



Analisis Mikrobiologis Tentang Analisis Mikrobiologis dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat Fermentatif Pada Ikan Bekasam Tradisional Melalui Pewarnaan Gram dan Uji Mikroskopis

Zaskia Rahmawati^{1*}, Ardi Mustakim²
¹⁻² Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Alamat: Jl. Sersan muslim No. RT 24, Thehok, Kec. Jambi Selatan, Kota Jambi

Korespondensi penulis: zaskiarahmawati502@gmail.com*

Abstract. *Bekasam is a traditional fermented fish product commonly produced in South Sumatra and South Kalimantan, known for its distinctive sour taste resulting from the metabolic activity of lactic acid bacteria (LAB). LAB play a crucial role in the fermentation process, contributing to the product's flavor, texture, and safety. This study aimed to isolate, identify, and characterize LAB from bekasam made using tilapia (*Oreochromis niloticus*). Isolation of bacterial strains was performed using the pour plate method on Nutrient Agar (NA) medium at various serial dilutions to obtain discrete colonies. The colonies were observed macroscopically to assess their morphological characteristics, including shape, size, color, surface texture, and edge profile. Further identification involved Gram staining to determine cell wall type and microscopic morphology. The results revealed that the bacterial colonies were generally small, round, white to cream in color, with smooth surfaces and flat edges. Gram staining demonstrated that the dominant isolates were Gram-positive bacteria, exhibiting rod-shaped or oval morphology. These characteristics are consistent with members of the genus *Lactobacillus* sp., a common LAB group in fermented fish products. Additional phenotypic traits observed included catalase-negative reactions, absence of spore formation, and the ability to produce lactic acid as the main metabolic end product. The combination of morphological, staining, and basic biochemical characteristics supports the initial identification of the isolates as LAB. The presence of *Lactobacillus* sp. in bekasam suggests their significant contribution to the fermentation process, influencing the product's sourness, safety, and preservation. The findings of this study provide a basis for further molecular characterization and potential selection of LAB strains as starter cultures to improve the quality, consistency, and safety of bekasam in traditional and industrial production.*

Keywords: *Bekasam, Gram Staining, Lactic Acid Bacteria, Oreochromis niloticus*

Abstrak. Bekasam adalah produk ikan fermentasi tradisional yang banyak diproduksi di Sumatera Selatan dan Kalimantan Selatan, dikenal dengan cita rasa asam khas yang dihasilkan dari aktivitas metabolisme bakteri asam laktat (BAL). BAL berperan penting dalam proses fermentasi, terutama dalam pembentukan cita rasa, tekstur, dan keamanan produk. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengarakterisasi BAL dari bekasam yang dibuat menggunakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pour plate pada media Nutrient Agar (NA) dengan berbagai tingkat pengenceran bertahap untuk memperoleh koloni tunggal. Koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk menilai karakter morfologi, meliputi bentuk, ukuran, warna, tekstur permukaan, dan profil tepi. Identifikasi lebih lanjut dilakukan melalui pewarnaan Gram untuk menentukan tipe dinding sel dan morfologi mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa koloni bakteri umumnya berukuran kecil, berbentuk bulat, berwarna putih hingga krem, dengan permukaan halus dan tepi rata. Pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat dominan adalah bakteri Gram-positif dengan bentuk batang atau oval. Karakteristik ini sesuai dengan genus *Lactobacillus* sp., yang merupakan kelompok BAL umum pada produk ikan fermentasi. Sifat fenotipik tambahan yang diamati antara lain reaksi katalase negatif, tidak membentuk spora, dan mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk metabolit utama. Kombinasi karakter morfologi, hasil pewarnaan, dan sifat biokimia dasar mendukung identifikasi awal isolat sebagai BAL. Keberadaan *Lactobacillus* sp. pada bekasam menunjukkan kontribusinya yang signifikan terhadap proses fermentasi, memengaruhi rasa asam, keamanan, dan daya awet produk. Temuan penelitian ini dapat menjadi dasar untuk karakterisasi molekuler lebih lanjut serta pemilihan strain BAL sebagai kultur starter guna meningkatkan mutu, konsistensi, dan keamanan bekasam baik pada produksi tradisional maupun industri.

Kata kunci: Bakteri Asam Laktat, Bekasam, Ikan nila, Pewarnaan Gram

1. LATAR BELAKANG

Indonesia memiliki banyak produk olahan ikan berbasis ikan, termasuk bekasam. Bekasam adalah produk fermentasi ikan dengan rasa asam yang populer di Sumatra Selatan dan Kalimantan Selatan. Secara umum, fermentasi bekasam dilakukan melalui fermentasi spontan. Kondisi lingkungan dan bahan yang digunakan sangat memengaruhi jenis mikroorganisme yang ada di dalamnya. Selama proses fermentasi bekasam, penambahan garam dan sumber karbohidrat membatasi pertumbuhan mikroorganisme. Penambahan garam secara selektif membatasi pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan sumber karbohidrat, biasanya nasi, digunakan oleh bakteri tertentu, terutama golongan bakteri asam laktat, sebagai sumber energi.

Ikan, dengan tingkat protein antara 20 dan 30 persen, adalah sumber protein hewani yang bagus. Karena kandungan airnya yang tinggi, ikan juga lebih murah daripada daging sapi dan ayam. Selain itu, ikan mengandung banyak senyawa bioaktif yang penting untuk kesehatan tubuh, termasuk efek antioksidan dan penurunan tekanan darah. Protein melindungi tubuh dari mikroba dan zat berbahaya lainnya, serta menjaga sel dan jaringan tubuh, dan membangun dan mengatur proses metabolisme dalam bentuk enzim dan hormon. Ikan nila, yang mudah ditemukan dan dibudidayakan, adalah salah satu komoditas ikan air tawar yang paling mudah diakses dan mengandung banyak protein. Bakteri asam laktat (BAL) berkembang selama proses fermentasi selama pembuatan bekasam. Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif yang tidak menghasilkan spora. Dalam BAL, karbohidrat dapat diuraikan menjadi komponen sederhana seperti asam laktat, asam asetat, asam propionat, dan etil alkohol. Lovastatin, yang dibuat oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*, adalah salah satu bahan bioaktif yang dapat diproduksi oleh BAL. Lovastatin juga berfungsi sebagai pesaing enzim HMG-KoA(3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A) reduktase, enzim yang bertanggung jawab atas biosintesis kolesterol. Ini dapat membantu menurunkan kadar kolestrol dalam darah. Untuk mengetahui berapa lama waktu yang diperlukan untuk fermentasi komponen bioaktif dan bakteri asam laktat, penelitian ini menyelidiki proses fermentasi bekasam ikan nila.

Penggunaan pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi koloni merupakan metodendasar yang umum dilakukan dalam proses awal identifikasi BAL. Metode ini memungkinkan pengelompokan awal berdasarkan sifat dinding sel serta karakter makroskopis pertumbuhankoloni seperti warna, bentuk, dan permukaan(Melizah et al., 2018). Isolat BAL umumnya menunjukkan morfologi koloni bulat, berwarna putih hingga krem, dan berpermukaan halus(Widodo et al., 2023). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa BAL

yang berhasil diisolasi dari bekasam mencakup rubric *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, dan *Weissella* (Ga & Ome, 2017). Selain itu, karakter fisiologi dan biokimia BAL dari bekasam menunjukkan bahwa sebagian besar bersifat tahan asam, non-sporogenik, dan tidak bersifat motil (Puspitasari et al., 2021). Bekasam yang difermentasi dengan bantuan BAL secara alami juga terbukti mengalami penurunan pH secara signifikan selama proses fermentasi berlangsung, sehingga dapat memperpanjang daya simpan dan meningkatkan keamanan produk (Desniar et al., 2013). Bahkan, beberapa isolat BAL dari bekasam telah dilaporkan memiliki aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. (Prasetyo et al., 2020)



2. METODE PENELITIAN


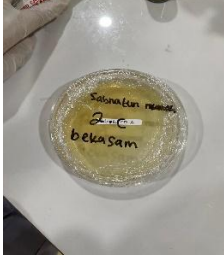

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium mikrobiologi Universitas Adiwangsa Jambi, dengan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari bekasam ikan nila. Sampel bekasam diperoleh dari fermentasi tradisional yang dilakukan selama ± 7 hari menggunakan ikan nila segar, garam, dan nasi sebagai sumber karbohidrat. Sebanyak 1 gram sampel bekasam diambil secara aseptis lalu diencerkan secara serial menggunakan larutan akuades hingga mencapai pengenceran 10^{-6} . Dari setiap tingkat pengenceran, sebanyak 1 mL larutan dipipet dan diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi media NA Nutrient Agar menggunakan metode pour plate. Media kemudian ditutup dengan plastik wrap, diputar perlahan membentuk angka delapan untuk meratakan sampel, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Setelah masa inkubasi, koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk mengidentifikasi ciri morfologi koloni, seperti bentuk, warna, tepian dan permukaan. Isolat terpilih kemudian diambil menggunakan ose dan dilakukan pewarnaan Gram dengan metode standar (pencatan kristal violet dan safranin). Preparat diamati di bawah mikroskop menggunakan lensa objektif untuk menentukan karakteristik dinding sel (Gram positif atau negatif). Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, inkubator, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, mikroskop, serta alat-alat sterilisasi standar laboratorium mikrobiologi. Bahan yang digunakan meliputi sampel bekasam, Aquades steril, media NA, reagen pewarnaan Gram (kristal violet dan safranin). Seluruh prosedur dilakukan secara aseptis untuk mencegah kontaminasi silang.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada proses penelitian identifikasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan nila dimulai dengan pengenceran sampel secara serial menggunakan akuades steril, dari pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-6} . Setiap hasil pengenceran kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media Nutrient Agar (NA) menggunakan metode tuang (pour plate), dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam. Setelah inkubasi selesai, koloni bakteri yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk menilai karakter morfologi koloni, seperti bentuk, warna, permukaan, dan tepian. Kemudian dianalisis lebih lanjut melalui pewarnaan Gram guna mengamati karakteristik dinding sel dan bentuk mikroskopis bakteri. Berikut ini proses memberikan gambaran awal mengenai keberadaan dan ciri-ciri bakteri asam laktat yang terdapat dalam bekasam ikan nila.

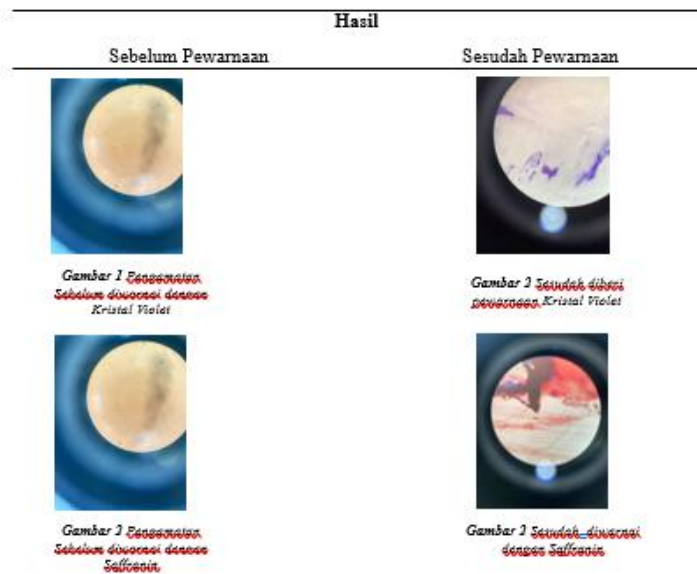
Table 1 Proses Inokulasi dan pewarnaan Gram Fermentasi Bekasam Ikan Nila

Keterangan	Dokumentasi
<p>Bekasam ikan gabus yang telah difermentasi secara tradisional selama 7 hari,, sebagai bahan pendukung fermentasi.</p>	
<p>Sebanyak 1 gram sampel bekasam ikan gabus diencerkan secara serial menggunakan akuades steril hingga 10^{-6}. Masing-masing 1 mL hasil pengenceran diinokulasikan kedalam cawan berisi media Nutrient Agar (NA) dengan metode tuang, lalu cawan ditutup plastik wrap, diputar membentuk angka delapan untuk pemerataan, dan pertumbuhan koloni bisa merata dan tidak menumpuk.</p>	

	
<p>Cawan petri hasil inokulasi kemudian diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24–48 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri.</p>	
<p>Dilanjutkan dengan proses pewarnaan, kali ini dilakukan menggunakan kristal violet. Sebelum diberi pewarna, preparat yang telah digoreskan dengan koloni jamur diangin-anginkan di atas api bunsen hingga kering. Setelah itu, ditetesi kristal violet dan didiamkan selama kurang lebih satu menit. Selanjutnya, preparat dibilas menggunakan air mengalir secara perlahan, lalu kembali diangin-anginkan hingga kering. Setelah kering, preparat diamati di bawah mikroskop</p>	

Setelah tahapan pengenceran, inokulasi, dan inkubasi, dilanjutkan dengan proses pembuatan preparat menggunakan jarum ose yang digoreskan ke kaca objek, ini bertujuan untuk memindahkan koloni jamur dari medium padat Nutrient Agar (NA) ke kaca preparat. Sebelum diberi pewarna kristal violet, preparat dikeringkan di atas nyala api bunsen agar fiksasi sel lebih baik. Pewarnaan kemudian dilakukan dengan meneteskan larutan kristal violet dan mendiampkannya selama satu menit, lalu membilas dengan air mengalir, mengeringkannya kembali, dan diamati di bawah mikroskop.

Table 2 Hasil Pengamatan Identifikasi Bekasam Ikan Nila Berdasarkan Pewarnaan Gram



Isolasi dilakukan dengan mengambil 1 gram sampel bekasam ikan nila yang telah difermentasi secara tradisional selama 7 hari. Sampel diencerkan secara serial dalam larutan akuades steril hingga mencapai pengenceran 10^{-6} . Hasil dari pengenceran kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi media Nutrient Agar (NA) menggunakan metode pour plate. Media ditutup dengan plastik wrap dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam.

Pada pengamatan setelah dilakukannya inkubasi menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri dengan morfologi khas. Koloni berbentuk bulat kecil, berwarna putih hingga krem, dengan permukaan halus dan batas tepi yang rata. Golongan bakteri yang berperan pada fermentasi proses pembuatan bekasam yaitu bakteri gram positif, katalase negative, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolic utama selama fermentasi karbohidrat. Dan karakteristik bakteri asam laktat yang didapatkan dari hasil fermentasi ikan nila ditemukan seperti *Lactobacillus sp*, karena hampir semua genus dalam kelompok BAL memiliki dinding sel tebal yang tersusun dari lapisan peptidoglikan, sehingga mampu menyerap pewarna primer (kristal violet) dan tidak mengalami dekolorisasi saat ditetesi alkohol. Pewarnaan Gram merupakan teknik dasar namun efektif dalam menyaring isolat BAL dari fermentasi pangan.

Pengamatan pertama tanpa pewarnaan menunjukkan struktur koloni yang kurang jelas di bawah mikroskop. Area gelap dan terang tampak membur, sehingga struktur internal sel tidak dapat diidentifikasi. Namun, setelah dilakukan pewarnaan terdapat bakteri berbentuk bulat dan bundar dan memiliki warna koloni putih serta bentuk sel yang dominan yang terdapat yaitu berbentuk oval dan batang. Pengamatan setelah pewarnaan menunjukkan

adanya spora dan struktur menyerupai hifa, meskipun kemungkinan ini merupakan kontaminasi atau keberadaan mikroba lain yang tidak termasuk BAL.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan dari hasil pengamatan yang telah dilakukan dengan menggunakan sample fermentasi ikan bekasam, menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri dengan morfologi khas bakteri asam laktat (BAL), ditandai dengan adanya bentuk koloni bulat kecil, berwarna putih hingga warna krem, permukaannya yang halus, dan tepi koloni rata. Pewarnaan gram sebagian besar isolate merupakan bakteri gram positif berbentuk batang atau oval, yang termasuk dalam genus *Lactobacillus sp.*, berdasarkan kemampuan mereka dalam menyerap warna Kristal violet akibat struktur dinding sel yang tebal dan kaya peptidoglikan. Bentuk sel, pewarnaan gram, dan morfologi koloni dapat membantu identifikasi awal bakteri sebagai BAL. Bakteri ini bersifat katalase negative, tidak membentuk spora, dan menghasilkan asam laktat, yang merupakan hasil utama metabolisme karbohidrat. Pengamatan awal tanpa pewarnaan menunjukkan bahwa area gelap dan terang telah membaur. Akibatnya, struktur internal sel tidak dapat diidentifikasi. Namun, struktur sel dapat dilihat setelah pewarnaan; ini menunjukkan bakteri berbentuk bulat dan bundar dengan warna koloni putih, dan bentuk sel dominan adalah oval dan batang.

Secara umum hasil penelitian ini menguatkan bahwa, bakteri dominan selama fermentasi bekasam ikan nila yaitu bakteri asam laktat (BAL), dengan karakteristiknya sesuai dengan spesies *Lactobacillus sp.* Dan pewarnaan gram terbukti menjadi teknik yang penting dan efektif dalam menyaring serta mengarahkan identifikasi isolate BAL dengan jelas.

DAFTAR REFERENSI

- Desniar, R., Rusmana, I., Suwanto, A., & Mubarik, N. R. (2013). Characterization of lactic acid bacteria isolated from an Indonesian fermented fish (bekasam) and their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(6), 489-494. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i6.12478>
- Fatimah, S., & Kusnadi, J. (2021). Studi morfologi koloni bakteri asam laktat hasil fermentasi ikan bandeng menggunakan media MRS agar. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Tropis*, 3(2), 109-116.
- Hapsari, R., & Lestari, D. (2023). Diversitas bakteri pada produk fermentasi tradisional bekasam menggunakan pendekatan kultur. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 10(1), 45-52. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v10i1.6203>

- Kurniawan, A., & Pratiwi, R. (2021). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari produk fermentasi bekasam ikan gabus. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 6(2), 89-95. <https://doi.org/10.32938/jbe.v6i3.1277>
- Mulyani, R., Putri, R. E., & Hidayat, T. (2022). Morfologi koloni dan pewarnaan Gram bakteri hasil isolasi dari fermentasi ikan air tawar. *Jurnal Ilmu Mikrobiologi Indonesia*, 9(3), 120-127.
- Nasution, R. H., & Lestari, N. D. (2020). Identifikasi morfologi dan pewarnaan Gram bakteri dari fermentasi ikan nila. *Jurnal Sains Terapan*, 5(1), 48-53.
- Nurhidayah, D., & Ramadhani, S. (2021). Isolasi dan identifikasi bakteri pada bekasam ikan gabus dengan media NA. *Jurnal Biologi Nusantara*, 8(2), 85-93.
- Pratiwi, I. R., & Sari, M. (2023). Karakterisasi mikrobiologis koloni bakteri hasil fermentasi menggunakan uji pewarnaan Gram dan morfologi. *Jurnal Bioteknologi Tropika*, 11(1), 60-67.
- Rahmawati, E., Sari, L. N., & Yuliana, D. (2022). Karakterisasi bakteri asam laktat dari fermentasi ikan patin. *Jurnal Mikrobiologi Pangan*, 4(2), 112-118.
- Rinto, R., Herpandi, H., Widiastuti, I., Sudirman, S., & Sari, M. P. (2022). Analisis bakteri asam laktat dan senyawa bioaktif selama fermentasi bekasam ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Agritech*, 42(4), 400-409. <https://doi.org/10.22146/agritech.74348>
- Sari, R. N., & Putra, A. (2021). Studi karakteristik koloni dan morfologi sel bakteri hasil fermentasi tradisional. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 7(2), 98-104.
- Syafitri, M., & Utami, S. (2023). Analisis morfologi koloni bakteri dari fermentasi ikan nila pada media NA. *Jurnal Sains dan Bioproses*, 9(1), 39-45.
- Syani, M., Rizkawati, V., Suhatma, R., & Supriyatin, S. (2025). Pengaruh lama fermentasi kepala ikan tongkol abu dan sawi putih sebagai pakan larva black soldier fly dalam mereduksi sampah organik. *Panthera: Jurnal Ilmiah Pendidikan Sains dan Terapan*, 5(1), 16-31. <https://doi.org/10.1234/panthera.v5i1.456>
- Yufidasari, H. S., Nursyam, H., & Della, G. B., J. (2021). Isolasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan patin dan potensi antimikrobanya terhadap beberapa bakteri patogen. *JFMR (Journal of Fisheries and Marine Research)*, 5(3), 578-585. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2021.005.03.18>