

## Characterization of Alginate Beads from Bioelectric Producing Thermophilic Bacterial Cells

Putri Andriani<sup>1</sup>, & Irdawati\*

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;

### Article History

Received : March 25<sup>th</sup>, 2025

Revised : April 05<sup>th</sup>, 2025

Accepted : April 16<sup>th</sup>, 2025

\*Corresponding Author:

**Irdawati**, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;  
Email:

[irdawati.amor40@gmail.com](mailto:irdawati.amor40@gmail.com)

**Abstract:** Cell immobilization is one of the important techniques in biotechnology to increase the stability and viability of microorganisms during the application process. This study aims to characterize the shape, color, size, and number of colonies of *beads* resulting from the immobilization of four electrogenic thermophilic bacterial isolates (SSA1, SSA8, SSA14, and SSA16) using sodium alginate as a matrix. The immobilization technique was carried out through the ionic gelation method using 0.2 M CaCl<sub>2</sub>, with a concentration of 5% sodium alginate. The results showed that all isolates formed beads with round morphology and clear yellowish color indicating the success of the gelation process and no contamination. The diameter of the beads ranged from 3.8 mm to 4.6 mm, with SSA16 having the largest size. The highest number of colonies was found in SSA14 (147 colonies), followed by SSA16 (140), SSA1 (138), and SSA8 (125). There was a positive correlation between the size of the *beads* and the number of colonies, indicating that isolates with larger matrix space could accommodate more cells without interfering with metabolic activity. These results suggest that SSA14 and SSA16 have the most optimized physical characteristics of *beads* for application in *Microbial Fuel Cell* (MFC) systems.

**Keywords:** Cell immobilization, sodium alginate, thermophilic bacteria, *Microbial Fuel Cell* (MFC), *beads*, physical characteristics.

### Pendahuluan

Pemanfaatan mikroorganisme dalam bidang bioenergi telah menjadi salah satu pendekatan penting dalam pengembangan teknologi terbaru dan ramah lingkungan. Salah satu teknologi yang tengah dikembangkan adalah *Microbial Fuel Cell* (MFC), sistem bioelektrokimia yang memanfaatkan aktivitas metabolik mikroorganisme untuk menghasilkan listrik dari bahan organik. Teknologi ini tidak hanya mendukung upaya pengurangan emisi karbon, tetapi juga menjadi solusi inovatif dalam pengelolaan limbah organik secara berkelanjutan.

Sistem MFC, efektivitas konversi energi sangat bergantung pada aktivitas dan stabilitas mikroorganisme, khususnya bakteri elektrogenik. Salah satu pendekatan bioteknologi yang banyak digunakan untuk meningkatkan

stabilitas dan aktivitas biologis mikroorganisme adalah imobilisasi sel, yaitu teknik penjemputan atau penempelan sel ke dalam suatu matriks pendukung tertentu (Park & Chang, 2000). Teknik ini memungkinkan mikroorganisme tetap aktif dalam waktu yang lama serta meminimalkan kehilangan biomassa selama proses aplikasi. Proses imobilisasi dapat berlangsung melalui berbagai mekanisme, seperti penyerapan, adhesi, penjerapan, hingga pembentukan ikatan kovalen atau ionik dengan material pendukung (Hassanzadeh et al., 2017).

Bakteri termofilik salah satu kelompok mikroorganisme yang berpotensi besar untuk diimobilisasi dalam sistem MFC. Mikroorganisme ini mampu tumbuh optimal pada suhu tinggi, berkisar antara 45–80°C, sehingga lebih tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrem (Fifendy et al., 2015). Hasil eksplorasi mikroba dari Sumber Air Panas Sapan

Sungai Aro, Kabupaten Solok Selatan, menunjukkan bahwa terdapat 16 isolat bakteri termofilik yang berhasil diidentifikasi (Irdawati et al., 2018). Di antaranya, empat isolat unggul yakni SSA1, SSA8, SSA14, dan SSA16, memiliki potensi elektrogenik yang menjanjikan dalam sistem MFC dan produksi biolistrik (Vesimarta et al., 2024). Kemampuan elektrogenik tersebut memungkinkan bakteri untuk mentransfer elektron ke elektroda sebagai bagian dari metabolisme sel dalam sistem MFC (Lovley, 2006).

Penggunaan sel bebas dalam sistem MFC menghadapi berbagai tantangan, seperti degradasi sel, pelepasan biomassa, serta rendahnya efisiensi transfer elektron. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, teknik imobilisasi menjadi solusi alternatif yang efektif. Natrium alginat merupakan salah satu bahan matriks yang umum digunakan dalam teknik imobilisasi, karena merupakan biopolimer alami yang diperoleh melalui ekstraksi alga coklat. Natrium alginat memiliki keunggulan berupa sifat biokompatibel, tidak toksik, dan mampu membentuk gel stabil melalui proses gelasi ionik dengan ion kalsium, sehingga mendukung pertukaran nutrisi dan metabolit antara sel mikroba dan lingkungannya (Draget et al., 2005). Di antara berbagai metode imobilisasi, teknik penjembaran sel dalam gel natrium alginat menjadi pilihan populer karena mampu menjaga viabilitas dan aktivitas sel secara optimal (Quiros et al., 1996 dalam Agustien, 2011).

Efektivitas imobilisasi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi natrium alginat yang digunakan. Konsentrasi yang sesuai dapat meningkatkan kestabilan matriks terhadap kebocoran, mempertahankan kelangsungan hidup mikroorganisme, dan mempengaruhi morfologi beads yang terbentuk (Mubarokah, 2018). Variasi konsentrasi juga berdampak pada pH, suhu, serta karakteristik fisik beads, seperti diameter dan kekompakan struktur (Ratnasari, 2014). Beads yang dihasilkan melalui metode gelasi ionik umumnya berbentuk bulat dan berperan sebagai tempat tertutup bagi mikroorganisme yang terimobilisasi. Natrium alginat dalam hal ini bertindak sebagai polimer utama yang memiliki sifat adhesif, biodegradable, serta efisien secara ekonomi (Tiyaboonchai, 2003). Studi terbaru oleh Summaati, T (2024) mengungkapkan bahwa

penggunaan alginat dengan konsentrasi 5% menghasilkan beads yang optimal dari segi bentuk dan warna, dengan jaringan gel yang cukup padat namun tetap memungkinkan difusi zat.

Kajian terkait karakteristik fisik beads berbasis natrium alginat sebagai matriks imobilisasi bagi bakteri termofilik elektrogenik masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaraktisasi bentuk dan sifat fisik beads hasil imobilisasi isolat SSA1, SSA8, SSA14, dan SSA16, menggunakan natrium alginat sebagai bahan matriks. Kajian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi terhadap optimalisasi teknik imobilisasi dalam aplikasi MFC berbasis bakteri termofilik, serta mendukung pengembangan bioenergi terbarukan secara berkelanjutan.

## Bahan dan Metode

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2024 sampai Januari 2025, di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

### Alat dan bahan

Alat penelitian ini adalah *autoclave*, *beaker glass*, *erlenmeyer*, gelas ukur, timbangan digital, *magnetic stirrer*, pipet tetes, *petridish*, *hot plate*, label, jangka sorong, *colony counter*, dan *incubator cooling*. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri termofilik SSA 1, 8, 14, dan 16, *aquadest*, alkohol 70%, NA, Alginat, Mc Farland 1, dan CaCl<sub>2</sub> 0.2M.

### Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang terbuat dari kaca dan bahan yang digunakan seperti Na Alginat disterilisasi terlebih dahulu pada *autoclave* dengan suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit.

### Pembuatan Beads Alginat

Menyiapkan larutan Na-Alginat dengan konsentrasi 5%. Larutan Na-Alginat 5% dibuat dengan mencampurkan 5 gram bubuk Na-Alginat dengan *aquadest* sampai dengan 100 ml. Setelah itu larutan Na-Alginat disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15

menit. Kemudian dicampurkan dengan isolat bakteri termofilik SSA1, 8, 14, dan 16 dengan konsentrasi 5%. Selanjutnya campuran NaAlginat dan bakteri termofilik imobil isolat SSA dituang ke dalam petridish lalu diambil dengan menggunakan pipet tetes dan diteteskan perlahan ke dalam wadah yang berisi CaCl<sub>2</sub> 0,2 M sehingga terbentuk *beads* (butiran) alginat. Butiran alginat disimpan pada suhu 4°C selama 1 jam kemudian dicuci dengan aquadest steril sebanyak 3 kali, lalu disimpan dalam cooling incubator selama 24 jam.

### Pengamatan Karakteristik *Beads*

Karakteristik *beads* ditentukan berdasarkan bentuk, warna, diameter dan jumlah koloni dalam sebutir *beads* yang dihasilkan dari tiap isolat. Diameter *beads* diukur menggunakan jangka sorong pada 2 perwakilan *beads* yang dihasilkan tiap isolat. Sedangkan untuk perhitungan jumlah koloni dilakukan dengan memecah 1 butir *beads* masing-masing isolat kemudian memasukkan kedalam pengenceran 1 dengan 3 ulangan dan menghitung rata-rata

menggunakan *colony counter*. Pada penelitian ini, pengamatan bentuk dan warna *beads* dilakukan secara visual.

### Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

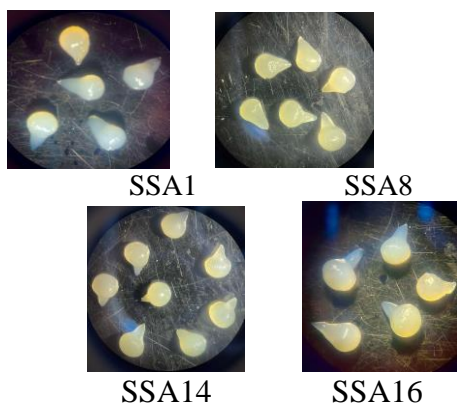
### Hasil dan Pembahasan

#### Karakteristik *Beads* Isolat Sapan Sungai Aro (SSA)

Karakteristik fisik *beads* yang terbentuk dari proses imobilisasi sangat dipengaruhi oleh jenis isolat mikroba serta konsentrasi matriks yang digunakan. Evaluasi terhadap bentuk, warna, dan struktur permukaan *beads* memberikan gambaran awal mengenai kualitas imobilisasi dan potensi keberhasilan aplikasi pada sistem MFC. Oleh karena itu, dilakukan pengamatan terhadap karakteristik *beads* hasil imobilisasi empat isolat bakteri termofilik elektrogenik dari Sapan Sungai Aro (SSA) menggunakan natrium alginat sebagai matriks.

Tabel 1. Karakteristik *Beads* Isolat Sapan Sungai Aro (SSA)

No	Isolat	Diameter <i>Beads</i> (mm)	Bentuk	Warna	Jumlah Koloni Bakteri
1.	SSA1	3,8	Cendrung Bulat	Bening Kekuningan	138 ×10 <sup>1</sup> CFU/ml
2.	SSA8	4,1	CendrunB ulat	Bening Kekuningan	125×10 <sup>1</sup> CFU/ml
3	SSA14	4,3	Cendrung Bulat	Bening Kekuningan	147×10 <sup>1</sup> CFU/ml
4.	SSA16	4,6	Cendrung Bulat	Bening Kekuningan	140×10 <sup>1</sup> CFU/ml



Gambar 1. Morfologi *beads* dari isolat SSA1, 8, 14, dan 16.

### Pembahasan

#### Karakteristik *Beads* Isolat Sapan Sungai Aro (SSA)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat membentuk *beads* dengan bentuk yang cenderung bulat dan warna bening kekuningan. Bentuk bulat mengindikasikan proses gelasi ionik antara natrium alginat dan kalsium klorida berlangsung optimal. Menurut Draget *et al.* (2005), bentuk yang simetris pada *beads* menandakan homogenitas campuran serta kestabilan proses gelasi, yang penting untuk menjaga viabilitas dan aktivitas sel bakteri di dalam matriks. Warna bening kekuningan yang muncul pada semua *beads* juga menunjukkan tidak terjadinya degradasi atau

kontaminasi selama proses imobilisasi. Summaiati.T (2024) menyebutkan bahwa warna kekuningan merupakan indikasi keberadaan biomassa bakteri termofilik dalam konsentrasi stabil, tanpa mengganggu kejernihan gel.

Diameter beads meningkat berturut-turut dari SSA1 (3,8 mm), SSA8 (4,1 mm), SSA14 (4,3 mm), hingga SSA16 (4,6 mm). Perbedaan diameter ini dapat dipengaruhi oleh jumlah biomassa sel, viskositas larutan alginat, serta laju penetasan selama proses pembentukan *beads*. Beads dengan ukuran lebih besar dapat menampung lebih banyak sel, namun juga memiliki risiko difusi oksigen dan nutrisi yang lebih lambat ke pusat matriks (Pan *et al.*, 2011). Oleh karena itu, ukuran *beads* yang optimal menjadi penting dalam menjaga keseimbangan antara kapasitas sel dan efisiensi metabolisme.

Jumlah koloni bakteri pasca-imobilisasi juga bervariasi, dengan SSA14 menghasilkan koloni terbanyak (147), diikuti SSA16 (140), SSA1 (138), dan SSA8 (125). Perbedaan ini mencerminkan kemampuan masing-masing isolat untuk bertahan hidup dan berkembang dalam kondisi imobilisasi. Menurut Wang *et al.* (2006), keberhasilan imobilisasi sangat dipengaruhi oleh fisiologi sel, ketebalan dinding sel, serta produksi eksopolisakarida (EPS), yang dapat melindungi sel dari tekanan osmotik dan memperbaiki ikatan antara sel dan matriks. SSA14 dan SSA16 yang memiliki jumlah koloni tinggi dapat dikatakan lebih toleran terhadap kondisi tertutup matriks dan berpotensi lebih stabil dalam aplikasi jangka panjang.

Keterkaitan antara diameter *beads* dan jumlah koloni juga dapat diamati, di mana isolat dengan diameter *beads* yang lebih besar cenderung menunjukkan jumlah koloni yang lebih tinggi. Hal ini sejalan dengan pendapat Lovley (2006) yang menyatakan bahwa semakin besar ruang yang tersedia dalam matriks, semakin tinggi kapasitas sel yang dapat ditampung tanpa mengganggu aktivitas metabolik. Dengan demikian, SSA14 dan SSA16 menjadi kandidat utama untuk digunakan dalam sistem MFC karena memiliki ukuran *beads* optimal, bentuk stabil, dan viabilitas tinggi.

Natrium alginat sebagai matriks imobilisasi terbukti efektif dalam menjaga bentuk, kestabilan, dan permeabilitas beads. Polimer ini bersifat biokompatibel dan memiliki struktur berpori yang memungkinkan pertukaran nutrisi dan limbah metabolik (Tiyaboonchai, 2003). Selain itu,

menurut Mubarakah (2018), konsentrasi alginat yang digunakan juga menentukan kekuatan mekanik *beads* dan kemampuan mempertahankan sel di dalamnya. Dalam penelitian ini, *beads* yang terbentuk tidak menunjukkan adanya keretakan atau perubahan bentuk, yang menandakan bahwa konsentrasi alginat sudah sesuai untuk menjaga integritas struktural *beads*.

Karakteristik fisik beads memiliki implikasi penting tidak hanya dalam menjaga viabilitas mikroorganisme tetapi juga dalam memastikan efisiensi pertukaran nutrisi dan produk metabolit. Beads yang stabil secara mekanik akan lebih tahan terhadap tekanan hidrodinamik dalam sistem reaktor, terutama jika digunakan dalam aplikasi jangka panjang (Kawaguti *et al.*, 2006). Selain itu, penggunaan natrium alginat sebagai matriks dinilai sangat ekonomis dan berkelanjutan karena bersifat biodegradable dan mudah diperoleh (Lopez & Garcia, 2023).

Karakteristik fisik beads memiliki implikasi penting tidak hanya dalam menjaga viabilitas mikroorganisme tetapi juga dalam memastikan efisiensi pertukaran nutrisi dan produk metabolit. Beads yang stabil secara mekanik akan lebih tahan terhadap tekanan hidrodinamik dalam sistem reaktor, terutama jika digunakan dalam aplikasi jangka panjang (Kawaguti *et al.*, 2006). Selain itu, penggunaan natrium alginat sebagai matriks dinilai sangat ekonomis dan berkelanjutan karena bersifat biodegradable dan mudah diperoleh (Lopez & Garcia, 2023).

Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa keberhasilan imobilisasi dapat ditingkatkan melalui modifikasi struktur internal beads, misalnya dengan penambahan filler seperti zeolit atau nanopartikel untuk meningkatkan kekuatan mekanik dan kapasitas adsorpsi (Matsumoto *et al.*, 2014; Carbajo *et al.*, 2019). Selain itu, variasi dalam metode pengeringan dan teknik penetasan juga mempengaruhi porositas dan difusivitas substrat ke dalam beads (Bajaj & Singhal, 2010). Oleh karena itu, pengembangan formulasi beads ke depan dapat diarahkan pada pendekatan multifungsional: mempertahankan viabilitas sel, meningkatkan aktivitas elektrogenik, dan memperpanjang umur operasional dalam MFC (Chacón-Navarrete *et al.*, 2021).

Sisi aplikatif, keberhasilan sistem

imobilisasi sangat penting bagi pengolahan limbah cair maupun produksi bioetanol berbasis fermentasi (Zhou & Chen, 2015; Mital & Kumar, 2011). Di sisi lain, peningkatan stabilitas enzimatik juga dapat dicapai melalui teknik imobilisasi multipoint covalent attachment, yang membuka peluang untuk aplikasi biokatalis industri (Carbajo et al., 2019). Bahkan beberapa protein aktif dapat diimobilisasi pada permukaan spora bakteri dengan hasil yang menjanjikan (Ghaedmohammadi et al., 2015). Dengan berbagai pendekatan tersebut, formulasi beads yang optimal akan menjadi kunci dalam mendukung efisiensi dan keberlanjutan teknologi MFC maupun bioproses lainnya (Al-Qodah et al., 2018).

## Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa karakteristik fisik *beads* seperti bentuk, ukuran, dan warna berkorelasi positif dengan viabilitas sel dalam matriks. Ini menjadi parameter awal yang penting sebelum dilakukan pengujian lanjutan terkait kemampuan elektrogenik pada sistem MFC. Karakteristik ideal seperti bentuk bulat, warna bening kekuningan, serta ukuran *beads* yang stabil dapat menunjang efisiensi transfer elektron dan stabilitas sistem dalam jangka panjang (Logan, 2008).

## Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian penulis.

## Referensi

- Al-Qodah, Z., Al-Shannag, M., Al-Bosoul, M., Penchev, I., Al-Ahmadi, H., & Al-Qodah, K. (2018). On the performance of immobilized cell bioreactors utilizing a magnetic field. *Reviews in Chemical Engineering*, 34(3), 385–408. <https://doi.org/10.1515/revce-2016-0059>
- Agustien, A. (2011). *Pengaruh konsentrasi natrium alginat terhadap karakteristik butiran imobilisasi sel bakteri*. Tesis. Institut Teknologi Bandung.
- Bajaj, I. B., & Singhal, R. S. (2010). Immobilization of microbial cells for

biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(2), 120–136. <https://doi.org/10.3109/07388550903302131>

- Carbajo, R. J., et al. (2019). Biocatalyst stabilization by immobilization: Multipoint covalent attachment and other strategies. *Biochemical Society Transactions*, 47(2), 537–555. <https://doi.org/10.1042/BST20180421>
- Chacón-Navarrete, M. A., et al. (2021). Yeast immobilization systems for second-generation ethanol production. *Renewable Energy*, 170, 1234–1245. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.01.101>
- Draget, K. I., Skjåk-Bræk, G., & Smidsrød, O. (2005). Alginates from algae. In *Biopolymers: Polysaccharides I* (pp. 215–244). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Fifendy, M., Junaidi, A., & Nursanti, W. (2015). Karakterisasi bakteri termofilik dari sumber air panas untuk produksi enzim termostabil. *Jurnal Biologi Tropis*, 15(2), 123–130.
- Ghaedmohammadi, S., Rigi, G., Zadward, R., Ricca, E., & Ahmadian, G. (2015). Immobilization of bioactive Protein A from *Staphylococcus aureus* on the surface of *Bacillus subtilis* spores. *Molecular Biotechnology*, 57(8), 756–766. <https://doi.org/10.1007/s12033-015-9868-z>
- Hassanzadeh, P., Hosseini, M., Zare, H., & Khodabakhshi, M. (2017). Immobilization of microbial cells for bioethanol production: A review. *Biotechnology Letters*, 39(3), 381–391.
- Irdawati, I., Apriyanti, D., & Nofiardi, A. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri termofilik dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro. *Jurnal Ilmu Biologi*, 7(2), 99–105.
- Kawaguti, H. Y., et al. (2006). Cell immobilization in calcium alginate beads for ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23(4), 519–525. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322006000400006>
- Logan, B. E. (2008). *Microbial Fuel Cells*. John Wiley & Sons.

- Lopez, M., & Garcia, M. T. (2023). Beads for cell immobilization: Comparison of alternative additive materials. *Bioengineering*, 10(2), 150.  
<https://doi.org/10.3390/bioengineering10020150>
- Lovley, D. R. (2006). Microbial fuel cells: Novel microbial physiologies and engineering approaches. *Current Opinion in Biotechnology*, 17(3), 327–332.
- Matsumoto, M., et al. (2014). Design of alginate beads with improved cell-encapsulation efficiency and mechanical strength. *Biotechnology Progress*, 30(5), 1119–1125. <https://doi.org/10.1002/btpr.1973>
- Mital, A., & Kumar, A. (2011). Microbial immobilization techniques for bioethanol production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(7), 3314–3320.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.04.021>
- Mubarokah, R. (2018a). Efektivitas Konsentrasi Alginat dalam Proses Imobilisasi Mikroorganisme. *Jurnal Teknologi Bioproses*, 9(2), 85–92.
- Mubarokah, R. (2018). Efektivitas imobilisasi mikroba menggunakan matriks polimer terhadap stabilitas produksi enzim. *Jurnal Teknologi Pangan*, 29(1), 51–59.
- Pan, L., Zhang, Y., Wang, Y., & Zhang, W. (2011). Effect of bead size and mass transfer on the performance of immobilized cell bioreactors. *Biochemical Engineering Journal*, 55(3), 130–135.
- Park, J. K., & Chang, H. N. (2000). Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnology Advances*, 18(4), 303–319.
- Ratnasari, R. (2014). Pengaruh variasi konsentrasi natrium alginat terhadap morfologi beads dan viabilitas sel ragi *Saccharomyces cerevisiae*. Skripsi. Universitas Gadjah Mada.
- Summaiati, T. (2024). Pengaruh konsentrasi alginat terhadap bentuk dan ukuran beads hasil imobilisasi bakteri. *Jurnal Bioteknologi Terapan*, 12(1), 33–40.
- Tiyaboonchai, W. (2003). Chitosan nanoparticles: A promising system for drug delivery. *Naresuan University Journal*, 11(3), 51–66.
- Wang, Y., et al. (2006). Immobilization of microbial cells for biocatalysis. *Biotechnology Advances*, 24(5), 427–441.
- Zhou, Y., & Chen, X. (2015). Immobilization of microbial cells for the biotreatment of wastewater: A review. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1493–1502.  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.07.003>