

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Ikan Gabus (*Channa striata*) Berdasarkan Pewarnaan Gram dan Morfologi Koloni

Salsabila Rahman^{1*}, Ardi Mustakim²

¹⁻² Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Jl. Sersan Muslim No. RT. 24, Thehok, Kec. Jambi Selatan, Kota Jambi

Korespondensi penulis: salsabilarahman800@gmail.com

Abstract. *Bekasam is a traditional Indonesian fermented food produced through spontaneous fermentation involving microorganisms, particularly lactic acid bacteria (LAB). LAB plays a crucial role in the fermentation process by producing lactic acid, which lowers pH, inhibits pathogenic microbial growth, and enhances flavor and food safety. This study aimed to identify and characterize LAB isolated from fermented snakehead fish (Channa striata) based on Gram staining and colony morphology. The research began with bacterial isolation using NA Nutrient Agar, followed by macroscopic observation of colony characteristics including shape, edge, elevation, color, and size. Subsequently, Gram staining was performed to determine the cell wall structure and microscopic morphology of the bacteria. The results showed that the bacterial isolates from bekasam generally had circular colonies, white to cream in color, smooth surface, and were Gram-positive rod-shaped cells. In conclusion, bekasam from snakehead fish contains dominant lactic acid bacteria with distinctive colony morphology and Gram-positive characteristics, indicating potential as a natural starter culture for food fermentation.*

Keywords: *Bekasam, Snakehead Fish, Lactic Acid Bacteria, Gram Staining.*

Abstrak. Bekasam merupakan salah satu makanan fermentasi tradisional khas Indonesia yang dihasilkan melalui proses fermentasi spontan dengan bantuan mikroorganisme, salah satunya bakteri asam laktat (BAL). BAL berperan penting dalam proses fermentasi karena dapat menghasilkan asam laktat yang berfungsi menurunkan pH, menghambat pertumbuhan mikroba patogen, serta meningkatkan cita rasa dan keamanan pangan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan gabus (*Channa striata*) berdasarkan pewarnaan Gram dan morfologi koloni. Metode penelitian ini dimulai dengan isolasi bakteri menggunakan media NA Nutrient Agar, dilanjutkan dengan pengamatan karakter makroskopis koloni seperti bentuk, tepian, elevasi, warna, dan ukuran. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui karakter dinding sel dan bentuk mikroskopis bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri dari bekasam ikan gabus umumnya memiliki morfologi koloni bulat, berwarna putih hingga krem, berpermukaan halus, dan memiliki karakter Gram positif berbentuk batang. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa bekasam ikan gabus mengandung bakteri asam laktat dominan dengan ciri khas morfologi koloni dan sifat Gram positif, yang berpotensi digunakan sebagai kandidat kultur starter alami dalam fermentasi pangan.

Kata Kunci: Bekasam, Ikan Gabus, Bakteri Asam Laktat, Pewarnaan Gram.

1. LATAR BELAKANG

Bekasam merupakan salah satu produk fermentasi tradisional Indonesia yang dihasilkan melalui proses fermentasi spontan terhadap ikan menggunakan garam dan karbohidrat tambahan. Salah satu jenis ikan yang banyak digunakan adalah ikan gabus (*Channa striata*) karena nilai gizinya yang tinggi dan ketersediaannya yang melimpah di perairan air tawar (Candra et al., 2010). Fermentasi bekasam melibatkan aktivitas mikroorganisme, terutama bakteri asam laktat (BAL), yang berperan penting dalam menghasilkan asam laktat, menurunkan pH, dan menciptakan lingkungan yang tidak mendukung pertumbuhan mikroorganisme patogen (Desniar et al., 2013). BAL merupakan kelompok bakteri Gram

positif yang bersifat anaerob fakultatif dan menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari metabolisme karbohidrat (Mumtiah et al., 2014). Dalam produk fermentasi ikan, BAL berfungsi sebagai biokonservatif alami karena mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk (Novianti, 2016). Oleh karena itu, identifikasi BAL dari produk fermentasi seperti bekasam sangat penting dalam menentukan potensi aplikasinya sebagai kultur starter.

Penggunaan pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi koloni merupakan metode dasar yang umum dilakukan dalam proses awal identifikasi BAL. Metode ini memungkinkan pengelompokan awal berdasarkan sifat dinding sel serta karakter makroskopis pertumbuhan koloni 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 genus *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).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat yang diisolasi dari bekasam ikan gabus (*Channa striata*) berdasarkan morfologi koloni dan sifat pewarnaan Gram. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai keberagaman BAL dalam bekasam dan potensinya sebagai kandidat kultur starter alami dalam pengembangan produk fermentasi pangan.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium mikrobiologi Universitas Adiwangsa Jambi, dengan tujuan mengisolasi, mengidentifikasi, dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat (BAL) dari bekasam ikan gabus (*Channa striata*). Sampel bekasam diperoleh dari fermentasi tradisional yang dilakukan selama ± 7 hari menggunakan ikan gabus 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.

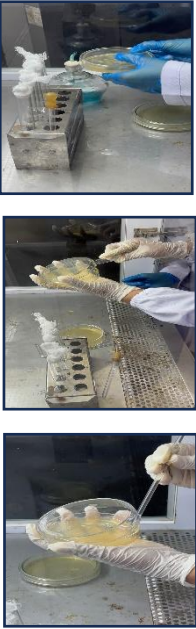
Setelah masa inkubasi, koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk mengidentifikasi ciri morfologi koloni, seperti bentuk, warna, tepian dan permukaan. Isolat terpilih kemudian diambil menggunakan ose dan dilakukan pewarnaan Gram dengan metode standard (pengecatan kristal violet dan safranin). 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

Proses identifikasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan gabus 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 masa inkubasi selesai, koloni bakteri yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk menilai karakter morfologi koloni, seperti bentuk, warna, permukaan, dan tepian. Koloni yang terpilih kemudian dianalisis lebih lanjut melalui pewarnaan Gram guna mengamati karakteristik dinding sel dan bentuk mikroskopis bakteri. Rangkaian proses ini memberikan gambaran awal mengenai keberadaan dan ciri-ciri bakteri asam laktat yang terdapat dalam bekasam ikan gabus, sebagaimana akan dijelaskan dalam hasil berikut.

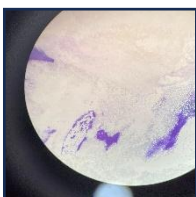
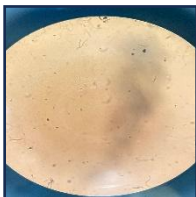
Table 1 Bekasam Ikan Gabus

Keterangan	Dokumentasi
Bekasam ikan gabus (<i>Channa striata</i>) yang telah difermentasi secara tradisional selama 7 hari, menggunakan garam dan nasi sebagai bahan pendukung fermentasi.	

Sebanyak 1 gram sampel bekasam ikan gabus diencerkan secara serial menggunakan akuades steril hingga 10^{-6}. Masing-masing 1 mL hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam 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.	
Cawan petri hasil inokulasi kemudian diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24–48 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri.	

Dalam penelitian ini, proses pengenceran, inokulasi, dan inkubasi merupakan tahapan penting yang saling berkaitan untuk memperoleh hasil isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat secara optimal. Pengenceran bertujuan untuk menurunkan jumlah bakteri dalam sampel bekasam agar koloni dapat tumbuh terpisah dan mudah diamati secara morfologis. Inokulasi dilakukan dengan cara memindahkan sampel hasil pengenceran ke dalam media Nutrient Agar (NA) secara aseptik, sehingga pertumbuhan bakteri tidak terganggu oleh kontaminan dari lingkungan. Setelah itu, proses inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24–48 jam untuk memberikan kondisi ideal bagi pertumbuhan bakteri. Ketiga tahapan ini memungkinkan peneliti memperoleh koloni murni yang siap diamati lebih lanjut melalui karakterisasi morfologi koloni dan pewarnaan Gram. Setelah proses inkubasi selesai dan koloni bakteri tumbuh pada media NA, dilakukan proses pengamatan morfologi koloni secara makroskopis untuk menilai bentuk, warna, permukaan, dan tepian koloni. Selanjutnya, koloni terpilih diambil untuk dilakukan pewarnaan Gram menggunakan pewarna kristal violet sebagai pewarna utama dan safranin sebagai pewarna kontras, guna mengetahui sifat dinding sel dan bentuk mikroskopis bakteri yang diamati di bawah mikroskop.

Table 2 Pewarnaan Gram

Bakteri	Hasil	
	Pengamatan	Pewarnaan Gram
<i>Bakteri Asam Laktat</i>		
		

*Gambar 3. Pengamatan sebelum pewarnaan gram**Gambar 1. Pewarnaan Kristal Violet**Gambar 2. Pewarnaan Safranin*

Setelah dilakukan proses inkubasi, koloni bakteri yang tumbuh pada media Nutrient Agar (NA) diamati secara makroskopis. Koloni tampak berwarna putih keruh dengan tepi tidak beraturan dan permukaan sedikit bertekstur, yang merupakan karakteristik umum dari bakteri asam laktat (BAL). Koloni-koloni tersebut kemudian dipilih dan dilakukan pewarnaan Gram untuk identifikasi morfologi mikroskopisnya. Pada pengamatan mikroskop tanpa pewarnaan (Gambar 3), terlihat struktur bakteri dengan bentuk batang pendek dan rantai kecil, namun detail dinding sel dan klasifikasinya belum tampak jelas. Ini menegaskan pentingnya pewarnaan Gram untuk mengidentifikasi jenis bakteri secara lebih spesifik.

Setelah pewarnaan Gram dilakukan, dua hasil utama terlihat. Gambar pertama menunjukkan bakteri yang berwarna merah muda setelah diwarnai dengan safranin, mengindikasikan bahwa bakteri tersebut merupakan Gram-negatif. Sedangkan gambar kedua memperlihatkan bakteri berwarna ungu setelah diwarnai dengan kristal violet, menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah Gram-positif. Hal ini menunjukkan bahwa dalam fermentasi

bekasam terdapat lebih dari satu jenis bakteri, yang umum terjadi karena fermentasi spontan melibatkan mikroflora campuran (Rani et al., 2020). Identifikasi morfologi menunjukkan adanya variasi bentuk sel, mulai dari batang (*bacillus*) hingga berbentuk rantai pendek, yang sesuai dengan karakter umum bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* dan *Pediococcus* spp. (Tamang et al., 2016). Dalam studi oleh Rahman et al. (2021), isolat dari fermentasi ikan tradisional juga menunjukkan kombinasi Gram-positif dan Gram-negatif, dengan dominasi bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*.

Lebih lanjut, studi oleh Andayani et al. (2020) mengungkapkan bahwa dalam fermentasi bekasam, BAL yang berperan biasanya berbentuk batang dan termasuk Gram-positif. Pewarnaan violet pada gambar kedua sesuai dengan hasil mereka, di mana *L. plantarum* dan *L. fermentum* mendominasi. Hal ini sejalan pula dengan temuan oleh Hwanhlem et al. (2011), yang menyatakan bahwa isolat dari makanan fermentasi ikan cenderung menunjukkan karakter Gram-positif dan berbentuk batang. Namun demikian, keberadaan koloni Gram-negatif juga dilaporkan dalam penelitian oleh Rhee et al. (2011), yang menunjukkan bahwa kondisi fermentasi terbuka memungkinkan kontaminasi dari bakteri enterik atau lingkungan. Hal ini mungkin terjadi pula dalam penelitian ini, mengingat fermentasi dilakukan secara tradisional dan tidak steril. Menurut Surono (2015), pewarnaan Gram menggunakan kristal violet dan safranin merupakan metode dasar yang sangat efektif untuk memisahkan bakteri berdasarkan komposisi dinding selnya, sehingga sangat relevan digunakan dalam identifikasi awal BAL. Sementara itu, penelitian oleh Zubaidah et al. (2019) menegaskan bahwa karakter morfologi koloni seperti warna, bentuk, dan permukaan sangat mendukung dalam mengarahkan identifikasi genus bakteri asam laktat.

Dengan demikian, hasil pengamatan menunjukkan bahwa bekasam ikan gabus mengandung kombinasi bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, dengan morfologi dominan berbentuk batang. Pewarnaan Gram memberikan informasi awal yang penting untuk identifikasi, meskipun diperlukan uji lanjutan (seperti uji biokimia atau molekuler) untuk memastikan spesies secara spesifik.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa proses isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari bekasam ikan gabus menghasilkan beberapa koloni bakteri yang memiliki morfologi koloni beragam, di antaranya berbentuk bundar, permukaan halus hingga kasar, dan tepi koloni yang rata atau tidak beraturan. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan keberadaan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Pewarnaan kristal

violet menunjukkan bakteri yang berwarna ungu (Gram positif), sedangkan pewarnaan safranin menunjukkan bakteri yang berwarna merah muda (Gram negatif). Ini mengindikasikan bahwa fermentasi bekasam secara alami memungkinkan berkembangnya berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri asam laktat yang dominan Gram positif. Dengan demikian, bekasam ikan gabus terbukti mengandung komunitas mikroba fermentatif yang berpotensi berperan dalam proses pengasaman dan pengawetan secara tradisional.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan agar dilakukan identifikasi lanjutan menggunakan uji biokimia atau analisis molekuler (seperti PCR atau 16S rRNA sequencing) agar diperoleh informasi yang lebih spesifik mengenai spesies bakteri asam laktat yang terdapat dalam bekasam. Selain itu, penting juga untuk mengevaluasi sifat probiotik dan potensi antibakteri dari isolat yang diperoleh, guna mendukung pemanfaatan BAL sebagai agen pangan fungsional atau pengawet alami dalam industri makanan fermentasi.

DAFTAR REFERENSI

- Andayani, R., Sari, R. N., & Fitriana, R. (2020). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from fermented fish (bekasam). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 31(2), 123–129.
- Candra, J. I., Zahiruddin, W., & Desniar. (2010). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from bandeng (*Chanos chanos*) bekasam. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 10(2).
- 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).
- Ga, O., & Ome, A. (2017). Pengaruh media fermentasi dan konsentrasi garam terhadap kualitas bekasam ikan gabus (*Channa striata*) [Skripsi, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo].
- Hwanhlem, N., Buradaleng, S., Wattanachant, S., Benjakul, S., & Tani, A. (2011). Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Pla-ra) with high proteolytic activity. *ScienceAsia*, 37(5), 335–342.
- Melizah, A., Husin, S., & Alkaf, S. (2018). Identification of lactic acid bacteria isolate from fermentation food bekasam. *Bioscientia Medicina: Journal of Biomedicine and Translational Research*, 2(1), 16–23.
- Mumtiah, O. N., Kusdiyantini, E., & Budiharjo, A. (2014). Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari bekasam ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Akademika Biologi*, 3(2).
- Novianti, D. (2016). Kuantitasi dan identifikasi bakteri asam laktat serta konsentrasi asam laktat dari fermentasi ikan gabus, nila, dan sepat pada pembuatan bekasam. *Sainmatika*, 10(2), 1–8.

- Prasetyo, R. H., Yuniarta, N., & Adi, D. S. (2020). Uji potensi antibakteri bakteri asam laktat dari bekasam terhadap bakteri patogen. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(4), 135–142.
- Puspitasari, D., Nurjanah, S., & Andarwulan, N. (2021). Karakterisasi fenotipik dan genetik bakteri asam laktat dari produk fermentasi ikan tradisional. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 8(2), 137–144.
- Rahman, M. A., Sultana, M., & Sarker, N. R. (2021). Identification of probiotic lactic acid bacteria from traditional fermented fish and their functional characteristics. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 8(1), 20–27.
- Rani, R. P., Anandharaj, M., & Rani, R. P. (2020). Functional properties of lactic acid bacteria isolated from fermented fish products: An overview. *Food Control*, 118, 107–115.
- Rhee, M. S., Lee, S. Y., Dougherty, R. H., & Kang, D. H. (2011). Antimicrobial effects of mustard flour and acetic acid against *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1–2), 133–138.
- Surono, I. S. (2015). Fermented foods and beverages in Southeast Asia. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Probiotics, prebiotics, and synbiotics* (pp. 301–312). Academic Press.
- Tamang, J. P., Watanabe, K., & Holzapfel, W. H. (2016). Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, 7, 377.
- Widodo, E., Santoso, D., & Rahmawati, L. (2023). Perubahan kimiawi dan mikrobiologis selama fermentasi bekasam ikan nila menggunakan starter tunggal dan campuran. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*.
- Zubaidah, E., Elya, M., & Meryandini, A. (2019). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari tempoyak sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 141–149.