TA/TL/2025/2054

JURUSAN
TEKNIK LINGKUNGAN

TUGAS AKHIR

Pengaruh Konsentrasi *Gellan Gum* terhadap Viabilitas Isolat Bakteri selama Penyimpanan

Gilang Achmad Syafi'i
21513100

Dosen Pembimbing I:
Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.

Dosen Pembimbing II:
Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana
Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan
Universitas Islam Indonesia
2025

DEPARTMENT
ENVIRONMENTAL ENGINEERING

BACHELOR THESIS

The Effect of Gellan Gum Concentration on the Viability of Bacterial Isolates during Storage

Gilang Achmad Syafi'i
21513100

Supervisor I:
Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.

Supervisor II:
Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Environmental Engineering Bachelor Program
Faculty of Civil Engineering and Planning
Universitas Islam Indonesia
2025

LEMBAR PENGESAHAN
TUGAS AKHIR

Pengaruh Konsentrasi *Gellan Gum* terhadap Viabilitas Isolat Bakteri selama Penyimpanan

Tugas akhir ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Teknik (S.T.) pada Program Studi Teknik Lingkungan Program Sarjana Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.

Gilang Achmad Syafi'i

21513100

Tugas akhir ini telah diuji pada tanggal 22 September 2025 dan disetujui oleh:

Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D (Pembimbing 1)

23-9-2025

Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T. (Pembimbing 2)

Dewi Wulandari, S.Hut., M.Agr., Ph.D. (Penguji)

Mengetahui,
Ketua Prodi Teknik Lingkungan Program Sarjana

23/9-25

Any Juliani, S.T., M.Sc.(Res.Eng.), Ph.D.

PERNYATAAN

Saya, penyusun tugas akhir ini, menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia, maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini merupakan gagasan, rumusan, dan studi saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dosen pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Perangkat lunak atau program komputer yang digunakan dalam tugas akhir ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya. Bukan tanggung jawab Universitas Islam Indonesia.
5. Tidak ada penggunaan kecerdasan buatan *(artificial intelligence*, AI) dalam penyusunan karya tugas akhir ini kecuali:
   a. untuk membantu dalam kadar yang wajar (seperti membantu mengoreksi, mencari ide, dan mencari referensi), dan
   b. tercantum dan dijelaskan perihal penggunaannya secara eksplisit di dalam karya tugas akhir ini.

   Implikasi dari penggunaan AI tersebut menjadi tanggung jawab saya sepenuhnya.
6. Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 31 Juli 2025

Yang membuat pernyataan,



Gilang Achmad Syafi'i

21513100

PRAKATA

Puji dan Syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh Variasi Konsentrasi *Gellan Gum* terhadap Ketahahan dan Viabilitas Isolat Bakteri dalam Penyimpanan" dengan baik. Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas segala nikmat, berkah, dan rahmat-Nya yang senantiasi menyertai penulis sehingga proses penyusunan Tugas Akhir ini dapat berjalan dengan lancar hingga selesai.
2. Orang tua penulis, Bapak Ahmad Saban dan Ibu Irawati Tombu, serta saudara penulis yang senantiasa memberikan doa, dukungan baik secara moral maupun materi untuk penulis dalam menjalankan studi S1 dari awal hingga akhir.
3. Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, serta masukan yang sangat berarti dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T. selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, serta masukan yang sangat berarti dalam penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Dewi Wulandari, S.Hut., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan review, kritik, dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan laporan tugas akhir.
6. Seluruh dosen, staff, dan keluarga besar Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis semasa masa perkuliahan.
7. Mba Rina Isnikarita, S.Si. selaku laboran yang telah memberikan bantuan dan arahan selama pelaksanaan penelitian di laboratorium hingga tugas akhir ini dapat diselesaaikan dengan baik.

8. Almarhumah nenek tercinta, yang semasa hidupnya telah memberikan kasih sayang, doa, dan semangat yang tak ternilai.
9. Teman-teman Taklim 21 yaitu Viko, Bariq, Sahrul, Ardis, dan Julfikar yang selama ini telah membersamai perjalanan kuliah penulis, serta memberikan bantuan, dan semangat selama masa proses perkuliahan hingga penyusunan tugas akhir ini.
10. Teman-teman Program Studi Teknik Lingkungan Angakatan 2021 yang telah memberikan bantuan selama masa perkuliahan.

Demikian prakata yang dapat penulis sampaikan, penulis menyadari bahwa Laporan Tugas Akhir ini masih memiliki banyak kekurangan dan kesalahan karena keterbatasan wawasan yang dimiliki penulis. Oleh karena itu, penulis dengan terbuka menerima setiap kritik dan saran yang membangun guna memperbaiki Laporan Tugas Akhir ini menjadi lebih baik. Semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat, baik bagi penulis maupun bagi para pembaca.

Sleman, 31 Juli 2025

Gilang Achmad Syafi'i

Pengaruh Konsentrasi *Gellan Gum* terhadap Viabilitas Isolat Bakteri selama Penyimpanan

Mahasiswa : Gilang Achmad Syafi'i
NIM : 21513100
Program Studi : Teknik Lingkungan - Program Sarjana
Pembimbing 1 : Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.
Pembimbing 2 : Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

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.

The Effect of Gellan Gum Concentration on the Viability of Bacterial Isolates during Storage

Student	: Gilang Achmad Syafi'i
Student Number	: 21513100
Study Program	: Environmental Engineering – Bachelor Program
Supervisor 1	: Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D.
Supervisor 2	: Diah Ayu Prawitasari, S.T., M.T.

Abstract

Microorganisms play an important role in various fields, including biotechnology, environmentaal science, and food industry. One of the main challenges in their application is maintaining the viability of bacterial isolates during storage without altering their physiological or genetic characteristics. Short-term storage techniques still largely rely on routine sub-culturing into fresh media, while long-term methods such as freeze-drying and cryopreservation require specialized equipment that is not always accessible. Gellan gum, an exopolysaccharide produced by Sphingomonas, is one of the most widely used polymers due to its versatility. It is a low-cost biomaterial with high reproducibility and strong ability to inhibit syneresis, yhus ensuring long-term gel stability. This study aims to analyze the effect of varying gellan gum concentrations on the viability of bacterial isolates during storage and to determine the most optimal concentration. Four bacterial isolates ((*Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), and *Alsobacter metallidurans* (BRU 50)) *were inoculated into minimal media DNB (Dilute Nutrient Broth) suplemented with 1% and 2% gellan gum, then incubated for one month at 30℃. Viability was observed on days 7 and 23 using the Total Plate Count (TPC) method. Results showed that the 2% concentration was more effective in maintaining the viability of all isolates, while the 1% concentration supported only BR 47. The highest TPC value was found in BR 13, reaching 2 x 10^9 CFU/mL. Therefore, 2% gellan gum may serve as an effective storage medium for preserving bacterial viability during storage.*

Key words: Gellan Gum, Total Plate Count, Bacterial Viability.

DAFTAR ISI

PRAKATA i

Abstrak iii

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL viii

DAFTAR GAMBAR ix

DAFTAR LAMPIRAN xi

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Perumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 3

1.4 Manfaat Penelitian 3

1.5 Ruang Lingkup 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5

2.1 *Gellan Gum* 5

2.2 Karakteristik Bakteri 6

2.3 Pertumbuhan Bakteri 9

2.4 Pertumbuhan Koloni Bakteri 11

2.5 Karakterisasi Morfologi Bakteri 12

2.6 Penelitian Sebelumnya 14

BAB III METODE PENELITIAN 17

3.1 Waktu dan Lokasi 17

3.2 Alat dan Bahan 17

3.3 Tahapan Penelitian 18

3.4 Pembuatan Media 19

3.5 Inokulasi Isolat Bakteri 23

3.6 Pengecatan Gram 24
3.7 Penyimpanan Isolat Bakteri 26
3.8 Analisis Data 27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 30
4.1 Kuantifikasi Mikroba 30
4.2 Morfologi Koloni Bakteri 42
4.3 Morfologi Sel Bakteri 45
BAB V PENUTUP 50
5.1 Kesimpulan 50
5.2 Saran 50
DAFTAR PUSTAKA 52
LAMPIRAN 59
RIWAYAT HIDUP 67

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Morfologi Koloni Bakteri 13
Tabel 2. 2 Penelitian Sebelumnya 14
Tabel 3. 1 Alat dan Bahan 17
Tabel 4. 1 Hasil Perhitungan TPC Hari ke-7 32
Tabel 4. 2 Hasil Perhitungan TPC Hari ke-23 35
Tabel 4. 3 Perbandingan Hasil Perhitungan TPC Hari ke-7 dan Hari ke-23 35
Tabel 4. 4 Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri 43
Tabel 4. 5 Hasil Pengamatan Morfologi Sel Bakteri 45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 *Native Gellan Gum* 5
Gambar 2. 2 *Deacylated Gellan Gum* 6
Gambar 2. 3 Kurva Pertumbuhan Bakteri 9
Gambar 2. 4 Contoh Morfologi Sel Bakteri 13
Gambar 3. 1 Tahapan Penelitian 18
Gambar 3. 2 Pembuatan Media NA Miring 19
Gambar 3. 3 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB) 20
Gambar 3. 4 Pembuatan Media DNB + *Gellan Gum* 21
Gambar 3. 5 Diagram Alir Inokulasi Bakteri 24
Gambar 3. 6 Diagram Alir Pengecatan Gram 26
Gambar 3. 7 Isolasi Bakteri Dengan Teknik Tuang 29
Gambar 4. 1 Pengamatan Pertumbuhan Hari ke-7 (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 32
Gambar 4. 2 Pengamatan Pertumbuhan 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 34
Gambar 4. 3 Kurva Pertumbuhan Bakteri 36
Gambar 4. 4 Pengukuran viskositas *gellan gum* dengan konsentrasi yang berbeda pada kecepatan 100 rpm 40
Gambar 4. 5 Uji Mann-Whitney U Hari ke-7 Menggunakan SPSS..... 41
Gambar 4. 6 Uji Mann-Whitney U Hari ke-23 Menggunakan SPSS..... 42
Gambar 4. 7 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 44
Gambar 4. 8 Morfologi Sel (a) *Arthrobacter aurescens* (BR 13), (b) *Arthrobacter aurescens* (BR 35) Pada Perbesaran 100x Dengan Skala 10 µm..... 46

Gambar 4. 9 Morfologi Sel (a) *Rhizobacter fulvus* (BR 47), (b) *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) Pada Perbesaran 100x Dengan Skala 10 µm..... 47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. 1 Perhitungan Media Cair (*Nutrient Broth*) 59
Lampiran 1. 2 Perhitungan Media Agar Miring 59
Lampiran 1. 3 Perhitungan Media DNB + *Gellan Gum* 60
Lampiran 1. 4 Media yang Digunakan 60
Lampiran 2. 1 Pengamatan Hasil *Total Plate Count* (TPC) 61
Lampiran 2. 2 Pertumbuhan Bakteri 62
Lampiran 3. 1 Dokumentasi Hasil TPC 63
Lampiran 3. 2 Dokumentasi Tugas Akhir 64

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroorganisme merupakan agen biologi yang memiliki peran dalam bidang bioteknologi. Mikroorganisme sendiri adalah organisme berukuran mikroskopis yang tidak dapat diamati secara langsung dengan mata telanjang. Secara umum, kelompok mikroorganisme mencakup bakteri, protozoa, virus, fungi, dan mikroalga. Perannya dalam kehidupan manusia sangat beragam, mulai dari memberikan manfaat hingga menimbulkan dampak negatif seperti menyebabkan penyakit. 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 dalam penggunaan bakteri adalah bagaimana menjaga isolatnya dengan baik tanpa mengubah sifat fisiologis dan genetiknya. Pemeliharaan mikroba merupakan aspek krusial dalam mikrobiologi, sehingga penting untuk memiliki pemahaman mengenai sifat biokimia dan aktivitas metabolik mikroba tersebut agar manfaatnya dapat dieksplorasi. Pemeliharaan mikroba untuk keperluan jangka pendek maupun jangka panjang adalah langkah penting untuk memastikan bahwa aktivitas metaboliknya tetap stabil (Fariani et al., 2021).

Penentuan teknik penyimpanan isolat bakteri merupakan proses yang memakan waktu lama, dan memerlukan ketelitian yang tinggi. Proses ini berkaitan dengan upaya untuk mengurangi laju metabolisme mikroorganisme hingga ke tingkat terendah agar viabilitas tetap terjaga dan tidak terjadi perubahan sifat morfologi bakteri. Untuk penyimpanan jangka pendek, mikroba biasanya dipindahkan secara berkala seperti setiap bulan, dari media lama ke media baru. Namun, teknik ini membutuhkan waktu dan tenaga yang cukup besar. 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 paling efektif dan banyak diterapkan adalah teknik kering beku dan kriopreservasi. Kedua metode ini telah terbukti berhasil dalam menjaga berbagai jenis mikroba untuk jangka waktu yang lama. 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 & 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. *Gellan gum* berasal dari berbagai spesies seperti Sphingomonas, seperti *S. pseudosanguinis* dan *S. yabuuchiae*. Salah satu keunggulan utama *gellan gum* dibandingkan media lainnya adalah sifat yang termoreversibel, di mana gel akan mengeras saat didinginkan dan kembali mencair ketika dipanaskan. Karakteristik ini sangat bermanfaat dalam aplikasi yang memerlukan pengelolaan suhu secara presisi. Selain itu, *gellan gum* mampu membentuk gel pada konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan agar, sehingga lebih hemat biaya dan memberikan dampak sensorik yang lebih optimal. *Gellan gum* juga 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 & Al-Sahlany, 2024).

Penelitian yang dilakukan oleh (Janssen et al., 2002) diketahui bahwa DNB (*Dilute Nutrient Broth*) yang dipadatkan dengan *gellan gum* terbukti menjadi media yang lebih baik untuk mengkultur bakteri tanah, dengan jumlah sel hidup yang dihitung tanpa sonikasi sebesar 7.5% dan dengan sonikasi mencapai 14.1% dari jurnal total sel yang diamati secara mikroskopis. Selain itu, dalam studi (Suzuki, 2001), isolasi strain menggunakan media berbasis *gellan gum* berhasil menghasilkan 10 senyawa bioaktif baru. Pada media agar konvensional, strain-strain memiliki keterbatasan dalam membentuk spora, namun mampu tumbuh

dengan baik dan menghasilkan spora pada media *Humic acid-MOPS Gellan gum* (HMG), kecuali *Streptomyces* strain A 5008.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka penelitian ini menggunakan *gellan gum* sebagai *gelling agent* untuk mengetahui kemampuan *gellan gum* sebagai alternatif media penyimpanan isolat bakteri. Diharapkan hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi yang bermanfaat dalam upaya menjaga viabilitas dan stabilitas isolat bakteri.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan?
2. Berapa konsentrasi *gellan gum* yang paling optimal untuk mempertahankan viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisis pengaruh variasi konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan.
2. Menentukan konsentrasi *gellan gum* yang paling optimal untuk mempertahankan viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memperluas pemahaman dan informasi tentang efektivitas dalam menjaga isolat bakteri selama penyimpanan.
2. Memberikan kontribusi dalam pengembangan metode alternatif penyimpanan bakteri yang lebih sederhana.
3. Sebagai referensi untuk penelitian mendatang dengan topik yang sama.

1.5 Ruang Lingkup

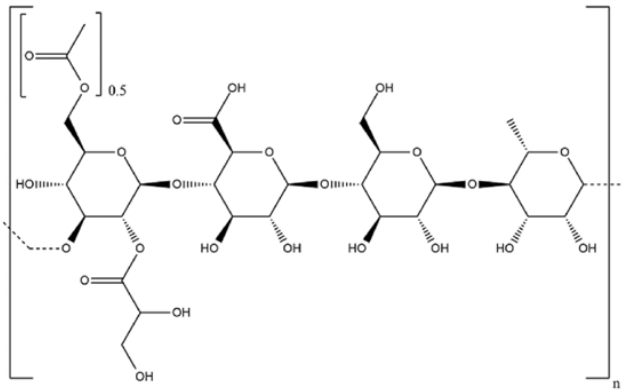
Ruang lingkup dari penelitian ini adalah:

1. Lokasi penelitian berada di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.
2. Menggunakan empat isolat bakteri koleksi Laboratorium Bioteknologi yaitu *Arthrobaacter aurescens* (BR 13)*, Arthrobaacter aurescens* (BR 35)*, Rhizobacter fulvus* (BR 47)*,* dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50).
3. Media pertumbuhan isolat bakteri menggunakan *Dilute Nutrient Broth* (DNB) dan *gellan gum*.
4. Konsentrasi *gellan gum* yang digunakan sebesar 1% dan 2%.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

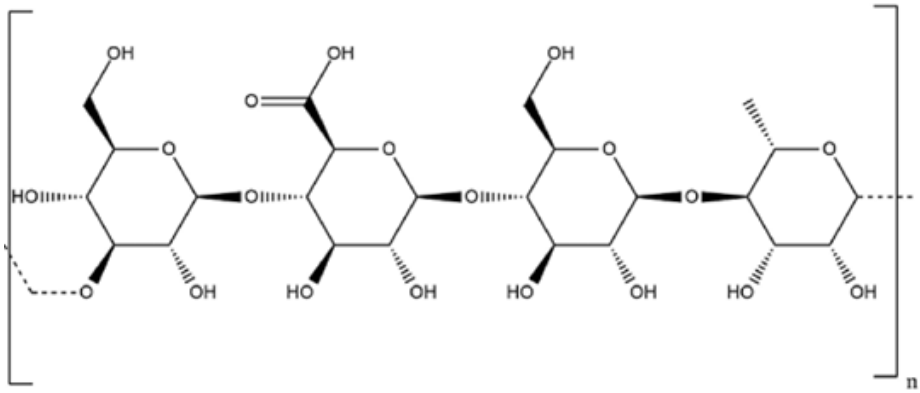
2.1 *Gellan Gum*

Gellan gum adalah eksopolisakarida mikroba yang diproduksi oleh *Sphingomonas elodea* dan *Sphingomonas paucimobilis*, adalah salah satu polimer yang paling banyak digunakan karena sifatnya yang serbaguna dan karena merupakan biomaterial berbiaya rendah yang diproduksi pada skala industri dengan kualitas reproduktif yang tinggi. Setelah *gellan gum* disetujui oleh FDA pada tahun 1992 untuk digunakan sebagai aditif makanan, minat pada polisakarida ini untuk biomedis, farmasi, dan bidang lainnya telah meningkat pesat karena biokompatibilitas dan biodegradabilitasnya. Terdapat dua jenis *gellan gum* yaitu *gellan gum* alami (*native gellan gum*) (Gambar 2.1) yang dikenal sebagai *high acyl gellan gum*, dan *gellan gum* yang telah dideasetilasi (*deacetylated gellan gum*) (Gambar 2.2), yang dikenal sebagai *low acyl gellan gum*. Perbedaan utama antara keduanya terletak pada dua gugus asli, yaitu gilserat dan asetat, yang terdapat pada unit tetrasakarida *gellan gum* alami (Gomes et al., 2023).



Gambar 2. 1 *Native Gellan Gum*

Sumber: Gomes, 2023



Gambar 2. 2 *Deacylated Gellan Gum*

Sumber: Gomes, 2023

Gellan gum terdiri dari unit tetrasakarida, dengan komposisi dua residu β-D-glukosa, satu residu β-D-glukuronat, dan satu residu α-L-ramnosa. Proporsi kandungan dalam *gellan gum* adalah sekitar 60% glukosa, 20% rhamnose, dan 20% glukuronat. Dalam unit tetrasakarida yang berulang, gugus gliserat selalu hadir di setiap unit, sementara gugus asetat hanya muncul pada dua unit tetrasakarida yang berulang. Gugus asli ini dapat dihilangkan melalui proses klasifikasi menggunakan perlakuan alkali, yang menghasilkan *gellan gum* yang telah dideasetilasi (Gomes et al., 2023).

Gellan gum merupakan salah satu jenis hidrogel yang dapat digunakan bersama polisakarida lain seperti agar, xanthan gum, dan carrageenan. Secara umum, *gellan gum* memiliki keuntungan dalam membentuk gel pada kadar yang rendah dan sifat termoversibel. Selain itu, *gellan gum* juga memiliki daya optimal untuk menghambat sineresis sehingga stabilitas gel dapat terjaga dalam waktu yang lama. *Gellan gum* juga memiliki kejernihan tinggi dan kemampuan dalam membentuk lapisan film. Disamping itu, *gellan gum* juga memiliki kekurangan yaitu *gellan gum* memerlukan konsentrasi yang tinggi daripada agen pembentuk gel lainnya, dan keberadaan beberapa ion tertentu dapat mempengaruhi tekstur gel lainnya (Abdl Aali & Al-Sahlany, 2024).

2.2 Karakteristik Bakteri

Seluruh bakteri yang digunakan berasal dari hasil isolasi endapan vulkanik Gunung Merapi setelah letusan tahun 2010. Gunung Merapi, sebuah stratovolcano aktif di Indonesia pada letusan tersebut mempengaruhi seluruh wilayah di sekitarnya. Tiga tahun pasca letusan, wilayah terdampak menunjukkan munculnya

area tertutup lumut pada endapan vulkanik sehingga menjadi lokasi penelitian yang unik untuk mengklarifikasi hubungan antara kolonisasi lumut dan komunitas mikroba (Lathifah et al., 2019).

2.2.1 Arthrobacter aurescens

Arthrobacter merupakan salah satu genus eubakteri yang banyak ditemukan di lingkungan tanah dan bersifat kosmopolitan. Selain di tanah, bakteri ini juga dapat ditemukan di habitat ekstrim seperti lapisan tanah bawah permukaan yang dalam, laut Arktik, hingga tangki limbah radioaktif. *Arthrobacter* dikenal memiliki kemampuan metabolisme yang sangat fleksibel, terutama dalam memanfaatkan berbagai senyawa sebagai sumber karbon. Beberapa spesies dari *Arthrobacter* telah diidentifikasi memiliki potensi besar dalam proses bioremediasi, karena kemampuannya dalam mendegradasi senyawa polutan yang bersifat toksik seperti endotal, nikotin, nitrogliserin, campuran fenol, hingga herbisida berbahan dasar atrazin. Secara taksonomi, *Arthrobacter* diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif aerobik dengan kandungan GC yang tinggi. Bakteri ini termasuk ke dalam kelas *Actinobacteria*, ordo *Actinomycetales*, dan famili *Micrococcaeceae*. Terdapat tiga strain *Arthrobacter* yaitu *Arthrobacter aurescens* TC11, *Arthrobacter chlorophenolicus* A6, dan *Arthrobacter* sp. FB24. *Arthrobacter aurescens* TC1 merupakan strain yang diisolasi dari tanah di lokasi tumpahan herbisida atrazin di South Dakota. Strain in diketahui mampu tumbuh dengan berbagai jenis senyawa karbon serta memiliki kemampuan dalam menguraikan senyawa xenobiotik (Pal et al., 2011).

Genom *Arthrobacter aurescens* TC1 memiliki 11 pulau genomik yang terdiri dari 180 gen dengan komposisi GC dan pola nukleotida yang berbeda dibandingkan dengan bagian lain dari genomnya. Pulau-pulau ini mengandung gen-gen yang berfungsi dalam metabolisme, regulasi transkripsi, serta resistensi, yang mendukung strategi hidup tipe-K yang menitikberatkan pada daya tahan dan keunggulan kompetitif. Berdasarkan hasil analisis fungsi gen, sekitar 17,7% gen pada genom *Artrhobacter aurescens* TC1 berperan dalam proses metabolisme energi. Jumlah ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan organisme lain yang umumnya hanya memiliki 4% hingga 7% gen untuk fungsi tersebut. Kondisi ini

menggambarkan kapasitas metabolik yang besar serta kemampuan adaptasi ekologis yang tinggi dari *Arthrobacter aurescens* TC1 (Mongodin et al., 2006).

2.2.2 Rhizobacter fulvus

Genus *Rhizobacter* pertama kali dikenalkan oleh Goto dan Kuwata pada tahun 1988, dan kemudian diperbarui oleh Stackebrandt dan rekan-rekannya pada tahun 2009. Genus ini diketahui terdiri dari dua spesies yang namanya telah dipublikasikan secara resmi yaitu *Rhizobacter dauci* dan *Rhizobacter fulvus*. Bakteri yang termasuk dalam genus *Rhizobacter* umumnya berbentuk batang, bersifat gram negatif, aerob, tidak membentuk spora, dan menunjukkan hasil positif pada uji oksidase. *Rhizobacter fulvus* pertama kali diisolasi dari tanah di lahan budidaya ginseng yang ada di Korea Selatan (Wei et al., 2015). Secara taksonomi, bakteri *Rhizobacter fulvus* termasuk ke dalam kelas *Gammaproteobacteria*, ordo *Pseudomonadales*, dan famili *Pseudomonadaceae*.

Rhizobacter fulvus merupakan spesies baru yang berasal dari reklasifikasi dari *Methylibium fulvum*. Secara morfologi, bakteri ini memiliki sel yang motil dengan satu flagela di kutub sel dan menunjukkan hasil negatif pada uji katalase. Bakteri ini mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan mampu menghidrolisis aesculin, tetapi tidak mampu menghidrolisis substrat lain seperti pati, xilan, kitin, CM-selulosa, kasein, maupun DNA. Beberapa substrat yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan antara lain D-fruktosa, D-likosa, L-ksilosa, sukrosa, asetat, sitrat, laktat, 3-hidroksibutirat, 3-hidroksibenzoat, D-sorbitol, D-manitol, serta asam amino seperti L-asparagin, L-glutamat, dan L-prolin. Di sisi lain, substrat seperti D-galaktosa, D-glukosa, L-arabinosa, maltosa, serta berbagai jenis asam organik dan asam amino lainnya tidak dapat digunakan sebagai sumber pertumbuhan (Stackebrandt et al., 2009).

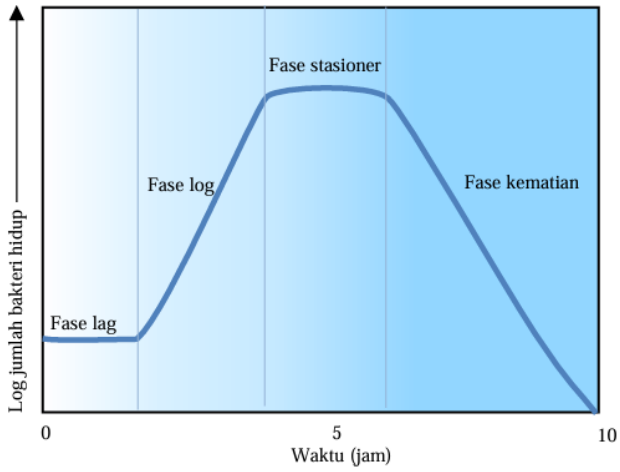
2.2.3 Alsobacter metallidurans

Alsobacter metallidurans merupakan bakteri berbentuk batang yang tergolong dalam bakteri gram negatif, tidak bergerak (non motil), dan tidak membentuk spora. Bakteri ini bersifat aerobik serta memperoleh energi melalui proses kemo-organotrofik. Hasil analisis sekuens gen 16S rRNA menunjukkan

bahwa bakteri ini termasuk dalam kelompok *Alphaproteobacteria*, namun berasal dari garis keturunan yang sebelumnya belum pernah dibudidayakan. Kerabat dekat dari bakteri ini yang sudah dikenal sebelumnya berasal dari famili *Methylocystaceae* dan *Beijerinckiaceae* yang keduanya termasuk ordo *Rhizobiales*. Pertumbuhan optimal terjadi pada suhu sedang (25 - 30°C) dan pH netral (sekitar pH 7). Secara fisiologis, *Alsobacter metallidurans* menunjukkan aktivitas enzim seperti alkalin fosfatase, leusin arilamidase, asam fosfatase, dan naftol fosfohidrolase, sedangkan aktivitas valin arilamidase hanya terdeteksi dalam jumlah kecil. *Alsobacter metallidurans* mampu memanfaatkan senyawa sebagai sumber karbon, termasuk asetat, D-glukosa, L-arabinosa, L-glutamat, piruvat, dan suksinat (Bao et al., 2014).

2.3 Pertumbuhan Bakteri

Peningkatan yang berkelanjutan pada seluruh bagian sel organisme dikenal sebagai pertumbuhan. Pertambahan jumlah individu pada organisme uniseluler terjadi melalui pembelahan atau reproduksi sel. Pertumbuhan bakteri juga dapat diamati melalui peningkatan jumlah maupun massa sel. Bakteri berkembang biak dengan mekanisme pembelahan biner, di mana satu sel membelah menjadi dua sel baru. Oleh karena itu, pertumbuhan bakteri dapat diukur melalui peningkatan jumlah sel (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).



Gambar 2. 3 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Sumber: Yani Suryani, 2022

Pola pertumbuhan mikroorganisme umumnya digambarkan melalui kurva pertumbuhan bakteri (Gambar 2.3) yang mencerminkan seluruh siklus hidup bakteri mulai dari fase lag, fase ekponensial, fase stasioner, hingga fase kematian. Fase lag merupakan fase awal ketika bakteri mulai beradaptasi setelah dipindahkan ke lingkungan atau ke media baru yang berbeda dengan media sebelumnya. Pada tahap ini, sel bakteri melakukan penyesuaian metabolik agar bisa bertahan dan mulai tumbuh di kondisi yang baru. Lama fase lag dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis bakteri, perubahan kondisi lingkungan, serta kondisi kultur sebelumnya. Jika kultur yang sedang tumbuh secara aktif dalam fase eksponensial dipindahkan ke media baru dengan kondisi lingkungan yang serupa, maka fase lag bisa saja tidak terjadi. Namun, jika kultur dipindahkan dari media yang kaya nutrisi ke media dengan kandungan nutrisi yang lebih rendah, maka sel akan memasuki fase lag karena membentuk enzim dan metabolit yang dibutuhkan untuk bertahan hidup dilingkungan yang baru (Wahyuningsih & Zulaika, 2018).

Fase eksponensial atau fase log merupakan tahap kedua dalam kurva pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan laju pertumbuhan yang sangat cepat. Pada fase ini sel bakteri membelah secara aktif dan jumlah populasi meningkat secara signifikan dalam waktu yang relatif singkat. Kecepatan pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, ketersediaan nutrisi dalam media, serta karakter genetik dari mikroba itu sendiri. Fase eksponensial juga merupakan fase penting dimana mikroba mengalami pembelahan sel secara teratur yang dikenal dengan istilah waktu generasi. Fase stasioner merupakan tahap ketiga dimana laju pertumbuhan mikroba setara dengan laju kematiannya sehingga jumlah total mikroba akan tetap. Bakteri yang tumbuh akan mencapai titik di mana laju pertumbuhannya mulai menurun. Hal ini menandakan awal dari fase stasioner. Sementara itu, fase kematian ditandai dengan meningkatnya laju kematian mikroba yang melebihi laju pertumbuhan (Risna et al., 2022).

Menurut (Suryani, 2011), terdapat beberapa faktor yang memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, yaitu ketersediaan nutrien, air, suhu, pH, dan ketersediaan oksigen. Nutrien berfungsi untuk membuat energi dan membuat

komponen sel, dengan karbon sebagai sumber energi utama. Namun, beberapa mikroorganisme juga dapat memanfaatkan nitrogen dari senyawa organik atau anorganik. Selain itu, ketersediaan air sangat penting karena 70-80% komponen sel terdiri dari air. Air diperlukan untuk pertumbuhan, perkembangbiakan, dan reaksi biokimia. Suhu juga memengaruhi aktivitas enzim dan pertumbuhan mikroorganisme, suhu ideal biasanya sekitar 30°C. Pertumbuhan mikroorganisme akan meningkat seiring meningkatnya suhu hingga mencapai titik maksimum, tetapi akan menurun drastic jika suhu lebih tinggi. Selain suhu, pH lingkungan juga memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, dengan kisaran ideal antara 6,5 dan 7,5. Mikroorganisme biasanya sulit bertahan pada pH di bawah 5 atau di atas 8, tetapi beberapa spesies mampu menyesuaikan diri dengan kondisi ekstrim. Bukan hanya itu, ketersediaan oksigen juga sangat penting karena masing-masing mikroorganisme membutuhkan jumlah oksigen yang berbeda-beda tergantung pada jenisnya. Beberapa mikroorganisme membutuhkan oksigen untuk metabolisme aerobik, sementara yang lain dapat tumbuh dalam kondisi anaerobik atau bahkan dalam lingkungan dengan kadar oksigen yang sangat rendah.

2.4 Pertumbuhan Koloni Bakteri

Jumlah bakteri menentukan efektivitas kinerjanya. Untuk memastikan bahwa ada bakteri hidup, metode perhitungan koloni masih viabel digunakan. Dalam analisis ini, jumlah koloni yang dapat diterima berkisar antara 30 hingga 300. Mengalikan jumlah koloni pada cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan adalah cara untuk mengetahui jumlah bakteri total dalam suspensi (Meitasari, 2021). Koloni yang digunakan dalam perhitungan harus memenuhi beberapa kriteria, antara lain:

1. Satu koloni dihitung satu koloni.
2. Dua koloni yang bertumpuk menjadi satu dihitung satu koloni.
3. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu dihitung satu koloni.
4. Dua koloni yang berdekatan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni.

2.5 Karakterisasi Morfologi Bakteri

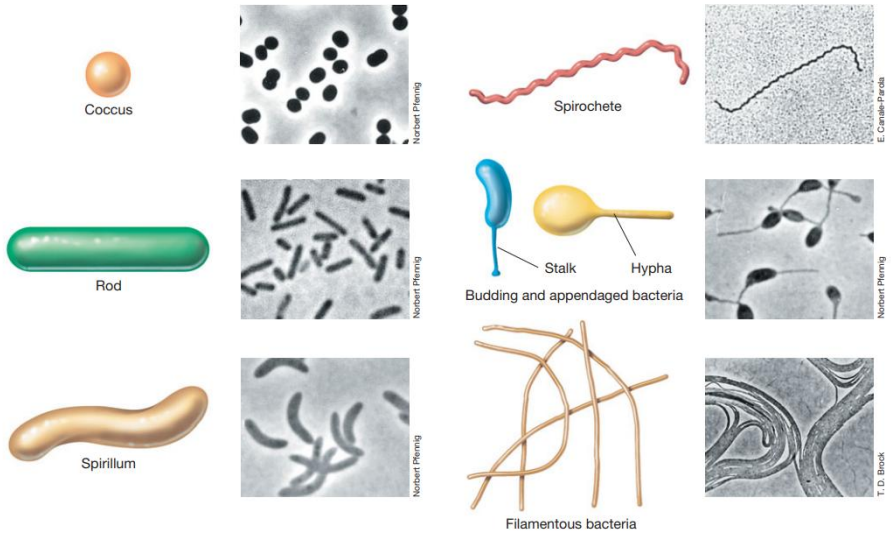
Salah satu prosedur dasar yang umum dilakukan dalam penelitian mengenai mikrobiologi adalah karakterisasi morfologi bakteri. Karakterisasi yang dilakukan meliputi identifikasi sel bakteri dengan pengecatan gram dan identifikasi koloni bakteri. Tujuan dari identifikasi morfologi sel bakteri adalah untuk mengumpulkan data tentang morfologi dan karakteristik dinding sel bakteri dari dua kelompok utama, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Proses identifikasi bakteri baik secara manual maupun dengan metode rapid test menggunakan test kit, bergantung pada data hasil pengecatan gram (Prayekti et al., 2022).

Dua jenis bakteri yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, dibedakan berdasarkan reaksi terhadap pewarnaan gram. Bakteri gram positif menunjukkan warna ungu karena dinding selnya dapat mempertahankan pewarnaaan kristal violet meskipun terpapar larutan dekolorisasi seperti alkohol. Sedangkan bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan pewarnaan ungu karena dinding selnya lebih tipis, yang mana membuat bakteri gram negatif lebih mudah terpapar oleh larutan dekolorisasi (Permana, 2021).

Pada pengecatan gram, hasil yang diperoleh bergantung pada komposisi dinding sel bakteri. Proses pengecatan gram menggunakan 4 jenis reagen yaitu kristal violet, iodin, alkohol, dan fuchsin alkali. Perwarnaan gram bergantung pada perubahan struktur dinding sel bakteri. Perubahan ini memengaruhi permeabilitas zat warna dan bagaimana bakteri bertindak terhadap larutan pencuci. Bakteri gram positif maupun gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga keduanya akan menyerap pewarna kristal violet. Namun, karena dinding sel bakteri gram negatif memiliki banyak lipid, warna kristal violet akan luntur ketika dicuci menggunakan alkohol. Kemudian, pada saat ditambahkan fuchsin alkali, bakteri gram negatif akan menyerap zat warna tersebut yang menyebabkan bakteri gram negatif berwarna merah (Mahmudah et al., 2016).

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 (Michael T. Madigan et al., 2012). Contoh morfologi sel bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Contoh Morfologi Sel Bakteri

Sumber: (Michael T. Madigan et al., 2012)

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).

Tabel 2. 1 Morfologi Koloni Bakteri

No	Morfologi Koloni Bakteri	Gambar	Keterangan
1	Bentuk Koloni		Circular
			Irregular

No	Morfologi Koloni Bakteri	Gambar	Keterangan
			Rizoid
2	Tepi Koloni		Entire
			Undulate
			Lobate
			Curled
3	Elevasi		Flat
			Raised
			Convex

Sumber: SNI 9099:2024

2.6 Penelitian Sebelumnya

Berikut ini adalah beberapa sumber penelitian sebelumnya yang membantu dan mendukkung penelitian tugas akhir ini dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Penelitian Sebelumnya

No	Nama Peneliti dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1	(Janssen et al., 2002)	*Improved Culturability of Soil Bacteria and Isolation in Pure Culture pf Novel Members of the Divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia*	*Dilute Nutrient Broth* (DNB) yang dipadatkan dengan *gellan gum* terbukti menjadi media yang lebih baik untuk mengkultur bakteri tanah, dengan jumlah sel hidup yang dihitung tanpa sonifikasi sebesar 7.5% dan dengan sonikasi mencapai 14,1% dari jurnal total sel yang diamati secara mikroskopis.
2	(Suzuki, 2001)	*Establishment and Use of Gellan gum Media for Selective Isolation and*	Isolasi strain menggunakan media berbasis *gellan gum* berhasil menghasilkan 10

No	Nama Peneliti dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
		Distribution Survey of Spesific Rare Actinomycetes	senyawa bioaktif baru. Pada media agar konvensional, strain-strain memiliki keterbatasan dalam membentuk spora, namun mampu tumbuh dengan baik dan menghasilkan spora pada media *Humic acid - MOPS Gellan gum* (HMG), kecuali *Streptomyces* strain A 5008.
3	(Rygaard et al., 2017)	*Effect of Gelling Agent and Extracellular Signaling Molecules on the Culturability of Marine Bacteria*	Agar yang digantikan dengan *gellan gum* dapat meningkatkan jumlah bakteri viabel 3 hingga 40 kali lipat, tergantung pada komposisi media dan kondisi inkubasi. Tingkat kulturabilitas tertinggi adalah 6,6% dibandingkan dengan jumlah sel yang diamati secara langsung. Menurut analisis sekuensing amplicon V4, varietas bakteri yang dapat dikultur dipengaruhi oleh perubahan agen pemadat. Perubahan ini memungkinkan kelompok bakteri yang sebelumnya tidak dapat tumbuh pada media berbasis agar untuk berkembang biak.
4	(Borisovna et al., 2024)	*Gellan gum-Based Nutrient Medium Increases the Diversity of Cultivated Groups of Soil Microorganisms*	Komposisi mikroba pada *gellan gum* dan agar-agar berbeda secara signifikan. Pada *gellan gum*, keberagaman mikroba lebih besar pada media oligotrofik, yang merupakan modifikasi dari media R2A. beberapa jenis bakteri ditemukan jarang atau bahkan tidak dapat tumbuh pada media agar-agar akan tetapi tumbuh pada *gellan gum*.

Berdasarkan beberapa sumber penelitian terdahulu, dapat diketahui bahwa *gellan gum* efektif meningkatkan pertumbuhan dan keanekaragaman mikroba, dapat mengkulturkan bakteri tanah dengan baik, dan dapat menghasilkan senyawa

bioaktif baru. Namun, belum diketahui bagaimana konsentrasi *gellan gum* dapat mempengaruhi ketahanan dan viabilitas isolat bakteri saat dilakukan penyimpanan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian ini untuk memberikan informasi mengenai bagaimana pengaruh konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan.

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret 2025 hingga Agustus 2025. Adapun lokasi penelitian berada di Laboratorium Bioteknologi, Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Islam Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

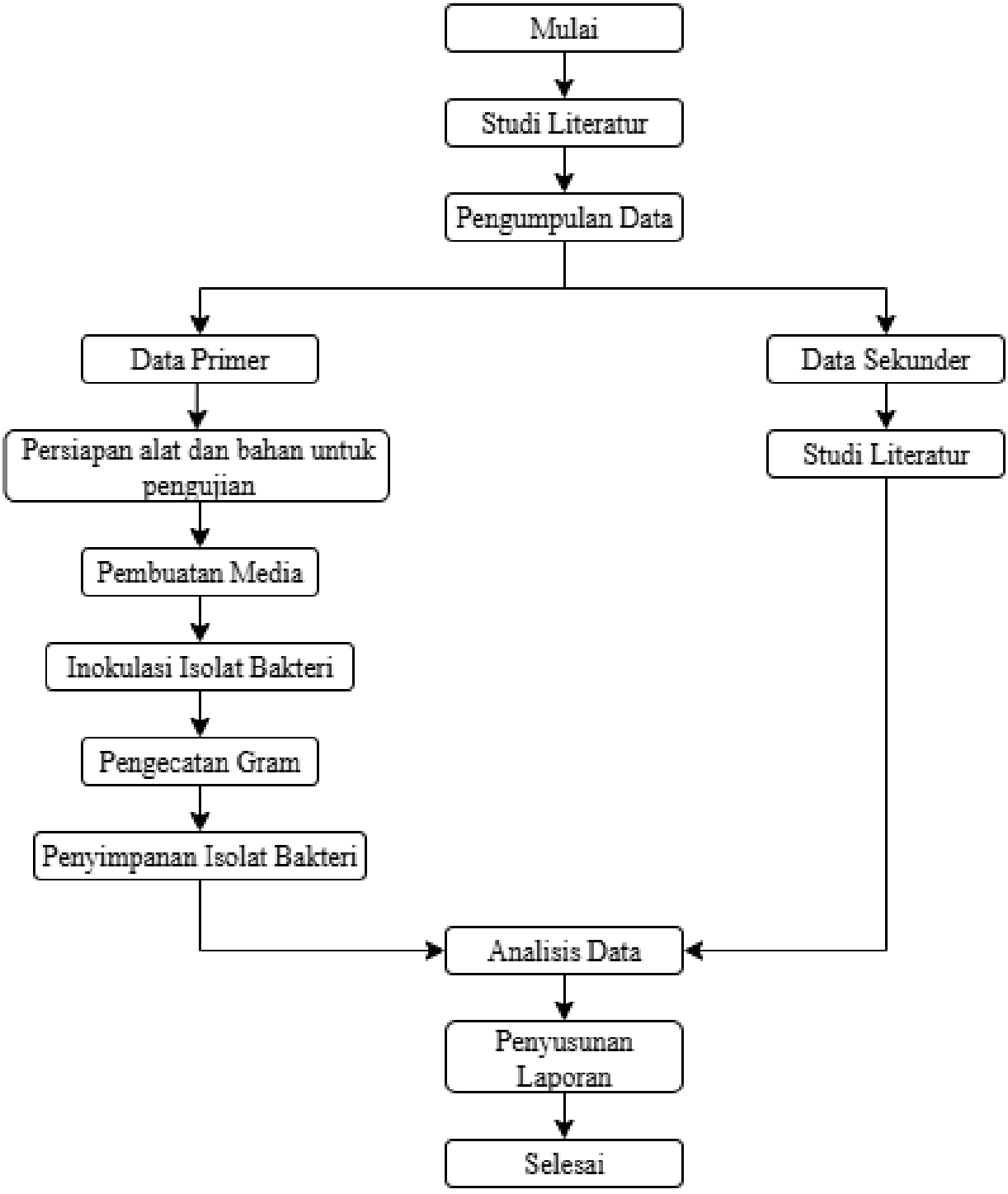
Pada penelitian ini alat dan bahan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Alat dan Bahan

No	Alat	Bahan
1	Gelas Ukur	4 Isolat Bakteri
2	Erlenmeyer	*Nutrient Broth* (NB) (Merck)
3	Gelas Beaker	*Nutrient Agar* (NA) (Merck)
4	Tabung Reaksi	*Gellan gum* (Himedia)
5	Cawan Petri	*Plate Count Agar* (PCA) (Merck)
6	Jarum Inokulasi	Alkohol 70%
7	Spatula	Alkohol 96%
8	Bunsen	Aquades
9	Mikropipet	Safranin
10	*Laminar Air Flow*	Kristal Violet
11	Batang Pengaduk	Iodin
12	Lemari Pendingin	Sarung Tangan
13	Inkubator	Masker
14	*Colony Counter*	Kertas Label
15	*Autoclave*	Kertas Cokelat
16	Timbangan	Alat Tulis
17	Kaca Arloji	Aluminium Foil
18	Pipet Ukur	
19	Karet Hisap	
20	*Magnetic Stirrer*	
21	Mikroskop	
22	Kaca Preparat	
23	*Shaker Waterbath*	

3.3 Tahapan Penelitian

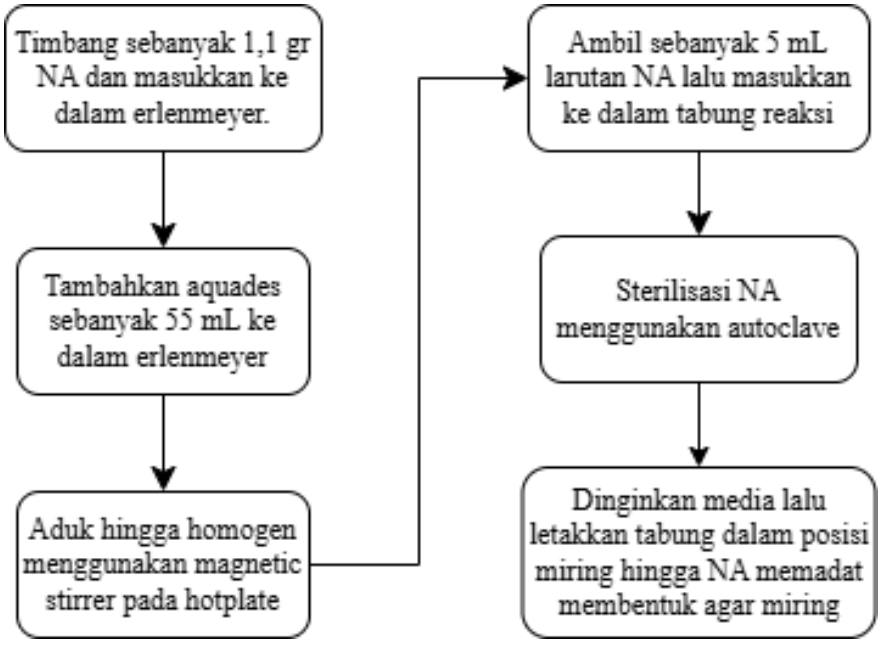
Berikut adalah diagram alir yang menggambarkan tahapan yang dilakukan selama penelitian, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.1.



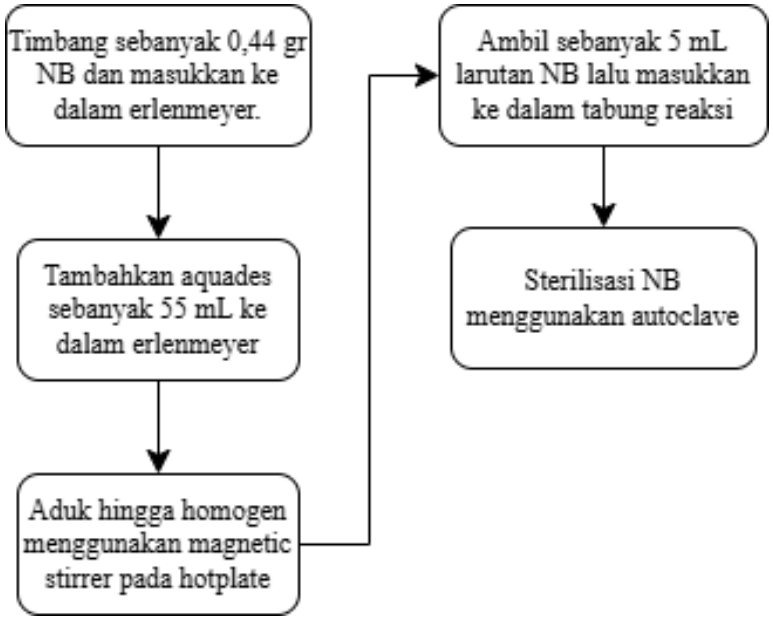
Gambar 3. 1 Tahapan Penelitian

3.4 Pembuatan Media

Media stok bakteri adalah media pertumbuhan yang disiapkan dalam jumlah tertentu dan disterilkan untuk disimpan dalam jangka waktu tertentu, sehingga siap digunakan saat dibutuhkan tanpa harus mengambil langsung dari kultur aslinya secara berulang. Dalam penelitian ini, media stok yang digunakan adalah *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA). Untuk pembuatan NB, sebanyak 0,44 gram NB dituangkan dalam gelas beaker lalu ditambahkan aquades sebanyak 55 mL, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai semua larut. Larutan NB kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL lalu ditutup menggunakan kapas. Setelah itu, sterilisasi media NB menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan untuk pembuatan NA, sebanyak 1,1 gram NA dilarutkan dalam 55 mL aquades, kemudian dipanaskan menggunakan *magnetic stirrer* sampai agar terlarut. NA yang sudah larut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL lalu ditutup dengan kapas. Setelah itu, sterilisasi media NA menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Berikut merupakan diagram alir yang menunjukkan tahapan pembuatan media stok *Nutrient Agar* (NA) miring (Gambar 3.2) dan *Nutrient Broth* (NB) (Gambar 3.3).



Gambar 3. 2 Pembuatan Media NA Miring

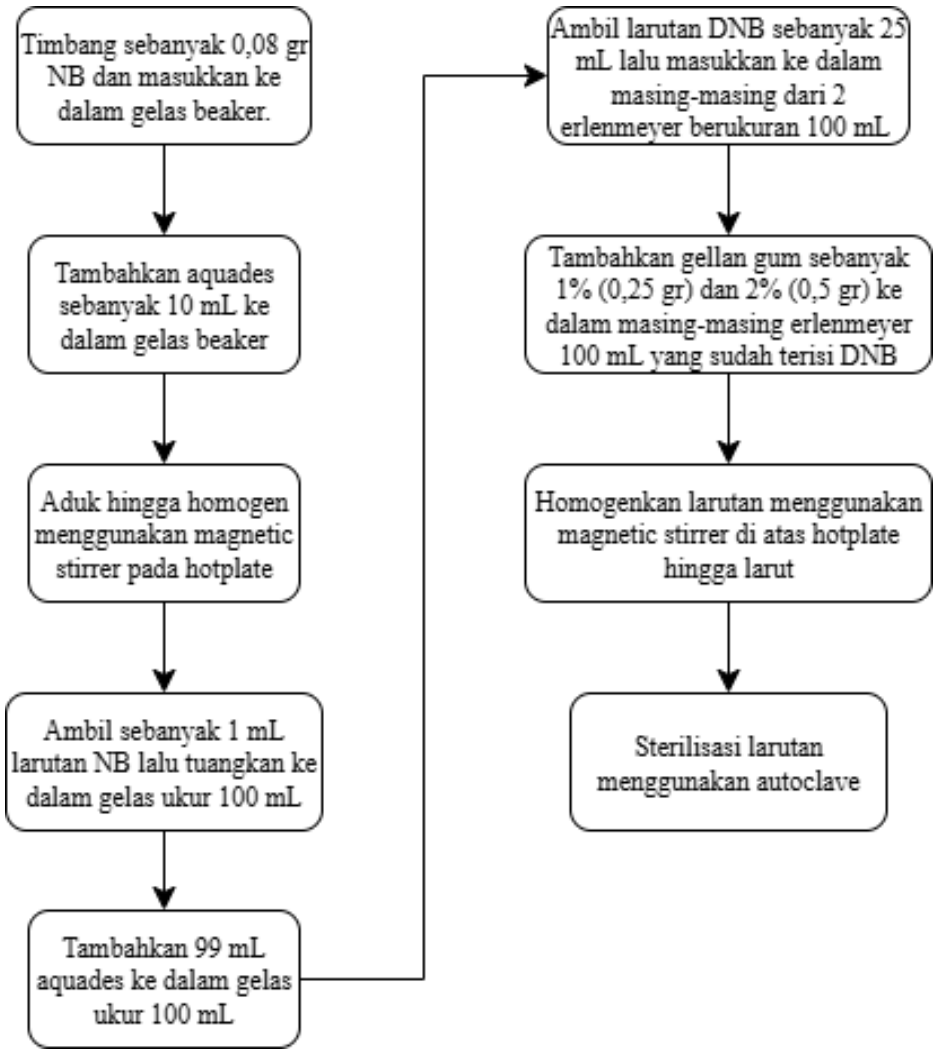


Gambar 3. 3 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Media pertumbuhan mikroorganisme merupakan campuran nutrisi yang diformulasikan sedemikian rupa untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Nutrisi yang terkandung di dalam media akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam bentuk molekul-molekul kecil yang kemudian digunakan untuk membentuk struktur dan komponen sel. Setiap mikroorganisme memiliki kebutuhan nutrisi yang berbeda, baik dari segi jenis maupun jumlahnya. Oleh karena itu, media pertumbuhan bakteri perlu diformulasikan dengan kandungan nutrisi yang memadai untuk mendukung proses pertumbuhan dan perkembangan bakteri secara optimal (Novitasari et al., 2019).

Media pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Dilute Nutrient Broth* (DNB) + *Gellan gum* dengan variasi konsentrasi *gellan gum* sebesar 1% dan 2%. *Gellan gum* adalah polisakarida yang memiliki viskositas tinggi dan peka terhadap geseran, sehingga dapat mengalami perubahan struktur dan viskositas ketika mengalami tegangan geser. Pada konsentrasi di bawah 0,9%, *gellan gum* terdeasetilasi menunjukkan perilaku Newtonian sedangkan pada konsentrasi diatas 1% menunjukkan perilaku aliran plastis. Karakteristik gelasi pada *gellan gum* sangat dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi kation, pH, suhu, dan konsentrasi polimer dalam larutan (Gomes et al., 2023).

Tahap awal pembuatan media DNB adalah dengan mengencerkan *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 100 kali. Proses ini dilakukan dengan menyiapkan 100 ml larutan NB kemudian mengambil 1 ml larutan NB dan memasukkannya ke dalam Erlenmeyer 100 ml yang berisi 99 ml aquades. Setelah itu, larutan kemudian dihomogenkan hingga tercampur secara merata. Sementara itu, pembuatan DNB + *gellan gum* mengikuti prosedur yang sama dengan pembuatan DNB, akan tetapi ditambahkan *gellan gum* ke dalam media sebesar 1% dan 2%. Berikut adalah diagram alir (Gambar 3.4) yang menunjukkan tahapan pembuatan media DNB + *gellan gum*.



Gambar 3. 4 Pembuatan Media DNB + Gellan Gum

Gellan gum mempunyai karakteristik fisik dan kimia yang berperan dalam mempertahankan viabilitas bakteri selama penyimpanan. Secara fisik, *gellan gum* dapat membentuk gel yang stabil meskipun digunakan pada konsentrasi yang rendah, dengan kekuatan dan elastisitas yang dapat disesuaikan melalui penambahan ion seperti Ca^{2+} dan Mg^{2+}. Struktur gel yang dihasilkan bersifat porus sehingga memungkinkan terjadinya difusi nutrien dan oksigen dalam jumlah cukup untuk mendukung aktivitas metabolisme rendah tanpa memicu pertumbuhan berlebihan. *Gellan gum* juga memiliki stabilitas tinggi terhadap variasi suhu dan pH sehingga matriks gel tetap terjaga pada berbagai kondisi penyimpanan. Secara kimia, *gellan gum* tersusun atas tetrasakarida berulang yang terdiri dari glukosa, rhamnosa dan asam glukuronat. Komponen ini bersifat inert secara nutrisi sehingga tidak mudah terdegradasi oleh sebagian besar bakteri non-degrader. Gugus asam glukuronat juga berperan dalam peningkatan ion logam yang membentuk ikatan silang, memperkuat struktur gel, serta memberikan perlindungan fisik dan stabilitas terhadap sel bakteri. Kombinasi antara sifat fisik dan kimia tersebut menjadikan *gellan gum* mampu menjaga kelangsungan hidup bakteri selama proses penyimpanan (Abdl Aali & Al-Sahlany, 2024).

Jika dibandingkan dengan agar, *gellan gum* menawarkan keunggulan yang lebih relevan dalam konteks penyimpanan bakteri. Agar diketahui memiliki keterbatasan seperti agar memungkinkan untuk mengalami degradasi oleh enzim agarase yang diproduksi oleh bakteri tertentu. Selain itu, terbatasnya difusi nutrien pada konsentrasi yang tinggi, dimana dapat menyebabkan pertumbuhan koloni menjadi terhambat bahkan menurunkan viabilitas bakteri. (Bonnet et al., 2020). Agar juga diketahui mampu menghambat pertumbuhan banyak spesies mikroba. Hambatan ini disebabkan oleh beberapa hal, seperti terbentuknya reaksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), dimana adanya kontaminan organik beracun atau efek persaingan antar mikroba (Demin et al., 2024).

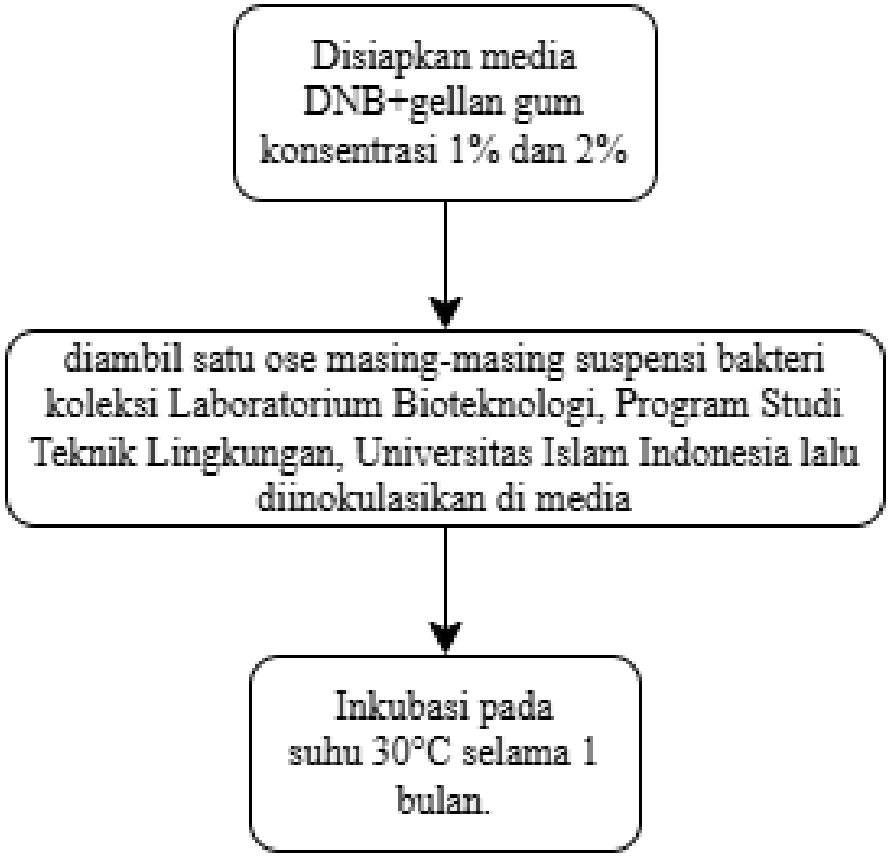
Pemilihan konsentrasi 1% dan 2% dalam penelitian ini didasarkan pada pertimbangan sifat fisik gel yang terbentuk. Penelitian (Saha & Bhattacharya, 2010) yang menggunakan konsentrasi 0,5 – 3% *gellan gum* menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi *gellan gum* hingga 2% masih menghasilkan gel dengan kekuatan yang baik, sedangkan konsentrasi diatas 2% membuat gel terlalu kaku

dan mengurangi elastisitasnya. Kondisi tersebut dapat membatasi difusi oksigen dan nutrien yang diperlukan karena ketersediaan oksigen sangat mempengaruhi proses pertumbuhan mikroorganisme (Yani Suryani, 2022). Oleh karena itu, konsentrasi 1% digunakan sebagai representasi konsentrasi rendah, sementara 2% dipilih sebagai batas optimal sebelum terjadi penurunan sifat gel yang berpotensi menghambat viabiltas bakteri.

3.5 Inokulasi Isolat Bakteri

Pemindahan kultur bakteri murni ke dalam media pertumbuhan untuk mendukung pertumbuhan dikenal sebagai inokulasi isolat bakteri. Proses ini sangat penting dalam bidang bakteriologi untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan tidak terkontaminasi dan steril. Beberapa teknik yang umum digunakan dalam inokulasi bakteri meliputi metode *streak plate, spread plate*, dan pengenceran berseri (Panwar et al., 2023).

Inokulasi dilakukan dengan menyiapkan media DNB + *gellan gum* konsentrasi 1% dan 2%. Kemudian diambil satu ose masing-masing suspensi bakteri koleksi Laboratorium Bioteknologi, lalu diinokulasikan di media. Masing-masing suspensi bakteri diinkubasi pada suhu 30°C selama satu bulan. Adapun isolat bakteri yang digunakan ada empat yaitu *Artrhobacter aurescens* (BR 13), *Arhtrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50). Berikut merupakan diagram alir (Gambar 3.5) dari inokulasi isolat bakteri.



Gambar 3. 5 Diagram Alir Inokulasi Bakteri

3.6 Pengecatan Gram

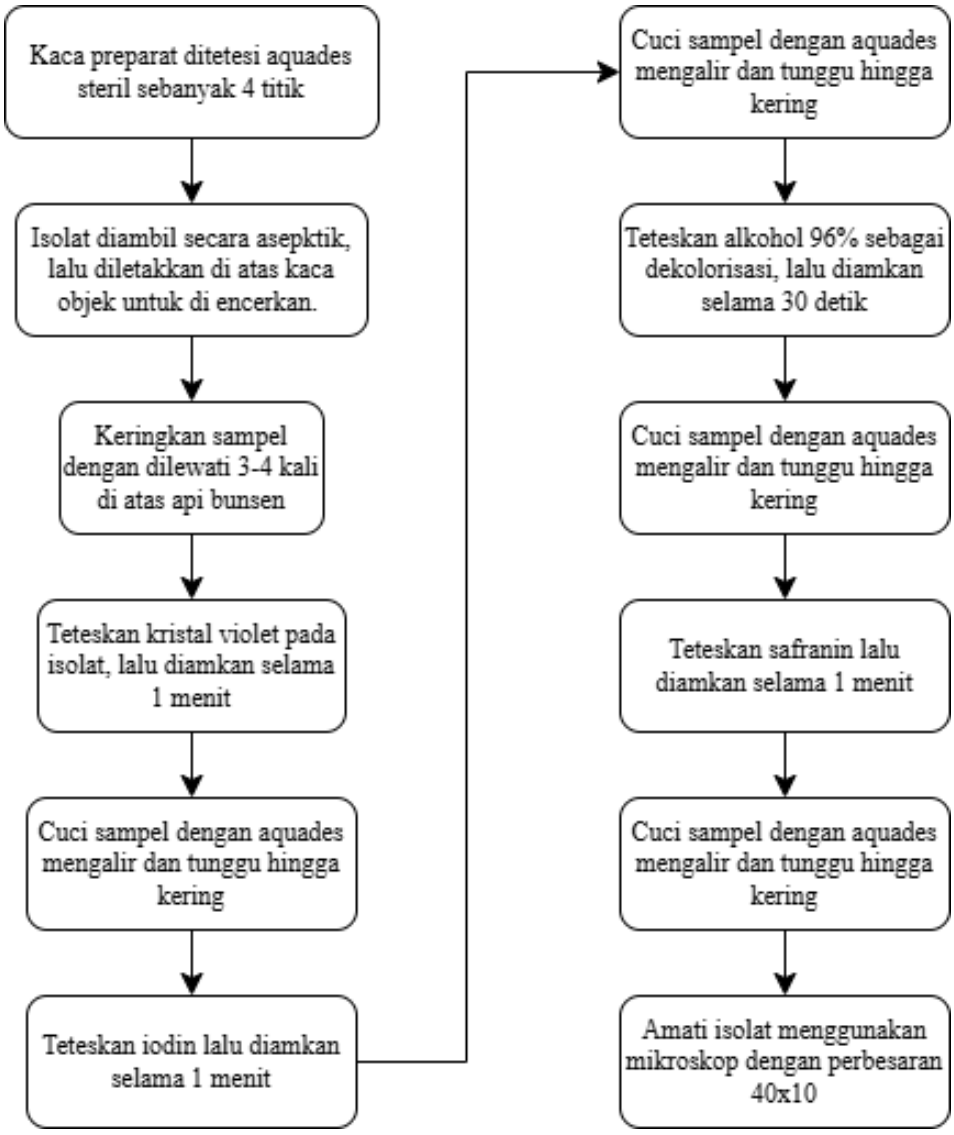
Pengecatan gram merupakan salah satu cara penting untuk mengidentifikasi bakteri. Teknik ini menggunakan beberapa reagen, yaitu safranin sebagai pewarna kontras, etanol 95% yang berperan sebagai dekolorisasi, iodin sebagai mordant, dan kristal violet sebagai pewarna primer. Safranin memberikan warna merah pada bakteri gram negatif. Mekanisme pewarnaan terjadi melalui interaksi ionik antara pewarna basa dengan komponen peptidoglikan pada dinding sel bakteri, khususnya gugus karboksil dan amino yang bermuatan negatif (Natarajan, 2018).

Dua jenis bakteri yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif, dibedakan berdasarkan reaksi terhadap pengecatan gram. Bakteri gram positif menunjukkan warna ungu karena dinding selnya dapat mempertahankan pewarnaaan kristal violet meskipun terpapar larutan dekolorisasi seperti alkohol. Sedangkan bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan pewarnaan ungu

karena dinding selnya lebih tipis, yang mana membuat bakteri gram negatif lebih mudah terpapar oleh larutan dekolorisasi (Permana, 2021).

Bakteri memiliki tiga bentuk dasar, yaitu kokus (bulat), basil (batang), dan spirilum (lengkung). Bentuk bakteri dapat dipengaruhi oleh faktor usia serta kondisi lingkungan yang kurang mendukung seperti keterbatasan nutrisi, perubahan suhu, dan perubahan bentuk sel akibat stress. Selain itu, beberapa bakteri juga dapat bersifat pleomorfik yang berarti memiliki variasi bentuk meskipun tumbuh dalam lingkungan yang ideal. Bakteri biasanya berukuran antata 0,5 dan 10 mikrometer (Suryani & Taupiqurrahman, 2021).

Pengecatan gram diawali dengan meneteskan kaca objek steril dengan aquades sebanyak 4 tetes menggunakan pipet tetes. Isolat kemudian diambil secara aseptik menggunakan jarum ose dan ditempatkan di atas kaca objek. Kemudian sampel dikeringkan dengan cara melewatkannya di atas nyala api bunsen sebanyak 3 – 4 kali. Setalah itu, isolat diberi kristal violet selama 1 menit, kemudian dibilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya, iodin diteteskan pada preparat dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci kembali dengan aquades kemudian dikeringkan. Setelah itu, diteteskan alkohol 96% selama 20 – 30 detik kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan. Selanjutnya, safranin diteteskan pada isolat dan dibiarkan selama 1 menit sebelum dikeringkan. Preparat yang telah selesai diwarnai kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 x 10 untuk mengidentifikasi bakteri (Singh et al., 2017). Diagram alir karakterisasi morfologi bakteri dengan pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 3.6.



Gambar 3. 6 Diagram Alir Pengecatan Gram

3.7 Penyimpanan Isolat Bakteri

Isolat bakteri disimpan dalam media DNB + *gellan gum* dengan dua variasi konsentrasi yaitu 1% dan 2%. Isolat tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama satu bulan untuk mengamati viabilitasnya selama masa penyimpanan. Suhu berperan penting dalam proses pertumbuhan mikroba karena berkaitan langsung dengan aktivitas enzim. Setiap mikroba memiliki kisaran suhu minimum, optimum dan maksimum untuk dapat tumbuh. Kisaran tersebut mencakup suhu 30°C (Yani Suryani, 2022). Pertumbuhan bakteri dan fungi berlangsung optimal

ketika disimpan pada suhu kamar yaitu sekitar 30°C (Elfrida Theresia P. Siburian et al., 2012). Oleh karena itu, suhu 30°C dipilih dalam penelitian ini untuk memastikan kondisi yang mendukung aktivitas metabolisme mikroba.

Selama periode inkubasi, viabilitas isolat bakteri *Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) diamati secara berkala dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Plate Count Agar* (PCA). Pengamatan dilakukan pada hari ke-7, dan hari ke-23. Pemilihan hari ke-7 sebagai titik pengamatan awal pada penelitian ini didasarkan pada beberapa hasil penelitian yang menunjukkan adanya perubahan yang nyata pada viabilitas mikroba maupun sel pada periode tersebut. Pada penelitian (Danah et al., 2019), penyimpanan hari ke-7 memperlihatkan signifikansi jumlah bakteri pada susu hasil pasteurisasi yang disimpan pada kemasan. Sementara pada penelitian (Rinendyaputri & Arif Wibowo, 2021), hari ke-7 dapat dianggap sebagai titik kritis untuk mengevaluasi perubahan awal viabilitas baik pada sistem mikroba maupun kultur sel sehingga relevan dijadikan pengamatan awal pada penelitian ini.

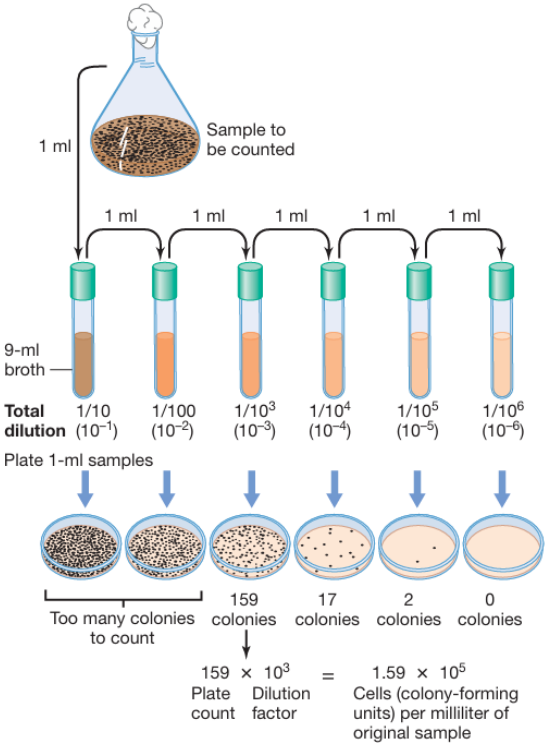
Dalam penelitian (Hutchison et al., 2019), media berbasis polisakarida yaitu xanthan gum + L-cysteine dapat mempertahankan viabilitas berbagai bakteri hingga 28 hari pada rentang suhu 22 - 40°C. Pada penelitian (Najafpour et al., 2025), viabilitas probiotik selama 28 hari penyimpanan menunjukkan penurunan selama penyimpanan pada semua perlakuan. Periode tiga hingga empat minggu merupakan rentang waktu yang penting untuk mengevaluasi daya tahan media, karena mendekati batas penyimpanan sebelum terjadi penurunan signifikan viabilitas bakteri. Berdasarkan beberapa hasil studi yang didapatkan, hari ke-23 yang berada dalam rentang tiga hingga empat minggu dipilih sebagai titik pengamatan untuk melihat tren ketahanan bakteri dalam mempertahankan viabilitas.

3.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan melakukan pengujian viabilitas bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) melalui serangkaian pengenceran bertingkat. Pengujian diawali dengan mengambil 0,1 mL kultur bakteri yang telah disimpan, kemudian diinokulasikan ke dalam media DNB + *gellan gum*. Kultur

tersebut diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 – 48 jam untuk memungkinkan bakteri beradaptasi dan berkembang biak. Setelah inkubasi, 1 mL kultur diambil dan dimasukkan ke dalam 9 mL aquades steril, menghasilkan pengenceran 10^{-1}. Selanjutnya 1 mL dari pengenceran tersebut dipindahkan ke 9 mL aquades steril yang menghasilkan pengenceran 10^{-2}. Proses ini dilanjutkan hingga mencapai pengenceran 10^{-6}. Hasil dari pengenceran 10^{-5} dan 10^{-6}, masing-masing 1 mL sampel diambil dan diinokulasikan ke dalam media DNB + *gellan gum* menggunakan metode *pour plate* (Gambar 3.7).

Metode isolasi bakteri dengan teknik tuang merupakan salah satu yang digunakan untuk menghitung jumlah organisme dalam suatu sampel. Dalam metode ini, volume tertentu dari kultur (sekitar 0,1 – 1 mL) diteteskan ke dalam cawan petri steril kemudian media agar cair ditambahkan dan didinginkan hingga mendekati suhu pembekuan. Campuran tersebut dihomogenisasi dengan cara menggoyangkan cawan secara perlahan diatas meja kerja. Koloni yang terbentuk setelah inkubasi akan tersebar di seluruh media agar, bukan hanya di permukaan sehingga proses penghitungan koloni harus dilakukan dengan hati-hati (Michael T. Madigan et al., 2012).



Gambar 3. 7 Isolasi Bakteri Dengan Teknik Tuang

Sumber: (Michael T. Madigan et al., 2012)

Cawan petri yang telah diinokulasikan kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 – 48 jam. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni bakteri yang tumbuh dihitung untuk menentukan tingkat viabilitas bakteri setelah penyimpanan (Seniati et al., 2020). Perhitungan jumlah sel bakteri menurut (Fatayati et al., 2023) dilakukan menggunakan rumus berikut:

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

Viabilitas bakteri merupakan parameter yang menunjukkan kemampuan bakteri dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya. Pengujian viabilitas, serta karakteristik bakteri dilakukan pada hari ke-7, dan hari ke-23 selama periode penyimpanan berlangsung.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

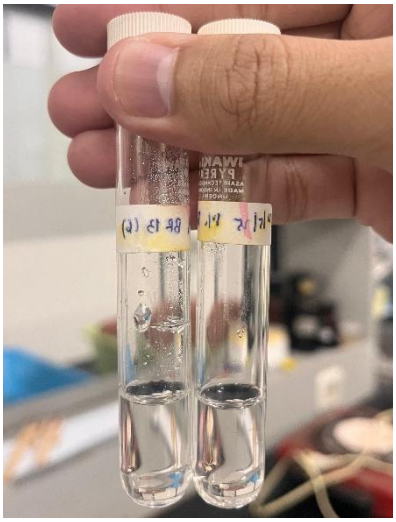
Terdapat empat tahapan dalam pelaksanaan penelitian tugas akhir ini yaitu, kultivasi bakteri, karakterisasi koloni bakteri, karakterisasi sel bakteri, dan kuantifikasi mikroba dengan *Total Plate Count* (TPC).

4.1 Kuantifikasi Mikroba

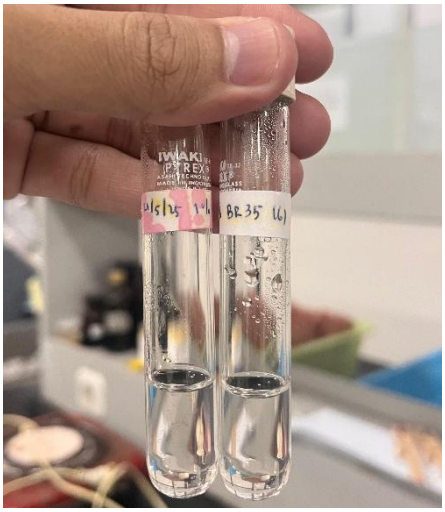
Kuantifikasi mikroba dilakukan untuk mengetahui seberapa banyak sel bakteri yang masih hidup (viabel) setelah disimpan dalam media DNB + *gellan gum* dengan konsentrasi 1% dan 2%. Dalam penelitian ini, masing-masing isolat bakteri dinokulasikan pada media *gellan gum* dengan dua variasi konsentrasi yaitu 1% dan 2%, kemudian disimpan di inkubator pada suhu 30°C selama satu bulan.

Sebelum proses penyimpanan, empat isolat bakteri yaitu *Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) diinokulasikan secara duplo ke dalam media *Nutrient Broth* (NB), kemudian diinkubasi dalam *waterbath shaker* selama 2 x 24 jam. Setelah menunjukkan pertumbuhan di media NB, masing-masing isolat dipindahkan ke media agar miring menggunakan jarum ose dan diinkubasi kembali selama 2 x 24 jam pada suhu 30°C di inkubator. Setelah koloni bakteri tumbuh di media agar miring, isolat kemudian diinokulasikan ke dalam media DNB + *gellan gum* dengan konsentrasi 1% dan 2%.

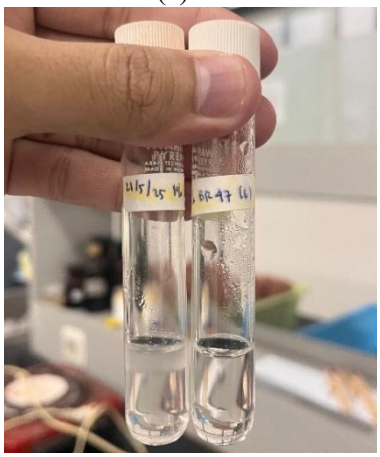
Pada hari ke-7 dan hari ke-23 masa inkubasi, dilakukan perhitungan jumlah koloni menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Sampel yang menunjukkan pertumbuhan diambil dan ditanam pada media agar menggunakan metode *pour plate*, lalu koloni yang muncul dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran yang digunakan. Hasil perhitungan disajikan dalam satuan CFU/mL. Data ini digunakan untuk melihat sejauh mana perbedaan konsentrasi *gellan gum* mempengaruhi viabilitas masing-masing isolat bakteri selama penyimpanan.



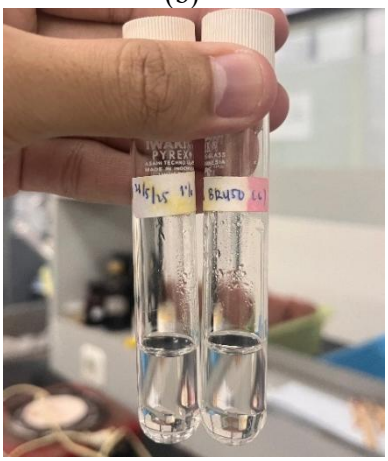
(a)



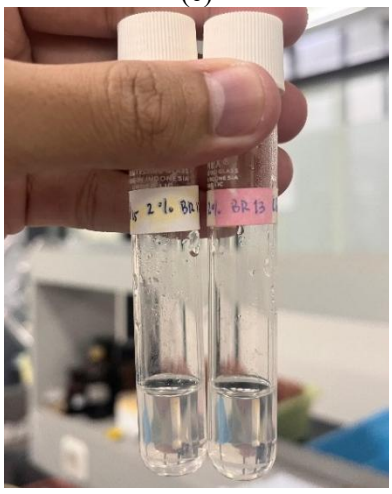
(b)



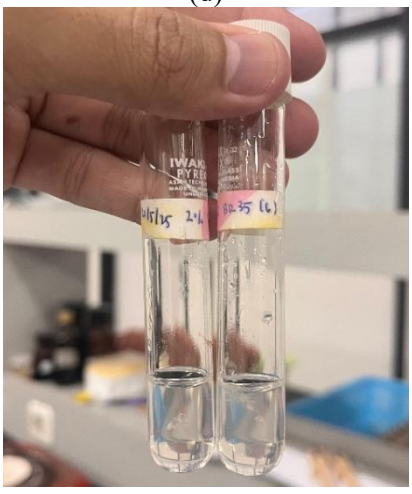
(c)



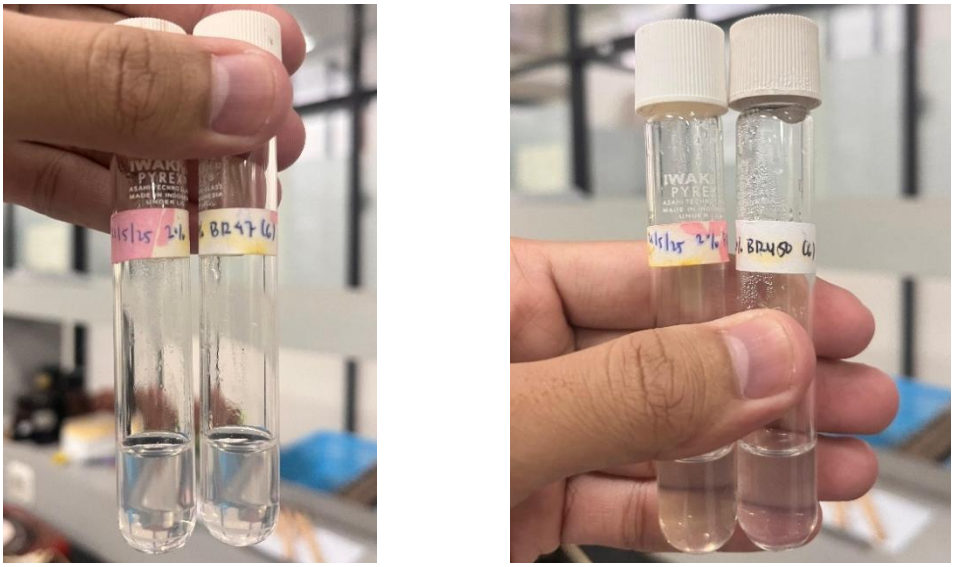
(d)



(e)



(f)



(g) (h)

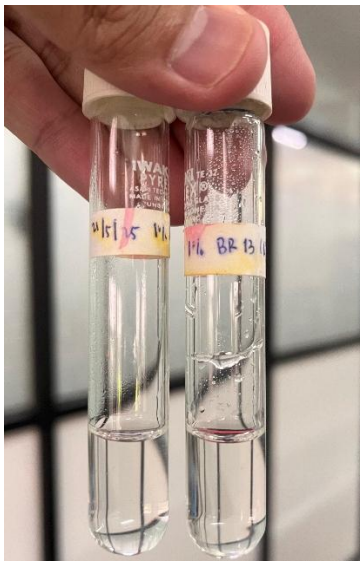
Gambar 4. 1 Pengamatan Pertumbuhan Hari ke-7 (a) 1% BR 13, (b) 1% BR 35, (c) 1% BR 47, (d) 1% BRU 50, (e) 2% BR 13, (f) 2% BR 35, (g) 2% BR 47, (h) 2% BRU 50

Pada pengamatan hari ke-7 (Gambar 4.1) , diketahui bahwa pertumbuhan bakteri terjadi pada media dengan konsentrasi 2%. Seluruh isolat menunjukkan pertumbuhan yang ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Sementara itu, pada konsentrasi 1%, hanya satu isolat yang menunjukkan pertumbuhan, yaitu *Rhizobacter fulvus* (BR 47). Isolat-isolat yang menunjukkan pertumbuhan tersebut kemudian dilanjutkan ke tahap perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) untuk mengetahui jumlah bakteri yang masih viabel setelah masa inkubasi. Pada tahap ini, sampel diuji dengan pengenceran bertingkat hingga 10^{-6}. Hasil perhitungan TPC untuk hari ke-7 dapat dilihat pada Tabel 4.1.

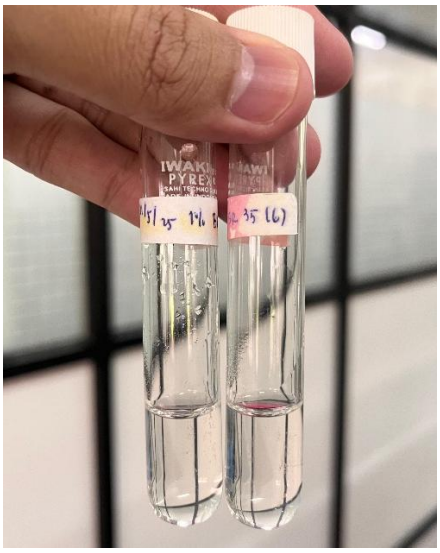
Tabel 4. 1 Hasil Perhitungan TPC Hari ke-7

Isolat Bakteri	**Pengenceran dipakai**	**CFU/ mL**	
Arthrobacter aurescens (BR 13) 2%	10^{-6}	220000	$2\ x\ 10^{6}$
Arthrobacter aurescens (BR 35) 2%	10^{-5}	3750000	$4\ x\ 10^{6}$
Rhizobacter fulvus (BR 47) 1%	10^{-5}	3700000	$4\ x\ 10^{6}$
Rhizobacter fulvus (BR 47) 2%	10^{-5}	8450000	$9\ x\ 10^{6}$
Alsobacter metallidurans (BRU 50) 2%	10^{-5}	5750000	$6\ x\ 10^{6}$

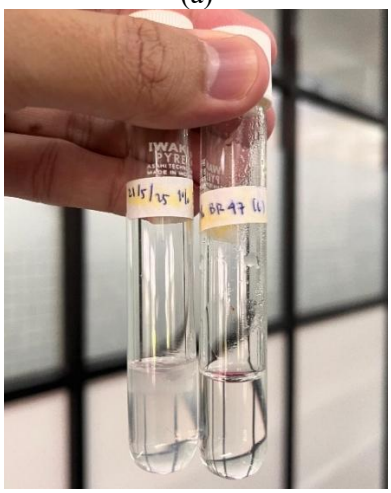
Tabel 4.1 menyajikan hasil perhitungan jumlah bakteri viabel dari lima isolat bakteri yang diuji setelah satu minggu masa inkubasi dalam media DNB + *gellan gum*. Berdasarkan hasil perhitungan, isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) pada konsentrasi 2% menunjukkan nilai TPC tertinggi yaitu sebesar $9\ x\ 10^6$ CFU/mL. Sedangkan isolat *Arthrobacter aurescens* (BR 13) menunjukkan nilai TPC paling rendah yaitu $2\ x\ 10^6$ CFU/mL. Seluruh isolat menunjukkan koloni yang berada dalam rentang yang diterima pada perhitungan TPC yaitu 30 – 300, kecuali isolat *Arthrobacter aurescens* (BR 13) yang hanya memiliki hasil dibawah rentang yaitu 22. Setelah dilakukan perhitungan TPC, seluruh isolat kemudian dilanjutkan ke tahap inkubasi minggu kedua untuk melihat kelanjutan viabilitasnya dalam media penyimpanan yang sama.



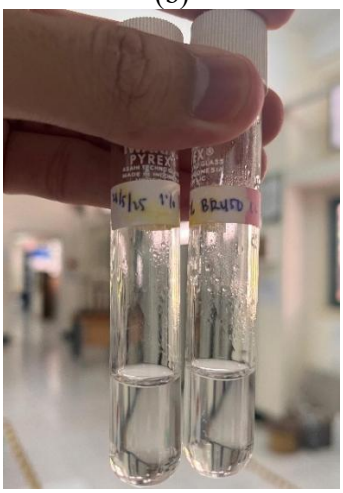
(a)



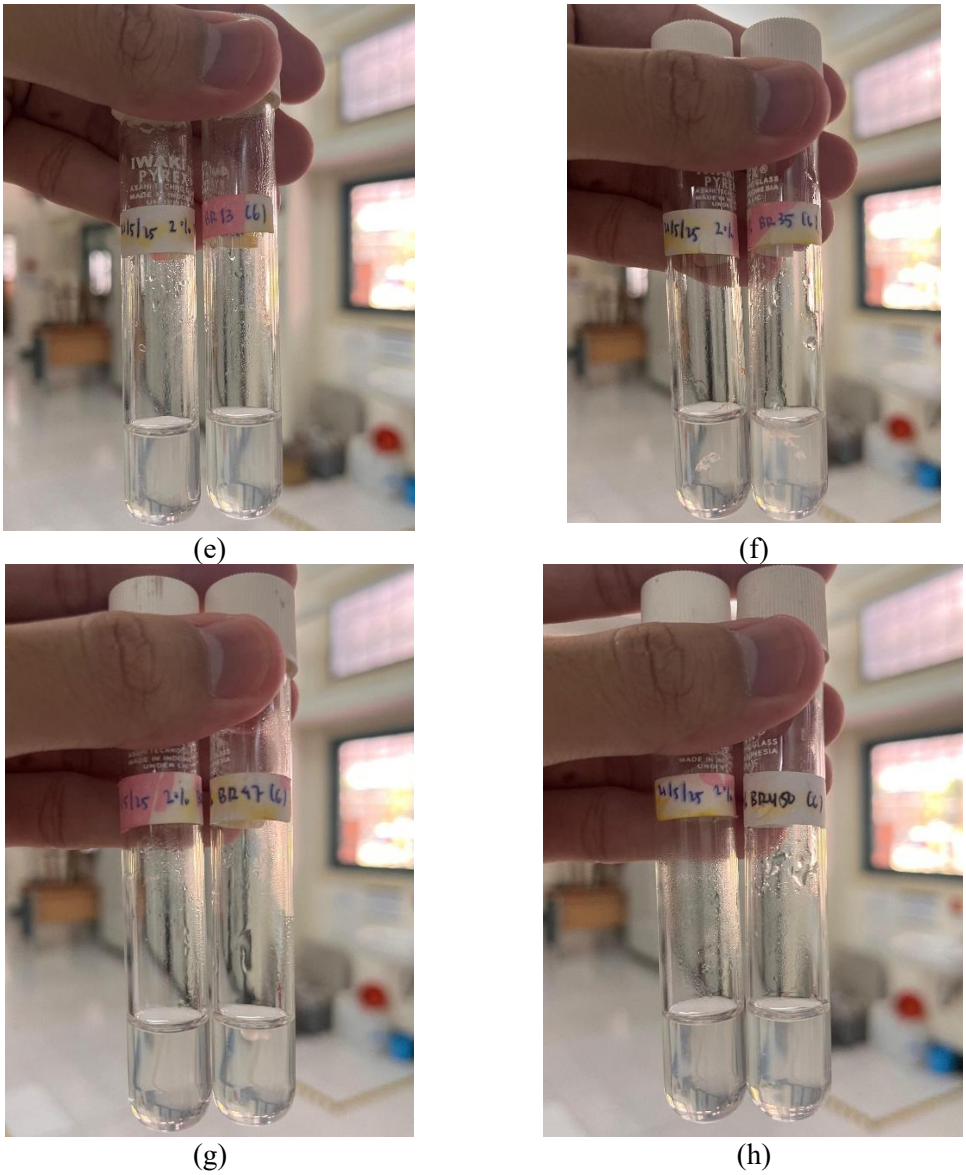
(b)



(c)



(d)



Gambar 4. 2 Pengamatan Pertumbuhan 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

Hasil pengamatan pada hari ke-23 (Gambar 4.2) menunjukkan pola yang sama dengan hari ke-7. Seluruh isolat yang sebelumnya tumbuh pada konsentrasi 2% tetap menunjukkan pertumbuhan, sementara pada konsentrasi 1% hanya isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) yang masih mampu untuk tumbuh. Pada minggu kedua, seluruh isolat dianalisis pertumbuhannya menggunakan metode yang sama seperti sebelumnya. Hasil pengamatan yang didapatkan menunjukkan bahwa koloni yang tumbuh pada cawan terlalu padat sehingga sulit untuk dilakukan perhitungan. Oleh karena itu, dilakukan perhitungan ulang dengan menggunakan

tingkat pengenceran yang lebih tinggi, yaitu hingga 10^{-8} agar jumlah koloni yang tumbuh berada dalam rentang yang dapat dihitung. Hasil perhitungan TPC untuk minggu kedua dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Perhitungan TPC Hari ke-23

Isolat Bakteri	**Pengenceran dipakai**	**CFU/ mL**	
Arthrobacter aurescens (BR 13) 2%	10^{-8}	2000000000	$2\ x\ 10^9$
Arthrobacter aurescens (BR 35) 2%	10^{-8}	350000000	$4\ x\ 10^8$
Rhizobacter fulvus (BR 47) 1%	10^{-7}	110000000	$1\ x\ 10^8$
Rhizobacter fulvus (BR 47) 2%	10^{-7}	20000000	$2\ x\ 10^7$
Alsobacter metallidurans (BRU 50) 2%	10^{-7}	40000000	$4\ x\ 10^7$

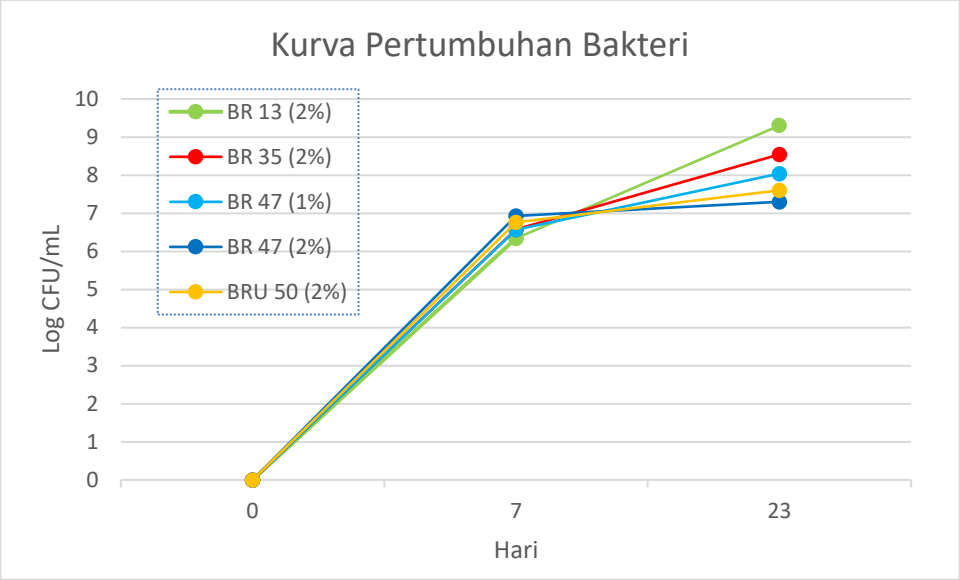
Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai TPC tertinggi ditunjukkan oleh isolat *Arthrobacter aurescens* (BR 13) dengan konsentrasi 2% yaitu sebesar $2\ x\ 10^9$ CFU/mL. Sedangkan isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) dengan konsentrasi 2% menunjukkan nilai TPC paling rendah yaitu $2\ x\ 10^7$ CFU/mL. Pengamatan viabilitas bakteri yang dilakukan pada hari ke-7 dan hari ke-23 mengalami peningkatan pada semua isolat yang dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 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 x 10^6	2 x 10^9
Arthrobacter aurescens (BR35)	2%	4 x 10^6	4 x 10^8
Rhizobacter fulvus (BR47)	1%	4 x 10^6	1 x 10^8
Rhizobacter fulvus (BR47)	2%	9 x 10^6	2 x 10^7
Alsobacter metallidurans (BRU50)	2%	6 x 10^6	4 x 10^7

Dari Tabel 4.3, diketahui bahwa isolat *Arthrobacter aurescens* (BR 13) mengalami peningkatan viabilitas paling tinggi yaitu dari 2 x 10^6 menjadi 2 x 10^9 CFU/mL. Isolat bakteri lainnya seperti *Arhtrobacter aurescens* (BR 35) dan *Rhizobacter fulvus* (BR 47) (1%) juga menunjukkan peningkatan yang cukup besar. Hal ini menandakan bahwa bakteri tersebut masih aktif dan mampu bertahan hidup selama masa inkubasi. Sebaliknya, isolat bakteri *Rhizobacter*

fulvus (BR47) dengan konsentrasi media *gellan gum* 2% hanya naik dari 9 x 10^6 ke 2 x 10^7 yang artinya pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan isolat lain.



Gambar 4. 3 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan mikroorganisme merupakan pertambahan jumlah sel bakteri, bukan perubahan individu dari organisme yang terdiri dari empat fase yaitu fase lag, fase log, fase stationer, dan fase kematian (Yani Suryani, 2022). Kurva pertumbuhan bakteri (Gambar 4.3) yang disajikan menunjukkan bahwa pada awal pengamatan (hari ke-0), seluruh isolat bakteri yaitu BR 13 (2%), BR 35 (2%), BR 47 (1%), BR 47 (2%s), dan BRU 50 (2%) belum menunjukkan pertumbuhan karena bakteri masih berada dalam fase lag. Pertumbuhan bakteri biasanya tidak secara langsung terjadi karena dibutuhkan jangka waktu untuk bakteri beradaptasi dengan lingkungan yang baru (Novanti & Zulaika, 2019).

Kemudian pada hari ke-7, terjadi peningkatan jumlah sel bakteri yang signifikan pada seluruh isolat. Kenaikan ini menggambarkan fase pertumbuhan eksponensial dimana bakteri mampu beradaptasi terhadap lingkungan media dan melakukan pembelahan sel secara aktif. Laju pertumbuhan pada fase ini sangat dipengaruhi oleh media pertumbuhan, seperti pH, kandungan nutrisi, serta kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembapan (Syarifuddin et al., 2022). Pada fase ini, isolat bakteri BR 47 (2%) menghasilkan nilai tertinggi yaitu sebesar 6,93 Log CFU/mL.

Pada hari ke-23, isolat bakteri BR 47 (2%) dan isolat bakteri BRU 50 (2%) mengalami kenaikan jumlah populasi yang mulai melandai yang menandakan pertumbuhannya cenderung melambat. Hal ini menandakan bahwa isolat bakteri mulai menuju fase stasioner yang kemungkinan disebabkan oleh berkurangnya ketersediaan nutrisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan bakteri (Novanti & Zulaika, 2019). Laju pertumbuhan bakteri bergantung pada kondisi lingkungan. Jika lingkungan memiliki sedikit nutrisi, pertumbuhan bakteri umumnya akan lebih lambat dibandingkan dengan pertumbuhan bakteri dalam media yang kaya akan nutrisi. Pertumbuhan kultur akan memasuki fase stasioner ketika nutrisi dalam medium habis atau ketika terdapat penumpukan produk samping lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Wahyuningsih & Zulaika, 2018). Pada fase ini, isolat bakteri BR 13 (2%) menunjukkan pertumbuhan yang paling optimal dengan peningkatan jumlah populasi dari 6,34 Log CFU/mL menjadi 9,30 Log CFU/mL. Hal ini menjadikan isolat BR 13 (2%) memiliki kepadatan tertinggi pada akhir periode inkubasi. Isolat bakteri BR 35 (2%) mengikuti isolat bakteri BR 13 (2%) dengan nilai akhir sebesar 8,54 Log CFU/mL. Disamping itu, isolat bakteri BR 47 (1%) juga menunjukkan peningkatan viabilitas pada akhir inkubasi dengan nilai 8,04 Log CFU/mL.

Berdasarkan hasil pengamatan hingga hari ke-23, belum terdapat isolat bakteri yang menunjukkan indikasi fase kematian. Hal ini terlihat dari tidak adanya penurunan nilai Log CFU/mL dan peningkatan jumlah sel yang terus berlanjut meskipun dengan laju yang lebih lambat. Kondisi ini menunjukkan bahwa bakteri tetap mempertahankan viabilitasnya dan tetap berada dalam fase pertumbuhan.

Hasil penelitian (Ali et al., 2023) menunjukkan bahwa kombinasi alginat dengan xanthan gum sebagai matriks enkapsulasi dalam jus jeruk mengalami penurunan viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* GG yang disimpan selama 21 hari penyimpanan. Sementara itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *gellan gum* mampu mempertahankan viabilitas bakteri lebih stabil. Perbedaan ini mengindikasikan bahwa penggunaan *gellan gum* sebagai media penyimpanan lebih efektif dalam mempertahankan viabilitas bakteri dibandingkan penggunaan matriks alginat maupun kombinasi alginat dengan xanthan gum dalam media jus jeruk.

Pada penelitian ini, ditemukan bahwa seluruh isolat bakteri dapat tumbuh pada media *gellan gum* dengan konsentrasi 2%, sedangkan pada konsentrasi 1% hanya isolat *Rhizobacter fulvus* (BR 47) yang menunjukkan pertumbuhan. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi *gellan gum* berperan penting dalam mempengaruhi viabilitas bakteri selama penyimpanan. *Gellan gum* diketahui membentuk gel melalui mekanisme pembentukan heliks ganda yang saling berikatan, dan struktur ini sangat dipengaruhi oleh faktor konsentrasi, suhu, serta keberadaan ion bermuatan positif seperti kalsium (Ca^{2+}). Pada konsentrasi 2%, *gellan gum* cenderung membentuk gel yang lebih kuat dan stabil sehingga mampu menyediakan lingkungan mikro yang lebih mendukung bagi sel bakteri untuk bertahan hidup, dengan retensi air yang lebih baik serta perlindungan dari fluktuasi lingkungan (Abdl Aali & Al-Sahlany, 2024).

Sebaliknya, pada konsentrasi 1%, struktur gel kemungkinan kurang stabil sehingga tidak mampu mempertahankan kelembaban dan distribusi nutrien secara merata. Hal ini didukung oleh pernyataan (Abdl Aali & Al-Sahlany, 2024) bahwa komposisi gel dipengaruhi oleh jumlah polimer yang ditambahkan ke dalam larutan. Di samping itu, ion seperti Ca^{2+} juga berperan dalam memperkuat struktur jaringan gel, yang dapat meningkatkan ketahanan lingkungan bagi sel bakteri. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi *gellan gum* mempengaruhi pembentukan gel dan secara langsung berdampak terhadap ketahanan dan viabilitas bakteri yang disimpan.

Variasi jumlah koloni bakteri pada berbagai media kemungkinan besar disebabkan oleh ketidaksesuaian kondisi lingkungan media dengan kebutuhan fisiologis bakteri, salah satunya terkait tekanan osmotik. Media yang ideal untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah media yang memiliki tekanan osmotik yang seimbang terhadap sitoplasma sel bakteri. Apalagi media bersifat hipertonik, air dari dalam sel akan keluar sehingga menyebabkan sel mengalami plasmolisis. Sebaliknya, jika media bersifat hipotonik, air akan masuk ke dalam sel secara berlebihan dan berpotensi menyebabkan plasmoptisis. Plasmoptisis yaitu pecahnya membran sel akibat tekanan internal. Selain tekanan osmotik, aktivitas air juga menjadi faktor penting yang mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan bakteri. Setiap bakteri memerlukan kadar air tertentu untuk

mempertahankan aktivitas biologisnya, dengan nilai aktivitas air optimum mendekati 1 dan batas minimal sekitar 0,91. Semakin tinggi konsentrasi bahan pembentuk gel maka nilai aktivitas air cenderung menurun yang dapat mempengaruhi kemampuan bakteri untuk tumbuh (Fatmariza et al., 2017).

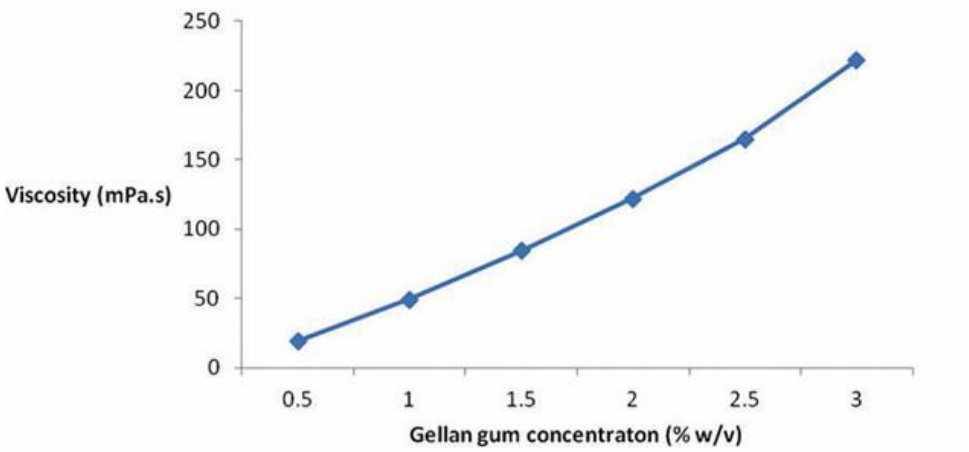
Hasil yang ditunjukkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh isolat dapat tumbuh pada media dengan konsentrasi 2% sedangkan pada media 1% hanya satu isolat yang menunjukkan pertumbuhan. Perbedaan ini menunjukkan bahwa konsentrasi *gellan gum* mempengaruhi kondisi fisikokimia media yang pada akhirnya berdampak pada viabilitas isolat bakteri. Media dengan *gellan gum* 1% memiliki kepadatan gel yang rendah sehingga kondisi media menjadi terlalu encer yang mempengaruhi aktivitas air.

Berdasarkan penelitian (Ajam et al., 2024), peningkatan konsentrasi *gellan gum* dari 1% menjadi 2% diketahui secara signifikan meningkatkan karakteristik mekanik hidrogel, seperti kekuatan tarik, kekakuan (modulus elastisitas), kapasitas regangan, energi patah, dan ketahanan patah. Selain itu, dalam formulasi dengan konsentrasi *gellan gum* 2%, peningkatan konsentrasi PEGDMA ditemukan dapat lebih meningkatkan sifat mekanik keseluruhan hidrogel, sebagaimana dibuktikan oleh hubungan linier positif yang secara statistik signifikan ($p < 0,05$). Temuan ini berhubungan dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa viabilitas bakteri lebih baik dalam medium dengan konsentrasi *gellan gum* 2% dibandingkan 1%. Struktur gel yang lebih padat dan stabil secara mekanis pada konsentrasi 2% menyediakan lingkungan yang lebih protektif bagi bakteri selama penyimpanan, sehingga mendukung kelangsungan hidup sel bakteri yang optimal.

Pada penelitian (de Camargo Ribeiro et al., 2020) menunjukkan bahwa konsentrasi *gellan gum* berperan penting dalam efektivitas probiotik. Dalam penelitian tersebut, hanya formulasi 1% yang mampu mendukung kolonisasi *Lactobacillus paracasei* 28.4 di rongga mulut tikus, sementara konsentrasi 0,6% tidak efektif. Konsentrasi *gellan gum* yang lebih tinggi memberikan retensi yang lebih lama di rongga mulut, sehingga probiotik memiliki waktu yang cukup untuk berinteraksi dan melekat pada jaringan inang. Formulasi *gellan gum* 1% juga terbukti dapat menekan pertumbuhan *Candida albicans* dan melindungi tikus dari

oral candidiasis. Temuan ini sejalan dengan penelitian ini, dimana peningkatan konsentrasi *gellan gum* lebih efektif dalam mendukung pertumbuhan bakteri.

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) (Gambar 4.4) 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 (Yani Suryani, 2022). Beberapa penulis juga mengemukakan bahwa keterbatasan difusi oksigen dapat berkontribusi terhadap penurunan laju pertumbuhan (Zur et al., 2016).



Gambar 4. 4 Pengukuran viskositas *gellan gum* dengan konsentrasi yang berbeda pada kecepatan 100 rpm

Sumber: (Sukumar et al., 2021)

Untuk memastikan apakah perbedaan viabilitas bakteri pada konsentrasi *gellan gum* 1% dan 2% signifikan secara stastistik, dilakukan uji non-parametrik Mann-Whitney U. Menurut Corder el all dalam (Mufarrikoh, 2024), uji Mann-Whitney merupakan uji statistik non-parametrik yang digunakan untuk mengetahui perbedaan dua kelompok data yang sifatnya bebas atau tidak saling

terkait. Uji ini dipilih karena data tidak berdistribusi normal dan ukuran sampel relatif kecil. Berdasarkan hasil analisis menggunakan uji Mann-Whitney U, diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi *gellan gum* 1% dan 2% dalam mempertahankan viabilitas isolat bakteri. Pada hari ke-7, nilai U yang didapatkan sebesar 15,5 (Gambar 4.5) dengan nilai p-value < 0,001, sedangkan pada hari ke-23 nilai U yang didapatkan sebesar 40,0 (Gambar 4.6) 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). Selain itu, nilai rerata peringkat (*mean rank*) pada konsentrasi 2% lebih tinggi dibandingkan 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa *gellan gum* 2% lebih mampu mempertahankan jumlah koloni bakteri selama penyimpanan.

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.

Test Statistics[a]

	Nilai TPC/mL
Mann-Whitney U	15.500
Wilcoxon W	151.500
Z	-4.595
Asymp. Sig. (2-tailed)	<.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	<.001[b]

a. Grouping Variable: Konsentrasi Gellan Gum

b. Not corrected for ties.

Gambar 4. 5 Uji Mann-Whitney U Hari ke-7 Menggunakan SPSS

Test Statistics[a]

	Nilai TPC/mL
Mann-Whitney U	40.000
Wilcoxon W	176.000
Z	-3.925
Asymp. Sig. (2-tailed)	<.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	<.001[b]

a. Grouping Variable: Konsentrasi Gellan Gum

b. Not corrected for ties.

Gambar 4. 6 Uji Mann-Whitney U Hari ke-23 Menggunakan SPSS

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.

4.2 Morfologi Koloni Bakteri

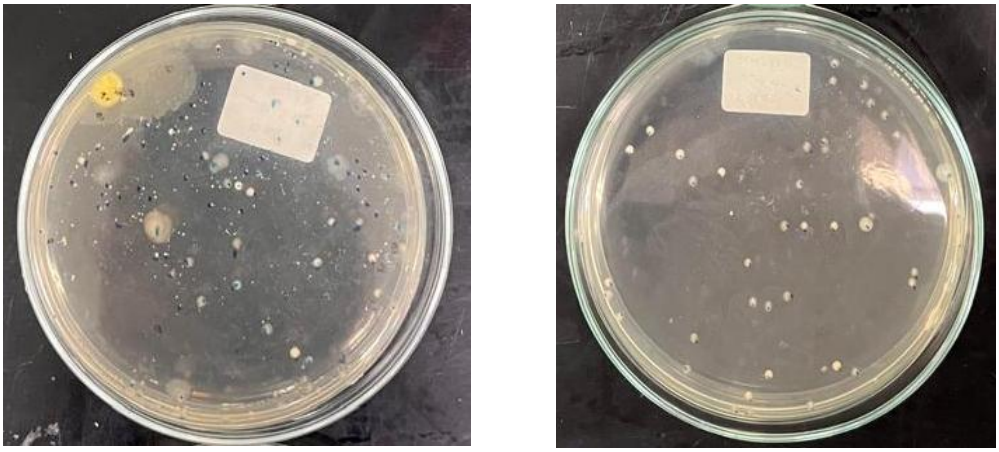
Setiap spesies bakteri memiliki bentuk koloni yang beragam dan menjadi karakteristik khas dari spesies tersebut. Pengamatan terhadap morfologi koloni

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 4.4.

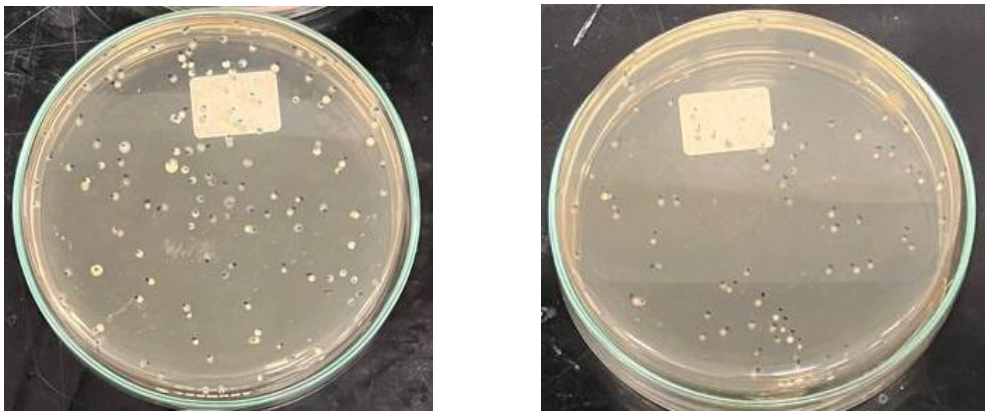
Tabel 4. 4 Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

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*

Berdasarkan Tabel 4.4 diketahui bahwa seluruh isolat bakteri yang digunakan yaitu *Arthrobacter aurescens* (BR 13), *Arthrobacter aurescens* (BR 35), *Rhizobacter fulvus* (BR 47), dan *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) menunjukkan morfologi koloni serupa yaitu berbentuk bulat (*circular*), dengan tepi koloni rata (*entire*), memiliki elevasi datar (*flat*), dan juga berwarna putih. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.7.



(a) (b)



(c) (d)

Gambar 4. 7 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

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).

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.

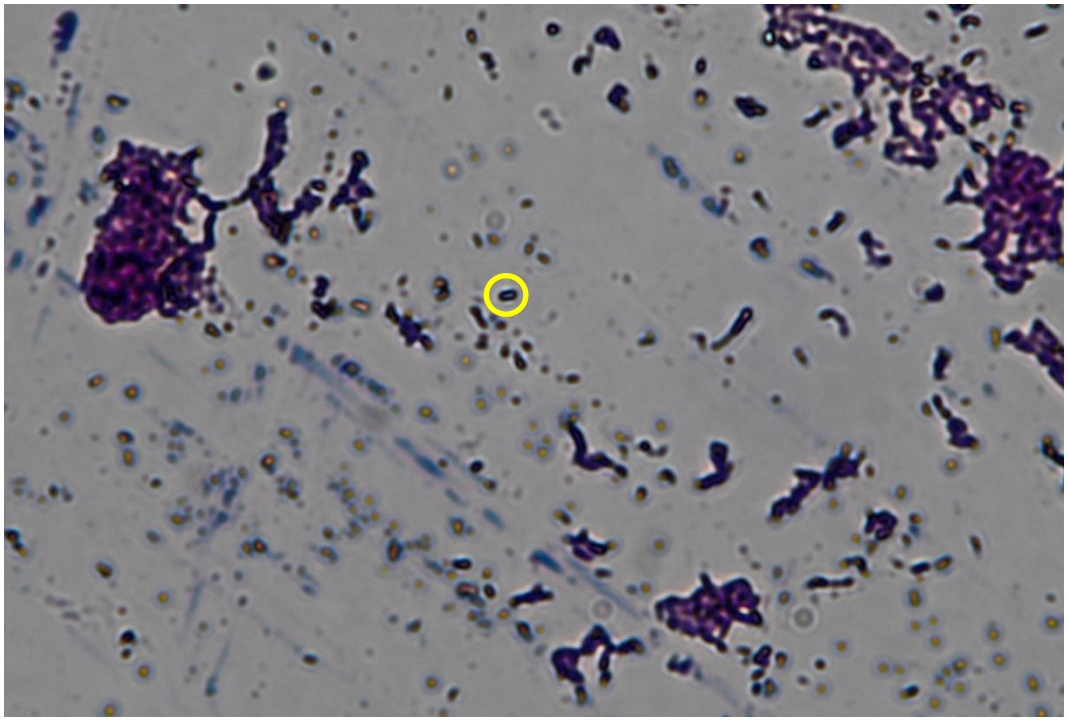
4.3 Morfologi Sel Bakteri

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 (Michael T. Madigan et al., 2012). Adapun hasil pengamatan morfologi sel bakteri pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.5.

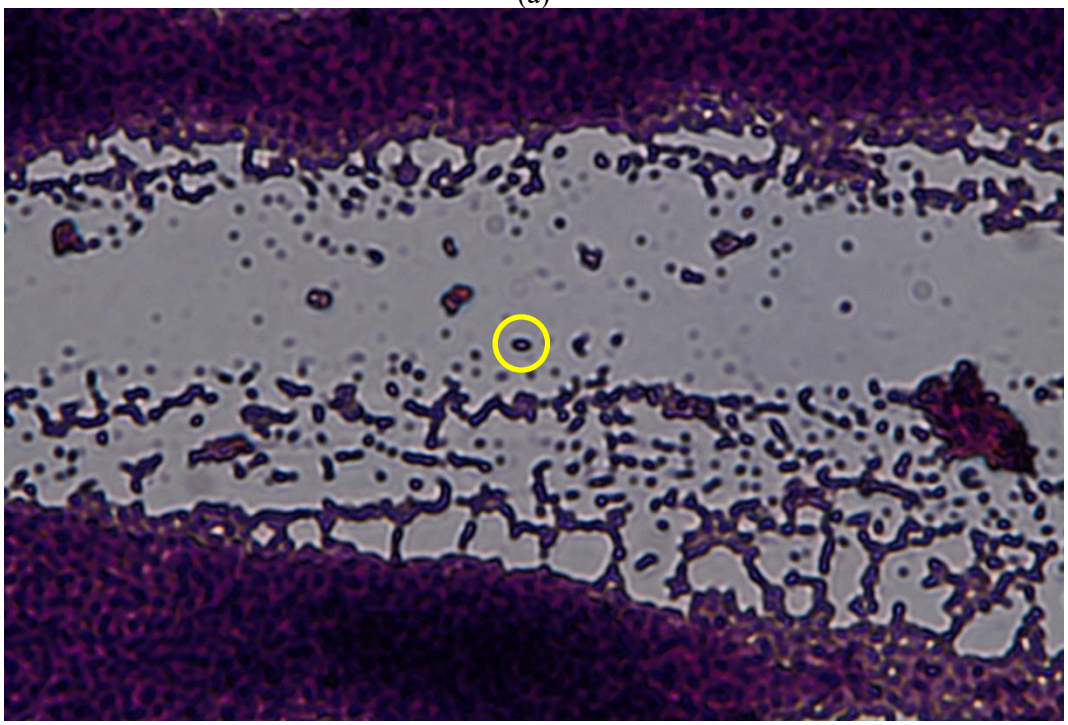
Tabel 4. 5 Hasil Pengamatan Morfologi Sel Bakteri

No	Bakteri	Jenis Gram	Bentuk Bakteri
1	*Arthrobacter aurescens* (BR 13)	Gram Positif	*Bacillus*
2	*Arthrobacter aurescens* (BR 35)	Gram Positif	*Bacillus*
3	*Rhizobacter fulvus* (BR 47)	Gram Positif	*Bacillus*
4	*Alsobacter metallidurans* (BRU 50)	Gram Positif	*Bacillus*

Berdasarkan hasil pengamatan, seluruh isolat bakteri mulai dari *Arthrobacter aurescens* dengan kode BR13 dan BR 35, *Rhizobacter fulvus* dengan kode BR47, dan *Alsobacter metallidurans* dengan kode BRU 50 memiliki gram positif, dan berbentuk batang. Hal ini dapat dibuktikan dengan Gambar 4.8 dan 4.9.

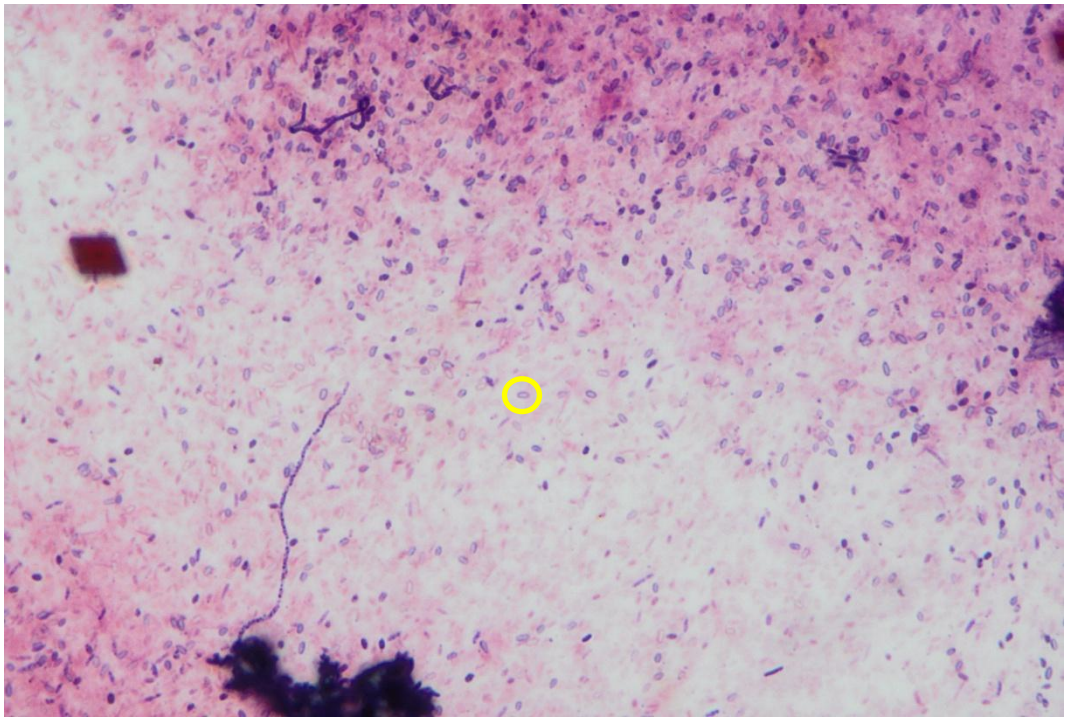


(a)



(b)

Gambar 4. 8 Morfologi Sel (a) *Arthrobacter aurescens* (BR 13), (b) *Arthrobacter aurescens* (BR 35) Pada Perbesaran 100x Dengan Skala 10 µm



(a)



(b)

Gambar 4. 9 Morfologi Sel (a) *Rhizobacter fulvus* (BR 47), (b) *Alsobacter metallidurans* (BRU 50) Pada Perbesaran 100x Dengan Skala 10 µm

Secara taksonomi, *Arthrobacter* diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif aerobik dengan kandungan GC yang tinggi (Pal et al., 2011). Bakteri pereduksi atrazin yang kemudian diidentifikasi sebagai *Arthrobacter aurescens* strain TC1 merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang tampak menyerupai *coccus* pada fase stasioner (Strong et al., 2002). Berdasarkan penelitian (Wei et al., 2015), bakteri yang termasuk dalam genus *Rhizobacter* umumnya berbentuk batang, bersifat gram negatif, aerob, tidak membentuk spora, dan menunjukkan hasil positif pada uji oksidase. Selain itu, berdasarkan (Bao et al., 2014), *Alsobacter metallidurans* merupakan bakteri berbentuk batang yang tergolong dalam bakteri gram negatif, tidak bergerak (non motil), dan tidak membentuk spora.

Hasil pengamatan morfologi sel bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh isolat yang digunakan memiliki 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.

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 pada kondisi dapat terlihat gram negatif pada kondisi lain (Windya Nazmatur 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)

Mekanisme perbedaan hasil pewarnaan gram dapat dijelaskan melalui perbedaan struktur dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki dua membran, yaitu membran sitoplasma dan membran luar (*outer membrane*) dengan ruang periplasma di antaranya yang hanya berisi lapisan peptidoglikan yang tipis. Membran luar ini mengandung lipopolisakarida serta protein porin yang berfungsi sebagai penghalang tambahan. Sebaliknya, bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dapat mencapai 30 – 100 nm, tanpa membran luar dan mengandung asam teikoat maupun asam lipoteikoat sebagai komponen khas dinding selnya. Perbedaan ketebalan inilah yang menjadi dasar perbedaan hasil pewarnaan gram. Pada bakteri gram positif, peptidoglikan yang tebal mampu menjebak kompleks kristal violet – iodin, sehingga pewarna tetap bertahan meskipun dilakukan proses dekolorisasi. Pada bakteri gram negatif, lapisan peptidoglikan yang tipis tidak mampu menahan kompleks pewarna, dan keberadaan membran luar yang kaya akan lipid menyebabkan kompleks pewarna tersebut mudah terlepas saat diberi alkohol, sehingga sel kemudian menyerap pewarna tandingan yaitu safranin dan tampak merah muda (Rohde, 2019).

BAB V
PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap pengaruh konsentrasi *gellan gum* terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi *gellan gum* yang berbeda memberikan pengaruh yang signifikan terhadap viabilitas isolat bakteri selama penyimpanan. Hal ini dibuktikan dengan hasil pengamatan jumlah koloni, dimana media dengan konsentrasi 2% mampu mempertahankan viabilitas semua isolat bakteri hingga masa inkubasi, sedangkan pada konsentrasi 1% hanya satu isolat yang tumbuh. Temuan ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi *gellan gum* cenderung meningkatkan kemampuan media dalam mempertahankan kondisi hidup bakteri selama penyimpanan, sehingga penggunaan konsentrasi yang lebih tinggi dinilai lebih efektif dalam menjaga kestabilan pertumbuhan isolat.
2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan *gellan gum* dengan konsentrasi 2% merupakan pilihan yang paling efektif dalam menjaga kelangsungan hidup (viabilitas) dan pertumbuhan isolat bakteri selama penyimpanan pada suhu 30°C.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian mengenai "Pengaruh Konsentrasi *Gellan Gum* terhadap Viabilitas Isolat Bakteri selama Penyimpanan" yaitu sebagai berikut:

1. Penelitian ini dilakukan dalam jangka waktu penyimpanan selama satu bulan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengamatan lanjutan dengan durasi penyimpanan yang lebih panjang untuk mengevaluasi media *gellan gum* dalam mempertahankan viabilitas bakteri pada jangka menengah hingga jangka panjang.

2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan metode penyimpanan pembanding, seperti gliserol stok atau metode *freeze drying* untuk memperoleh perbandingan efektivitas dalam mempertahankan isolat bakteri.
3. Perlu dilakukan uji lanjutan terhadap isolat bakteri setelah masa penyimpanan seperti uji fisiologis, uji biokimia, dan uji genetik. Hal ini penting dilakukan untuk memastikan bahwa tidak terjadi perubahan sifat fisik penting dari bakteri yang disimpan.

DAFTAR PUSTAKA

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. In *Gels* (Vol. 10, Issue 3). 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*. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2024.106642

Ali, U., Saeed, M., Ahmad, Z., Shah, F. ul H., Rehman, M. A., Mehmood, T., Waseem, M., Hafeez, H., Azam, M., & Rahman, A. (2023). Stability and Survivability of Alginate Gum-Coated Lactobacillus rhamnosus GG in Simulated Gastrointestinal Conditions and Probiotic Juice Development. *Journal of Food Quality*, *2023*. https://doi.org/10.1155/2023/3660968

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*(PART 3). https://doi.org/10.1099/ijs.0.054783-0

Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. In *New Microbes and New Infections* (Vol. 34). https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622

Borisovna, K. D., Alekseevich, D. K., Valerievna, P. E., Sergeevna, M. M., & Pavlovich, K. M. (2024). *Gellan gum-based nutrient medium increases the diversity of cultivated groups of soil microorganisms*. https://doi.org/10.1101/2024.11.19.624353

Danah, I., Akhdiat, T., & Sumarni, S. (2019). Lama Penyimpanan pada Suhu Rendah terhadap Jumlah Bakteri dan pH Susu Hasil Pasteurisasi dalam

Kemasan. *Composite: Jurnal Ilmu Pertanian*, *1*(1). https://doi.org/10.37577/composite.v1i1.97

de Camargo Ribeiro, F., Junqueira, J. C., dos Santos, J. D., de Barros, P. P., Rossoni, R. D., Shukla, S., Fuchs, B. B., Shukla, A., & Mylonakis, E. (2020). Development of probiotic formulations for oral candidiasis prevention: Gellan Gum as a Carrier to Deliver Lactobacillus paracasei 28.4. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(6). https://doi.org/10.1128/AAC.02323-19

Demin, K., Prazdnova, E., Kulikov, M., Mazanko, M., & Gorovtsov, A. (2024). Alternative agar substitutes for culturing unculturable microorganisms. Archives of microbiology, 206(10), 405. https://doi.org/10.1007/s00203-024-04139-5

Elfrida Theresia P. Siburian, Pramesti Dewi, & Nana Kariada. (2012). *Pegaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Pertumbuhan Bakteri dan Fungi Ikan Bandeng*.

Fariani, R., Lambung Mangkurat, U., & Selatan Laboratorium Anatomi dan Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, K. (2021). Perbandingan Teknik Penyimpanan Menggunakan Medium Yang Berbeda Terhadap Viabilitas Kapang Colletotrichum capsici dan Prycularia oryzae. In *Jurnal Pengelolaan Laboratorium Pendidikan* (Vol. 3, Issue 2).

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* (Vol. 2, Issue 5).

Fatmariza, M., Inayati, N., Analis Kesehatan, J., & Kemenkes Mataram, P. (2017). Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus Aureus. *Jurnal Analis Medika Bio Sains*, *4*(2).

Gomes, D., Batista-Silva, J. P., Sousa, A., & Passarinha, L. A. (2023). Progress and opportunities in Gellan gum-based materials: A review of preparation, characterization and emerging applications. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 311). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120782

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). https://doi.org/10.1007/s13213-011-0261-2

Hutchison, J. R., Brooks, S. M., Kennedy, Z. C., Pope, T. R., Deatherage Kaiser, B. L., Victry, K. D., Warner, C. L., Oxford, K. L., Omberg, K. M., & Warner, M. G. (2019). Polysaccharide-based liquid storage and transport media for non-refrigerated preservation of bacterial pathogens. *PLoS ONE*, *14*(9). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221831

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). 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*(1), 40–50.

Lathifah, A. N., Guo, Y., Sakagami, N., Suda, W., Higuchi, M., Nishizawa, T., Prijambada, I. D., & Ohta, H. (2019). Comparative characterization of bacterial communities in moss-covered and unvegetated volcanic deposits of mount Merapi, Indonesia. *Microbes and Environments*, *34*(3). https://doi.org/10.1264/jsme2.ME19041

Machmud, M. (2001). *Teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba. 4*(1), 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). https://doi.org/10.1128/JCM.00658-08

Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali. (2016). *Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng.*

Meitasari, C. S. D. (2021). *Perbedaan Hasil Uji Viabilitas Bakteri Streptococcus mutans Pada Media Agar Darah Manusia Donor Kadarluwarsa dan Media Agar Darah Domba*.

Michael T. Madigan, John M. Martinko, David A. Stahl, & David P. Clark. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*. *Thirteenth Edition*.

Mongodin, E. F., Shapir, N., Daugherty, S. C., DeBoy, R. T., Emerson, J. B., Shvartzbeyn, A., Radune, D., Vamathevan, J., Riggs, F., Grinberg, V., Khouri, H., Wackett, L. P., Nelson, K. E., & Sadowsky, M. J. (2006). Secrets of soil survival revealed by the genome sequence of Arthrobacter aurescens TC1. *PLoS Genetics*, *2*(12), 2094–2106. https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020214

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

Mufarrikoh, Z. (2024). Analisis Mann-Whitney pada Pemahaman Materi Statistika Pendidikan. *Attractive : Innovative Education Journal*, *6*(1). https://www.attractivejournal.com/index.php/aj/

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

Najafpour, Z., Golmakani, M. T., Moosavi-Nasab, M., Hosseini, S. M. H., & Niakousari, M. (2025). Gellan Fluid Gel Embedded in Alginate Bead System: A New System for Encapsulation of Limosilactobacillus reuteri and Its Application in Sour Cherry Juice. *Food Science and Nutrition*, *13*(5). https://doi.org/10.1002/fsn3.70199

Natarajan, K. A. (2018). Biotechnology of metals : Principles, recovery methods, and environmental concerns. In *Biotechnology of Metals: Principles, Recovery Methods and Environmental Concerns*. https://doi.org/10.1016/C2015-0-00161-7

Novanti, R., & Zulaika, E. (2019). Pola Pertumbuhan Bakteri Ureolitik pada Medium Calcium Carbonat Precipitation (CCP). *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, *7*(2). https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36187

Novitasari, T. M., Rohmi, R., & Inayati, N. (2019). Potensi Ikan Teri Jengki (Stolephorus indicus) Sebagai Bahan Media Alternatif untuk Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, *6*(1). https://doi.org/10.32807/jambs.v6i1.119

Pal, A., Kumar Mondal, U., Mukhopadhyay, S., & Bothra, A. K. (2011). Bioinformation Hypothesis Genomic heterogeneity within conserved metabolic pathways of Arthrobacter species-a bioinformatic approach. *Print) Bioinformation*, *5*(10), 446–454. http://www.img.jgi.doe.gov

Panwar, G., Vashishtha, A., ji, Z., & Panwar, G. (2023). Inoculation and Isolation Techniques In Bacteriology. In *Compendium of Medical Diagnostic Technology*. https://doi.org/10.52458/9789388996846.nsp2023.eb.ch-15

Permana, T. A. (2021). *Potensi Daun Ketapang (Terminalia catappa L.) Terhadap Antibakteri Gram Positif Dan Gram Negatif Pada Air Kolam Ikan Nila (Oreochromis niloticus.)*.

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

Prayekti, E., Lukiyono, Y. T., Andini, A., Sumarsono, T., Puspitarini, M. D., Putra, I. D. W., Firdaus, H., & Putri, D. R. (2022). Pelatihan Quality Control Pengecatan Gram Untuk Meningkatkan Kemampuan Laboratorium Pada SMK Kesehatan Surabaya. *Seminar Nasional Pengabdian Kepada Masyarakat 2021*, *1*(1). https://doi.org/10.33086/snpm.v1i1.805

Rinendyaputri, R., & Arif Wibowo, H. (2021). *Ekspresi Gen Bax pada Inner Cell Mass (ICM) Mencit Pasca Vitrifikasi*. http://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb

Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S.-H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022). Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, *24*(1), 1. https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022

Rohde, M. (2019). The Gram-Positive Bacterial Cell Wall. *Microbiology Spectrum*, *7*(3). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0044-2018

Rygaard, A. Mac, Thøgersen, M. S., Nielsen, K. F., Gram, L., & Bentzon-Tilia, M. (2017). Effects of gelling agent and extracellular signaling molecules on the culturability of marine bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, *83*(9). https://doi.org/10.1128/AEM.00243-17

Saha, D., & Bhattacharya, suvendu. (2010). Characteristics of gellan gum based food gels. *Journal of Texture Studies*, *41*(4), 459–471. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2010.00236.x

Seniati, S., Mulyani, R., & Syahruddin, S. (2020). Uji Viabilitas Bakteri Aeromonas hydrophila Dengan Metode Penyimpanan Beku Pada Media TSB dan Gliserol. *Lutjanus*, *25*(2). https://doi.org/10.51978/jlpp.v25i2.274

Singh, S., Dutta, U., Bhat, A. K., Gupta, S., Gupta, V., & Jamwal, S. (2017). Morpho-cultural and biochemical identification of Pseudomonas sp. isolated from the rhizosphere of different vegetable crops and study its efficacy on Solanum melongena (Brinjal). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(2), 22–28.

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). https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.09.020

Stackebrandt, E., Verbarg, S., Frühling, A., Busse, H. J., & Tindall, B. J. (2009). Dissection of the genus Methylibium: Reclassification of Methylibium fulvum as Rhizobacter fulvus comb. nov., Methylibium aquaticum as Piscinibacter aquaticus gen. nov., comb. nov. and Methylibium subsaxonicum as Rivibacter subsaxonicus gen. nov., comb. nov. and emended descriptions of the genera Rhizobacter and Methylibium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *59*(10). https://doi.org/10.1099/ijs.0.008383-0

Strong, L. C., Rosendahl, C., Johnson, G., Sadowsky, M. J., & Wackett, L. P. (2002). Arthrobacter aurescens TC1 metabolizes diverse s-triazine ring compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, *68*(12). https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.5973-5980.2002

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). https://doi.org/10.7324/JABB.2021.9108

Suryani, Y., & Taupiqurrahman, O. (2021). *Mikrobiologi Dasar*.

Suzuki, S. (2001). Establishment and Use of Gellan Gum Media for Selective Isolation and Distribution Survey of Specific Rare Actinomycetes. *Actinomycetologica*, *15*(2). https://doi.org/10.3209/saj.15_55

Syarifuddin, A., Wijayatri, R., Kurniawan, I. F., & Agusta, H. F. (2022). Penentuan Kurva Pertumbuhan dan Aktivitas Antibakteri dari Isolat Ekstrak Etil Asetat Bakteri (Te.325) terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, *20*(2). https://doi.org/10.35814/jifi.v20i2.1079

Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2018). *Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Pada Media Nutrient Broth dan Carboxy Methyl Cellulose*. *7*.

Wei, L., Si, M., Long, M., Zhu, L., Li, C., Shen, X., Wang, Y., Zhao, L., & Zhang, L. (2015). Rhizobacter bergeniae sp. Nov., isolated from the root of Bergenia scopulosa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *65*(2). https://doi.org/10.1099/ijs.0.070318-0

Windya Nazmatur Rahmah, Fera Sartika, & Yuda Ednisa Sri Madureni. (2023). *Identifikasi Bakteri Pada Nutrient Agar Plate di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Palangka Raya*.

Yani Suryani. (2022). *Fisiologi Mikroorganisme*.

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*(9), 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. In *Molecules* (Vol. 21, Issue 7). https://doi.org/10.3390/molecules21070958

LAMPIRAN

Lampiran 1. 1 Perhitungan Media Cair (*Nutrient Broth*)

Diketahui:

- Jumlah tabung = 11 tabung reaksi (duplo + kontrol)
- Volume per tabung = 5 mL
- Volume Total = 55 mL
- Takaran media cair = 8 gr/1000 mL

Penyelesaian:

$$\frac{8\ gr}{1000\ mL} = \frac{x\ gr}{55\ mL}$$

$$8\ gr\ x\ 55\ mL = x\ gr\ x\ 1000\ mL$$

$$440 = 1000x$$

$$x = 0{,}44\ gr\ NB$$

Lampiran 1. 2 Perhitungan Media Agar Miring

Diketahui:

- Jumlah tabung = 11 tabung reaksi (duplo + kontrol)
- Volume per tabung = 5 mL
- Volume Total = 55 mL
- Takaran media cair = 20 gr/1000 mL

Penyelesaian:

$$\frac{20\ gr}{1000\ mL} = \frac{x\ gr}{55\ mL}$$

$$20\ gr\ x\ 55\ mL = x\ gr\ x\ 1000\ mL$$

$$1100 = 1000x$$

$$x = 1{,}1\ gr\ NA$$

Lampiran 1. 3 Perhitungan Media DNB + *Gellan Gum*

Pembuatan *Dilute Nutrient Broth* (DNB)

$$\frac{8\ gr}{1000\ mL} = \frac{x\ gr}{10\ mL}$$

$$8\ gr\ x\ 10\ mL = x\ gr\ x\ 1000\ mL$$

$$80 = 1000x$$

$$x = 0{,}08\ gr\ NB$$

NB diambil 1 mL lalu ditambahkan 99 mL aquades.

Pembuatan media *gellan gum* 1% dan 2%

- Larutan DNB = 25 mL
- Konsentrasi *gellan gum* 1%:
  = 25 mL x 1% = 0,25 gr
- Konsentrasi *gellan gum* 2%:
  = 25 mL x 2% = 0,5 gr

Lampiran 1. 4 Media yang Digunakan

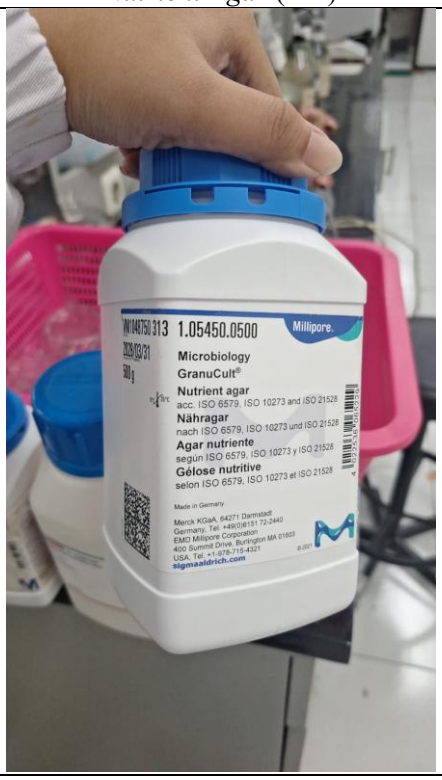
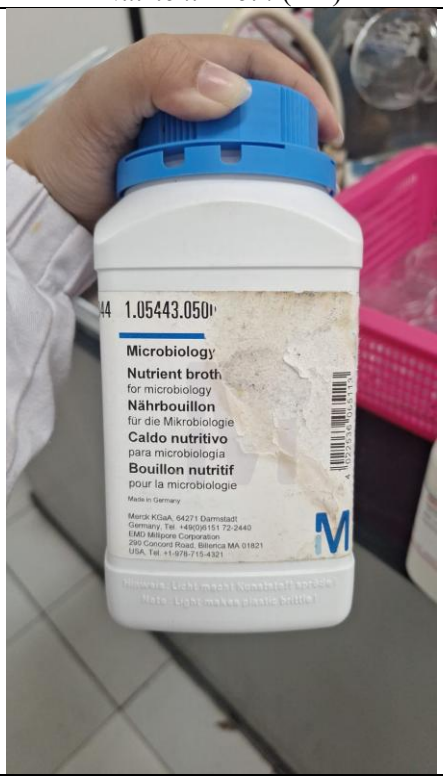
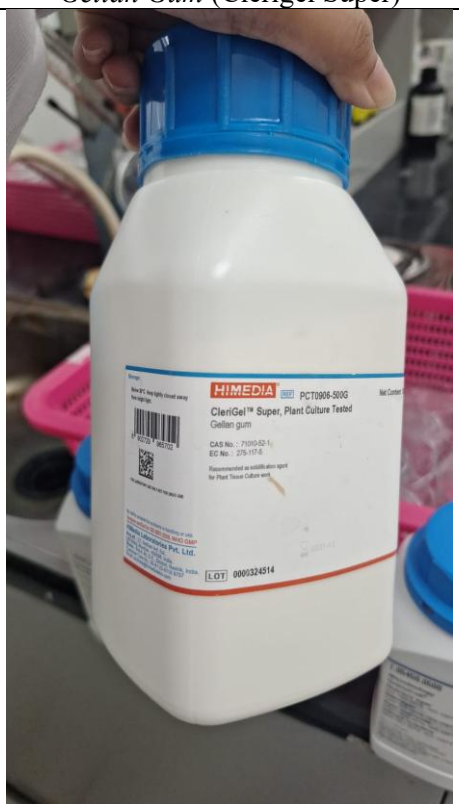
Nutrient Agar (NA)	*Nutrient Broth* (NB)
	

Plate Count Agar (PCA)	*Gellan Gum* (Clerigel Super)
	

Lampiran 2. 1 Pengamatan Hasil *Total Plate Count* (TPC)

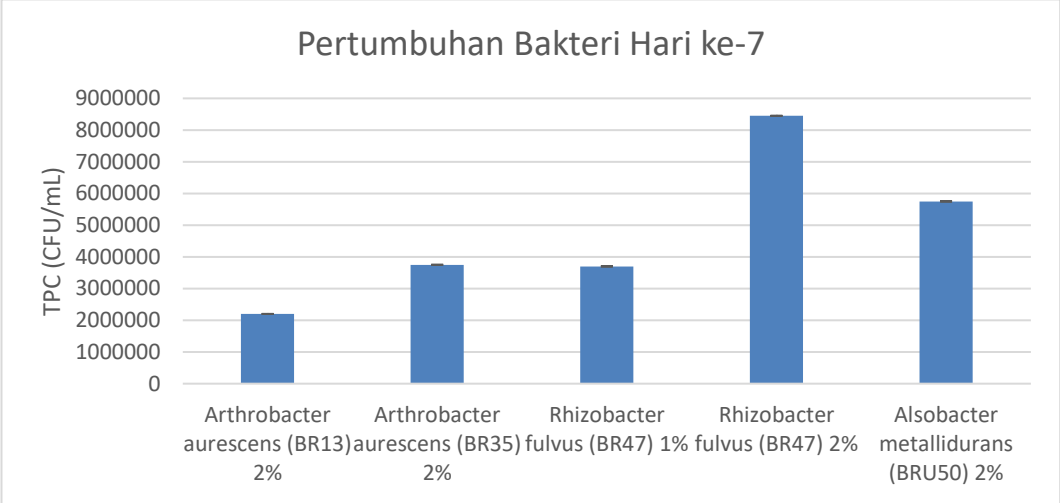
Isolat Bakteri	Konsentrasi *Gellan Gum*	Hari ke-7			
		10^5	10^5	10^6	10^6
Arthrobacter aurescens (BR13)	1%	-	-	-	-
	2%	22	0	20	14
Arthrobacter aurescens (BR35)	1%	-	-	-	-
	2%	45	30	75	42
Rhizobacter fulvus (BR47)	1%	0	37	0	0
	2%	81	88	88	114
Alsobacter metallidurans (BRU50)	1%	-	-	-	-
	2%	76	39	18	6

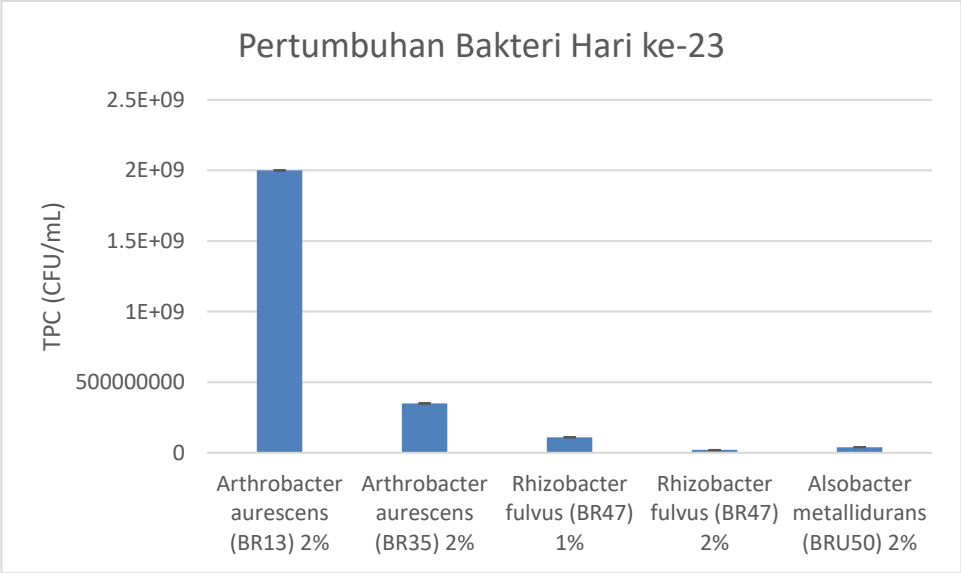
Isolat Bakteri	Konsentrasi *Gellan Gum*	Hari ke-23			
		10^7	10^7	10^8	10^8
Arthrobacter aurescens (BR13)	1%	-	-	-	-
	2%	3	0	20	2
Arthrobacter aurescens (BR35)	1%	-	-	-	-
	2%	1	1	3	4
Rhizobacter fulvus (BR47)	1%	11	0	3	0
	2%	2	0	0	0

Isolat Bakteri	Konsentrasi *Gellan Gum*	Hari ke-23			
		10^7	10^7	10^8	10^8
Alsobacter metallidurans (BRU50)	1%	-	-	-	-
	2%	0	4	1	1

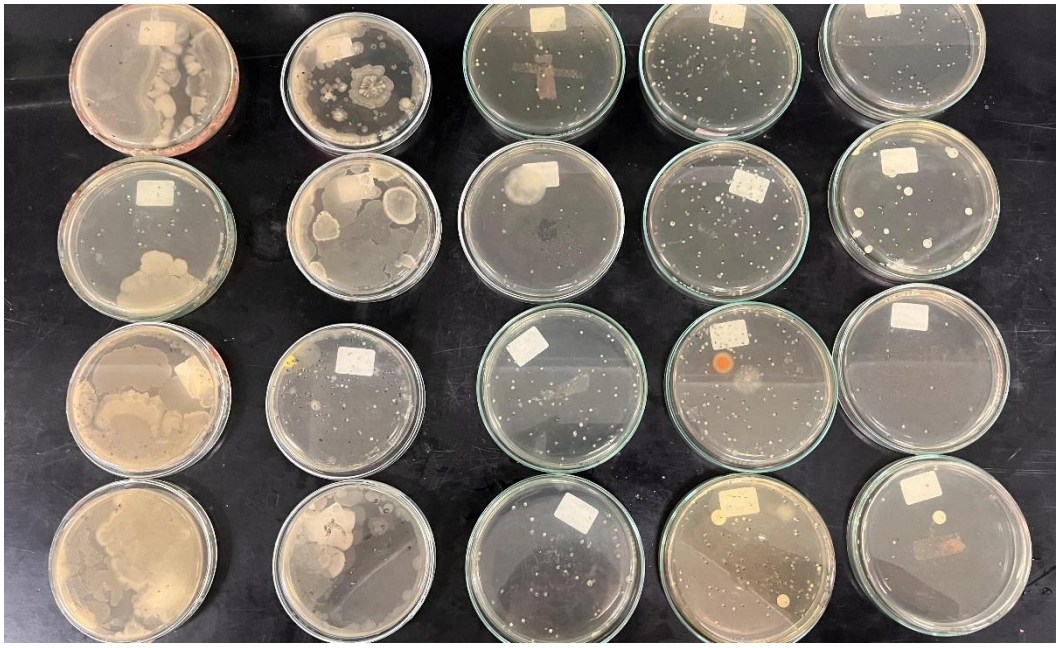
Log CFU/mL					
Hari	BR 13 (2%)	BR 35 (2%)	BR 47 (1%)	BR 47 (2%)	BRU 50 (2%)
0	0	0	0	0	0
7	6	7	7	7	7
23	9	9	8	7	8

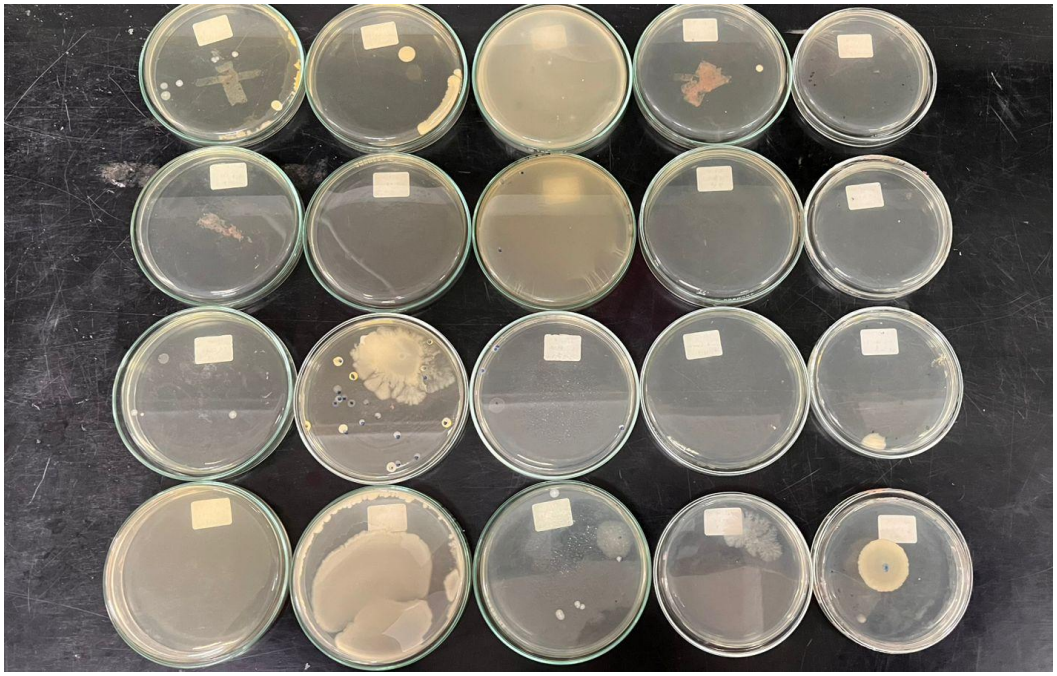
Lampiran 2. 2 Pertumbuhan Bakteri



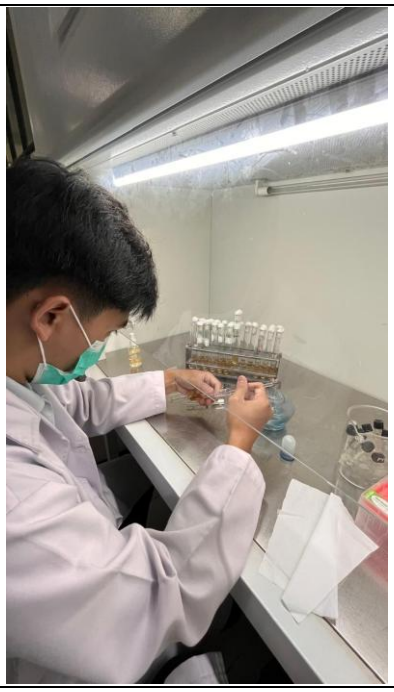


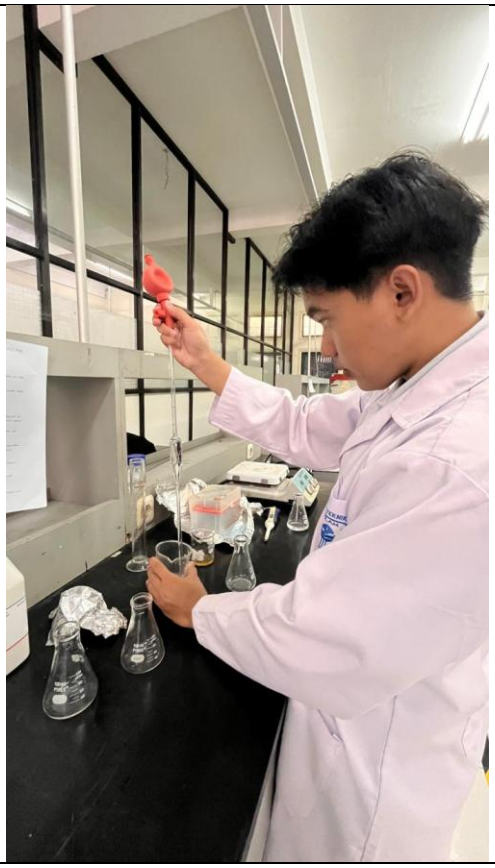
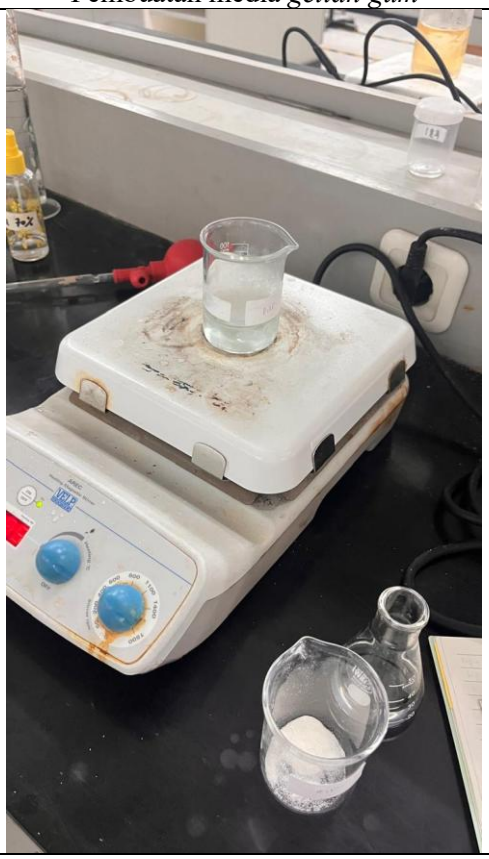
Lampiran 3. 1 Dokumentasi Hasil TPC

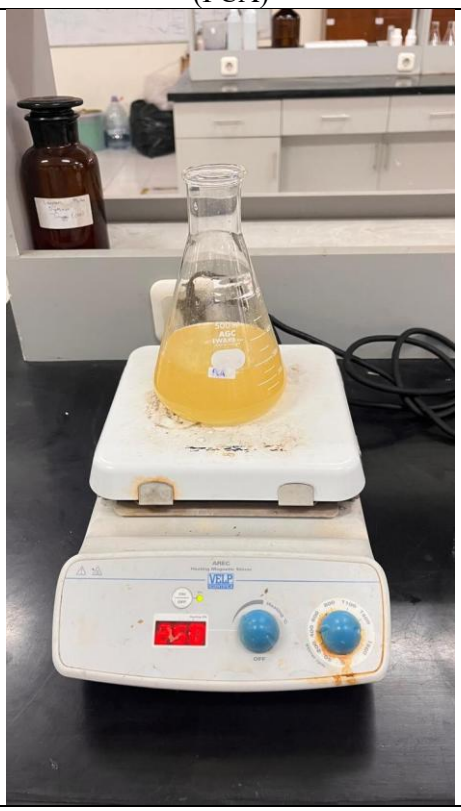
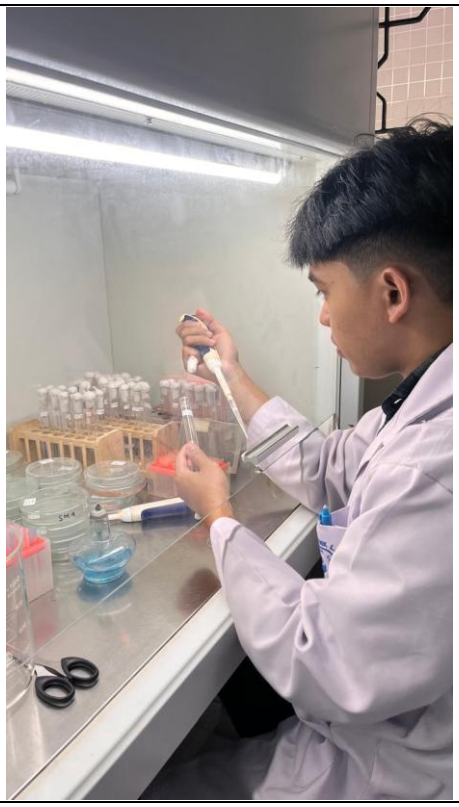
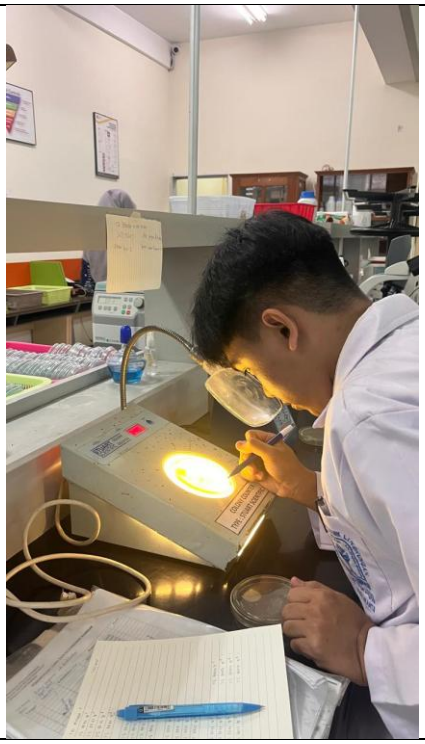




Lampiran 3. 2 Dokumentasi Tugas Akhir

Sterilisasi Alat	Inokulasi isolat bakteri ke media NB
	
Inkubasi isolat bakteri di *waterbath shaker*	Isolat dalam media agar miring (1)
	
Isolat dalam media agar miring (2)	Pembuatan *Dilute Nutrient Broth* (DNB)

	
Pembuatan media *gellan gum*	Inokulasi bakteri ke media *gellan gum*
	
Pembuatan media *Plate Count Agar*	Proses pengenceran TPC

(PCA)	
	
TPC	Perhitungan jumlah koloni di *colony counter*
	

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Gilang Achmad Syafi'i lahir di Sorowako, 09 Juli 2002. Penulis merupakan anak kedua dari Achmad Saban dan Irawati Tombu. Adapun riwayat pendidikan penulis adalah SD YPS Lawewu (2009 – 2015), Pondok Pesantren Modern IMMIM Putra Makassar (2015 – 2021) dan Universitas Islam Indonesia Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan (2021 – 2025).

Penulis memiliki beberapa kegiatan yang pernah diikuti selama menempuh pendidikan baik kegiatan akademik maupun non akademik yaitu:

1. Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.
2. Kerja Praktik di PT. Vale Indonesia Tbk.
3. Asisten Praktikum Mikrobiologi Lingkungan
4. Tim Kerja Ristek HMTL UII Tahun 2022
5. Kepanitiaan Enviro Champions 2022
6. Kepanitiaan Lintas Lingkungan 2022