

Diferensiasi Sel Bakteri: Kajian Eksperimental Melalui Praktikum Mikrobiologi

Bacterial Cell Differentiation: Experimental Study Through Microbiology Laboratory

Putri Febriani¹⁾, Putri Famalia²⁾, Rheza Dwi Utami³⁾, Nabila Annisa Rahma⁴⁾, Sahrul⁵⁾, Maya Sari⁶⁾, Siti Soleha⁷⁾

^{1,2,3,4,5,6,7)} Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang

Email: sitisoleha@radenfatah.ac.id

ABSTRAK

Diferensiasi sel merupakan perubahan bakteri pada morfologi, fisiologi, atau perilaku sebagai respons terhadap kondisi lingkungan atau sebagai bagian dari siklus hidupnya. Kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti kekurangan nutrisi atau suhu ekstrem, bakteri ini dapat membentuk struktur endospora yang sangat tahan terhadap panas, radiasi, dan bahan kimia. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati proses diferensiasi sel khususnya pada *Bacillus* sp. dan untuk mengetahui waktu pembentukan serta perkembangan spora selama proses sporulasi. Struktur endospora diamati dengan cara menginokulasikan *Bacillus* sp. ke dalam media *Nutrient Broth* dan TYGE, kemudian diinkubasi dan diamati setiap enam jam. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop setelah pewarnaan endospora dengan *Malachite Green* dan safranin. Hasil menunjukkan adanya perubahan morfologi sel dari bentuk batang (basil) hingga tampak struktur spora. Pada pengamatan mikroskop perbesaran 100x pukul 14.30 dan 18.00, sel berbentuk basil tersebar merata. Pada perbesaran 40x pukul 12.00 terlihat batang dengan bagian bulat yang menunjukkan pembentukan endospora. Pada pukul 17.00, tampak warna hijau yang mengindikasikan keberadaan *Bacillus* sp.

Kata Kunci: *Bacillus* Sp., Diferensiasi sel, Endospora , Sporulasi

PENDAHULUAN

Bakteri memiliki kemampuan luar biasa untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang ekstrem melalui proses yang dikenal sebagai diferensiasi sel. Diferensiasi ini tidak hanya mencakup perubahan morfologi, tetapi juga mencakup aspek fisiologis dan perilaku yang memungkinkan bakteri bertahan hidup dalam kondisi yang kurang menguntungkan, seperti kekurangan nutrisi atau suhu ekstrem. Salah satu bentuk adaptasi paling ekstrem yang dilakukan oleh bakteri adalah pembentukan endospore, struktur dorman yang sangat tahan terhadap panas, radiasi, serta bahan kimia berbahaya (Baquero *et al.*, 2024).

Proses pembentukan endospora, atau yang dikenal sebagai sporulasi, merupakan mekanisme bertahan hidup yang sangat kompleks. Bakteri seperti *Bacillus subtilis* dan

Clostridium difficile mampu menjalani sporulasi ketika kondisi lingkungan tidak mendukung kelangsungan hidup sel vegetatif. Proses ini diawali dengan pembelahan sel yang tidak simetris, menghasilkan dua bagian: forespore (calon spora) dan mother cell (sel induk). Forespore kemudian "ditelan" oleh sel induk melalui proses *engulfment*, lalu dilengkapi dengan lapisan pelindung seperti korteks dan mantel yang membuatnya sangat tahan terhadap tekanan lingkungan. Setelah endospora terbentuk sempurna, sel induk mengalami lisis dan melepaskan spora ke lingkungan, siap untuk tumbuh kembali saat kondisi membaik (Mearls *et al.*, 2020).

Strategi bertahan hidup ini tidak berlaku sama bagi semua bakteri. *Staphylococcus*, misalnya, tidak membentuk spora, tetapi justru membentuk subpopulasi dengan fungsi berbeda untuk mengatasi tekanan lingkungan. Sebaliknya, *Bacillus* menggunakan sporulasi sebagai bentuk perlindungan jangka panjang. Pemahaman terhadap mekanisme ini sangat penting, terutama dalam konteks klinis dan industri, karena dapat membantu mengembangkan strategi dalam mengendalikan infeksi dan resistensi antibiotik (Knoblich, 2021).

Metode pewarnaan sederhana menjadi salah satu pendekatan yang digunakan dalam laboratorium mikrobiologi. Pewarnaan ini memanfaatkan satu jenis pewarna basa yang mampu memberikan kontras tinggi antara sel bakteri dan latar belakang, sehingga memungkinkan pengamatan morfologi dan susunan sel dengan lebih jelas. Pada bakteri seperti *Bacillus* sp., pewarnaan juga berfungsi untuk memantau perkembangan dan waktu pembentukan spora selama proses sporulasi (Cooper, 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengamati proses diferensiasi sel, khususnya pada *Bacillus* sp., dengan fokus pada waktu pembentukan dan perkembangan endospora selama proses sporulasi. Melalui pengamatan morfologis dengan teknik pewarnaan sederhana, diharapkan penelitian ini dapat memberikan gambaran lebih jelas mengenai dinamika diferensiasi sel sebagai strategi adaptasi bakteri terhadap lingkungan yang tidak menguntungkan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan pendekatan eksperimen laboratorium yang bertujuan untuk mengamati proses diferensiasi sel melalui pembentukan endospora pada *Bacillus* sp. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2025 bertempat di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang.

Adapun alat dan bahan yang digunakan pada praktikum ini adalah object glass, cover glass, mikroskop, Bunsen, botol vial, jarum ose, pipet tetes, tip, korek api, alat tulis, cawan petri, shaker, erlenmayer, waterbath, sprayer, handphone, laminar air flow, mikropipet, dan water bath. Sedangkan bahan yang digunakan pada praktikum ini adalah sporulasi

TYGE(*Tryptone Glucose Extract Broth*), media *Nutrient Broth* (NB), kertas saring, aquadest, pewarna endospore (*malachite green* dan *safranin*), alkohol 70%, minyak imersi, kapas, kasa, spiritus, isolate *Bacillus* sp., plastic wrap, aluminium foil, dan kertas label.

Tahapan penelitian meliputi persiapan media TYGE (*Tryptone Glucose Extract Broth*) dan *Nutrient Broth* (NB). *Bacillus* sp. diinokulasikan ke dalam media *Nutrient Broth* (NB), serta inkubasi dengan shaker selama 16 jam. Setelah sel bakteri diendapkan kemudian dipindahkan ke media TYGE. Sampel diamati secara berkala setiap 6 jam untuk melihat pembentukan spora. Pewarnaan dilakukan dengan metode *Schaeffer-Fulton* menggunakan *malachite green* dan safranin, lalu diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x, 40x, 100x.

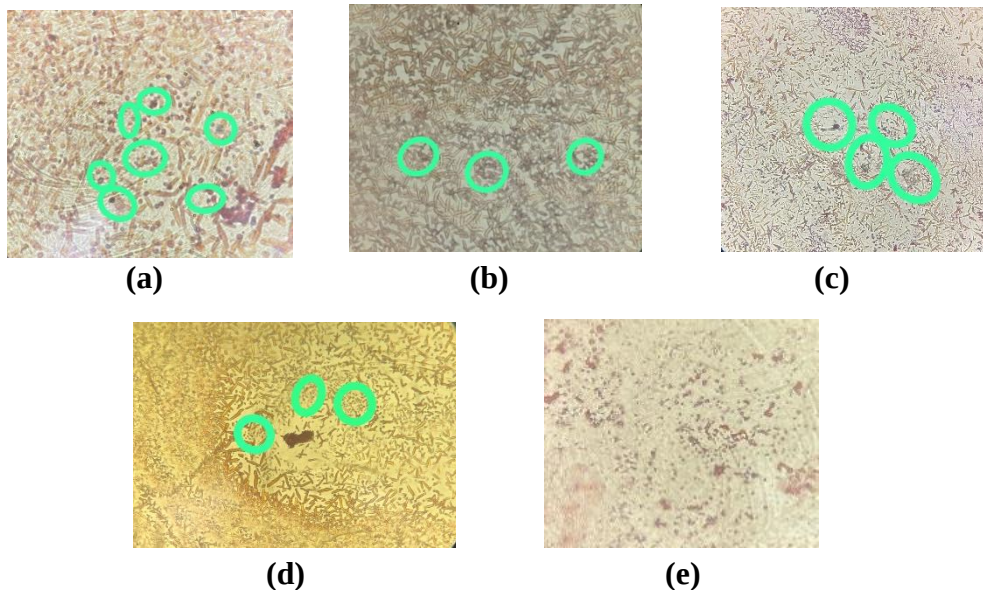
Prosedur pewarnaan dilakukan dengan memanaskan preparat ulas yang ditetesi *malachite green* selama 5 menit di atas *water bath* bersuhu 80–90°C menggunakan kertas saring untuk membantu penetrasi pewarna ke dalam dinding spora. Setelah itu, preparat dibilas dengan aquadest, diwarnai ulang dengan safranin selama 30 detik sebagai pewarna kontras, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sebelum diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x, 40x, 100x menggunakan minyak imersi.

Data yang diperoleh berupa hasil pengamatan morfologi sel dan waktu kemunculan spora, yang kemudian dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui dinamika diferensiasi sel pada *Bacillus* sp. dalam kondisi lingkungan tertentu. Analisis difokuskan pada keterkaitan antara fase pertumbuhan bakteri dan pembentukan endospora sebagai respons adaptif terhadap stres lingkungan, termasuk pengaruh suhu, waktu inkubasi, dan kecukupan nutrisi terhadap proses sporulasi.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengamatan sporulasi optimal pada *Bacillus* sp. Terdapat pada waktu inkubasi lebih dari 17 jam dan teknik pewarnaan yang tepat. Pengamatan dalam kondisi optimal dalam mendeteksi spora yang sebenarnya sudah terbentuk, dengan menggunakan perbesaran 10x, 40x, 100x perbesaran dengan menggunakan waktu yang berbeda-beda.

Pewarnaan spora biasanya menggunakan metode *Schaeffer-Fulton*, di mana *malachite green* digunakan untuk mewarnai spora dan safranin digunakan sebagai counterstain untuk mewarnai sel vegetatif. Spora akan tampak hijau (jika menggunakan *malachite green*) sedangkan sel vegetatif akan tampak merah, ciri khas spora adalah bentuknya bulat atau oval yang tampak di dalam atau di luar sel vegetatif. keberadaan spora menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk dalam genus seperti *Bacillus* atau *Clostridium*, yang mampu membentuk endospora untuk bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem (Mearls *et al.*, 2020).



Gambar 1. Sporulasi pada *Bacillus* sp. (a). Sporulasi perbesaran 100x (14.30), (b). Sporulasi perbesaran 100x (18.00), (c). Sporulasi perbesaran 10x (07.00), (d). Sporulasi perbesaran 40x (17.00), (e). Sporulasi perbesaran 40x (12.00)

Sporulasi perbesaran 100x jam 14.30 menunjukkan bahwa preparat bakteri yang telah diwarnai terdapat sel bakteri yang berbentuk batang (basil) dan tersebar merata, dengan beberapa bentuk rantai pendek (Gambar 1). Warna yang ada mendominasi pada sel vegetatif yang tampak merah muda hingga cokelat muda, sedangkan pada struktur bulat kecil di dalam atau di luar sel tampak berwarna hijau keabu-abuan atau lebih gelap, yang merupakan endospora. Kepadatan sel yang tinggi menunjukkan pertumbuhan kultur yang baik, dan banyaknya spora menunjukkan bahwa bakteri telah memasuki fase akhir pertumbuhan atau menghadapi kondisi yang kurang mendukung (Willey *et al.*, 2017).

Pada jam 18.00 terdapat berbentuk batang (basil). Bentuknya memanjang dan tersusun acak, bakteri terlihat tersebar merata pada preparat dan saling berdekatan. Struktur batang yang terlihat jelas dengan orientasi acak menunjukkan bahwa spesimen ini diambil dari kultur cair atau hasil goresan dari medium padat (Sadeghi *et al.*, 2020).

Sporulasi perbesaran 10x hasil menunjukkan bahwa setiap waktu sampling memiliki hasil dan bentuk spora yang berbeda. Pada pukul 07.00 yang dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 10x mendapatkan hasil yang tidak terlalu signifikan karena pada gambar menunjukkan bahwa terdapat sel berbentuk batang (basil) yang tersebar merata di seluruh *object glass*. pada gambar sebagian besar sel tampak lurus dan memanjang, dengan beberapa membentuk pasangan atau rantai pendek. pada warna yang tampak dominan ungu

mengindikasikan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* ini kemungkinan bersifat Gram positif, hal ini perlu diidentifikasi kembali karena terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi hasil seperti perbesaran pada mikroskop yang tidak bisa dijangkau (Madigan *et al.*, 2021).

Pada jam 17.00 dengan perbesaran 40x terlihat gambar yang begitu tidak jelas karena beberapa faktor namun bentuk spora menunjukkan warna merah yang mengindikasikan adanya bakteri *Bacillus sp.* proses sporulasi ini dimulai dengan tahap inisiasi yang terjadi dalam 1 jam pertama, saat sel bakteri mulai mendeteksi stres lingkungan dan mengaktifkan gen regulator sporulasi seperti Spora. Selanjutnya, dalam waktu 1–2 jam, terjadi pembelahan sel secara asimetris yang menghasilkan dua kompartemen forespore (bakal spora) dan mother cell (sel induk) (D’Incecco *et al.*, 2024).

Pada jam 12.00 dengan perbesaran 40x terlihat struktur batang berwarna coklat kemerahan dengan beberapa bagian yang tampak lebih terang atau transparan, dan tampak bagian-bagian berbentuk oval atau bulat yang lebih terang atau berbeda warna dari tubuh sel utama hal ini yang mengindikasikan bahwa spora berada baik di dalam maupun di luar sel (endospora dan eksospora), Serta menunjukkan bahwa sampel mengandung bakteri penghasil spora yang aktif (Zhang *et al.*, 2020).

Pada tahap 2–3 jam, *mother cell* membungkus forespore melalui proses *engulfment*, membentuk dua lapisan membran di sekeliling forespore. Tahap berikutnya, antara jam ke-3 hingga ke-5, forespore mulai membentuk korteks dari peptidoglikan, yang berfungsi sebagai pelindung terhadap tekanan osmotik. Memasuki jam ke-5 hingga ke-6, spora melanjutkan pembentukan lapisan luar (*coat*) yang sangat tahan terhadap panas dan bahan kimia, serta mengalami dehidrasi dan pengendapan asam dipikolinat serta ion kalsium (Ca-DPA) untuk stabilisasi DNA (Yap *et al.*, 2017).

Tahap maturasi berlangsung antara jam ke-6 hingga ke-7. Spora mencapai bentuk akhir yang matang dan tahan terhadap berbagai kondisi ekstrem. Sekitar jam ke-7 hingga ke-8, *mother cell* mengalami lisis dan melepaskan spora ke lingkungan luar. Spora akan tetap dalam keadaan dorman hingga kondisi lingkungan kembali mendukung untuk melakukan germinasi dan kembali menjadi sel vegetatif aktif (Hartline, 2022).

KESIMPULAN

Pertumbuhan menunjukkan *Bacillus sp.* adanya perubahan morfologi sel dari bentuk batang (basil) hingga tampak struktur endospora. Pengamatan mikroskop perbesaran 100x pukul 14.30 dan 18.00, sel berbentuk basil tersebar merata. Pada perbesaran 40x pukul 12.00 terlihat batang dengan bagian bulat yang menunjukkan pembentukan endospora.

DAFTAR PUSTAKA

Balaban, N.Q. *et al.* 2019. *Bacterial persistence as a phenotypic switch*. Science.

- Baquero, F., Moreno-Blanco, A., & del Campo, R. (2024). *Environmental stress, bacterial cell differentiation, and antimicrobial resistance*.
- Cooper, C. R. (2018). *Bacterial Smears and Simple Staining*. Youngstown State University.
- D’Incecco, P., et al. (2024). Monitoring of *Bacillus* spore-forming dynamics through flow cytometry. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1450913.
- Hartline, R. (2022). 1.12: *Endospore Stain*. Biology LibreTexts.
- Jalali, M., & Eslami, A. (2024). *Progress in transdifferentiation of autologous alternative cell sources into corneal epithelial cells*. *Stem Cell Reviews and Reports*, 20(2), 300–313.
- Knoblich, J. A. (2021). Concise review: *Asymmetric cell divisions in stem cell biology*. *Symmetry*, 7(4), 2025–2038.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). Pearson.
- Mearls, E. B., et al. (2020). Sporulation in Bacteria: Beyond the Standard Model. *Microbiology Spectrum*, 8(2).
- Sadeghi, S., et al. (2020). *Comparative evaluation of hydrogen peroxide sporicidal efficacy by different standard test methods*. ResearchGate.
- Wardhani, A.D. 2019. *Pengaruh Kejut Suhu dengan Waktu yang Berbeda terhadap Produksi Spora dan Efisiensi Sporulasi Bacillus sp.* Skripsi. Universitas Brawija
- Willey, J. M., Sherwood, L., & Woolverton, C. J. (2017). *Prescott's Microbiology* (10th ed.). McGraw-Hill Education.
- Yap, L.-W., & Endres, R. G. (2017). *A model of cell-wall dynamics during sporulation in Bacillus subtilis*. Soft Matter.
- Zhang, K., et al. (2020). *Bacillus subtilis: a universal cell factory for industry, agriculture and medicine*. *Microbial Cell Factories*.