



## Analisis Morfologi dan Distribusi Bakteri Fermentatif pada Bekasam Ikan Nila Melalui Pewarnaan Gram, Kristal Violet dan Safranin

Sabnatun Nikmah<sup>1\*</sup>, Ardi Mustakim<sup>2</sup>

Universitas Adiwangsa Jambi

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

\*Korespondensi penulis: [sbnatunnikmah@gmail.com](mailto:sbnatunnikmah@gmail.com)

**Abstract.** *Bekasam is a traditional fermented product made from tilapia (*Oreochromis niloticus*) containing a variety of fermentative microorganisms. This study aims to observe the morphology and distribution of fermentative bacteria in bekasam tilapia using the Gram staining method with crystal violet and safranin. Bekasam samples were fermented traditionally, then 1 gram of sample was taken and serial dilutions were carried out, followed by cultivation on Nutrient Agar (NA) media. The growing colonies were stained using crystal violet, iodine, alcohol, and safranin. This differential staining allows the identification of Gram-positive (purple) and Gram-negative (pink) bacteria. Microscopic observations showed a variety of bacterial shapes, including rod-shaped (bacilli) and spherical (cocci), with a fairly even distribution of Gram-positive and negative bacteria. The conclusion of this study is that bekasam contains a mixture of fermentative bacteria that can be identified through Gram staining, and this method is effective for the initial characterization of microorganisms in fermented foods. This research is useful for supporting the development of safer and more functionally valuable traditional fermented products. Furthermore, the results of this study also demonstrate the importance of understanding the role of fermentative bacteria in the bekasam-making process, which can contribute to the quality and safety of fermented products. By understanding the types and distribution of bacteria involved, producers can better understand the factors that influence the fermentation process, such as temperature, time, and raw materials. This knowledge also opens up opportunities to improve bekasam quality, both in terms of taste, texture, and nutritional content. Therefore, further research into the characteristics of other microorganisms involved in bekasam fermentation is crucial to ensure that this product is not only safe for consumption but also offers greater health benefits for consumers.*

**Keywords:** *Bekasam, Crystal Violet, Fermentative Bacteria, Gram Staining, Safranin*

**Abstrak.** Bekasam merupakan produk fermentasi tradisional berbahan dasar ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang mengandung beragam mikroorganisme fermentatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati morfologi dan distribusi bakteri fermentatif pada bekasam ikan nila menggunakan metode pewarnaan Gram dengan kristal violet dan safranin. Sampel bekasam difermentasi secara tradisional, kemudian dilakukan pengambilan 1 gram sampel dan pengenceran bertingkat, diikuti dengan penanaman pada media Nutrient Agar (NA). Koloni yang tumbuh diwarnai menggunakan kristal violet, iodine, alkohol, dan safranin. Pewarnaan diferensial ini memungkinkan identifikasi bakteri Gram positif (berwarna ungu) dan Gram negatif (berwarna merah muda). Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya variasi bentuk bakteri, termasuk bentuk batang (basil) dan bulat (kokus), dengan distribusi Gram positif dan negatif yang cukup merata. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bekasam mengandung campuran bakteri fermentatif yang dapat diidentifikasi melalui pewarnaan Gram, dan metode ini efektif digunakan dalam karakterisasi awal mikroorganisme pada pangan fermentasi. Penelitian ini bermanfaat untuk mendukung pengembangan produk fermentasi tradisional yang lebih aman dan bernilai fungsional. Selain itu, hasil penelitian ini juga menunjukkan pentingnya pemahaman tentang peran bakteri fermentatif dalam proses pembuatan bekasam, yang dapat berkontribusi pada kualitas dan keamanan produk fermentasi. Dengan mengetahui jenis dan distribusi bakteri yang terlibat, produsen dapat lebih memahami faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi, seperti suhu, waktu, dan bahan baku. Pengetahuan ini juga membuka peluang untuk meningkatkan kualitas bekasam, baik dari segi rasa, tekstur, maupun kandungan gizi. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik mikroorganisme lain yang berperan dalam fermentasi bekasam sangat penting untuk memastikan bahwa produk ini tidak hanya aman dikonsumsi, tetapi juga memiliki manfaat kesehatan yang lebih baik bagi konsumen.

**Kata kunci:** Bakteri Fermentatif, Bekasam, Kristal Violet, Pewarnaan Gram, Safranin

## 1. LATAR BELAKANG

Fermentasi merupakan salah satu teknik pengolahan pangan tertua yang tidak hanya bertujuan untuk memperpanjang masa simpan, tetapi juga meningkatkan cita rasa dan nilai gizi makanan (Darmawan, 2022). Salah satu produk fermentasi tradisional yang populer di Indonesia adalah *bekasam*, yang dibuat dari bahan dasar ikan air tawar seperti ikan nila (*Oreochromis niloticus*), dengan tambahan nasi dan garam (Herlina et al., 2020). Proses fermentasi tersebut melibatkan berbagai jenis mikroorganisme, khususnya bakteri asam laktat dan bakteri fermentatif lainnya yang secara alami berkembang selama fermentasi (Putri et al., 2023).

Bekasam memiliki cita rasa asam dan aroma khas akibat aktivitas enzimatik dan metabolit mikroba selama fermentasi (Susanti & Ramadhan, 2021). Mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi tidak hanya berperan dalam pengawetan dan pembentukan rasa, tetapi juga dapat memberikan efek probiotik jika dikonsumsi dalam jumlah cukup (Rahayu & Nugroho, 2019). Oleh karena itu, penting untuk mengetahui karakteristik mikroba yang terdapat dalam produk fermentasi ini. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengamati morfologi mikroorganisme adalah pewarnaan Gram, yaitu metode pewarnaan diferensial yang mampu membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya (Virgianti & Luciana, 2017). Pewarnaan ini menggunakan kristal violet sebagai pewarna utama dan safranin sebagai pewarna kontras, yang dapat menghasilkan perbedaan visual antara bakteri Gram positif (berwarna ungu) dan Gram negatif (berwarna merah muda) (Yuniarty & Misbach, 2016).

Pewarnaan Gram sangat penting dalam studi mikrobiologi karena memberikan informasi awal mengenai jenis bakteri yang diamati, termasuk bentuk (morfologi) seperti kokus (bulat) atau basil (batang), dan cara distribusinya dalam medium (Shaloma et al., 2023). Teknik ini juga menjadi dasar dalam pengklasifikasian dan seleksi mikroba untuk berbagai tujuan penelitian lanjutan, seperti pengembangan probiotik atau identifikasi patogen (NauE et al., 2022). Penelitian terhadap mikroorganisme dalam bekasam belum banyak difokuskan pada aspek visual morfologinya menggunakan pewarnaan Gram, padahal informasi ini sangat penting sebagai data dasar mikrobiologi pangan (Santoso & Rini, 2021). Dengan mengamati bentuk dan distribusi bakteri fermentatif melalui teknik pewarnaan Gram, diharapkan diperoleh pemahaman yang lebih dalam mengenai jenis bakteri dominan yang berperan dalam proses fermentasi (Wijaya & Herlambang, 2022).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis morfologi dan distribusi bakteri fermentatif yang terdapat pada bekasam ikan nila dengan

menggunakan metode pewarnaan Gram menggunakan kristal violet dan safranin. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai komposisi mikroba fermentatif dalam bekasam, serta mendukung pengembangan produk fermentasi yang lebih higienis dan bernilai fungsional.

## **2. METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif yang dilakukan pada bulan Mei hingga Juni 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Adiwangsa Jambi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati morfologi dan distribusi bakteri fermentatif pada bekasam ikan nila menggunakan metode pewarnaan Gram dengan kristal violet dan safranin. Alat yang digunakan meliputi mikroskop cahaya, kaca objek, pipet tetes, cawan petri, jarum ose, serta alat sterilisasi seperti autoklaf dan oven. Bahan penelitian meliputi bekasam ikan nila hasil fermentasi tradisional, media Nutrient Agar (NA), larutan NaCl, serta dua jenis pewarna yaitu kristal violet dan safranin. Sebanyak 1 gram sampel bekasam diencerkan secara bertingkat dari  $10^{-1}$  hingga  $10^{-6}$  menggunakan larutan NaCl steril. Masing-masing pengenceran diinokulasikan ke media NA menggunakan teknik sebar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh kemudian diambil dan dibuat preparat ulas, difiksasi, lalu diwarnai menggunakan kristal violet sebagai pewarna utama dan safranin sebagai pewarna kontras. Preparat yang telah diwarnai diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x menggunakan minyak emersi untuk mengidentifikasi bentuk, warna, dan distribusi bakteri fermentatif yang terdapat dalam bekasam.

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

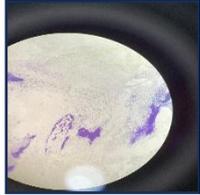
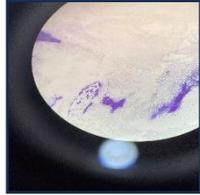
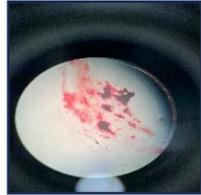
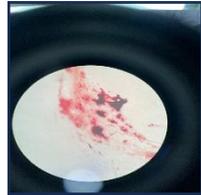
Pengamatan morfologi dan distribusi bakteri fermentatif pada bekasam ikan nila dilakukan melalui pewarnaan Gram menggunakan kristal violet dan safranin. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan variasi bentuk dan warna sel bakteri yang menandakan keberadaan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Selain itu, distribusi bakteri yang tampak pada preparat memperlihatkan adanya sebaran bakteri berbentuk batang (basil) dan bulat (kokus) secara merata pada sampel. Temuan ini memberikan gambaran awal mengenai keberagaman mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi bekasam ikan nila.

**Table 1.** Proses Pengenceran Sampel Bekasam Ikan Nila

Proses pengenceran Bekasam ikan nila	Dokumentasi
<p>Bekasam merupakan produk fermentasi tradisional berbahan dasar ikan air tawar seperti ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) yang difermentasi secara alami dengan tambahan nasi dan garam. Fermentasi ini menghasilkan lingkungan yang mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri fermentatif.</p>	
<p>Sebanyak 1 gram bekasam diencerkan bertingkat (<math>10^{-1}</math>–<math>10^{-6}</math>) dengan NaCl steril, lalu diinokulasikan ke media NA dan diinkubasi 24 jam. Koloni yang tumbuh dibuat preparat ulas, difiksasi, dan diwarnai dengan kristal violet dan safranin.</p>	
<p>Setelah itu fermentasi bekasam ikan nila tersebut dimasukkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi 24-48 jam. Lalu diberikan ekstrak tumbuhan dan diinkubasi kembali, lalu dilanjutkan dengan pewarnaan gram.</p>	

Setelah sampel bekasam diinokulasi dan diinkubasi selama 24 jam, koloni yang tumbuh diberi perlakuan ekstrak tumbuhan, kemudian diinkubasi kembali. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan Gram menggunakan kristal violet dan safranin untuk mengamati morfologi serta distribusi bakteri secara mikroskopis.

**Tabel 2** Hasil pengamatan mikroskopis

Jenis Pewarnaan	Hasil	
	Hasil	Pewarnaan
Gram		
Kristal Violet		
		
Safranin		
		

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya dua jenis pewarnaan yang berhasil mengidentifikasi morfologi dan distribusi bakteri fermentatif dalam bekasam. Pewarnaan menggunakan kristal violet memperlihatkan adanya bakteri yang berwarna ungu, menandakan bakteri Gram positif. Bakteri ini cenderung memiliki dinding sel yang tebal dan mampu mempertahankan pewarna utama. Sementara itu, pada pewarnaan safranin, terlihat bakteri dengan warna merah muda, mengindikasikan keberadaan bakteri Gram negatif, yang memiliki dinding sel lebih tipis dan tidak menahan pewarna utama, sehingga menyerap pewarna kontras.

Distribusi bakteri terlihat menyebar merata di beberapa bidang pandang, menandakan bahwa proses fermentasi pada bekasam ikan nila melibatkan komunitas mikroorganisme yang beragam. Morfologi bakteri yang tampak bervariasi, seperti bentuk batang (bacil) dan bulat (kokus), menguatkan bahwa proses fermentasi secara alami memunculkan populasi campuran

bakteri fermentatif. Keterangan ini menunjukkan bahwa pewarnaan Gram efektif digunakan untuk membedakan jenis bakteri dalam produk fermentasi tradisional seperti bekasam, sekaligus memberikan informasi awal mengenai potensi peran masing-masing kelompok bakteri dalam proses fermentasi.

Penelitian ini menunjukkan bahwa proses fermentasi pada bekasam ikan nila menghasilkan koloni bakteri dengan karakteristik morfologi dan pewarnaan yang beragam, mencakup bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil pewarnaan kristal violet menunjukkan bakteri berwarna ungu yang mengindikasikan Gram positif, sedangkan safranin menampilkan warna merah muda sebagai tanda Gram negatif. Keragaman ini menunjukkan bahwa fermentasi bekasam melibatkan komunitas mikroba yang kompleks, terdiri dari mikroorganisme fungsional dan kontaminan lingkungan.

Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh (Haryati et al., 2021) yang menyatakan bahwa produk fermentasi ikan tradisional umumnya didominasi oleh bakteri asam laktat Gram positif, meskipun keberadaan Gram negatif tetap ditemukan karena faktor kontaminasi dari lingkungan (Mulyati et al., 2019) juga menegaskan bahwa keberadaan bakteri Gram negatif, seperti *Pseudomonas* dan *Enterobacter*, sering ditemukan pada tahap awal fermentasi akibat pengaruh bahan baku atau sanitasi yang kurang optimal. Menurut (Kim et al., 2020) komposisi mikroorganisme dalam fermentasi makanan laut seperti bekasam dipengaruhi oleh faktor suhu, kadar garam, dan pH, yang membentuk dinamika populasi mikroba selama proses berlangsung. Hal ini terlihat dalam penelitian ini, di mana terdapat distribusi mikroba dengan struktur dinding sel yang berbeda berdasarkan hasil pewarnaan Gram.

Dan (Amalia et al.2022) menjelaskan bahwa teknik pewarnaan Gram sangat efektif untuk mengklasifikasikan kelompok bakteri berdasarkan struktur dinding sel dan menjadi metode dasar untuk seleksi mikroba dalam penelitian fermentasi. Hal ini diperkuat dengan hasil pewarnaan pada penelitian ini yang menunjukkan distribusi bakteri basil dan kokus dengan warna ungu dan merah muda. (Wahyuni et al., 2018) juga mengungkapkan bahwa pewarnaan Gram sangat penting dalam mengamati struktur mikroba pada makanan fermentasi karena memungkinkan pengamatan cepat terhadap kontaminasi atau dominasi jenis bakteri tertentu. Ini juga mencerminkan bahwa metode pewarnaan memberikan gambaran awal sebelum analisis molekuler dilakukan.

Dalam penelitian (Lee et al.,2020) diketahui bahwa produk fermentasi seperti kimchi juga mengandung *Lactobacillus plantarum* dan *Pediococcus* yang didominasi oleh Gram positif. Meskipun berbeda komoditas, kemiripan pola fermentasi mendukung bahwa bekasam dapat berpotensi mengandung LAB yang sama. (Rahman et al., 2023) juga menyatakan bahwa

keberadaan bakteri asam laktat Gram positif sangat penting karena mikroba ini menghasilkan senyawa bioaktif seperti asam laktat yang membantu pengawetan dan memberikan cita rasa khas pada produk fermentasi. Oleh karena itu, deteksi Gram positif pada bekasam mendukung fungsi mikroba sebagai agen fermentatif utama.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa bekasam ikan nila mengandung beragam jenis bakteri fermentatif yang dapat diamati melalui pewarnaan Gram menggunakan kristal violet dan safranin. Hasil pewarnaan mengindikasikan keberadaan bakteri Gram positif (berwarna ungu) dan Gram negatif (berwarna merah muda), yang mencerminkan adanya keberagaman komunitas mikroba dalam proses fermentasi alami. Pewarnaan Gram terbukti efektif untuk mengidentifikasi morfologi dan klasifikasi awal mikroorganisme pada produk fermentasi tradisional seperti bekasam. Keberadaan kedua tipe bakteri ini menunjukkan bahwa fermentasi bekasam berjalan dengan kompleks, melibatkan mikroorganisme dari berbagai kelompok taksonomi yang dapat mempengaruhi mutu dan keamanan produk akhir.

Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk melakukan identifikasi lanjutan terhadap bakteri fermentatif menggunakan metode biokimia atau molekuler, seperti PCR atau analisis gen 16S rRNA, guna mengetahui spesies mikroba secara lebih akurat. Selain itu, proses fermentasi bekasam sebaiknya dioptimalkan dengan pengendalian faktor lingkungan seperti suhu, kadar garam, dan sanitasi untuk meminimalkan pertumbuhan bakteri kontaminan yang tidak diinginkan. Penelitian selanjutnya juga dapat difokuskan pada pengujian aktivitas antimikroba dari bakteri fermentatif yang ditemukan, untuk mengetahui potensi probiotik atau penghambat pertumbuhan patogen. Dengan demikian, penelitian ini dapat menjadi dasar pengembangan bekasam ikan nila sebagai pangan fungsional yang aman dan berkualitas.

#### DAFTAR REFERENSI

- Amalia, N., Ramadhani, L. I., & Maulina, T. (2022). Gram staining analysis of bacteria in spontaneous fermented food: An educational case study. *International Journal of Microbiology Education*, 6(1), 34-40.
- Darmawan, A. (2022). Fermentasi Tradisional dan Potensinya dalam Pangan Lokal. *Jurnal Teknologi Pangan Indonesia*, 13(2), 77-85.
- Haryati, S., Pramono, Y. B., & Nugroho, R. A. (2021). Identification of lactic acid bacteria in fermented fish using gram staining and biochemical test. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, 14(1), 15-22.
- Herlina, R., Zainal, A., & Nuraini, N. (2020). Karakteristik Bekasam Ikan Nila Berdasarkan Lama Fermentasi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Perikanan*, 15(1), 50-56.

- Kim, Y., Oh, S., & Lee, J. H. (2020). Changes in microbial community during fermentation of seafood-based products. *Food Microbiology*, 86, 103347.
- Lee, M., Jung, J., & Park, S. (2020). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Korean kimchi. *Journal of Fermented Foods*, 7(3), 178-185.
- Mulyati, S., Andriani, Y., & Nurhayati, T. (2019). Isolation and characterization of bacteria in traditional fermented fish. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 12(2), 89-94.
- NauE, R., Wulandari, A., & Sitorus, H. (2022). Pewarnaan Diferensial sebagai Teknik Dasar dalam Mikrobiologi. *Jurnal Sains Terapan Mikrobiologi*, 6(3), 145-152.
- Putri, M. D., Hasanah, N., & Sari, E. (2023). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Bekasam Tradisional. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 9(1), 25-32.
- Rahayu, E. S., & Nugroho, F. A. (2019). Mikroorganisme Probiotik dalam Produk Fermentasi Tradisional Indonesia. *Indonesian Journal of Applied Microbiology*, 5(2), 88-94.
- Rahman, M. M., Rathi, J. M., & Sarker, M. (2023). Role of lactic acid bacteria in fermentation and their industrial application. *International Journal of Food Microbiology*, 371, 110998.
- Santoso, J., & Rini, D. (2021). Potensi Mikrobiota Fermentatif Lokal dalam Pengembangan Probiotik. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 14(1), 93-99.
- Shaloma, N., Indriani, D., & Lestari, K. (2023). Peran Pewarnaan Gram dalam Studi Mikrobiologi Pangan Fermentasi. *Jurnal Biologi Tropis*, 11(1), 101-107.
- Susanti, I., & Ramadhan, M. (2021). Pengaruh Fermentasi terhadap Mutu Sensorik dan Mikrobiologi Bekasam. *Jurnal Pangan Lokal*, 10(2), 63-69.
- Virgianti, A., & Luciana, R. (2017). Pewarnaan Gram dalam Identifikasi Bakteri Klinis dan Pangan. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 3(1), 12-18.
- Wahyuni, T., Herawati, E., & Sari, A. (2018). Gram staining technique in the identification of bacteria from traditional fermented food. *Indonesian Journal of Applied Microbiology*, 1(2), 45-51.
- Wijaya, A., & Herlambang, B. (2022). Pengamatan Pewarnaan Gram untuk Identifikasi Mikroorganisme Pangan Tradisional. *Indonesian Journal of Microbial Research*, 7(2), 66-73.
- Yuniarty, L., & Misbach, M. (2016). Perbandingan Pewarnaan Kristal Violet dan Safranin pada Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Laboratorium Medik*, 4(2), 40-46.