UNIVERSITAS GADJAH MADA
Balad: A Novel Lytic Paundecimvirus with Antibiofilm Activity Infecting Pseudomonas aeruginosa From Muna Island Cave System
Mohammed A A Albohisi, Apt. Setyowati Triastuti U., S.Farm., M.Sc., Ph.D;Dr. Ajeng K. Pramono, S.Si., M.Sc
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

Pseudomonas aeruginosa is a clinically significant opportunistic pathogen whose capacity for multidrug resistance and biofilm formation severely limits therapeutic options and contributes to persistent healthcare-associated infections; amid growing antimicrobial resistance, bacteriophages have re-emerged as promising alternative antibacterial agents. In this study, a lytic bacteriophage designated Balad was isolated from cave water samples collected in Sulawesi, Indonesia, using *P. aeruginosa* PAO1 as the host strain, and subjected to comprehensive biological, genomic, and antibacterial characterization. Cryo-TEM revealed podovirus-like morphology, and Balad produced clear plaques with expanding haloes indicative of depolymerase activity. Biological characterization demonstrated efficient adsorption kinetics (87% of particles adsorbed within 5 min), a latent period of approximately 40 min, and a burst size of ~20 PFU per infected cell, alongside multiplicity-of-infection-dependent inhibition of PAO1 growth and significant concentration-dependent antibiofilm activity. Oxford Nanopore whole-genome sequencing revealed a 49,870 bp double-stranded DNA genome encoding 81 predicted coding sequences, with no detectable virulence, lysogeny, antimicrobial resistance, or tRNA genes, collectively supporting a strictly lytic lifestyle and favourable biosafety profile. Comparative genomic analyses classified Balad within the genus *Paundecimvirus*, family *Zobellviridae*, and identified a putative tail-associated depolymerase-like protein harbouring a conserved β-helix polysaccharide lyase domain. However, Balad did not lyse any of the clinical isolates tested, indicating a restricted host range that limits its immediate standalone therapeutic utility. Nonetheless, as the first characterised cave-derived *P. aeruginosa* phage from Sulawesi, Balad represents a genomically distinct *Paundecimvirus* with promising antibiofilm-associated features, offering a valuable foundation for future research into phage diversity, host-phage interactions, and phage strategies against *P. aeruginosa.*

Keywords: lytic bacteriophage, *P. aeruginosa*, biofilm disruption, *Paundecimvirus*

UNIVERSITAS GADJAH MADA
Balad: A Novel Lytic Paundecimvirus with Antibiofilm Activity Infecting Pseudomonas aeruginosa From Muna Island Cave System
Mohammed A A Albohisi, Apt. Setyowati Triastuti U., S.Farm., M.Sc., Ph.D;Dr. Ajeng K. Pramono, S.Si., M.Sc
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRAK

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen oportunistik yang signifikan secara klinis, di mana kemampuannya dalam membentuk resistensi multidrug dan biofilm secara serius membatasi pilihan terapeutik serta berkontribusi terhadap infeksi terkait layanan kesehatan yang persisten. Di tengah meningkatnya resistensi antimikroba, bakteriofag telah kembali muncul sebagai agen antibakteri alternatif yang menjanjikan. Dalam penelitian ini, sebuah bakteriofag litik yang diberi nama Balad diisolasi dari sampel air gua yang dikumpulkan di Sulawesi, Indonesia, menggunakan *P. aeruginosa* PAO1 sebagai strain inang, dan selanjutnya dikarakterisasi secara komprehensif meliputi aspek biologis, genomik, dan antibakteri. Cryo-TEM mengungkapkan morfologi menyerupai podovirus, dan fag Balad menghasilkan plak bening dengan halo yang melebar, mengindikasikan adanya aktivitas depolimerase. Karakterisasi biologis menunjukkan kinetika adsorpsi yang efisien (87% partikel teradsorpsi dalam 5 menit), periode laten sekitar 40 menit, dan ukuran ledakan sebesar ~20 PFU per sel terinfeksi, disertai penghambatan pertumbuhan PAO1 yang bergantung pada multiplisitas infeksi serta aktivitas antibiofilm yang signifikan dan bergantung pada konsentrasi. Sekuensing seluruh genom menggunakan Oxford Nanopore mengungkapkan genom DNA untai ganda sepanjang 49.870 bp yang mengodekan 81 urutan pengkodean yang diprediksi, tanpa ditemukannya gen virulensi, lisogeni, resistensi antimikroba, maupun gen tRNA, yang secara keseluruhan mendukung gaya hidup yang sepenuhnya litik serta profil keamanan hayati yang menguntungkan. Analisis genomik komparatif mengklasifikasikan Balad ke dalam genus *Paundecimvirus*, famili *Zobellviridae*, dan mengidentifikasi protein mirip depolimerase yang berasosiasi dengan ekor, yang mengandung domain liase polisakarida β-heliks yang terkonservasi. Namun demikian, Balad tidak melisiskan satupun isolat klinis yang diuji, menunjukkan kisaran inang yang terbatas sehingga membatasi utilitas terapeutiknya secara mandiri dalam waktu dekat. Meskipun demikian, sebagai fag *P. aeruginosa* asal gua pertama yang dikarakterisasi dari Sulawesi, Balad merepresentasikan *Paundecimvirus* yang secara genomik berbeda dengan fitur-fitur antibiofilm yang menjanjikan, serta menawarkan landasan yang berharga bagi penelitian mendatang mengenai keragaman fag, interaksi inang-fag, dan strategi fag dalam menghadapi *P. aeruginosa*.

Kata kunci: bakteriofag litik, *P. aeruginosa*, disrupsi biofilm, *Paundecimvirus*