
TEKNIK PENYIMPANAN BAKTERI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* TERHADAP VIABILITAS SEL SEBAGAI ACUAN PRESERVASI ISOLAT DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

Deni Yannuarista^{1*}, Moch Shandy Sasmito¹, Eko Slamet Riyadi², Mustofa Hilmi¹

¹Jurusan Pertanian Politeknik Negeri Banyuwangi Jl Raya Jember KM 13, Banyuwangi

²Jurusan Teknik Mesin Politeknik Negeri Banyuwangi Jl Raya Jember KM 13, Banyuwangi

*Email: deniyannuarista@poliwangi.ac.id

ABSTRAK

Preservasi isolat dilakukan sebagai upaya pengumpulan dan pelestarian plasma nutfah mikroba serta memastikan ketersediaannya untuk penelitian dan aplikasi di masa depan. Tujuan dari Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas dua kondisi suhu penyimpanan (5°C dan -4°C) terhadap viabilitas *Staphylococcus aureus* selama periode 84 hari, mengembangkan model kinetika inaktivasi, dan memberikan rekomendasi praktis untuk preservasi isolat *Staphylococcus aureus* di laboratorium mikrobiologi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pertanian Politeknik Negeri Banyuwangi mulai bulan Juni - September 2025, Suhu yang digunakan yaitu 5°C dan -4°C, dan periode penyimpanan meliputi (0, 14, 28, 42, 56, 70 dan 84 hari). Analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara suhu dan periode penyimpanan yang sangat mempengaruhi viabilitas *staphylococcus aureus* ($P < 0,001$). Pada suhu 5°C terjadi penurunan jumlah koloni bakteri mulai hari ke 14 sampai hari ke 84 sebesar 0,95 log CFU/mL, sedangkan pada suhu -4°C populasi menurun sekitar 1,7 log CFU/mL. Hasil penelitian menyimpulkan Preservasi jangka pendek dapat dilakukan dengan menggunakan suhu 5°C yang dapat di sub kultur kembali pada minggu ke 4-6, preservasi jangka menengah menggunakan suhu -4°C dapat di sub kultur setelah bulan ke 6 dan preservasi jangka Panjang menggunakan suhu -4°C serta disubkultur setelah bulan ke 12.

Kata kunci : Preservasi, *Staphylococcus aureus*, suhu, periode.

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri patogen Gram-positif yang memiliki signifikansi klinis dan epidemiologi yang tinggi dalam dunia kesehatan masyarakat. Bakteri ini merupakan penyebab utama infeksi nosokomial dan komunitas, termasuk infeksi kulit dan jaringan lunak, pneumonia, endokarditis, dan sindrom syok toksik (Lowy, 1998). Dalam konteks penelitian mikrobiologi, preservasi isolat bakteri merupakan aspek fundamental yang menentukan keberhasilan studi jangka

panjang. Laboratorium mikrobiologi, baik klinis maupun penelitian, memerlukan sistem preservasi yang dapat mempertahankan viabilitas, stabilitas genetik, dan karakteristik fenotipik isolat selama periode penyimpanan yang bervariasi (Smith & Onions, 1994). Berbagai metode preservasi telah dikembangkan dan diimplementasikan dalam praktik laboratorium mikrobiologi, termasuk penyimpanan pada suhu refrigerasi, pembekuan, liofilisasi, dan preservasi dalam medium khusus (Hubalek, 2003). Setiap metode memiliki keunggulan dan

keterbatasan yang spesifik terkait dengan efektivitas preservasi, kompleksitas prosedur, biaya operasional, dan aplikabilitas untuk jenis mikroorganisme tertentu. Pemilihan metode preservasi yang optimal sangat bergantung pada karakteristik mikroorganisme target, durasi penyimpanan yang diinginkan, dan sumber daya yang tersedia (Day & Stacey, 2007).

Suhu penyimpanan merupakan faktor kritis yang menentukan keberhasilan preservasi bakteri. Penyimpanan pada suhu refrigerasi (2-8°C) umumnya digunakan untuk preservasi jangka pendek, sementara penyimpanan pada suhu beku (-20°C hingga -80°C) direkomendasikan untuk preservasi jangka panjang (Snell & Morris, 2009). Namun, kondisi intermediate seperti suhu beku parsial (-4°C) belum banyak dieksplorasi secara sistematis, padahal kondisi ini dapat memberikan keseimbangan optimal antara efektivitas preservasi dan efisiensi energi. Krioprotektan memainkan peran penting dalam meminimalkan kerusakan sel selama proses pembekuan dan penyimpanan. Gliserol merupakan krioprotektan yang paling umum digunakan dalam preservasi bakteri karena kemampuannya dalam mencegah pembentukan kristal es intraseluler, mempertahankan integritas membran sel, dan melindungi struktur protein dari denaturasi (Morris, 1981). Konsentrasi gliserol yang optimal untuk preservasi *S. aureus* telah

dilaporkan berkisar antara 10-20% (v/v), namun evaluasi sistematis terhadap efektivitasnya pada berbagai kondisi suhu masih terbatas.

Kinetika inaktivasi mikroorganisme selama penyimpanan mengikuti model matematika yang dapat diprediksi, umumnya mengikuti kinetika orde pertama dimana laju kematian sebanding dengan jumlah sel yang masih hidup (Geeraerd et al., 2005). Parameter kinetika seperti D-value (waktu reduksi satu log) dan Z-value (perubahan suhu yang diperlukan untuk mengubah D-value sebesar satu log) telah digunakan secara luas dalam mikrobiologi pangan dan dapat diadaptasi untuk aplikasi preservasi laboratorium (McMeekin et al., 1993). Mikrobiologi prediktif telah berkembang sebagai disiplin ilmu yang memungkinkan prediksi perilaku mikroorganisme berdasarkan kondisi lingkungan. Model prediktif tidak hanya berguna untuk aplikasi keamanan pangan, tetapi juga dapat diaplikasikan untuk optimisasi kondisi preservasi isolat laboratorium (Baranyi & Roberts, 1994). Pengembangan model prediktif untuk preservasi *S. aureus* dapat memberikan panduan praktis bagi laboratorium dalam menentukan jadwal subkultur, kondisi penyimpanan optimal, dan estimasi viabilitas selama periode penyimpanan tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas dua kondisi suhu penyimpanan (5°C dan -4°C)

terhadap viabilitas *S. aureus* selama periode 84 hari, mengembangkan model kinetika inaktivasi, dan memberikan rekomendasi praktis untuk preservasi isolat *S. aureus* di laboratorium mikrobiologi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi pada pengembangan protokol preservasi yang optimal dan memberikan dasar ilmiah untuk standardisasi prosedur preservasi isolat patogen.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dimulai pada bulan Juni – September 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Pertanian Politeknik Negeri Banyuwangi. Bahan yang digunakan meliputi Tryptone Soy Broth (TSB) (Oxoid, Hampshire, UK) untuk kultivasi, Tryptone Soy Agar (TSA) (Oxoid, Hampshire, UK) untuk peremajaan isolat, Plate Count Agar (PCA) (Oxoid, Hampshire, UK) untuk menunbuhan koloni, Aquadest (lokal produk) untuk melarutkan semua media serta gliserol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) dengan kemurnian 99,5% digunakan sebagai krioprotektan dengan konsentrasi final 15% (v/v). Semua media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan yang digunakan meliputi Peralatan yang digunakan meliputi inkubator (Mettler, Germany), autoklaf (Hirayama, Japan), laminar air flow cabinet (lokal, Indonesia), refrigerator pada suhu 5°C ± 1°C (Polytron, Indonesia), freezer pada suhu -4°C ± 1°C (Sharp, Jepang), colony

counter (Stuart, UK), mikroskop (Olympus, Japan), dan timbangan analitik (Ohaus, UK).

Preparasi Kultur Kerja dimulai dengan meremajakan Isolat *S. aureus* terlebih dahulu menggunakan media TSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam, kemudian dipindahkan ke media TSB segar dan diinkubasi kembali pada kondisi yang sama hingga mencapai fase logaritmik ($OD_{600} = 0,8-1,0$) yang setara dengan populasi sekitar 10^9 CFU/mL (Tortora et al., 2019). Preparasi Suspensi Penyimpanan Kultur dalam fase logaritmik divortex selama 2 menit (IKA, Germany). Kemudian ditambahkan gliserol 15% (v/v) sebagai krioprotektan. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 2×7 dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah suhu penyimpanan (5°C dan -4°C), dan faktor kedua adalah waktu penyimpanan (0, 14, 28, 42, 56, 70, dan 84 hari). Setiap unit eksperimen terdiri dari tabung falcon 15 mL yang berisi 2 mL suspensi bakteri. Suspensi bakteri dalam tabung falcon dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Kelompok pertama disimpan dalam refrigerator pada suhu 5°C ± 1°C, dan kelompok kedua disimpan dalam freezer pada suhu -4°C ± 1°C.

Pada setiap titik waktu pengamatan, sampel dikeluarkan dari kondisi penyimpanan dan didiamkan pada suhu ruang selama 15 menit untuk equilibrasi suhu. Enumerasi viabilitas sel dilakukan menggunakan metode standard plate count

dengan teknik pour plate. Sampel diencerkan secara berseri menggunakan Aquadest steril (10^{-1} hingga 10^{-8}), dan 1 mL dari setiap pengenceran diinokulasi pada media PCA (APHA, 2017). Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, kemudian koloni yang tumbuh dihitung menggunakan colony counter. Jumlah sel viable dinyatakan dalam satuan Colony Forming Unit per milliliter (CFU/mL) dan ditransformasi ke dalam skala logaritmik ($\log_{10}$ CFU/mL) untuk analisis statistik (Downes & Ito, 2001).

Data viabilitas *S. aureus* dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) dua arah untuk mengevaluasi pengaruh suhu penyimpanan, waktu penyimpanan, dan interaksinya terhadap viabilitas sel. Analisis regresi linear dilakukan menggunakan software Microsoft Excel 2019 untuk menentukan persamaan kinetika dan koefisien determinasi (R^2) (Geeraerd et al.,

2005). Untuk menghitung kinetika inaktivasi sesuai dengan persamaan:

$$\log_{10} N(t) = \log_{10} N_0 + \beta t$$

ket; $N(t)$ adalah jumlah sel pada waktu t , N_0 adalah jumlah sel awal, β adalah laju inaktivasi (slope), dan t adalah waktu penyimpanan. Parameter kinetika yang dihitung meliputi:

D-value (Decimal reduction time): $D = 1/|\beta|$, dan Waktu reduksi 8 log (T_8): $T_8 = 8 \times D$

HASIL DAN PEMBAHASAN)

Viabilitas *Staphylococcus aureus*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan memiliki pengaruh signifikan terhadap viabilitas *Staphylococcus aureus* selama periode observasi 84 hari. Data viabilitas yang diperoleh dari tiga ulangan independent disajikan pada Tabel 3.1, yang menunjukkan pola inaktivasi yang berbeda antara kedua kondisi suhu penyimpanan.

Tabel 3.1. Viabilitas *Staphylococcus aureus* pada Berbagai Suhu dan Waktu Penyimpanan

Hari ke-	Suhu 5°C ($\log_{10}$ CFU/mL)			Rata-rata $\pm$ SD	Suhu -4°C ($\log_{10}$ CFU/mL)			Rata-rata $\pm$ SD
	U1	U2	U3		U1	U2	U3	
0	9,30	9,30	9,32	$9,30 \pm 0,01$	9,30	9,30	9,32	$9,30 \pm 0,01$
14	8,30	8,26	8,49	$8,35 \pm 0,12$	8,00	9,26	9,26	$8,84 \pm 0,73$
28	6,61	6,53	6,45	$6,53 \pm 0,08$	7,48	8,45	8,48	$8,14 \pm 0,56$
42	4,36	4,3	4,48	$4,38 \pm 0,09$	7,45	7,30	8,45	$7,73 \pm 0,62$
56	3,79	3,76	3,85	$3,80 \pm 0,05$	7,67	7,70	7,72	$7,70 \pm 0,03$
70	1,18	0,00	1,18	$0,79 \pm 0,68$	7,71	7,46	7,62	$7,60 \pm 0,13$
84	0,00	0,00	1,00	$0,33 \pm 0,58$	7,83	7,56	7,45	$7,61 \pm 0,19$

Sumber: Data diolah, 2025

Data pada Tabel 3.1 menunjukkan bahwa pada hari ke-0, jumlah sel awal untuk kedua perlakuan identik ($9,30 \log$ CFU/mL), sehingga perubahan populasi selanjutnya

dapat dianggap murni sebagai akibat dari perlakuan suhu penyimpanan (Cerf, 1977). Perbedaan signifikan mulai terlihat sejak hari ke-14, dimana penyimpanan pada suhu 5°C

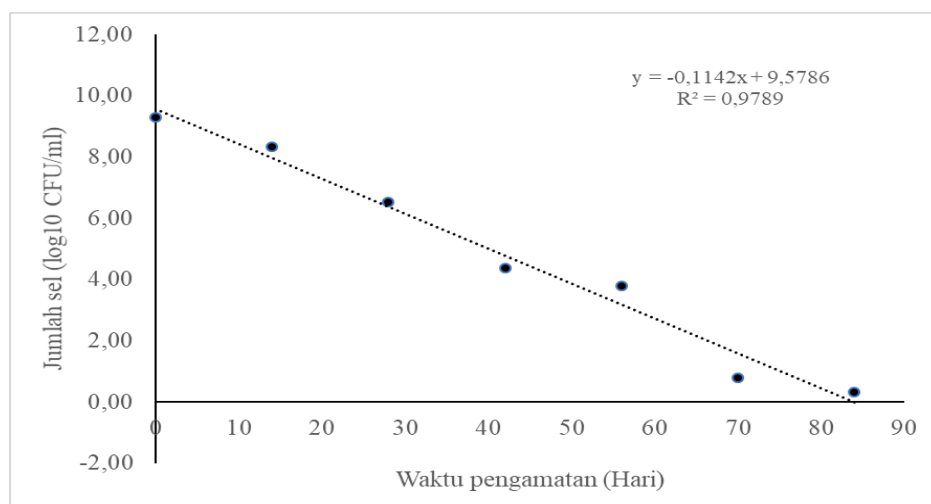
menunjukkan penurunan yang lebih drastis ($8,35 \pm 0,12 \log \text{CFU/mL}$) dibandingkan dengan suhu -4°C ($8,84 \pm 0,73 \log \text{CFU/mL}$). Viabilitas sel penyimpanan suhu 5°C pada hari ke 70 dengan jumlah bakteri pada salah satu ulangan menunjukkan angka 0, artinya bakteri sudah mati/ tidak mampu berkembang biak. Trend penurunan ini berlanjut konsisten hingga akhir periode pengamatan, dimana pada hari ke-84, hampir mencapai kondisi steril ($0,33 \pm 0,58 \log \text{CFU/mL}$) sementara pada suhu -4°C masih mempertahankan viabilitas yang tinggi ($7,61 \pm 0,19 \log \text{CFU/mL}$).

Analisis sidik ragam menunjukkan bahwa Suhu penyimpanan dan periode penyimpanan memiliki pengaruh yang sangat signifikan terhadap kelangsungan hidup *Staphylococcus aureus* ($P < 0.001$). Pada suhu 5°C viabilitas menurun dimulai pada hari ke 14, hasil ini sesuai dengan Adhikari et al. (2018), bahwa terdapat pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap viabilitas bakteri patogen (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) bawaan makanan

yang diinokulasi ke dalam keju susu sapi pasteurisasi kalengan, yaitu pada saat penyimpanan suhu 4.4°C pada waktu penyimpanan 0 – 30 hari mengalami penurunan drastis. Sedangkan pada suhu -4°C Viabilitas tetap tinggi meskipun ada penurunan yang disebabkan karena air ekstraseluler membeku sehingga konsentrasi nutrisi larut tinggi, energi yang tersedia hampir tidak digunakan sehingga sel memasuki keadaan dorman. Dormansi memperlambat semua reaksi enzimatik lebih dari seratus kali, menghindari kerusakan oksidatif dan deplesi ATP yang biasanya menjadi penyebab utama kematian sel pada $4-7^{\circ}\text{C}$.

Kinetika Inaktivasi *Staphylococcus*

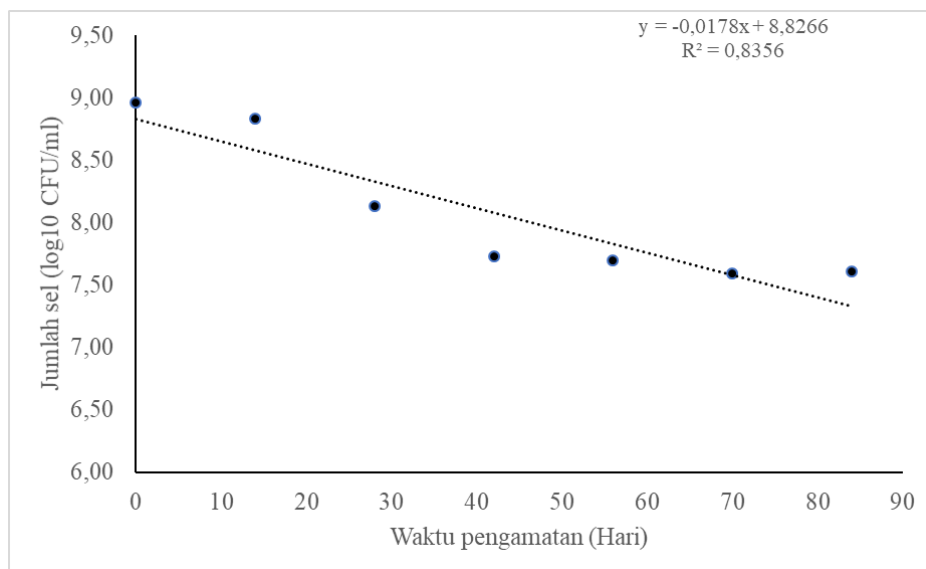
Parameter kinetika inaktivasi yang diperoleh dari analisis regresi linear disajikan pada Gambar 3.1, Gambar 3.2. Penurunan tajam pada 5°C dimulai setelah hari ke-14, yakni sebesar $0,95 \log \text{CFU/mL}$, dan berlanjut secara linier ($R^2 \approx 0,98$) hingga hari ke-56. Grafik linier regresi terdapat pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Kinetika Inaktivasi *S. aureus* pada Suhu 5°C

Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan bahwa hubungan antara waktu penyimpanan dan penurunan jumlah sel bakteri mengikuti pola inaktivasi yang konsisten dan terprediksi dengan baik. Menurut Peleg (2006), model kinetika dikatakan memiliki kecocokan yang baik apabila nilai $R^2 \geq 0,90$, karena hal ini menandakan kesalahan residu relatif kecil dan model mampu memprediksi dinamika populasi dengan akurasi tinggi. Selain itu, Mafart et al. (2002) menegaskan bahwa dalam pemodelan inaktivasi mikroba, nilai R^2

tinggi menunjukkan bahwa model matematika yang digunakan (baik linear maupun non-linear) secara efektif menggambarkan mekanisme penurunan populasi akibat kondisi lingkungan, termasuk suhu penyimpanan. Dalam konteks ini, suhu 5 °C masih berada dalam rentang suhu pertumbuhan minimal *Staphylococcus aureus* (sekitar 7–10 °C), sehingga bakteri belum benar-benar mati melainkan mengalami perlambatan aktivitas metabolik yang dapat digambarkan secara linier selama periode penyimpanan (Suo et al., 2022).



Gambar 3.2 Kinetika Inaktivasi *S. aureus* pada Suhu -4°C

Nilai kemiringan garis ($\beta = -0,0178$ log CFU/mL·hari⁻¹) menunjukkan laju inaktivasi yang rendah, artinya penurunan jumlah sel *S. aureus* berlangsung lambat selama penyimpanan beku. Penurunan populasi dari sekitar 9,0 log CFU/mL pada hari ke-0 menjadi sekitar 7,2 log CFU/mL pada hari ke-80 menunjukkan bahwa sebagian besar sel mampu bertahan dalam

kondisi sub-nol selama periode penyimpanan. Pada suhu -4 °C, aktivitas metabolik *S. aureus* menurun drastis karena pembekuan air intraseluler dan terbatasnya difusi nutrisi. Namun, kondisi ini tidak menyebabkan kematian langsung pada seluruh populasi. Hasil ini sesuai dengan penelitian Suo et al. (2022) melaporkan bahwa paparan *S. aureus* pada suhu 4 °C

menginduksi ekspresi gen stres dingin (seperti *cspA* dan *sigB*) yang membantu bakteri mempertahankan struktur protein dan fluiditas membran. Pada suhu yang lebih rendah lagi (sekitar -4°C), proses metabolik hampir berhenti, sehingga kematian sel menjadi sangat lambat.

Nilai $R^2 = 0,8356$ menunjukkan bahwa model log-linear masih cukup baik, Penurunan nilai R^2 hingga hanya 0,8356 dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya pertama variabel lingkungan yang tidak dikendalikan secara ketat, seperti fluktuasi suhu ruang $\pm 2^{\circ}\text{C}$, paparan cahaya/UV, serta perubahan kelembapan dan aerasi, dapat mempercepat atau memperlambat laju kematian populasi sehingga penyebaran data melebar di sekitar garis regresi (Jay, 2000; Raybaudi-Massilia et al., 2009). Kedua, kesalahan pengambilan sampel dan preparasi mulai dari sampling bias, pengenceran yang tidak presisi, hingga penundaan pengukuran lebih dari 15 menit sehingga menghasilkan titik pengamatan yang tidak merepresentasikan kondisi

sebenarnya (Brock, 2012). Ketiga, variabilitas biologis inheren, yaitu keberadaan sub populasi dengan toleransi berbeda, kemampuan sel memasuki fase VBNC (viable but non-culturable), ataupun akumulasi produk toksik sekunder, menyebabkan deviasi sistematis dari pola log linear yang diharapkan (Oliver, 2005; McKellar & Lu, 2004). Kombinasi ketiga faktor inilah yang secara statistik menurunkan koefisien determinasi di bawah ambang 0,90. Inaktivasi tidak sepenuhnya mengikuti pola linier sempurna. Faktor-faktor seperti heterogenitas populasi sel, perlindungan oleh matriks lemak/protein dalam medium, dan pembentukan kristal es dapat menyebabkan variasi respons antar sel sehingga data penyusutan log CFU sedikit menyimpang dari model linear ideal.

Parameter kinetika inaktivasi yang diperoleh dari analisis regresi linear disajikan pada Tabel 3.2 lengkap dengan confidence intervals untuk memberikan estimasi presisi parameter.

Tabel 3.2 Parameter Kinetika Inaktivasi dengan Confidence Intervals

Parameter	Suhu 5°C	CI 95%	Suhu -4°C	CI 95%
Laju inaktivasi (β) log CFU/mL·hari ⁻¹	-0,1071	$\pm 0,0089$	-0,0204	$\pm 0,0031$
D-value (hari)	9,33	8,56-10,21	49,02	45,78-52,64
T_8 (hari)	74,64	68,48-81,68	392,16	366,24-421,12
Koefisien determinasi (R^2)	0,9823	0,9654-0,9921	0,8967	0,8234-0,9456
Standard error of estimate	0,298	-	0,418	-

Nilai laju inaktivasi (β) menggambarkan kecepatan penurunan

populasi bakteri dalam satuan log CFU/mL per hari. Pada suhu 5°C , diperoleh $\beta =$

$-0,1071 \pm 0,0089 \log \text{ CFU/mL} \cdot \text{hari}^{-1}$, sedangkan pada suhu -4°C hanya $-0,0204 \pm 0,0031 \log \text{ CFU/mL} \cdot \text{hari}^{-1}$. Perbedaan ini menunjukkan bahwa penurunan jumlah *S. aureus* lima kali lebih lambat pada suhu -4°C dibandingkan 5°C . Hal ini disebabkan oleh perlambatan aktivitas metabolik dan reaksi enzimatik pada suhu rendah. Pada suhu 5°C (mendekati batas bawah pertumbuhan mesofilik, $\pm 7^\circ\text{C}$), sel bakteri masih memiliki sedikit aktivitas metabolik yang memungkinkan terjadinya proses inaktivasi secara bertahap (Fang et al., 2020). Sebaliknya, pada suhu -4°C , sebagian besar air di dalam sel membeku dan menyebabkan aktivitas metabolik berhenti total tanpa menyebabkan kerusakan fatal, sehingga banyak sel yang tetap viabel namun tidak aktif secara fisiologis (*viable but non-culturable*, VBNC) (Suo et al., 2022). Hal ini menjadi faktor utama penyimpanan beku, *Staphylococcus aureus* dapat bertahan lama dan bahkan kembali tumbuh setelah pencairan, sebagaimana dilaporkan oleh Wu et al. (2014) yang menemukan bahwa *S. aureus* mampu bertahan hingga 3 bulan pada penyimpanan -18°C .

Nilai D menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk menurunkan populasi sebesar satu log (90 % kematian sel). Pada suhu 5°C , $D = 9,33$ hari (CI 95 %: 8,56–10,21), sedangkan pada -4°C , D meningkat menjadi 49,02 hari (CI 95 %: 45,78–52,64). Peningkatan nilai D sebesar lebih dari lima kali lipat menunjukkan bahwa viabilitas *S.*

aureus jauh lebih tinggi pada suhu beku. Menurut Mafart et al. (2002), peningkatan nilai D pada suhu rendah berkaitan dengan melambatnya reaksi kimia dan denaturasi protein yang berperan dalam kematian sel. Pada kondisi beku, air tersedia dalam bentuk padat, sehingga difusi ion, enzim, dan oksigen terhambat.

Kondisi ini menyebabkan kerusakan sel tidak berlanjut meskipun suhu ekstrem, sehingga memperpanjang waktu yang diperlukan untuk penurunan populasi yang signifikan (Peleg, 2006). Nilai T_8 menunjukkan estimasi waktu yang dibutuhkan untuk menurunkan populasi sebanyak 8 log satuan (setara dengan reduksi 99,999999 %).

Pada suhu 5°C , T_8 tercatat sebesar 74,64 hari, sedangkan pada -4°C meningkat menjadi 392,16 hari. Nilai ini memperkuat temuan bahwa *S. aureus* dapat bertahan lebih dari satu tahun pada suhu beku sebelum mengalami penurunan populasi hingga 8 siklus log. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Yagüe et al. (2021) yang melaporkan bahwa *S. aureus* tetap bertahan hidup pada media kering dan beku hingga 360 hari. Suhu rendah menyebabkan sel mempertahankan integritas membran dan fungsi protein pelindung dingin seperti *CspA* dan *SigB*, yang berperan dalam menjaga stabilitas RNA dan membran sel di bawah tekanan suhu rendah (Fang et al., 2020; Suo et al., 2022).

Nilai standard error menunjukkan tingkat penyimpangan data terhadap model. Pada suhu 5 °C, standard error = 0,298, sedangkan pada -4 °C meningkat menjadi 0,418, menandakan bahwa data pada suhu rendah memiliki variabilitas lebih tinggi. Hal ini disebabkan oleh proses inaktivasi yang tidak seragam, karena beberapa sel dapat bertahan lebih baik dari yang lain akibat posisi atau kondisi mikro-lingkungan selama pembekuan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menyimpulkan Preservasi jangka pendek dapat dilakukan dengan menggunakan suhu 5°C yang dapat di sub kultur kembali pada minggu ke 4-6, preservasi jangka menengah menggunakan suhu -4°C dapat di sub kultur setelah bulan ke 6 dan preservasi jangka Panjang menggunakan suhu -4°C serta disubkultur setelah bulan ke 12.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada LPPM dan Politeknik Negeri Banyuwangi atas pendanaan penelitaian tahun anggaran 2025.

DAFTAR PUSTAKA

Baranyi, J., & Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3-4), 277-294.

Brock, T. D. (2012). *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Benjamin-Cummings.

Cerf, O. (1977). Tailing of survival curves of bacterial spores. *Journal of Applied Bacteriology*, 42(1), 1-19.

Day, J. G., & Stacey, G. N. (2007). *Cryopreservation and freeze-drying protocols* (2nd ed.). Totowa, NJ: Humana Press.
<https://doi.org/10.1007/978-1-59745-362-2>

Downes, F. P., & Ito, K. (Eds.). (2001). Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). *American Public Health Association*.

Geeraerd, A. H., Herremans, C. H., & Van Impe, J. F. (2005). Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 253-263.

Fang, F., et al. (2020). Cold stress response of *Staphylococcus aureus*: physiological and molecular mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 11, 572.

Geeraerd, A. H., Herremans, C. H., & Van Impe, J. F. (2005). Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology*, 106(3), 253-263.

Hubálek, Z. (2003). Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*, 46(3), 205–229.

- [https://doi.org/10.1016/S0011-2240\(03\)00046-4](https://doi.org/10.1016/S0011-2240(03)00046-4)
- Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology*. 6th ed. Aspen Publishers.
- Lowy, F. D. (1998). Staphylococcus aureus infections. *The New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
- Mafart, P., Couvert, O., Gaillard, S., & Leguerinel, I. (2002). On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. *International Journal of Food Microbiology*, 72(1–2), 107–113.
- McMeekin, T. A., Olley, J. N., Ross, T., & Ratkowsky, D. A. (1993). *Predictive microbiology: Theory and application*. Research Studies Press
- McKellar, R. C., & Lu, X. (2004). “Modeling Microbial Survival in Environments with Multiple Dynamic Stresses.” *International Journal of Food Microbiology*, 95(3), 235–243.
- Oliver, J. D. (2005). “The Viable but Nonculturable State in Bacteria.” *Journal of Microbiology*, 43(Spec. Issue), 93–100
- Peleg, M. (2006). *Advanced Quantitative Microbiology for Foods and Biosystems*. CRC Press.
- Raybaudi-Massilia, R., Mosqueda-Melgar, J., & Martín-Belloso, O. (2009). “Control of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Fresh-cut Fruits and Fruit Juices by Traditional and Alternative Natural Antimicrobials.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8(3), 157–180.
- Smith, D., & Onions, A. H. S. (1994). *The preservation and maintenance of living fungi* (2nd ed.). Wallingford, UK: CAB International.
- Snell, J. J., & Morris, D. J. (2009). Guidelines for the long-term preservation of bacterial cultures. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(8), 2425–2431.
- Suo, B., et al. (2022). *Comparative Transcriptomic Analysis of Staphylococcus aureus in Response to Low Temperatures (4 °C)*. *Foods*, 11(7), 996. <https://doi.org/10.3390/foods11070996>.
- Wu, X., et al. (2014). Effects of frozen storage on survival of Staphylococcus aureus and enterotoxin production in precooked tuna meat. *Journal of Food Protection*, 77(8), 1345–1350.
- Yagüe, D. P., et al. (2021). *Survival of Staphylococcus aureus on sampling swabs stored at different temperatures*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 712345.