Triatmodjo dan Oktariana (1997) menunjukkan beberapa isolat *Sallmonella* yang berasal dari penderita diare, multiresisten terhadap lima jenis antibiotik secara invitro yakni: Khloramphenikol, Ampisilin, Kanamisin, Tetrasiklin, Sulfametoazol-Trimetoprim. Tingkat resistensinya sebesar 40% terhadap ampisilin, 57% terhadap khloramfenikol, 71% terhadap kotrimoxazol.

Adanya evolusi bakteri menjadi *multidrug* resisten, memotivasi masyarakat ilmiah barat mengevaluasi potensi terapi bakteriofage untuk penderita infeksi bakteri yang hampir tidak dapat disembuhkan dengan kemoterapi konvensional (Alisky *et al.* 1998; Ho 2001; Sulakvelidze *et al.* 2001). Bakteriofage (fage) dalam beberapa tahun terakhir telah digunakan sebagai alternatif antibiotik untuk mengendalikan infeksi bakteri. Fage terapi adalah metode memanfaatkan fage sebagai bioagen untuk pengobatan penyakit infeksi bakteri, awalnya diperkenalkan 80 tahun yang lalu oleh Felix d'Herelle, seorang penemu fage (Ho 2001). Fage litik dapat digunakan sebagai metode alami yang non toksik untuk mereduksi dan mengontrol pertumbuhan bakteri patogen manusia karena fage

adalah bagian dari gastrointestinal dan ekosistem lingkungan (Ackerman & Dubow 1987). Terapi fage telah terbukti secara medis lebih unggul dari terapi antibiotik (Smith *et al.* 1987; Lederberg 1996; Barrow & Soothill 1997; Pirusi 2000). Fage dapat diisolasi dari air, limbah, dan tanah.

Aplikasi bakteriofage sebagai biokontrol pencemaran makanan telah dilaporkan, fage spesifik *Salmonella* pada ayam (Goode *et al.* 2003), fage spesifik *E. coli* O157 pada daging (Flynn *et al.* 2004), fage spesifik *Yersinia enterocolitica* pada babi (Strauch *et al.* 2001). Penggunaan fage spesifik *E. coli* patogen dalam bentuk tablet pada air minum secara *in vivo* telah digunakan di Bangladesh untuk menanggulangi pencemaran air dlm air minum (Ochman & Selander 1984). Penelitian infektivitas fage litik pada enteropatogenik *E. coli* dari pasien penderita diare di Indonesia telah dilaporkan (Budiarti *et al.* 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas fage litik spesifik *Salmonella* penyebab *salmonellosis* yang resisten terhadap antibiotik. Hasil penelitian ini diharapkan dapat sebagai model dan diaplikasikan untuk biokontrol pencemaran air dan makanan sehingga dapat mencegah penyakit *salmonellosis*.

METODE PENELITIAN

Bakteri uji

Bakteri *Salmonella* sp. yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Salmonella* sp. resisten antibiotik SB 15, SB 19, SB 38, dan SB 84 (Tabel 1) hasil isolasi dari feses penderita diare di Puskesmas Sindang Barang Bogor. Sampel untuk isolasi bakteriofage berupa limbah cair rumah tangga (LCRT) di daerah Babakan, Darmaga Bogor.

Tabel 1. Resistensi antibiotik bakteri uji.

No	Jenis antibiotik	SB38	SB15	SB19	SB84
1	Ceftazidipimeme	S	S	S	S
2	Amoxicillin-clavulanic Acid	R	R	R	R
3	Ticarcillin-clafulanic acid	S	S	S	I
4	Ampicillin	R	R	R	R
5	Ampicillin Sulbactam	R	R	R	R
6	Cephalotin	R	R	R	
7	Tetracycline	S	S	S	S
8	Cloramphenicol	S	S	S	S
9	Trimethoprim-sulfamethoxazole	S	S	S	R

Isolasi Fage

- a) Sebanyak 0,5 ml media *Nutrien Broth* (NB) ditambahkan 4.5 mL LCRT (Limbah Cair Rumah Tangga) dicampurkan dengan 0.5 mL kultur *Salmonella* Sp. sebanyak 10^8 (CFU/ mL) dengan $OD_{600}=1$. Campuran diinkubasi 24-48 jam pada suhu 37°C , disentrifugasi selama 20 menit, supernatan diambil, difiltrasi dengan membran filter *milipore* 0.22 μm . Supernatan yang telah difiltrasi dimasukkan ke dalam tabung steril (Pitt & Gaston 1995).
- b) Kuantifikasi fage berdasarkan metode Foschino *et al.* (1995), yaitu larutan fage ditambahkan dengan kultur *Salmonella* sp. Suspensi diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C untuk memberikan kesempatan fage berinteraksi dengan inangnya. Sebanyak 5 ml *soft agar* yang masih bersuhu 42°C dicampurkan, dituang ke cawan yang berisi media Nutrien agar, diinkubasi pada 37°C selama 24 jam, dihitung zona bening (plak) yang terbentuk.
- c) Pemurnian fage dilakukan dengan metode Goodridge *et al.* 2001.

Penentuan Kisaran Inang Fage

Untuk menentukan spesifisitas fage, masing-masing fage diinfeksi dengan inang *Salmonella* yang lain dan *E. coli* non pathogen dengan metode Carey-Smith *et al.* 2006.

Kecepatan Penurunan Populasi *Salmonella* Sp. oleh infeksi Fage

Efektivitas lisis sel *Salmonella* sp. oleh fage dilakukan berdasarkan metode Atterbury *et al.* 2007.

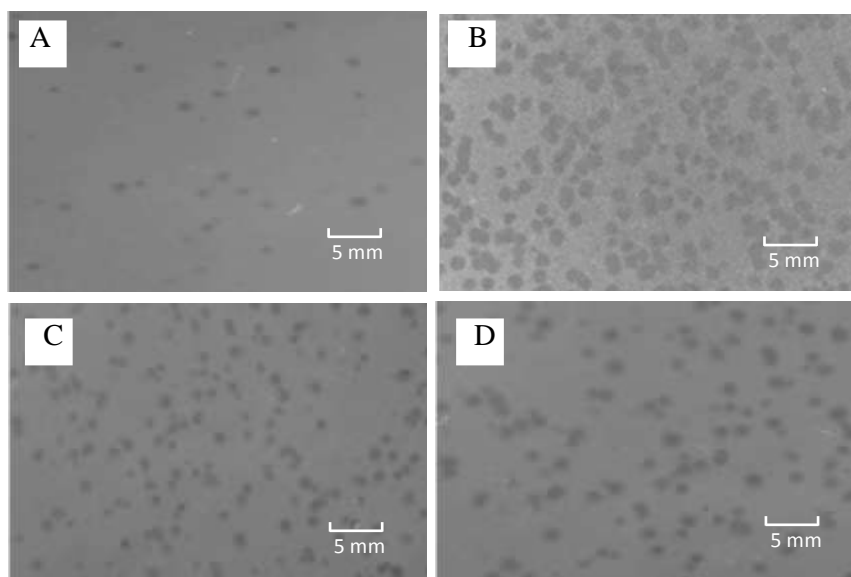
Pengamatan Morfologi Lisis Sel *Salmonella* sp. oleh Fage dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Kultur *Salmonella* sp. yang telah ditumbuhkan di media *Nutrient broth* sampai $OD_{600}=1$ ditambah stok fage, diinkubasi selama 2 jam. Kultur diamati dengan menggunakan SEM. (Wendelschafer-Crabb *et al.*, 1975). Sampel diamati menggunakan mikroskop elektron payaran bervakum rendah model JSM-5310LV pada pembesaran 10000 x - 20000 x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Fage

Isolasi bakteriofage yang berasal dari LCRT daerah Babakan Darmaga Bogor diperoleh empat isolat bakteriofage yaitu FR15, FR 19, FR 38, dan FR 84 (Gambar 1). Plak yang terbentuk dari suatu kultur bakteri yang ditumbuhkan di cawan petri merupakan suatu parameter penting dari adanya fage pada siklus litik. Plak tersebut terlihat bening yang menandakan adanya zona lisis sel bakteri inang.



Gambar 1 Pola keragaman plak fage FR 15 (A); FR 84 (B); FR 19 (C); FR 38 (D).

Keempat fage tersebut menunjukkan adanya pola keragaman plak. Pola keragaman plak terlihat dari ukuran dan bentuk zona bening dari masing-masing fage. Plak FR 15 dan FR 19 memiliki diameter 1 mm, sedangkan plak FR 84 dan FR 38 memiliki diameter 2 mm. Morfologi plak tergantung pada fage, bakteri yang menjadi inangnya, dan kondisi pertumbuhan. Ukuran plak sebanding dengan efisiensi adsorpsi, panjang periode laten dan ukuran sebaran fage. Kepekaan galur bakteri terhadap fage yang menyerangnya berbeda-beda akibat adanya variasi molekul reseptor (Flynn *et al.* 2004). Secara teoritis plak berasal dari satu fage, oleh karena itu konsentrasi suspensi fage diukur oleh banyaknya plak yang biasanya disebut *Plaque forming units* (PFU) (Tortora *et al.* 2006).

Tabel 2. asil *Plak Forming Unit* (PFU/ml) dari keempat isolat fage.

Isolat Fage	Konsentrasi Fage (PFU/ml)
FR 15	25700
FR 19	33600
FR 38	11440
FR 84	10720

Penentuan Kisaran Inang Fage

Penentuan kisaran inang fage dilakukan untuk melihat kespesifikan inang dan derajat lisis dari fage yang diperoleh. Bakteriofage tidak secara acak terikat pada permukaan sel inang, tetapi terikat sangat kuat pada reseptor spesifik. Reseptor bervariasi untuk setiap fage; lipopolisakarida dan protein yang ada pada dinding sel bakteri, *teichoic acid*, *flagella* dan *pili* juga bisa berfungsi sebagai reseptor. Fage T pada *E. coli* menggunakan lipopolisakarida dan protein pada dinding sel sebagai reseptornya. Variasi dari reseptor-reseptor ini yang berperan besar terhadap kespesifikan fage pada inang (Prescott *et al.* 2002). Adsorpsi partikel-partikel fage terhadap sel-sel bakteri pada tahap awal infeksi fage bergantung pada reseptor-reseptor spesifik di dinding sel bakteri (Topley & Wilson 1990). Seringkali bakteriofage sangat spesifik inang, hanya menginfeksi satu serotipe dalam satu spesies bakteri (McLaughlin *et al.* 2006). Dalam penelitian ini, masing-masing isolat fage memperlihatkan spesifisitas terhadap masing-masing inangnya (Tabel 3). Diperkirakan hasil ini menunjukkan bahwa pada permukaan sel masing-masing inang memiliki reseptor-reseptor yang spesifik terhadap fage yang tidak dimiliki oleh *E. coli* non patogen maupun isolat *Salmonella* sp. lainnya. Pernah dilaporkan bahwa tidak semua fage bersifat spesifik inang, seperti yang sudah dilaporkan sebelumnya oleh Bielke *et al.* (2007), bahwa satu jenis fage yang ditemukannya mampu menginfeksi enam serovar *Salmonella* yang berbeda.

Tabel 3 Hasil uji kisaran inang fage.

Galur Fage	Galur Inang <i>Salmonella</i>				
	SB 15	SB 19	SB 38	SB 84	<i>E. coli</i> non patogen
FR 15	+	-	-	-	-
FR 19	-	+	-	-	-
FR 38	-	-	+	-	-
FR 84	-	-	-	+	-

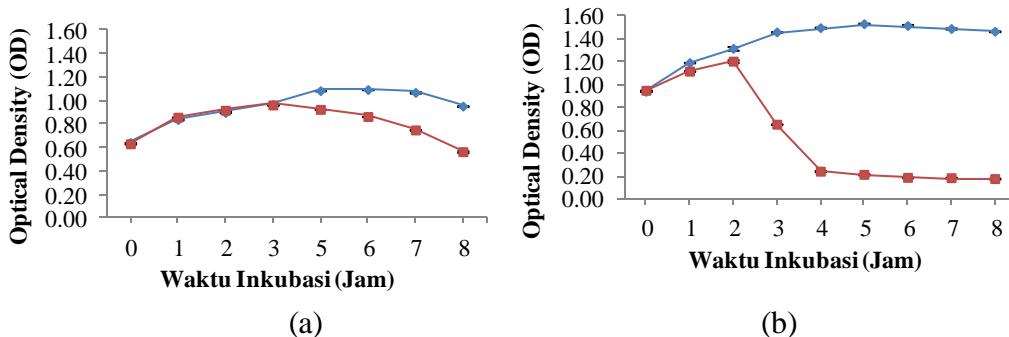
Kecepatan Penurunan Populasi *Salmonella* Sp. oleh infeksi Fage

Efektivitas infeksi bakteriofage terhadap sel *Salmonella* sp. dilihat dari hasil penurunan populasi *Salmonella* pada perlakuan penambahan fage (Gambar 2-5)

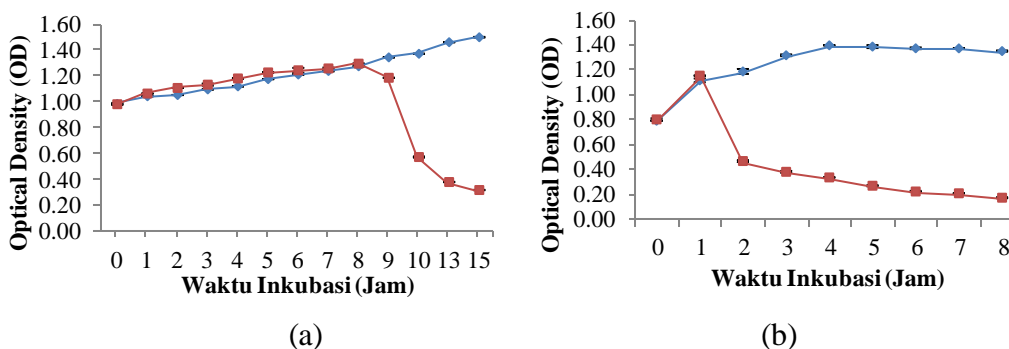
Fage mampu melisis sel bakteri setelah 22 menit dan menghasilkan 200 profage (Hogg 2005). Pada suhu 35 °C fage memiliki periode laten 15-20 menit dan menghasilkan 100-230 progeni (McLaughlin & King 2008). Dalam penelitian ini penurunan OD merupakan indikasi penurunan jumlah populasi sel *Salmonella* sp. karena laju pertumbuhan fage lebih cepat dibandingkan dengan laju pertumbuhan *Salmonella* sp., sehingga fage mampu mengurangi pertumbuhan *Salmonella* sp. dengan cara melisis sel *Salmonella* sp. Gambar 2-5 menunjukkan adanya efektivitas fage berbeda-beda dalam kemampuannya melisis sel inang. Hal ini diperkirakan karena *Salmonella* sebagai inang adalah galur yang berbeda. Ini dibuktikan dengan hasil uji kisaran inang, dimana satu galur fage hanya mampu menginfeksi satu isolat *Salmonella*.

Pengaruh penambahan fage dengan konsentrasi ± 10.000 PFU/mL dan ± 30.000 PFU/mL terhadap penurunan OD untuk masing-masing isolat *Salmonella* sp. berbeda-beda. Pada konsentrasi fage sebesar ± 10.000 PFU/ml, FR 38 memiliki aktivitas yang tertinggi yaitu mampu menurunkan OD setelah 5 jam (Gambar 2). Pada penambahan konsentrasi fage sebanyak 3 kali konsentrasi semula ternyata fage FR 84 mampu menurunkan OD dalam waktu 1 jam (Gambar 4). Pada percobaan yang dilakukan Filho *et al.* (2007), menggunakan penambahan fage sebesar 10^9 (PFU/mL) pada 10^6 (CFU/mL) *Salmonella enterica* serovar Enteritidis menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan *Salmonella enterica* secara signifikan pada 2 jam inkubasi namun tidak ada penurunan pertumbuhan *Salmonella enterica* setelah 6 jam inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa FR 84 dengan konsentrasi ± 30.000 PFU/mL lebih efektif dalam melisis 10^8 (CFU/mL) sel *Salmonella* sp., yang mampu menurunkan pertumbuhan *Salmonella* sp secara signifikan pada 1-8 jam inkubasi. Konsentrasi fage yang digunakan pada penelitian ini lebih sedikit yaitu 10^4 (PFU/mL) dibandingkan konsentrasi

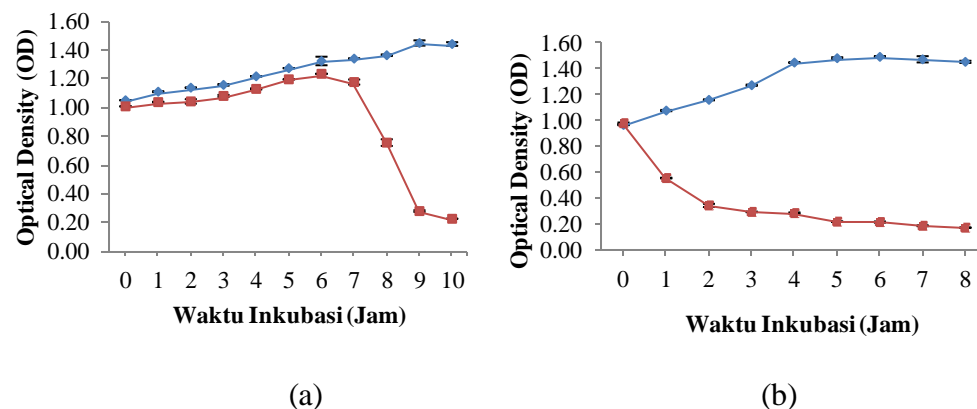
fage yang digunakan oleh Filho *et al.* (2007) sebesar 10^9 (PFU/mL) untuk melisis 10^6 (CFU/mL) *Salmonella enterica* serovar Enteritidis.



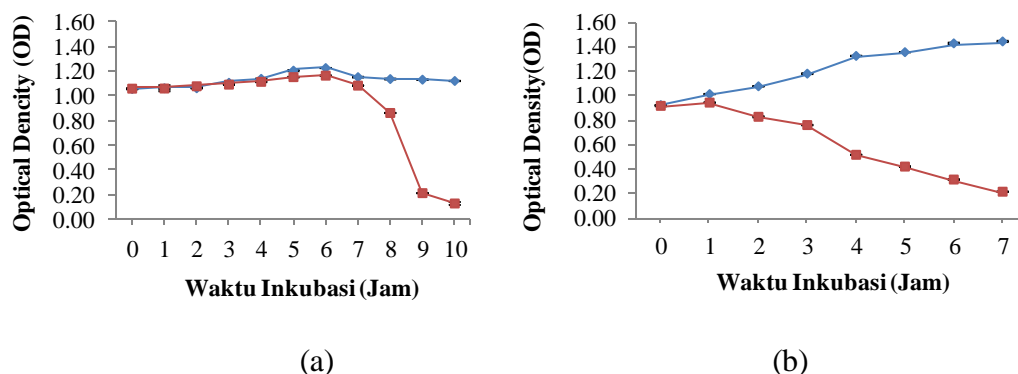
Gambar 2. Grafik efektivitas fage dalam melisis sel *salmonella* sp., (a) FR 38 dengan konsentrasi ± 10.000 PFU/ml. (b) FR 38 dengan konsentrasi fage ± 30.000 PFU/ml. Kontrol *Salmonella* sp. ■ Fage + *Salmonella* sp.



Gambar 3 Grafik efektivitas fage dalam melisis sel *salmonella* sp., (a) FR19 dengan konsentrasi ± 10.000 PFU/ml. (b) FR 19 dengan konsentrasi fage ± 30.000 PFU/ml. Kontrol *Salmonella* sp. ■ Fage + *Salmonella* sp.



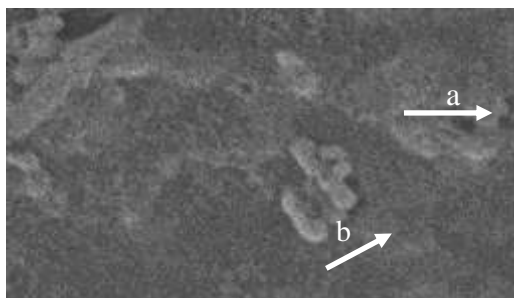
Gambar 4. Grafik efektivitas fage dalam melisis sel *salmonella* sp., (a) FR 84 dengan konsentrasi ± 10.000 PFU/ml. (b) FR 84 dengan konsentrasi fage ± 30.000 PFU/ml. Kontrol *Salmonella* sp. ■ Fage + *Salmonella* sp



Gambar 5. Grafik efektivitas fage dalam melisis sel *salmonella* sp., (a) FR 15 dengan konsentrasi \diamond fage $\pm 10,000$ PFU/ml. (b) R.15 dengan konsentrasi fage $\pm 30,000$ PFU/ml. Kontrol *Salmonella* sp. \blacksquare Fage + *Salmonella* sp.

Pengamatan Morfologi Lisis Sel *Salmonella* sp. oleh Fage dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Pengamatan keadaan morfologi sel *Salmonella* sp. akibat infeksi fage dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Morfologi kerusakan sel *Salmonella* sp. karena infeksi fage. Tanda panah (a) sel yang sudah lisis; (b) sel yang baru mengalami kerusakan.

Hasil pengamatan sel bakteri *Salmonella* sp. dengan menggunakan SEM memperlihatkan adanya pengaruh dari penginfeksi fage dengan adanya lisis sel bakteri *Salmonella* sp. Cara reproduksi fage litik terdiri atas 5 tahap, yaitu tahap adsorpsi, tahap penetrasi, tahap sintesis, tahap perakitan, dan tahap lisis. Bila fage litik menginfeksi sel bakteri maka fage akan bereplikasi di dalam sel inang membentuk sejumlah fage baru kemudian akan membuat sel inang lisis dan akan

menginfeksi sel inang lainnya (Toro *et al.* 2005; Tortora *et al.* 2006; Cowan & Talaro 2009).

KESIMPULAN

Diperoleh empat isolat fage, yaitu FR 15, FR 19, FR 38 dan FR 84 yang masing-masing fage bersifat spesifik terhadap inangnya, tidak menginfeksi *E. coli* non patogen. Fage FR 38 memiliki efektivitas tertinggi dg konsentrasi rendah, FR 84 memiliki aktivitas tertinggi jika PFU dinaikkan. Infeksi FR 38 jelas mengakibatkan kerusakan / perpecahan sel Salmonella.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melalui Institut Pertanian Bogor dalam program penelitian hibah pasca sarjana tahun 2010-2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackerman HW, Dubow MS. 1987. *Viruses of Prokaryotes*. Volume ke-2, *Natural groups of bacteriophages*. Boca Raton: CRC Press.
- Alisky J, Iczkowski K, Rapoport A, Troitsky N. 1998. Bacteriophage show promise as antimicrobial agents. *J Infect* 36: 5-15.
- Atterbury RJ, Van Bergen MAP, Ortiz F, Lovell MA, Harris JA, De Boer A, Wagenaar JA, Allen VM, Barrow PA. 2007. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol* 73:4543-4549.
- Barrow PA, Soothill JM. 1997. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscover and renewed assessment of potential. *Trends Microbiol* 5: 268-271.
- Bielke L, Higgins S, Donoghue D, Hargis BM. 2007. *Salmonella* host range of bacteriophages that infect multiple genera. *Poultry Science* 86: 2536-2540.
- Budiarti S, Pratiwi RH, Rusmana I. 2011. Infectivity of lytic phage to enteropathogenic *Escherichia coli* from diarrheal patients in Indonesia. *J UCMS* 8: 72-81.

- Cox J. 2000. *Salmonella* (Introduction). Di dalam: Robinson RK, Batt CA, Patel PD , editor. *Encyclopedia of Food Microbiology*, Ed ke-3. San Diego: Academic Press.
- Chung YH, Kim SY, Chang YH. 2003. Prevalence and antibiotic susceptibility of *salmonella* isolated from foods in Korea from 1993 to 2001. *J Food Prot* 66: 1154-1157.
- Carey-Smith GV, Billington C, Cornelius AJ, Hudson JA, Heinemann JA. 2006. Isolation and characterization of bacteriophages infecting *Salmonella* spp. *FEMS Microbiol Lett* 258: 182-186.
- Cowan MK, Talaro KP, editor. 2009. *Microbiology a Systems Approach*. Ed ke-2. New York: McGraw-Hill.
- Foschino R, Perrone F, Galli A. 1995. Characterization of two virulent *Lactobacillus fermentum* bacteriophages isolated from sour dough. *J Appl Bacteriol* 79: 677-683.
- Flynn GO, 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: 3417-3242.
- Filho ARL, Higgins JP, Higgins SE, Gaona G, Wolfenden AD, Tellez G, Hargis BM. 2007. Ability of bacteriophages isolated from different sources to reduce *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in vitro and in vivo. *Poultry Science* 86: 1904-1909.
- Goodridge L, Gallaccio A, Griffiths WM. 2001. Morphological, host range, and genetic characterization of two colifages. *Appl Environ Microbiol* 69: 5364-5371.
- Goode G, Allen VM, Barrow PA. 2003. Reduction of Experimental *Salmonella* and *Campylobacter* Contamination of Chicken Skin by Application of Lytic Bacteriophages. *Appl Environ Microbiol* 69: 5032-5036.
- Ho K. 2001. Bacteriophage therapy for bacterial infections. *Perspect Biol Med* 44:1-16.
- Hogg S. 2005. *Essential Microbiology*. England: Jhon Wiley & Sons.
- Lederberg J. 1996. Therapeutic bacteriophage redux. *Proc Natl Acad Sci* 93: 3167-8.
- Lee MB, Middleton D. 2003. Enteric Illness in Ontario, Canada, from 1997 to 2001. *J Food Prot* 66: 953-961.
- Madigan MT, Brock T. 2009. *Biology of Microorganism*. New Jersey: Pearson Prentice Hall.

- McLaughlin MR, Balaa MF, Sims J, King R. 2006. Isolation of Salmonella bacteriophages from swine effluent lagoons. *J Environ Qual* 35:522-528.
- McLaughlin MR, King RA. 2008. Characterization of Salmonella bacteriophages isolated from swine lagoon effluent. *Curr Microbiol* 56: 208-213.
- Ochman H, Selander RK. 1984. Standard reference strains of *Escherichia coli* from natural populations. *J Bacteriol* 157:690-693.
- Pitt TL, Gaston MA. 1995. Bacteriophage Typing. *Methods Mol Biol* 46:15-26.
- Pirisi A. 2000. Phage therapy: advantages over antibiotics. *Lancet* 356: 1418-1425.
- Prescott LM, Harley JP, Klein DA. 2002. *Microbiology*. Ed ke-5. New York: McGraw-Hill.
- Smith HW, Huggins MB, Shaw KM. 1987. The control of experimental *Escherichia coli* diarrhea in calves by mean of bacteriophage. *J Gen Microbiol* 133:1111-1126.
- Strauch E, Kaspar H, Schaudin C, Dersch P, Madela K, Gewinner C, Hertwig S, Weeke J, Appel B. 2001. Characterization of enterocolicin, a phage tail like bacteriocin, and it's effect on pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains. *Appl Environ Microbiol* 67: 5634-5642.
- Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG Jr. 2001. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 45: 649-59.
- Sauli LJ, Danuser C, Wenk, Stark KDC. 2003. Evaluation of the Safety Assurance level for *Salmonella spp.* Throughout the Food Production Chain in Switzerland. *J Food Prot.* 66: 1139-1145.
- Topley WWC, Wilson GS. 1990. *Principles of Bacteriology, Virology and Immunity*. London: B.C. Decker.
- Triatmodjo P, Oktarina C. 1997. Pola resistensi bakteri enteropatogen terhadap antibiotik. *Cermin dunia kedokteran* 114: 53-55.
- Toro H, Price SB, McKee S, Hoerr FJ, Krehling J, Perdue M, Bauermeister L. 2005. Use of bacteriophages in combination with competitive exclusion to reduce Salmonella from infected chickens. *Avian Dis* 49:118-124.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. 2006. *Microbiology: an Introduction*. Ed ke-9. New York: Benjamin Cummings.
- Wendelschafer-Crabb G, Erlandsen SL, Walker DH Jr. 1975. Conditions critical for optimal visualization of bacteriophage adsorbed to bacterial surfaces by scanning electron microscopy. *J Virol* 15: 1498-1503.