Optimasi Konsentrasi Gellan Gum untuk Meningkatkan Ketahanan dan Viabilitas Isolat Bakteri selama Penyimpanan

Gilang Achmad Syafi'i[1], Diah Ayu Prawitasari[1,2], Annisa Nur Lathifah[1,2*]

[1] Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55584.
[2] Laboratorium Bioteknologi Lingkungan, Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55584.

*Korespondensi: annisa.lathifah@uii.ac.id

Abstrak. Mikroorganisme memiliki peran penting dalam berbagai bidang, seperti bioteknologi, lingkungan, dan industri pangan. Salah satu tantangan dalam pemanfaatannya adalah menjaga viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan tanpa mengubah sifat fisiologis maupun genetiknya. Teknik penyimpanan jangka pendek masih banyak bergantung pada pemindahan rutin ke media baru, sedangkan metode jangka panjang seperti kering beku dan kriopreservasi membutuhkan peralatan khusus yang tidak selalu tersedia. *Gellan gum*, sebagai ekspolisakarida yang diproduksi oleh *Sphingomonas* adalah salah satu polimer yang paling banyak digunakan karena sifatnya yang serbaguna dan merupakan biomaterial berbiaya rendah dengan kualitas reproduktif yang tinggi, serta memiliki daya optimal untuk menghambat sineresis sehingga stabilitas gel dapat terjaga dalam waktu yang lama. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan, dan menentukan konsentrasi *gellan gum* yang paling optimal. Empat isolat bakteri (*Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50)) diinokulasikan ke dalam media minimal DNB (*Dilute Nutrient Broth*) + *gellan gum* dengan konsentrasi 1% dan 2%, lalu diinkubasi selama satu bulan pada suhu 30°C. Selama masa inkubasi berlangsung, viabilitas diamati pada hari ke-7 dan ke-23 menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi 2% lebih efektif mempertahankan viabilitas seluruh isolat dibandingkan konsentrasi 1% yang hanya mendukung pertumbuhan BR 47. Nilai TPC tertinggi ditemukan pada BR 13 sebesar 2 x 10^9 CFU/mL. Dengan demikian, *gellan gum* dengan konsentrasi 2% dapat menjadi alternatif media penyimpanan yang efektif dalam menjaga kelangsungan hidup dan pertumbuhan isolat bakteri selama penyimpanan.

Kata Kunci: *gellan gum*, *total plate count*, viabilitas bakteri

1. PENDAHULUAN

Mikroorganisme merupakan agen biologi mikroskopis yang memiliki peran penting dalam kehidupan manusia, baik memberikan manfaat maupun menimbulkan dampak negatif. Mikroorganisme memiliki kontribusi besar dalam berbagai sektor, termasuk kesehatan, industri pangan, dan lingkungan. Dalam industri pangan, mikroorganisme dimanfaatkan dalam proses fermentasi untuk menghasilkan berbagai produk makanan seperti keju, dan anggur (*wine*) (Prasetyo & Sari, 2021). Sementara itu, di bidang lingkungan, mikroorganisme berperan sebagai agen bioremediasi serta dalam proses pengelolaan limbah.

Salah satu tantangan utama dalam pemanfaatan bakteri adalah menjaga isolat tetap stabil tanpa mengubah sifat fisiologis dan genetiknya. Pemeliharaan mikroba, baik untuk keperluan jangka pendek maupun jangka panjang penting dilakukan agar aktivitas metaboliknya tetap stabil (Fariani et al., 2021). Beberapa metode sederhana, seperti penyimpanan dalam minyak mineral, tanah steril, parafin cair, serta lempengan gelatin umumnya kurang cocok untuk penyimpanan isolat bakteri dalam jangka panjang. Sebaliknya, metode penyimpanan jangka panjang yang balik efektif dan banyak diterapkan adalah teknik kering beku dan kriopreservasi. Namun, kendala utama dalam penerapannya adalah keterbatasan fasilitas laboratorium yang memiliki peralatan khusus untuk melalukan metode tersebut (Machmud, 2001).

Gellan gum merupakan eksopolisakarida yang disekresikan terutama oleh bakteri *Sphingomonas elodea*, tetapi juga oleh *Sphingomonas paucimobilis* ATCC (Munch and Biotechnology, 2024). *Gellan gum* telah dikenal sebagai agen pembentuk gel yang dapat menggantikan agar dalam media kultur padat untuk mendukung pertumbuhan berbagai mikroorganisme karena kemampuannya untuk mempertahankan struktur gel pada suhu tinggi hingga 120°C. Keunggulan yang dimiliki *gellan gum* dibandingkan media lainnya meliputi sifat yang termoreversibel, mampu membentuk gel pada konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan agar, lebih hemat biaya, memiliki stabilitas tinggi terhadap variasi suhu dan pH, serta memiliki ketahanan terhadap sineresis, yaitu kemampuan untuk mencegah keluarnya cairan dari gel, yang berperan penting dalam menjaga stabilitas dan daya tarik visual produk dalam jangka waktu yang lama (Abdl Aali and Al-Sahlany, 2024). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa media berbasis *gellan gum* mendukung pertumbuhan bakteri tanah (Janssen et al., 2002), sekaligus menghasilkan 10 senyawa bioaktif baru, mampu tumbuh dengan baik dan menghasilkan spora kecuali *Streptomyces* strain A 5008 dibandingkan dengan media agar konvensional (Suzuki, 2001).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, penelitian ini menggunakan *gellan gum* sebagai agen pembentuk gel dengan tujuan untuk menganalisis pengaruh variasi konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan dan untuk menentukan konsentrasi *gellan gum* yang paling optimal dalam mempertahankan viabilitas isolat bakteri. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi yang bermanfaat mengenai pengaruh konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri sehingga dapat menjadi alternatif media penyimpanan yang efektif.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, erlenmeyer, gelas beaker, tabung reaksi, cawan petri, jarum inokulasi, spatula, bunsen, mikropipet, *laminar air flow*, batang pengaduk, lemari pendingin, *incubator*, *colony counter*, *autoclave*, timbangan, kaca arloji, pipet ukur, karet hisap, *magnetic stirrer*, mikroskop, kaca preparat, serta *shaker waterbath*. Bahan yang digunakan terdiri dari empat isolat bakteri (*Arthrobacter aurescens* (BR 13 dan BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50)), *Nutrient Broth* (NB) (Merck), *Nutrient Agar* (NA) (Merck), *gellan gum* (Himedia), *Plate Count Agar* (PCA) (Merck), alcohol 70%, alcohol 96%, aquades, safranin, kristal violet, dan iodin.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Pembuatan Media

a. Pembuatan media minimal *Dilute Nutrient Broth* (DNB)

Sebanyak 0,08 g NB dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL. Diambil sebanyak 1 mL larutan NB lalu dituangkan ke dalam gelas ukur 100 mL. Sebanyak 99 mL aquades ditambahkan ke dalam gelas ukur 100 mL.

b. Pembuatan DNB + *Gellan Gum*

Sebanyak 25 mL DNB dimasukkan ke dalam masing-masing dua erlenmeyer berukuran 100 mL. Kedua larutan di erlenmeyer tersebut ditambahkan *gellan gum* sebanyak 0,25 g untuk 1% dan 0,5 g untuk 2%. Distribusikan larutan tersebut ke dalam 16 tabung reaksi ulir dengan tutup masing-masing sebanyak 3 mL dengan pembagian delapan tabung untuk 1% dan 8 tabung untuk 2%. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2.2.2. Inokulasi dan Penyimpanan Isolat Bakteri

Isolat bakteri (*Arthrobacter aurescens* (BR 13 dan BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50)) diinokulasikan secara aseptik ke dalam tabung reaksi ulir yang berisi media DNB + *gellan gum* konsentrasi 1% dan 2%, masing-masing dengan dua pengulangan (duplo) untuk setiap isolat. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama satu bulan.

2.2.3. Karakterisasi Morfologi Bakteri

Karakterisasi morfologi bakteri dilakukan untuk mengamati ciri-ciri koloni dan sel dari setiap isolate. Pengamatan morfologi koloni dilakukan pada media PCA setelah inkubasi. Pengamatan dilakukan secara visual untuk mencatat bentuk koloni, warna, tepi koloni, serta elevasi koloni dari masing-masing isolat. Selain itu, pengamatan mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan gram untuk mengetahui bentuk sel dan respon gram dari isolat yang diuji.

2.2.4. Analisis Data

Viabilitas bakteri dianalisis menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC), dengan menghitung jumlah koloni yang terbentuk pada media PCA dari cawan yang memiliki 30 – 300 koloni. Pengamatan TPC dilakukan pada hari ke-7 dan hari ke-23 untuk mengevaluasi perubahan viabilitas selama penyimpanan. Perhitungan jumlah sel bakteri menurut (Fatayati et al., 2023) dilakukan menggunakan rumus berikut:

$$\text{TPC}\left(\frac{\text{CFU}}{\text{mL}}\right)=\frac{(\text{Jumlah Koloni-Kontrol})\times\text{Faktor Pengenceran}}{\text{Volume Sampel}} \quad (1.1)$$

Untuk mengetahui perbedaan viabilitas isolat DNB + *gellan gum* konsentrasi 1% dan 2%, data diuji secara statistik menggunakan uji non parametrik yaitu uji Mann-Whitney U dengan taraf signifikansi 1% ($\alpha = 0{,}01$).

3. HASIL DAN DISKUSI

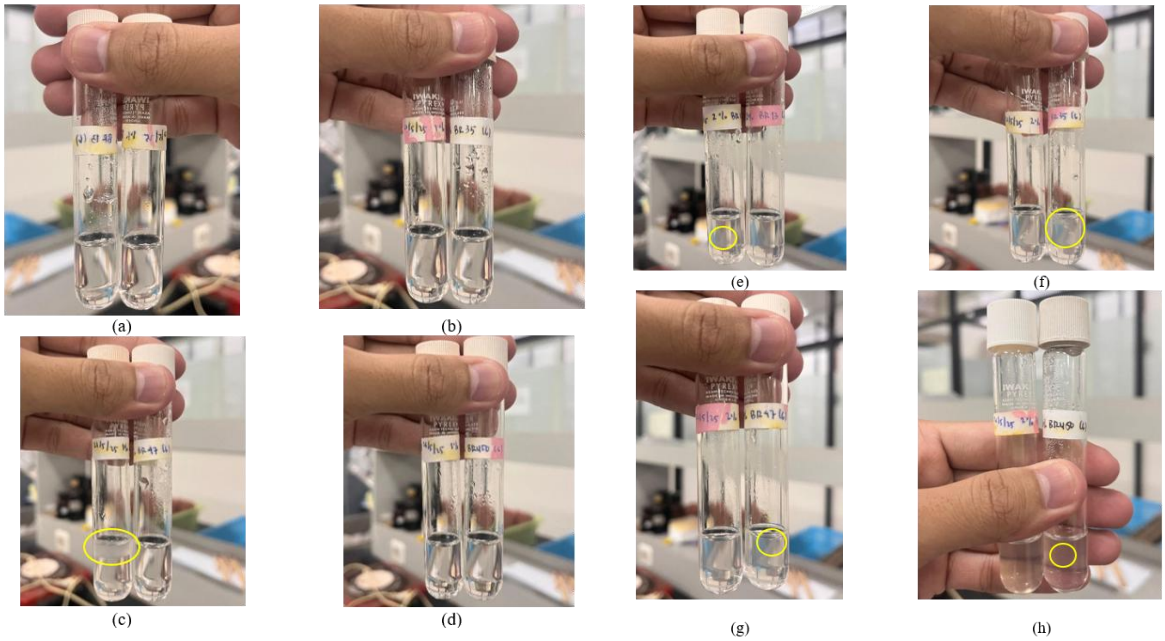
3.1 Kuantifikasi Mikroba

Kuantifikasi mikroba dilakukan untuk mengetahui jumlah sel bakteri viabel setelah disimpan dalam media DNB + *gellan gum* 1% dan 2%. Empat isolat yang digunakan adalah *Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50). Hasil pengamatan hari ke-7 dan hari ke-23 menunjukkan bahwa seluruh isolat tumbuh pada konsentrasi 2%, sedangkan pada konsentrasi 1% hanya isolat BR 47 yang menunjukkan pertumbuhan (Gambar 1). Pada hari ke-7, nilai TPC tertinggi ditunjukkan oleh BR 47 (2%) sebesar 9×10^6 CFU/mL, sedangkan terendah pada BR 13 (2%) yaitu 2×10^6 CFU/mL. Pada hari ke-23, nilai TPC tertinggi ditunjukkan oleh BR 13 (2%) sebesar 2×10^9 CFU/mL, sedangkan terendah adalah BR 47 (2%) sebesar 2×10^7 CFU/mL. Perbandingan antara hari ke-7 dan ke-23 (Tabel 1) menunjukkan peningkatan viabilitas pada seluruh isolat. BR 13 (2%) mengalami peningkatan paling tinggi dari 2×10^6 menjadi 2×10^9 CFU/mL, sedangkan BR 47 (2%) menunjukkan pertumbuhan lebih lambat.

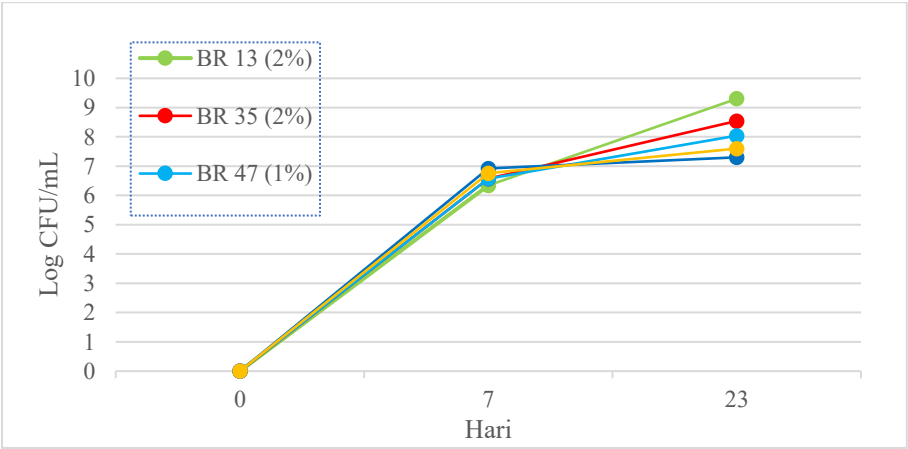
Tabel 1. Perbandingan Hasil Perhitungan TPC Hari ke-7 dan Hari ke-23

Isolat Bakteri	**Konsentrasi *Gellan Gum***	**Hari ke-7**	**Hari ke-23**
Arthrobacter aurescens (BR13)	2%	2×10^6	2×10^9
Arthrobacter aurescens (BR35)	2%	4×10^6	4×10^8
Rhizobacter fulvus (BR47)	1%	4×10^6	1×10^8
Rhizobacter fulvus (BR47)	2%	9×10^6	2×10^7
Alsobacter metallidurans (BRU50)	2%	6×10^6	4×10^7

Kurva pertumbuhan bakteri (Gambar 2) menunjukkan bahwa pada hari ke-0 seluruh isolat yaitu BR 13 (2%), BR 35 (2%), BR 47 (1%), BR 47 (2%), dan BRU 50 (2%) masih berada pada fase lag. Pada hari ke-7, seluruh isolat memasuki fase eksponensial dengan peningkatan jumlah sel yang signifikan, dimana BR 47 (2%) menghasilkan nilai tertinggi sebesar 6,93 Log CFU/mL. Selanjutnya pada hari ke-23, isolat BR 47 (2%) dan BRU 50 (2%) menunjukkan kenaikan populasi yang mulai melandai menandakan fase stasioner, sedangkan BR 13 (2%) tetap menunjukkan pertumbuhan paling optimal dengan peningkatan dari 6,34 Log CFU/mL menjadi 9,30 Log CFU/mL, diikuti BR 35 (2%) sebesar 8,54 Log CFU/mL, dan BR 47 (1%) sebesar 8,04 Log CFU/mL. Hingga akhir inkubasi belum terdapat isolat yang memasuki fase kematian, sehingga seluruh bakteri tetap viabel selama penyimpanan.



Gambar 1. Pengamatan Pertumbuhan Hari ke-7 dan Hari ke-23 (a) 1% BR 13, (b) 1% BR 35, (c) 1% BR 47, (d) 1% BRU 50, (e) 2% BR 13, (f) 2% BR 35, (g) 2% BR 47, (h) 2% BRU 50



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat dapat tumbuh pada media *gellan gum* 2%, sedangkan pada konsentrasi 1% hanya isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) yang mampu tumbuh. Hal ini menegaskan bahwa konsentrasi *gellan gum* berperan penting dalam viabilitas bakteri. Pada konsentrasi 2%, *gellan gum* membentuk gel yang lebih kuat dan stabil sehingga menyediakan lingkungan mikro yang mendukung, dengan retensi air dan perlindungan lebih baik. Sebaliknya, pada konsentrasi 1% struktur gel cenderung kurang stabil sehingga distribusi nutrien tidak merata. Dengan demikian, konsentrasi *gellan gum* berpengaruh langsung terhadap pembentukan gel serta ketahanan dan viabilitas bakteri yang disimpan (Abdl Aali & Al-Sahlany, 2024).

Berdasarkan penelitian (Ajam et al., 2024), peningkatan konsentrasi *gellan gum* dari 1% menjadi 2% terbukti meningkatkan sifat mekanik hidrogel secara signifikan, seperti kekuatan tarik, kekakuan, kapasitas regangan, serta ketahanan patah. Kondisi ini mendukung hasil penelitian yang menunjukkan bahwa media dengan *gellan gum* 2% lebih efektif dalam mempertahankan viabilitas bakteri, karena struktur gel yang terbentuk lebih padat dan stabil sehingga mampu memberikan perlindungan yang lebih baik serta lingkungan penyimpanan yang optimal bagi bakteri.

Untuk memastikan perbedaan viabilitas bakteri pada konsentrasi *gellan gum* 1% dan 2% signifikan secara statistik, digunakan uji non-parametrik Mann-Whitney U karena data tidak berdistribusi normal dan ukuran sampel relatif kecil. Pada hari ke-7, nilai U yang didapatkan sebesar 15,5 dengan nilai p-value < 0,001, sedangkan pada hari ke-23 nilai U yang didapatkan sebesar 40,0 dengan nilai p-value < 0,001. Karena kedua nilai p-value yang dihasilkan lebih kecil dari taraf signifikansi yang ditetapkan yaitu $\alpha = 0,01$, maka dapat disimpulkan bahwa perbedaan antara kedua perlakuan tersebut signifikan secara statistik (H_0 ditolak). Hasil uji statistik ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi *gellan gum* memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitas bakteri, sehingga perbedaan yang diperoleh benar-benar dipengaruhi oleh perlakuan konsentrasi *gellan gum* yang diberikan.

Pada konsentrasi 1%, isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) yang identik dengan *Methylibium fulvum* menunjukkan kemampuan untuk tumbuh. Hal ini dapat terjadi karena secara morfologis, *methylibium fulvum* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat motil dengan menggunakan satu flagel polar. Motilitas ini memungkinkan BR 47 bergerak aktif dalam media *gellan gum* 1% yang memiliki viskositas rendah, sehingga bakteri dapat menjelajahi media dan memperoleh nutrien secara efisien. Selain itu, *Rhizobacter fulvus* juga mampu tumbuh pada media yang memiliki nutrisi rendah seperti R2A agar dan mampu tumbuh dalam rentang pH yang luas yaitu antara pH 5,5 hingga 8,5 dengan pH optimum pada 6,5 – 7. Kemudian dari sisi metabolisme, *Rhizobacter fulvus* memiliki fleksibilitas yang sangat tinggi dalam pemanfaatan substrat. Bakteri ini mampu menggunakan berbagai senyawa organik sebagai sumber karbon dan energi seperti asetat, D-fruktosa, 3-hidroksibutirat, sitrat, laktat, serta beberapa asam amino seperti L-glutamat, L-aspartat, dan L-prolin (Yoon et al., 2007). Sifat-sifat fisiologis dan metabolik dari isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) menunjukkan bahwa karakteristik bakteri sangat menentukan keberhasilan untuk tumbuh dalam berbagai kondisi media yang digunakan.

Peningkatan konsentrasi *gellan gum* tidak selalu berdampak positif terhadap viabilitas bakteri. Analisis viskositas *gellan gum* sangat penting untuk menilai potensinya sebagai bahan penstabil, pengemulsi, pengental, maupun pembentuk gel. Viskositas *gellan gum* meningkat seiring bertambahnya konsentrasi (0,5 – 3% w/v) pada laju geser 100 rpm (Sukumar et al., 2021). Pada penelitian (Huang et al., 2012), diketahui bahwa meskipun produksi *gellan gum* meningkat dengan rasio C/N yang lebih tinggi, konversi glukosa menurun akibat viskositas tinggi yang membatasi difusi oksigen dalam cairan kultur yang tidak homogen antara 16-40 jam. Ketersediaan oksigen ini sangat mempengaruhi proses pertumbuhan mikroorganisme (Suryani, 2022). Beberapa penulis juga mengemukakan bahwa keterbatasan difusi oksigen dapat berkontribusi terhadap penurunan laju pertumbuhan (Zur et al., 2016).

Selain berfungsi sebagai media penyimpanan isolat bakteri, *gellan gum* juga memiliki potensi lebih luas dalam bidang lingkungan. Material berbasi biopolimer semakin berkembang sebagai alternatif hijau yang efektif untuk penghilangan logam berat. Di antara biopolimer komersial, xanthan dan gellan menunjukkan prospek besar sebagai adsorben ramah lingkungan dalam aplikasi

bioteknologi lingkungan. Kedua polimer ini, yang bersifat biodegradabel dan tidak toksik, telah terbukti berhasil digunakan dalam berbagai teknik remediasi. Berdasarkan sifat biosintesis dan karakter kimianya, xanthan dan gellan berkontribusi langsung terhadap kemampuan interaksi sorptifnya dengan ion logam berat, baik dalam bentuk alami maupun termodifikasi. Dengan demikian, keduanya dapat dipandang sebagai material berbasis hijau yang potensial untuk remediasi air tercemar logam berat secara efisien dan hemat biaya (Balíková et al., 2022). Penelitian (Muliadi et al., 2021) juga menunjukkan bahwa kultur campuran FN3 yang diimobilisasi dengan *gellan gum* mampu mendegradasi pewarna *Metanil Yellow* (MY) secara optimal hingga 90,38%. Butiran imobilisasi ini dapat digunakan kembali hingga 15 siklus dekolorisasi tanpa kehilangan aktivitas, serta tetap efektif meskipun terdapat logam berat dalam media. Temuan ini mengindikasikan bahwa teknologi imobilisasi berbasis *gellan gum* berpotensi diaplikasikan dalam bioremediasi tanah terkontaminasi maupun pada pengolahan air yang tercemar pewarna MY di masa mendatang.

3.2 Karakteristik Morfologi Bakteri

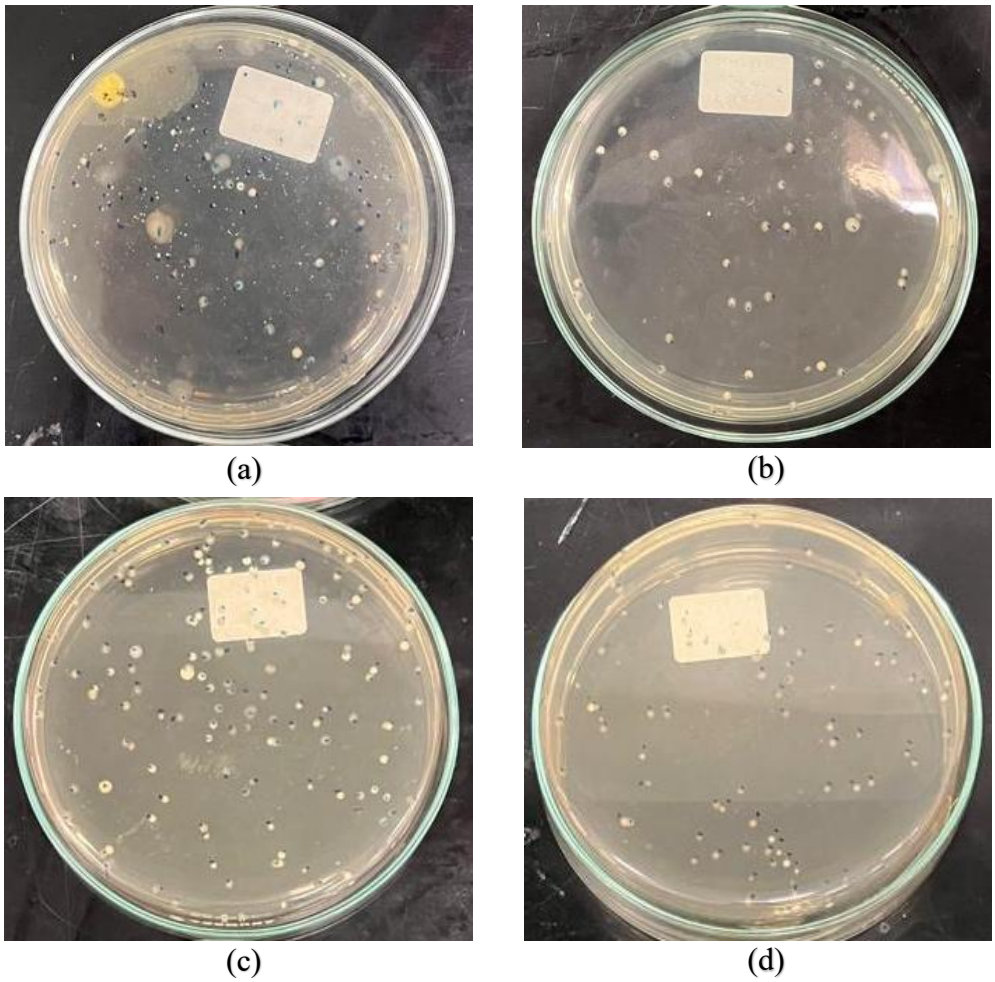
3.2.1 Morfologi Koloni Bakteri

Setiap spesies bakteri memiliki bentuk koloni yang beragam dan menjadi karakteristik khas dari spesies tersebut. Pengamatan terhadap morfologi koloni bakteri dilakukan untuk mendukung proses identifikasi hingga tingkat genus maupun spesies. Karakteristik morfologi yang diamati meliputi bentuk koloni, tepi koloni, elevasi koloni, dan warna (Agustina et al., 2022). Hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

Berdasarkan penelitian Mages et al. (2008), *Arthrobacter* memiliki karakteristik berupa koloni besar, berwarna putih kebau-abuan, tidak berbau seperti keju, dan bersifat non-fermentatif. Selain itu, berdasarkan Khusnuryani et al. (2015), isolat dengan kode SG3 yang dimiripkan dengan *Arthrobacter* memiliki bentuk koloni *circular*, elevasi *raised*, warna krem, tepi *entire*, dan struktur dalam *smooth*. Dua strain bakteri yang dinamai Gsoil 322^T dan Gsoil 328 yang diklasifikasikan sebagai spesies baru yang diberi nama *Methylibium fulvum* sp. nov. dan direklasifikasikan lagi menjadi *Rhizobacter fulvus* merupakan bakteri yang memiliki karakteristik bulat, permukaan halus, menonjol (*convex*), dan berwarna kekuningan setelah diinkubasi pada media R2A agar pada suhu 25°C (Yoon et al., 2007). Kemudian, koloni dari strain SK200a-9^T (*Alsobacter metallidurans*) berukuran sangat kecil (*punctiform*), memiliki warna putih hingga krem, dan memiliki diameter 0,2 – 0,3 mm setelah 1 minggu di inkubasi pada suhu 30°C di medium *Peptone-Yeast* (PY) (Bao et al., 2014).

Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

No	Bakteri	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi
1	*Arthrobacter aurescens* (BR 13)	Putih	*Circular*	*Entire*	*Flat*
2	*Arthrobacter aurescens* (BR 35)	Putih	*Circular*	*Entire*	*Flat*
3	*Rhizobacter fulvus* (BR 47)	Putih	*Circular*	*Entire*	*Flat*
4	*Alsobacter metallidurans* (BRU 50)	Putih	*Circular*	*Entire*	*Flat*



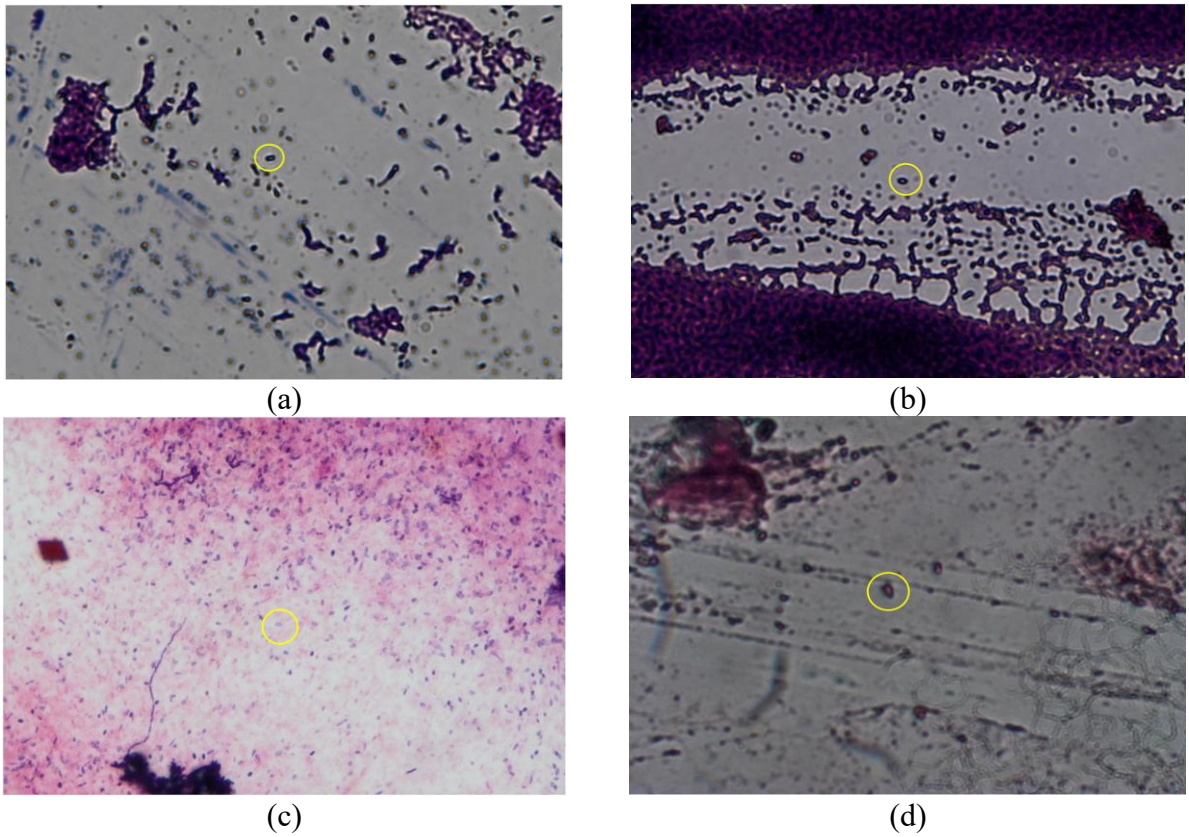
Gambar 3. Morfologi Koloni (a) *Arthrobacter aurescens* (BR 13); (b) *Arthrobacter aurescens* (BR 35); (c) *Rhizobacter fulvus* (BR 47); (d) *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) pada media PCA

Penelitian yang dilakukan oleh (Sousa et al., 2013) bertujuan untuk menunjukkan dampak dari beberapa variabel dengan menggunakan dua strain *Pseudomonas aeruginosa*. Percobaan yang dilakukan sebanyak 5 kali replikasi menunjukkan bahwa semua variabel mempengaruhi morfologi koloni, dan teridentifikasi 18 jenis morfotipe yang berbeda, yang menunjukkan perbedaan baik dalam ukuran, bentuk, warna, tekstur, dan tepi koloni. Waktu pertumbuhan serta komposisi media merupakan variabel yang memberikan dampak besar terhadap diferensiasi morfologi koloni. Dari hasil yang didapatkan dapat diketahui bahwa morfologi koloni bakteri dapat dipengaruhi oleh berbagai kondisi percobaan seperti lama inkubasi, jenis media yang digunakan, kepadatan koloni, dan latar belakang genetik dari strain bakteri itu sendiri. Perbedaan kondisi tersebut menghasilkan variasi morfologi koloni yang cukup beragam, baik dari segi ukuran, bentuk, warna, tekstur, maupun bentuk tepi koloni.

3.2.2 Morfologi Sel Bakteri

Dalam mikrobiologi, istilah morfologi sel mengacu pada bentuk dasar sel suatu organisme. Beragam bentuk morfologi telah teridentifikasi pada organisme prokariotik, dengan beberapa diantaranya diklasifikasikan ke dalam bentuk-bentuk umum yang telah menjadi bagian dari terminologi dasar dalam bidang mikrobiologi. Bakteri dengan bentuk bulat dikenal sebagai *coccus*, sedangkan yang memiliki bentuk silindris disebut sebagai batang atau *bacillus*. Bentuk lain yang ditemukan adalah spirillum yaitu bakteri yang berbentuk batang tetapi melintir menjadi spiral (Madigan et al., 2012). Adapun hasil pengamatan morfologi sel bakteri pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4, seluruh isolat bakteri mulai dari *Arthrobacter aurescens* dengan kode BR 13 dan BR 35, *Rhizobacter fulvus* dengan kode BR47, dan *Alsobacter metallidurans* dengan kode BRU 50 memiliki gram positif, dan berbentuk batang. Hasil pengamatan morfologi sel bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh isolat yang digunakan memililki kesesuaian dengan karakteristik yang telah dilaporkan dalam beberapa penelitian sebelumnya, kecuali isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50). Hasil yang diperoleh bergram positif sedangkan data yang dilaporkan dalam beberapa penelitian memiliki gram negatif.



Gambar 4. Morfologi sel (a*) Arthrobacter aurescens* (BR 13); (b) *Arthrobacter aurescens* (BR 35); (c) *Rhizobacter fulvus* (BR 47); (d) *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) pada perbesaran 100× dengan skala 10 µm.

Perubahan hasil pewarnaan gram yang tidak konsisten pada beberapa bakteri tidak disebabkan oleh perubahan genetik, melainkan lebih dipengaruhi oleh kondisi fisiologis sel maupun faktor teknis selama proses pewarnaan. Fenomena ini dikenal sebagai gram variabel, dimana bakteri dapat tampak sebagai gram positif pada satu kondisi, namun dapat terlihat gram negatif pada kondisi lain (Rahmah et al., 2023). Keberhasilan pewarnaan gram juga sangat dipengaruhi oleh ketepatan dalam prosedur pelaksanaan pewarnaan gram. Dekolorisasi yang dilakukan terlalu lama dapat menyebabkan seluruh sel tampak sebagai gram negatif, sedangkan dekolorisasi yang terlalu singkat berpotensi menyebabkan semua sel terlihat gram positif. Selain itu, apusan yang terlalu tebal dapat menjebak pewarna, sehingga menghasilkan interpretasi yang keliru terhadap karakteristik dinding sel bakteri. Proses fiksasi panas juga harus dilakukan secara hati-hati. Pemanasan yang berlebihan dapat merusak dinding sel dan mengganggu morfologi sel bakteri yang pada akhirnya berpengaruh pada hasil pengamatan mikroskopis (Moyes et al., 2009).

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, variasi konsentrasi *gellan gum* terbukti berpengaruh signifikan terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan. Pada konsentrasi 2%, semua isolat mampu bertahan dan tetap tumbuh hingga akhir masa inkubasi, sedangkan pada konsentrasi 1% hanya satu isolat yang dapat berkembang. Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi *gellan gum* cenderung meningkatkan kemampuan media dalam menjaga kondisi hidup bakteri, sehingga penggunaan *gellan gum* 2% dinilai paling efektif dalam mempertahankan viabilitas serta stabilitas pertumbuhan isolat bakteri pada suhu 30°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Rina Isnikarita, S.Si. sebagai laboran yang telah memberikan bimbingan, fasilitas, dan dukungan selama pelaksanaan penelitian ini.

REFERENSI

Abdl Aali, R. A. K., & Al-Sahlany, S. T. G. (2024). Gellan gum as a unique microbial polysaccharide: Its characteristics, synthesis, and current application trends. *Gels, 10*(3), Article 183. https://doi.org/10.3390/gels10030183

Agustina, N., Asih, E. N. N., & Kartika, A. G. D. (2022). Jenis Gram dan morfologi koloni bakteri air baku garam. *Jurnal Ilmu Kelautan Lesser Sunda, 2*(1). https://doi.org/10.29303/jikls.v2i1.44

Ajam, A., Huang, Y., Islam, M. S., Kilian, K. A., & Kruzic, J. J. (2024). Mechanical and biological behavior of double network hydrogels reinforced with alginate versus gellan gum. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 157*, Article 106642. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2024.106642

Balíková, K., Farkas, B., Matúš, P., & Urík, M. (2022). Prospects of biogenic xanthan and gellan in removal of heavy metals from contaminated waters. *Polymers, 14*(23), Article 5326. https://doi.org/10.3390/polym14235326

Bao, Z., Sato, Y., Fujimura, R., & Ohta, H. (2014). *Alsobacter metallidurans* gen. nov., sp. nov., a thallium-tolerant soil bacterium in the order Rhizobiales. *International Journal of*

Systematic and Evolutionary Microbiology, 64(3), 891–897. https://doi.org/10.1099/ijs.0.054783-0

Fariani, R., Lambung Mangkurat University, & Laboratorium Anatomi dan Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. (2021). Perbandingan teknik penyimpanan menggunakan medium yang berbeda terhadap viabilitas kapang *Colletotrichum capsici* dan *Prycularia oryzae*. *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan*.

Fatayati, I., Cita Amanda, A., Nurhayati, E., Djohan, H., Sutriswanto, & Kartika Komara, N. (2023). Gambaran cemaran mikroba terhadap masa simpan dan kebersihan penyimpanan telur ayam ras.

Huang, J., Jiang, S., Xu, X., Wu, H., Zhu, X., Ke, Z., Cai, J., Huang, L., & Xu, Z. (2012). Effects of carbon/nitrogen ratio, dissolved oxygen and impeller type on gellan gum production in *Sphingomonas paucimobilis*. *Annals of Microbiology, 62*(1), 211–218. https://doi.org/10.1007/s13213-011-0261-2

Janssen, P. H., Yates, P. S., Grinton, B. E., Taylor, P. M., & Sait, M. (2002). Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia. *Applied and Environmental Microbiology, 68*(5), 2391–2396. https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2391-2396.2002

Khusnuryani, A., Martani, E., Wibawa, T., & Widada, J. (2015). Karakterisasi bakteri pendegradasi fenol dan pembentuk biofilm dari sumber alami dan artifisial. *Kaunia: Jurnal Sains dan Teknologi, 11*, 40–50.

Machmud, M. (2001). Teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba. *Jurnal Mikrobiologi*, 4, 24–32.

Mages, I. S., Frodl, R., Bernard, K. A., & Funke, G. (2008). Identities of *Arthrobacter* spp. and *Arthrobacter*-like bacteria encountered in human clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology, 46*(9), 2984–2989. https://doi.org/10.1128/JCM.00658-08

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). *Brock biology of microorganisms* (13th ed.). Pearson.

Moyes, R. B., Reynolds, J., & Breakwell, D. P. (2009). Differential staining of bacteria: Gram stain. In *Current Protocols in Microbiology* (Suppl. 15). https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs15

Muliadi, F. N. A., Halmi, M. I. E., Wahid, S. B. A., Gani, S. S. A., Mahmud, K., & Shukor, M. Y. A. (2021). Immobilization of metanil yellow decolorizing mixed culture FN3 using gelling gum as matrix for bioremediation application. *Sustainability, 13*(1), Article 36. https://doi.org/10.3390/su13010036

Munch, M. (2024). Discovery and characterization of novel gellan gum degrading bacteria and enzymes. *Biotechnology Journal*.

Prasetyo, A. D., & Sari, D. H. (2021). *Pengantar bioteknologi*. Guepedia.

Sousa, A. M., Machado, I., Nicolau, A., & Pereira, M. O. (2013). Improvements on colony morphology identification towards bacterial profiling. *Journal of Microbiological Methods, 95*(3), 327–334. https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.020

Sukumar, S., Arockiasamy, S., & Moothona, M. C. (2021). Optimization of cultural conditions of gellan gum production from recombinant *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 and

its characterization. *Journal of Applied Biology and Biotechnology, 9*(1), 8–14. https://doi.org/10.7324/JABB.2021.9108

Suzuki, S. (2001). Establishment and use of gellan gum media for selective isolation and distribution survey of specific rare actinomycetes. *Actinomycetologica, 15*(1), 55–61. https://doi.org/10.3209/saj.15_55

Rahmah, W. N., Sartika, F., & Madureni, Y. E. S. (2023). Identifikasi bakteri pada nutrient agar plate di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Palangka Raya.

Suryani, Y. (2022). *Fisiologi mikroorganisme*. Guepedia.

Yoon, M. H., Ten, L. N., Im, W. T., & Lee, S. T. (2007). *Methylibium fulvum* sp. nov., a member of the Betaproteobacteria isolated from ginseng field soil, and emended description of the genus *Methylibium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 57*, 2062–2066. https://doi.org/10.1099/ijs.0.64909-0

Zur, J., Wojcieszyńska, D., & Guzik, U. (2016). Metabolic responses of bacterial cells to immobilization. *Molecules, 21*(7), Article 958. https://doi.org/10.3390/molecules21070958