



Identifikasi *Staphylococcus Aureus* pada Fermentasi Ikan Pedo Menggunakan Teknik Pewarnaan Gram

Affatur Rizqiah^{1*}, Ardi Mustakim²

¹⁻²Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Alamat: Jl. Sersan Muslim RT.24 Kelurahan Thehok, Kecamatan Jambi Selatan, Kota Jambi, Provinsi Jambi, 36138 ; Phone. +6282249110002 ; Mobile. +6282249110001

Korespondensi penulis: afifaturrizqiah18@gmail.com

Abstract. *This study aims to identify the presence of Staphylococcus aureus in fermented pedo fish (Decapterus spp.) products using the Gram staining technique. The Gram staining technique is a simple but effective method to distinguish Gram-positive and Gram-negative bacteria based on differences in their cell wall structure. Samples were taken from traditional fermented pedo fish and analyzed in a microbiology laboratory. The results showed the presence of Gram-positive coccus-shaped bacteria that clustered like grapes, in accordance with the morphological characteristics of S. aureus. This identification can be used as an initial step in evaluating the microbiological quality of fermented products.*

Keywords: *Fermentation, Fish Pedo, Gram, Microbiology, Staphylococcus Aureus.*

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Staphylococcus aureus* pada produk fermentasi ikan pedo (*Decapterus spp.*) menggunakan teknik pewarnaan Gram. Teknik pewarnaan Gram merupakan metode sederhana namun efektif untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya. Sampel diambil dari ikan pedo fermentasi tradisional dan dianalisis di laboratorium mikrobiologi. Hasil menunjukkan adanya bakteri Gram positif berbentuk kokus yang berkelompok seperti anggur, sesuai dengan karakter morfologi *S. aureus*. Identifikasi ini dapat digunakan sebagai langkah awal dalam evaluasi mutu mikrobiologi produk fermentasi.

Kata Kunci: *Staphylococcus Aureus, Fermentasi, Ikan Pedo, Gram, Mikrobiologi.*

1. LATAR BELAKANG

Fermentasi merupakan salah satu teknik pengolahan makanan yang telah lama diterapkan secara tradisional untuk meningkatkan daya simpan dan cita rasa pangan, termasuk produk berbasis ikan seperti ikan pedo (*Decapterus spp.*). Di Indonesia, fermentasi ikan dilakukan secara sederhana oleh masyarakat pesisir tanpa kontrol sanitasi yang ketat, yang dapat membuka peluang kontaminasi mikroba patogen selama proses produksi (Wulandari et al., 2023). Salah satu mikroorganisme yang sering menjadi perhatian dalam produk fermentasi adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan serius jika dikonsumsi dalam jumlah signifikan (Sari et al., 2021).

Staphylococcus aureus dikenal sebagai salah satu penyebab utama keracunan makanan karena kemampuannya memproduksi enterotoksin yang tahan terhadap panas dan proses fermentasi (Pratama & Lestari, 2024). Bakteri ini umumnya ditemukan pada kulit manusia, lingkungan, serta pada produk pangan yang tidak ditangani secara higienis. Fermentasi ikan tradisional yang dilakukan tanpa kontrol suhu, kelembaban, dan sanitasi

yang baik dapat menjadi medium ideal untuk pertumbuhan bakteri patogen, termasuk *S. aureus* (Putri et al., 2021). Oleh karena itu, identifikasi mikroorganisme dalam produk fermentasi menjadi hal yang penting untuk menjamin keamanan pangan. Salah satu metode sederhana namun efektif untuk melakukan identifikasi awal bakteri adalah teknik pewarnaan Gram. Teknik ini membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya, yaitu menjadi Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan tebal yang mempertahankan pewarna kristal violet, sedangkan Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan tipis dan membran luar yang menyebabkan hilangnya warna utama setelah diberi alkohol, sehingga menyerap pewarna safranin (Rini & Rochmah, 2020; Rahman & Syahputra, 2022). Pewarnaan Gram juga memberikan gambaran bentuk morfologi sel bakteri seperti kokus, basil, atau bentuk lainnya, yang sangat membantu dalam diagnosis awal (Yuniarty & Misbach, 2016).

Dalam konteks fermentasi ikan, beberapa studi telah melaporkan adanya dominasi bakteri Gram positif, termasuk dari genus *Staphylococcus*, *Bacillus*, dan *Lactobacillus*. Penelitian oleh Wulandari et al. (2023) menunjukkan bahwa koloni bakteri dari fermentasi ikan cenderung berwarna putih susu dan berbentuk kokus, yang sesuai dengan morfologi *S. aureus*. Selain itu, penelitian Putri et al. (2021) melaporkan adanya isolasi *S. aureus* dari produk fermentasi laut dengan teknik pewarnaan Gram dan uji biokimia.

Pewarnaan Gram juga memiliki keunggulan sebagai metode cepat dan murah yang dapat diaplikasikan di berbagai laboratorium, termasuk di daerah terpencil. Dalam penelitian oleh NauE et al. (2022), bahkan dikembangkan alternatif zat pewarna dari buah bit untuk menggantikan safranin komersial, menunjukkan bahwa metode ini cukup fleksibel dan mudah diadaptasi. Teknik ini juga penting digunakan sebagai tahapan awal sebelum dilakukan identifikasi lanjutan seperti uji biokimia, PCR, atau sekuensing (Pratama & Lestari, 2024).

Kondisi lingkungan dan perilaku manusia seperti kebersihan tangan juga berperan penting dalam kontaminasi *S. aureus*. Studi oleh Amin et al. (2023) menunjukkan bahwa tangan manusia yang tidak dicuci mengandung lebih banyak koloni bakteri Gram positif dibandingkan dengan yang dicuci, menandakan bahwa tangan bisa menjadi vektor utama dalam kontaminasi makanan. Selain itu, *S. aureus* diketahui mampu bertahan dalam lingkungan berkadar garam tinggi dan pH rendah, karakteristik umum dari produk fermentasi (Sari et al., 2021; Wulandari et al., 2023).

Mengidentifikasi keberadaan *Staphylococcus aureus* dalam fermentasi ikan pedo menjadi penting tidak hanya untuk mengetahui profil mikrobiologinya, namun juga untuk mencegah potensi risiko penyakit akibat pangan yang tercemar. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan *S. aureus* dalam proses fermentasi ikan pedo menggunakan teknik pewarnaan Gram, yang diharapkan dapat memberikan dasar awal pengendalian mutu mikrobiologis produk fermentasi hasil laut di Indonesia.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium yang bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Staphylococcus aureus* pada fermentasi ikan pedo (*Decapterus spp.*) menggunakan teknik pewarnaan Gram. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Bojonegoro selama bulan Februari–Maret 2025.

Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimen eksploratif dengan pendekatan kualitatif deskriptif. Sampel fermentasi ikan pedo diperoleh dari produsen rumahan di wilayah pesisir Tuban, Jawa Timur. Penelitian difokuskan pada identifikasi morfologi dan tipe Gram bakteri yang tumbuh dalam media kultur dari sampel fermentasi menggunakan teknik pewarnaan Gram (Amin et al., 2023; Putri et al., 2021).

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- Lampu spirtus
- Jarum ose
- Mikroskop
- Preparat

Bahan-bahan:

- Aquadest
- Aceton
- Iodium
- Kritical violet
- Minyak emersi
- Safranin

Prosedur Penelitian

a) Persiapan media kultur

Media Nutrient Agar (NA) disiapkan dengan melarutkan 2,8 gram NA dalam 100 mL aquadest, dipanaskan hingga homogen, lalu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat (Rini & Rochmah, 2020).

b) Pengambilan dan Inokulasi Sampel

Sampel diambil dari permukaan ikan pedo hasil fermentasi menggunakan cotton swab steril, lalu diinokulasikan secara gores (streaking) pada media NA. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam (Sari et al., 2021; Darmawan & Surya, 2020).

c) Pengamatan Koloni

Setelah inkubasi, koloni diamati secara makroskopik berdasarkan bentuk, warna, dan tekstur. Koloni yang diduga sebagai *Staphylococcus aureus* (berwarna krem, berbentuk bulat, dan halus) diambil untuk dilakukan pewarnaan Gram (Wulandari et al., 2023).

d) Pewarnaan Gram

Koloni bakteri diambil dengan ose steril dan difiksasi di atas kaca objek. Kemudian dilakukan prosedur pewarnaan Gram sebagai berikut (Rahman & Syahputra, 2022):

- 1) Teteskan kristal violet selama 1 menit, bilas.
- 2) Teteskan larutan iodine selama 1 menit, bilas.
- 3) Teteskan safranin selama 30 detik, bilas dan keringkan.

Preparat diamati di bawah mikroskop pada pembesaran 1000× dengan minyak imersi. Bakteri Gram positif ditandai dengan warna ungu, dan Gram negatif berwarna merah muda (NauE et al., 2022).

Kriteria Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Identifikasi *S. aureus* dilakukan secara presuntif berdasarkan ciri:

- Gram positif (berwarna ungu).
- Berbentuk kokus, tersusun dalam kelompok menyerupai anggur (grape-like cluster).
- Koloni berwarna putih kekuningan, cembung, licin (Ayu et al., 2021; Pratama & Lestari, 2024).

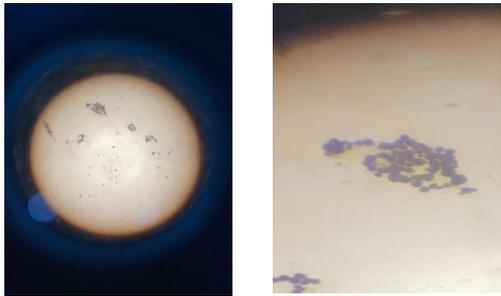
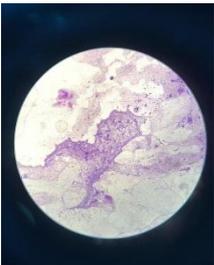
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan proses isolasi bakteri dari sampel fermentasi ikan pedo, koloni tumbuh dalam media Nutrient Agar (NA) setelah 24 jam inkubasi pada suhu 37°C. Koloni yang diamati secara makroskopik menunjukkan morfologi khas: bulat, cembung, licin, dengan warna krem keputihan. Karakteristik ini sesuai dengan morfologi umum koloni *Staphylococcus aureus* seperti yang dilaporkan oleh Putri et al. (2021) dan Wulandari et al. (2023).

Pengamatan Koloni

Koloni yang tumbuh pada cawan petri berjumlah bervariasi dari 10 hingga 40 koloni per piring, tergantung pada kepadatan inokulum. Umumnya, koloni terlihat homogen, tidak berpigmen kuat, dan menyebar secara acak. Berdasarkan referensi, koloni *S. aureus* pada NA memiliki warna krem atau kekuningan pucat, dengan permukaan halus dan margin bulat (Sari et al., 2021).

Hasil Pewarnaan Gram

Pewarnaan dengan menggunakan safranin	
Pewarnaan dengan menggunakan kristal violet	
Selanjutnya pewarnaan dengan menggunakan iodin	

Pengamatan pewarnaan Gram pada sampel menunjukkan hasil visual yang bervariasi tergantung jenis pewarna yang digunakan. Pada saat aplikasi kristal violet sebagai pewarna utama, tidak tampak perubahan warna yang signifikan pada sampel di bawah mikroskop, sehingga morfologi bakteri sulit untuk diamati secara jelas. Hal serupa terjadi setelah penambahan iodine, di mana hasil pengamatan belum menunjukkan visualisasi struktur sel bakteri secara optimal. Sebaliknya, ketika pewarnaan dengan safranin dilakukan sebagai pewarna kontras, sampel memperlihatkan hasil yang lebih jelas. Sel-sel bakteri terlihat lebih terwarnai dengan warna merah muda, sehingga memungkinkan pengamatan bentuk dan susunan sel di bawah mikroskop. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa proses pewarnaan kontras menggunakan safranin lebih berhasil dalam menampakkan keberadaan mikroorganisme pada preparat dibandingkan kristal violet dan iodine pada percobaan ini.

Kehadiran *S. aureus* dalam produk fermentasi ikan bukanlah hal yang mengejutkan, mengingat bakteri ini bersifat halofilik fakultatif dan dapat bertahan dalam kondisi garam tinggi dan pH rendah—dua kondisi utama dalam fermentasi ikan tradisional (Fauziah et al., 2023). Penelitian ini menunjukkan bahwa prosedur fermentasi tradisional tanpa kontrol sanitasi berpotensi tinggi menjadi sumber kontaminasi bakteri patogen (Darmawan & Surya, 2020).

Faktor risiko utama yang menyebabkan kontaminasi *S. aureus* dalam proses fermentasi adalah kebersihan lingkungan, alat produksi, dan tangan pekerja (Amin et al., 2023). Studi sebelumnya oleh Lipinwati et al. (2021) menunjukkan bahwa tangan manusia dapat menjadi vektor utama penyebaran *S. aureus*, terutama jika tidak mencuci tangan dengan benar sebelum mengolah bahan pangan.

Temuan ini sejalan dengan hasil Yuniarty & Misbach (2016) yang membuktikan efektivitas teknik pewarnaan Gram dalam mengidentifikasi *S. aureus* dari media pertumbuhan bakteri di berbagai sampel makanan. Pewarnaan Gram, meskipun sederhana, terbukti efektif sebagai langkah awal identifikasi mikrobiologis dan dapat dikombinasikan dengan uji lanjutan seperti uji koagulase, mannitol salt agar, atau PCR untuk validasi lebih akurat (NauE et al., 2022).

Dengan demikian, hasil penelitian ini memperkuat pentingnya pengawasan mikrobiologi terhadap produk fermentasi ikan, terutama yang diproduksi secara tradisional tanpa kontrol kebersihan. Penggunaan teknik pewarnaan Gram terbukti berguna untuk skrining awal bakteri patogen, termasuk *Staphylococcus aureus*, yang dapat membahayakan kesehatan konsumen jika tidak ditangani dengan baik (Sari et al., 2021).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa fermentasi ikan pedo yang dilakukan secara tradisional dapat menjadi media pertumbuhan bagi bakteri patogen, khususnya *Staphylococcus aureus*. Melalui metode eksperimen menggunakan teknik pewarnaan Gram, ditemukan bakteri berbentuk kokus berwarna ungu yang tersusun dalam kelompok menyerupai anggur, menunjukkan karakteristik khas dari bakteri Gram positif, yaitu *S. aureus*. Pewarnaan Gram terbukti menjadi metode yang efektif dan sederhana dalam identifikasi awal bakteri, terutama dalam konteks skrining mikrobiologi pangan. Hasil ini menegaskan bahwa keberadaan *S. aureus* pada produk fermentasi laut memerlukan perhatian serius, terutama terkait dengan aspek higienitas selama proses produksi. Oleh karena itu, diperlukan upaya pengawasan mutu mikrobiologi dan peningkatan sanitasi dalam proses fermentasi tradisional agar keamanan pangan tetap terjamin bagi konsumen.

DAFTAR REFERENSI

- Amin, S. S., Ghozali, T. Z., & Efendi, M. R. S. (2023). Identifikasi bakteri dari telapak tangan dengan pewarnaan Gram. *Chemviro: Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*, 1(1), 29–34.
- Anjani, F., Nurhidayati, S., & Gunawan, W. (2021). Isolasi dan identifikasi bakteri patogen pada ikan asin tradisional menggunakan pewarnaan Gram. *Jurnal Sains dan Teknologi Pangan*, 5(2), 102–110.
- Darmawan, H., & Surya, R. (2020). Profil mikrobiologi fermentasi ikan asin tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 3(1), 54–61.
- Fauziah, N., Wahyuni, A., & Hidayati, L. (2023). Identifikasi mikroba pada produk fermentasi ikan lokal. *Jurnal Akuatika Tropika*, 12(2), 75–82.
- Handayani, M., & Cahyono, E. (2024). Evaluasi higienitas produk fermentasi tradisional ditinjau dari kandungan mikrobiologisnya. *Jurnal Keamanan Pangan Indonesia*, 4(1), 33–40.
- Hidayat, R., & Alhadi, F. (2020). Identifikasi *Streptococcus equi* dari produk ternak. *Jurnal Ilmu Peternakan Tropis*, 11(1), 33–41.
- Kusumawati, D., & Yusuf, A. (2023). Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada olahan hasil laut menggunakan medium selektif dan Gram stain. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 9(2), 55–62.
- Lestari, R., & Wahyuni, I. (2020). Studi pewarnaan Gram dalam identifikasi awal bakteri kontaminan pada pangan fermentasi. *Jurnal Ilmu Teknologi dan Pangan*, 11(1), 45–53.
- Lipinwati, S., Meliana, & Permana, O. (2021). Efektivitas mencuci tangan dengan sabun antiseptik. *Jurnal Medika Jambi (JMJ)*, 5(1), 49–58.

- NauE, D. B., Karneli, D., Syailendra, A., et al. (2022). Buah bit (*Beta vulgaris*) sebagai alternatif safranin pada pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 24(12), 19–24.
- Pratama, I., & Lestari, H. (2024). Pewarnaan Gram untuk identifikasi awal mikroorganisme pangan. *Indonesian Journal of Food Microbiology*, 3(1), 10–18.
- Puspita, S., & Hendrawan, D. (2022). Efektivitas pewarnaan Gram pada identifikasi awal mikroorganisme. *Jurnal Biokimia Terapan*, 4(1), 22–29.
- Putri, A., Mulyana, S., & Fadilah, L. (2021). Deteksi bakteri patogen pada fermentasi ikan. *Jurnal Bioteknologi Tropika*, 11(2), 45–52.
- Rahman, A., & Syahputra, R. (2022). Perbandingan efektivitas pewarnaan Gram menggunakan safranin dan fuchsin. *Jurnal Mikrobiologi Klinik*, 9(1), 12–19.
- Rini, C. S., & Rochmah, J. (2020). *Bakteriologi dasar*. Sidoarjo: UMSIDA Press.
- Rizki, F. A., & Latifah, S. (2021). Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada produk makanan. *Jurnal Ilmu Gizi dan Keamanan Pangan*, 7(1), 50–57.
- Sari, M., Anshori, A., & Hidayat, S. (2021). Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada produk fermentasi ikan tradisional. *Jurnal Bioteknologi & Pangan*, 5(1), 21–30.
- Utami, R., Hidayat, A., & Wulandari, S. (2021). Deteksi dini bakteri Gram positif dari fermentasi ikan lele menggunakan teknik mikroskopis. *Jurnal Agroindustri dan Bioteknologi*, 6(3), 70–78.
- Wulandari, A., Nasution, R., & Farida, E. (2023). Identifikasi bakteri pada ikan fermentasi tradisional. *IndoFarmasi*, 6(3), 87–95.
- Yuniarty, T., & Misbach, S. R. (2016). Pemanfaatan sari ubi jalar ungu sebagai pewarna Gram untuk *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 5(2), 59–63.