

PERUBAHAN PARAMETER KIMIA DAN MIKROBIOLOGI SERTA ISOLASI BAKTERI PENGHASIL ASAM SELAMA FERMENTASI BEKASAM IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)

Chemical and Microbiological Parameter Changes and Isolation of Acid-Producing Bacteria During Fermentation Process of Common Carp (Cyprinus carpio) Bekasam

Desniar*, Iriani Setyaningsih, Retno Santi Sumardi

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor

Diterima 19 Oktober 2012/Disetujui 2 Desember 2012

Abstract

Bekasam is one of fermented fish products which it taste acid and highly contain lactic acid bacteria (LAB). Bekasam processing generally is using raw material freshwater fish to addition of salt and carbohydrate sources, as to rice and "tapai", with period of fermentation 4-10 days. This research aimed to know the chemical and microbiological changes during fermentation and isolation of producer acid bacteria and to characterize bekasam fermentation process. This research comprised of bekasam processing (period of the fermentation 10 days), analysis the chemical and microbiological of changes during the fermentation (observed pH, total titratable of acid, salt content, total viable count (TVC), total of producer acid bacteria and isolation of producer acid bacteria and its characterization). During the fermentation process (10 days), the value of pH, salt content, log TVC decreased and total titratable of acid increased, while total of producer acid bacteria increased from raw material to during 6 days of fermentation, then decreased after 6 days to 10 days of fermentation. Total isolates of producer acid bacteria were 29 isolates, which all of isolates constitute Gram-positive bacteria and mostly the cell shape were bacil and coccus, 6 isolates were non motil, 23 isolates were no endospore, 19 isolates were negative katalase, 10 isolates were negative oxidase, and 7 isolates were positive proteolytic. Based on caharacterization can be concluded that lactic acid bacteria were found of 29 isolates which it presumable to contribute during fermentation process of common carp bekasam.

Keywords: acid-producing bacteria, bekasam, fermentation, isolation, and characterization

Abstrak

Bekasam merupakan salah satu produk fermentasi ikan yang rasanya asam dan banyak mengandung bakteri asam laktat (BAL). Pembuatan bekasam umumnya menggunakan bahan baku ikan air tawar dengan penambahan garam dan sumber karbohidrat (nasi dan tapai) lama fermentasi 4-10 hari. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan perubahan kimia dan mikrobiologi yang terjadi selama fermentasi; dan mengisolasi serta mengkarakterisasi isolat bakteri penghasil asam selama fermentasi bekasam ikan mas (*Cyprinus carpio*). Penelitian ini meliputi pembuatan bekasam (lama fermentasi 10 hari), analisis kimia dan mikrobiologi selama fermentasi (pengukuran pH, total asam tertitrasi, kadar garam, total mikroba (TPC), total bakteri penghasil asam) dan isolasi bakteri penghasil asam serta karakterisasinya. Selama fermentasi bekasam (10 hari) kadar garam, nilai pH, total mikroba mengalami penurunan, total asam tertitrasi meningkat, sedangkan nilai total bakteri penghasil asam meningkat sampai fermentasi hari ke-6 (H6) namun menurun setelah H6 sampai H10. Isolat bakteri penghasil asam diperoleh sebanyak 29 isolat. Semua isolat merupakan bakteri Gram positif dan sebagian besar memiliki bentuk sel batang dan bulat, 6 isolat tidak motil, 23 isolat tidak berendospora, 19 isolat katalase negatif, 10 isolat oksidase negatif dan 7 isolat bersifat proteolitik. Berdasarkan hasil karakterisasi terhadap ke-29 isolat, diduga terdapat bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi bekasam ikan mas.

Kata kunci: bakteri penghasil asam, bekasam, fermentasi, isolasi dan karakterisasi

*Korespondensi: Jln. Lingkar Akademik, Kampus IPB
Dramaga. Telp. +622518622915 Fax. +622518622916,
E-mail: desniar2004@yahoo.com

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan produk-produk *indigineous* olahan tradisional. Salah satunya adalah produk fermentasi ikan. Produk fermentasi ikan Indonesia memiliki bentuk, bahan baku, dan tipe fermentasi yang beragam serta umumnya masih menggunakan proses fermentasi secara spontan yaitu dengan fermentasi menggunakan garam. Sebagian besar dari produk fermentasi ikan ini belum dipelajari secara terperinci, oleh karena itu informasi ilmiah yang berhubungan dengan produk tersebut sulit ditemukan.

Bekasam merupakan salah satu produk olahan fermentasi ikan yang rasanya asam, banyak dikenal di daerah Jawa Tengah, Sumatera Selatan dan Kalimantan Tengah. Proses pembuatan bekasam umumnya menggunakan bahan baku ikan air tawar dengan penambahan garam dan sumber karbohidrat yaitu nasi dan tape dengan lama fermentasi sekitar 4-10 hari. Penambahan karbohidrat bertujuan untuk merangsang pertumbuhan bakteri asam laktat. Hugas (1998) menyatakan bahwa bakteri asam laktat memainkan peran penting di dalam fermentasi makanan yang menyebabkan perubahan aroma dan tekstur bersamaan dengan pengaruh pengawetan dengan hasil peningkatan daya awet pada produk akhir.

Sedikit yang diketahui tentang mikrobiologi dan pola fermentasi bekasam ini, karena masih diproduksi dalam skala kecil dan rumah tangga. Dengan demikian perlu dilakukan penelitian pada produk ini terutama mengetahui perubahan kimia dan mikrobiologi serta mendapatkan isolat-isolat bakteri penghasil asam khususnya bakteri asam laktat yang berasal dari bekasam dan menggali potensinya. Peluang untuk memperoleh bakteri penghasil asam sangat besar karena telah dilaporkan bahwa umumnya dalam produk sejenis bekasam misalnya *burongisda* dari Philipina dan *plachom*, *plaa-som* dan *som-fak* dari T hailand, ditemukan bakteri asam laktat.

Bakteri asam laktat yang dominan pada *burongisda* ialah *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus cereviciae*, dan *Lactobacillus plantarum* (Olympia 1992). Mikroflora yang mendominasi pada produk *plaa-som* adalah *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus alimentarius/farciminis*, *Weisella confusa*, *L. plantarum* dan *Lactococcus garviae* (Paludan-Muller *et al.* 2002) serta *Lactobacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Aerococcus* spp., *Cornobacterium* spp. dan *Enterococcus* spp (Kopersumb *et al.* 2006). Bakteri yang diisolasi dari bahan baku dan selama fermentasi pada produk *som-fak* adalah *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*, *W. confusa*, *L. plantarum*, *L. pentosus* dan *Pediococcus pentosaceus* (Paludan-Muller *et al.* 1999).

Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk menentukan perubahan parameter kimia dan mikrobiologi yang terjadi selama fermentasi dan mengisolasi serta mengkarakterisasi isolat bakteri penghasil asam selama fermentasi bekasam ikan mas (*Cyprinus carpio*).

MATERIAL DAN METODE Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan antara lain ikan mas, nasi dan garam. Medium yang digunakan antara lain adalah *Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), *Man Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB), *Plate Count Agar* (PCA), *Trypticase Soy Agar* (TSA), *Skim Milk Agar* (SMA). Bahan kimia yang digunakan adalah NaCl, CaCO₃, larutan bufer, K₂CrO₄, AgNO₃, larutan garam fisiologis, alkohol 95%, alkohol 70%, H₂O₂ 3%, kristal violet, lugol, safranin, *malachite green*, pereaksi p-aminodimetilanilin oksalat, dan akuades.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, timbangan analitik, inkubator, vorteks, oven, pH meter, jarum ose, mikroskop cahaya, bunsen, lemari pendingin, kertas saring, *wrapping plastic*, pisau, sudip, talenan, mortar, stoples kaca, pengaduk, alumunium foil, penyaring, dan alat-alat gelas lainnya.

Metode Penelitian

Pembuatan Bekasam Ikan Mas

Pembuatan bekasam mengikuti proses yang dilakukan di daerah Indramayu oleh pembuat dan penjual bekasam (Warmi 12 Maret 2008, komunikasi pribadi) yaitu sebagai berikut: pertama-tama ikan disiangi dan dibersihkan, kemudian diberi garam sebanyak 25% dan dimasukkan ke dalam stoples kaca yang sebelumnya telah disterilkan. Setelah itu diperam selama 3 hari. Ikan yang telah digarami dan diperam selama 3 hari kemudian ditiriskan dan diberi nasi (62,8%) dan garam (3,4%), lalu dimasukkan kembali ke dalam toples kaca dan ditutup rapat untuk difermentasi selama satu minggu.

Pengamatan dan Analisis

Pengamatan dan analisis kimia serta mikrobiologi dilakukan pada hari ke-0 (bahan baku), ke-3, ke-4, ke-5, ke-6, ke-8 dan ke-10. Analisis kimia meliputi pengukuran pH (AOAC 1995), total asam tertitiasi (AOAC 1995), dan kadar garam (NaCl) (AOAC 1995). Analisis mikrobiologi meliputi penghitungan total bakteri (TPC) dan total bakteri penghasil asam (Veljovic *et al.* 2007)

Bakteri penghasil asam diisolasi dengan memilih 4-6 koloni untuk diisolasi pada hari ke-3 sampai ke-10 (H3-H10). Metode isolasi yang digunakan adalah metode cawan gores menggunakan medium MRSA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (modifikasi Tanasupawat *et al.* 1998). Pengamatan dilakukan terhadap morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan bentuk sel. Isolasi dilakukan beberapa kali tahapan sampai didapatkan isolat murni. Isolat dikatakan murni jika bentuk morfologi koloni dan sel bakteri tersebut seragam. Biakan murni yang diperoleh ditumbuhkan pada agar miring kemudian disimpan dalam gliserol 20%. Biakan murni ini disebut stok kultur yang akan digunakan untuk tahap berikutnya, yaitu karakterisasi bakteri penghasil asam. Karakterisasi meliputi karakterisasi morfologi koloni (bentuk koloni, tepian, elevasi,

warna koloni) dan morfologi sel (bentuk sel, pewarnaan Gram, pewarnaan spora, dan motilitas), serta beberapa sifat fisiologi (uji katalase, uji oksidase, uji proteolitik, dan uji pertumbuhan pada media MRSA + CaCO₃) (Tanasupawat *et al.* 1998, Paludan-Muller *et al.* 2002, Kopermsub *et al.* 2006, Veljovic *et al.* 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Bekasam

Fermentasi bekasam dilakukan selama 10 hari, ikan diperam selama 3 hari dalam garam. Pengamatan pada hari ke-3 (fermentasi bergaram) ikan masih terlihat seperti ikan segar namun daging ikan terlihat sangat kaku. Daging yang terlihat kaku disebabkan oleh garam yang dapat berfungsi sebagai pengikat air. Setiap ion akan menarik molekul-molekul di sekitarnya atau disebut sebagai hidrasi ion.

Garam juga mempunyai sifat antimikrob yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk. Sifat-sifat garam yaitu a) meningkatkan tekanan osmotik substrat; b) menarik air dalam bahan pangan sehingga a_w bahan pangan akan menurun dan mikroorganisme tidak akan tumbuh; c) mengakibatkan terjadinya penarikan air dari dalam sel mikroorganisme sehingga sel akan kehilangan air dan mengalami pengerutan; d) menghasilkan ion klorida yang beracun terhadap mikroorganisme, serta e) mengganggu kerja enzim proteolitik (Rahayu *et al.* 1992). Setelah 3 hari lama fermentasi ikan ditiriskan, kemudian diberi penambahan nasi dan sedikit garam. Setelah itu difermentasi selama satu minggu (sampai hari ke-10 dari awal fermentasi).

Selama pemeraman terjadi perubahan pada bekasam baik bau maupun tekstur, yang ditandai dengan tercium aroma asam pada bekasam, warna yang mulai berubah menjadi abu-abu pucat, dan tekstur yang mulai lunak. Perubahan tersebut disebabkan oleh penguraian karbohidrat menjadi senyawa-senyawa yang sederhana yaitu asam laktat, asam asetat, asam propionat dan etil alkohol,

senyawa ini dapat menyebabkan rasa asam pada produk yang dapat berfungsi sebagai pengawet. Karbohidrat juga berfungsi sebagai sumber energi bagi bakteri asam laktat karena penambahan karbohidrat akan membuat lingkungan yang baik bagi pertumbuhan bakteri tersebut (Hugas 1998).

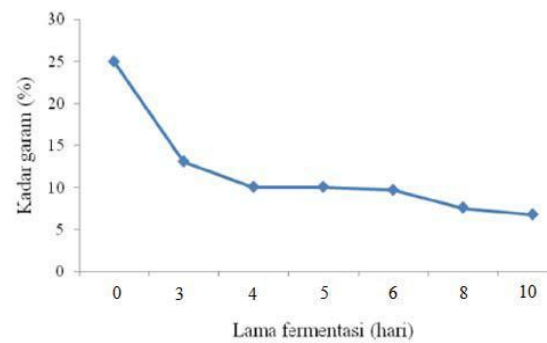
Leroy dan De Vuyst (2004) menyatakan bahwa bakteri asam laktat berkontribusi terhadap aroma dan flavour produk fermentasi. Bakteri ini berperan mengasamkan makanan, yang mengakibatkan suatu rasa asam laktat yang tajam, juga sering mempunyai aktivitas proteolitik dan lipolitik, serta menghasilkan bentuk senyawa aromatik.

Analisis Kimia dan Mikrobiologi selama Fermentasi Bekasam

Kadar Garam (NaCl)

Penambahan garam pada pembuatan bekasam ini merupakan tahapan yang penting karena dapat menarik air baik dari jaringan daging ikan maupun dari dalam sel mikroorganisme sehingga dapat menyeleksi mikrob-mikrob pembusuk yang tidak tahan garam. Bakteri yang memiliki peranan dalam fermentasi ini yang dapat hidup diharapkan adalah bakteri asam laktat. Menurut Palludan Muller *et al.* (2002) konsentrasi garam berpengaruh terhadap pertumbuhan mikrob dan kecepatan fermentasi serta kualitas sensori dan keamanan produk fermentasi. Pertumbuhan optimum dari bakteri asam laktat tergantung pada konsentrasi garam, namun tidak lebih tinggi dari 6% sampai 7% untuk fermentasi *plaa-som* yang terjadi selama 4-7 hari.

Kadar garam (NaCl) bekasam ikan mas (*C. carpio*) mengalami penurunan dari 25% pada hari ke-0 menjadi 6,79% pada hari ke-10 (Gambar 1). Penurunan kadar garam yang tajam dari hari ke-0 sampai hari ke-3 disebabkan oleh terurainya garam menjadi ion-ion Cl^- dan Na^+ . Penurunan kadar garam dari hari ke-3 (13,10%) sampai ke-10 (6,79 %) tidak terlalu tajam, hal ini disebabkan oleh setelah hari ke-3 ikan ditiriskan kemudian



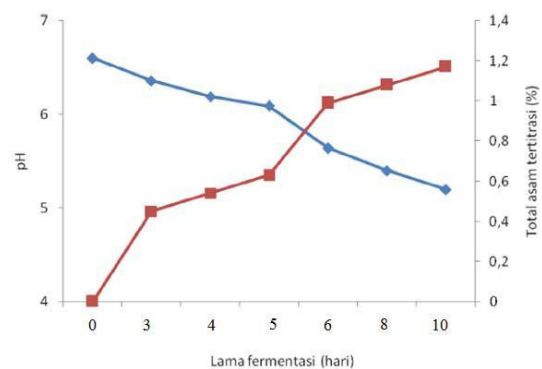
Gambar 1 Perubahan kadar garam (%) selama fermentasi bekasam ikan mas.

ditambah nasi dan sedikit garam. Palludan Muller *et al.* (2002) menyatakan bahwa pada fermentasi *plaa-som* dengan penambahan nasi pada konsentrasi garam rendah terjadi penurunan kadar garam setelah fermentasi selama 8 hari dengan kadar garam 6,8 % pada hari ke-0 menurun menjadi 5,1% pada hari ke-8.

Nilai pH dan Total Asam Titrasi

Nilai pH dan total asam titrasi merupakan indikator utama untuk melihat keberhasilan proses fermentasi. Nilai pH yang diperoleh pada bahan baku yaitu 6,59 dan selama proses fermentasi adalah 6,60-5,20, sedangkan nilai total asam titrasi selama proses fermentasi adalah 0,45%–1,17%. Hubungan nilai pH dan total asam titrasi selama proses fermentasi bekasam ikan mas dapat dilihat pada Gambar 2.

Selama proses fermentasi bekasam ikan

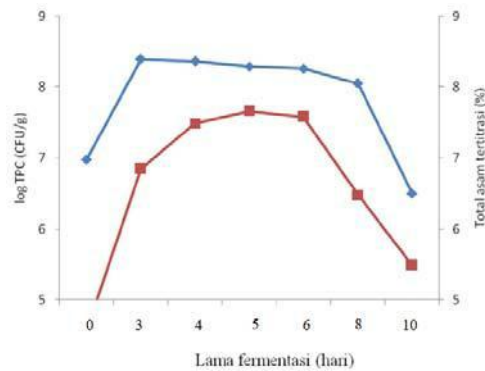


Gambar 2 Hubungan perubahan pH (◆) dan total asam titrasi (%) (■) selama fermentasi bekasam ikan mas.

mas terjadi penurunan pH dari 6,60 pada hari ke-0 menjadi 5,20 pada akhir fermentasi (10 hari). Penurunan nilai pH diikuti oleh kenaikan nilai total asam tertitrasi yang dihasilkan, yaitu 0,45% pada lama fermentasi 3 hari meningkat menjadi 1,17 pada akhir fermentasi. Hal ini disebabkan oleh karbohidrat yang digunakan dalam proses pembuatan bekasam ikan mas ini akan dihidrolisis menjadi glukosa, kemudian bakteri asam laktat menggunakan glukosa tersebut sebagai bahan energi untuk aktivitasnya dan menghasilkan asam. Alvarado *et al.* (2006) menyatakan bahwa penurunan nilai pH yang diakibatkan oleh aktivitas pengasaman adalah berhubungan dengan jumlah dan tipe asam organik yang dihasilkannya, serta bervariasi tergantung sumber karbohidrat yang digunakannya. Hal ini juga ditunjukkan oleh pertumbuhan bakteri penghasil asam semakin meningkat selama fermentasi bekasam. Hasil yang sama juga dinyatakan oleh Yahya (1997) bahwa total asam tertitrasi meningkat 0,20% dengan pH 5,22 pada hari ke-1 menjadil 0,55% dengan pH 3,68 pada hari ke-7 lama fermentasi bekasam ikan mujair. Nilai pH merupakan indikator untuk mengontrol pertumbuhan mikroob, penurunan pH disebabkan oleh hidrolisis karbohidrat oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat.

Nilai log total bakteri penghasil asam dan log total mikroob

Pola perubahan jumlah total mikroob dan jumlah total bakteri penghasil asam selama fermentasi bekasam ikan mas dapat dilihat pada Gambar 3. Keduanya memiliki pola yang hampir sama, yaitu jumlah log total bakteri penghasil asam mengalami peningkatan sampai lama fermentasi hari ke-5 dari 4,56 ($3,6 \times 10^4$ cfu/g) menjadi 7,66 ($4,5 \times 10^7$ cfu/g) dan kemudian mengalami penurunan sampai hari ke-10 dengan nilai 5,49 ($3,1 \times 10^5$ cfu/g). Jumlah log total mikroob (TPC) terjadi peningkatan sampai fermentasi hari ke-3 dari 5,93 ($8,6 \times 10^5$ cfu/g) menjadi 8,39 ($2,4 \times 10^8$ cfu/g), dan kemudian mengalami penurunan



Gambar 3 Hubungan perubahan jumlah total mikroba (◆) dan jumlah total bakteri penghasil asam (■) selama fermentasi bekasam ikan mas.

sampai hari ke-10 dengan nilai 6,25 ($3,1 \times 10^6$ cfu/g). Hasil yang sama juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Palludan Muller *et al.* (2002) bahwa selama fermentasi plaa-som terjadi peningkatan total BAL dari 10^5 cfu/g pada awal fermentasi meningkat menjadi 10^8 cfu/g dalam 3 hari fermentasi.

Peningkatan jumlah bakteri penghasil asam disebabkan penambahan karbohidrat akan membuat lingkungan yang baik bagi pertumbuhan bakteri asam laktat dan menjadi sumber energi bagi bakteri tersebut (Rahayu *et al.* 1992). Peningkatan jumlah total mikroob disebabkan oleh terhitung juga mikroob yang terlibat dalam proses fermentasi, yaitu bakteri pembentuk asam (laktat, propionat, asetat), dan beberapa jenis khamir serta kapang. Hal tersebut juga diikuti oleh kenaikan nilai total bakteri penghasil asam. Nilai total mikroob yang diperoleh setelah hari ke-3 sampai hari ke-10 mengalami penurunan, hal ini diduga disebabkan oleh kondisi fermentasi yang semakin asam membuat kondisi yang tidak kondusif bagi pertumbuhan sebagian bakteri yang terdapat didalam fermentasi. Kilinc *et al.* (2006) menyatakan bahwa penurunan tersebut disebabkan oleh bakteri asam laktat yang mengubah karbohidrat menjadi asam laktat, sehingga menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH dan menciptakan suasana asam yang dapat menghambat pertumbuhan mikroob yang tidak tahan terhadap kondisi asam.

Isolasi dan Karakterisasi

Hasil isolasi bakteri penghasil asam selama fermentasi diperoleh 29 isolat murni dengan karakterisasi morfologi koloni yang dominan adalah bentuk koloni bulat dan bundar dengan tepian timbul serta bergelombang, warna koloni putih dengan bentuk elevasi datar dan timbul. Bentuk sel yang dominan adalah berbentuk oval dan batang. Bervariasinya morfologi koloni yang dihasilkan menunjukkan keragaman bakteri yang cukup besar.

Semua isolat adalah bakteri Gram-positif, dengan bentuk sel yang dominan adalah batang dan oval, tidak berendospora ada sekitar 79,3%. Bakteri yang bersifat motil ada 79,3%, bersifat katalase negatif 65,5% dan oksidase negatif 68,8% yang memiliki aktivitas proteolitik hanya ada 24,1% dan isolat yang membentuk zona bening ketika ditumbuhkan dalam media MRSA+CaCO₃ hanya 48,3% (Tabel 1).

Karakteristik fenotip berguna sebagai titik awal untuk uji yang lebih dalam. Meskipun morfologi dipandang meragukan sebagai karakteristik kunci dalam taksonomi bakteri, akan tetapi masih penting dalam deskripsi genus bakteri penghasil asam khususnya bakteri asam laktat (BAL). BAL dapat dibagi menjadi sel berbentuk batang (*Lactobacillus* dan *Carnobacterium*) dan kokus (semua genus yang lain). Satu pengecualian yaitu *Weissella* yang merupakan genus pertama dalam grup BAL dengan definisi dapat meliputi kokus dan batang (Axelsson 2004).

Isolat bakteri yang memiliki enzim katalase dapat dikatakan bakteri tersebut memiliki sifat aerobik, sedangkan apabila isolat bakteri tersebut tidak memiliki enzim katalase maka diduga bahwa bakteri tersebut bersifat anaerobik fakultatif. Oksidase positif artinya bakteri tersebut mampu melakukan metabolisme energi melalui respirasi. Hal ini terlihat pada media TSA yang berubah menjadi hitam setelah ditetesi oleh pelarut p-aminodimetilalanin oksalat, yang diakibatkan karena terdapat senyawa

organik yang mampu digunakan oleh bakteri tersebut untuk menghasilkan energi. Bakteri yang tidak mampu menghasilkan enzim oksidase sitokrom artinya bakteri tersebut tidak melakukan metabolisme energi melalui respirasi melainkan fermentasi. Penambahan CaCO₃ dalam medium agar untuk isolasi bertujuan sebagai indikator bakteri penghasil asam. Senyawa tersebut akan larut di sekitar koloni isolat jika koloni ini menghasilkan cukup asam dan hasil ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni karena larutnya CaCO₃ (Kopermsub *et al.* 2006).

Secara umum semua isolat murni yang diperoleh termasuk kelompok bakteri Gram-positif yang dominan tidak berendospora dan motil. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa isolat hari ke-3 (proses fermentasi bergaram), hari ke-4 sampai hari ke-6 (fermentasi selama 3 hari dengan pemberian nasi), dan hari ke-8 sampai hari ke-10 (akhir proses fermentasi bekasam) didominasi oleh bakteri Gram-positif yang tidak berendospora masing-masing sebanyak 75%, 81% dan 78%. Berdasarkan uji motilitas, isolat pada hari ke-3 dan hari ke-4 sampai ke-6 didominasi oleh isolat yang bersifat motil masing-masing 100% dan 94%, berbeda dengan hari ke-8 sampai hari ke-10 isolat non motil hanya ada 55,6% .

Berdasarkan sifat fisiologinya isolat pada hari ke-3 didominasi oleh bakteri yang bersifat katalase negatif sebesar 75,0%, oksidase negatif sebesar 25% dan memiliki aktivitas proteolitik sebesar 25%, serta tidak ada satupun isolat yang membentuk zona bening pada media MRSA+CaCO₃. Fermentasi hari ke-4 sampai ke-6 didominasi oleh bakteri yang bersifat katalase negatif sebesar 68,8%, oksidase negatif sebesar 37,5% dan memiliki aktivitas proteolitik sebesar 31,1% akan tetapi isolat yang membentuk zona bening pada media MRSA+CaCO₃ cukup banyak yaitu sekitar 43,8%. Fermentasi hari ke-8 sampai ke-10 didominasi oleh bakteri yang bersifat katalase negatif sebesar 55,6%, oksidase

Tabel 1 Karakteristik isolat bakteri penghasil asam

Karakteristik	Lama fermentasi						Total	
	H3	H4	H5	H6	H8	H10		
Jumlah Isolat	4	6	5	5	4	5	29	
Bentuk sel	Oval	1	4	1	2	3	2	13
	Bulat	0	1	0	0	1	0	2
	Batang	3	1	4	3	0	3	14
Gram positif	4	6	5	5	4	5	29	
Endospora	Ada	1	1	2	0	1	1	6
	Tidak	3	5	3	5	3	4	23
Motil	4	5	5	5	3	1	23	
Nonmotil	0	1	0	0	1	4	6	
Katalase (-)	3	3	4	4	1	4	19	
Oksidase (-)	1	2	1	3	2	1	11	
Bersifat proteolitik	1	0	2	3	0	1	7	
MRSA+CaCO ₃	0	2	3	2	3	4	14	

negatif 33,3% dan hanya 11,1% yang memiliki aktivitas proteolitik, akan tetapi isolat yang membentuk zona bening pada media MRSA+CaCO₃ cukup banyak yaitu sekitar 77,8%.

Berdasarkan sifat morfologi dan fisiologi terhadap ke-29 isolat yang dihasilkan menunjukkan bahwa terdapat keragaman yang tinggi dari awal sampai akhir fermentasi. Umumnya bakteri penghasil asam khususnya bakteri asam laktat memiliki sifat Gram positif batang atau kokus, tidak berendospora dan tidak motil, umumnya katalase negatif, oksidase negatif dan memiliki aktivitas proteolitik serta menghasilkan asam khususnya asam laktat (Hutkins 2006).

Beberapa peneliti menyatakan bahwa BAL adalah bagian dari mikrobiota asli dari hewan air. Jenis BAL ini juga bervariasi tergantung pada spesies ikan dan lokasi geografisnya (Ringo 2004). Juga telah dilaporkan bahwa galur halotoleran *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* telah berhasil diisolasi dari pencernaan beberapa spesies ikan laut, yang ditangkap di Shimoda, Shizuoka, Jepang (Itoi *et al.* 2008). Nair dan Surendran (2005) juga telah mengisolasi bakteri asam laktat dari bermacam-macam sampel ikan segar dan beku serta udang. Tiga belas spesies *Lactobacillus* telah diidentifikasi di antara 64%, di antaranya *L. plantarum* adalah

spesies yang dominan. Buntin *et al.* (2008) melaporkan bahwa seratus enam puluh galur BAL telah diisolasi dari saluran pencernaan ikan laut.

Berdasarkan hasil pengujian morfologi dan fisiologi terhadap ke-29 isolat yang diperoleh menunjukkan bahwa 14 isolat adalah bakteri penghasil asam (Tabel 1). Diantara 14 isolat ini terdapat bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi bekasam.

KESIMPULAN

Fermentasi bekasam selama 10 hari, menghasilkan bekasam dengan aroma asam, warna yang mulai berubah menjadi abu-abu pucat, dan tekstur yang mulai lunak. Perubahan kimia dan mikrobiologi selama fermentasi bekasam meliputi penurunan kadar garam, nilai pH, total mikrob, serta peningkatan total asam tertitrasi. Nilai total bakteri penghasil asam meningkat sampai fermentasi hari ke-6 namun menurun setelah hari ke-6 sampai 10. Berdasarkan hasil karakterisasi terhadap ke-29 isolat, diduga terdapat bakteri asam laktat yang berperan selama fermentasi bekasam ikan mas.

DAFTAR PUSTAKA

Alvarado S, Garcia Almandarez BE, Martin SE, Regalado C. 2006. Food-associated

- lactic acid bacteria with antimicrobial potential from tradisional Mexican foods. *Microbiologia* 48:206-268.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Virginia USA: Association of Official Analytical Chemist Inc. Arlington.
- Axelsson L. 2004. Lactic acid bacteria: classification and physiology. Di dalam Salminen S, Wright SV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects* Third edition, Revised and Expanded. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Buntin N, Chanthachum S, Hongpattarakere T. 2008. Screening of lactic acid bacteria from gastrointestinal tracts of marine fish for their potential use as probiotics. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 30: 141-148.
- Leroy F, De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology* 15: 67-78.
- Hugas M. 1998. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation meat and meat products. *Meat Science*. 49: S139-S150
- Hutkins RW. 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Iowa: IFT Press. Blackwell Publishing Ltd. hlm 3-49.
- Itoi S, Abe T, Washio S, Ikuno E, Kanomata Y, Sugita H. 2008. Isolation of halotolerant *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from intestinal tract of coastal fish. *International Journal of Food Microbiology* 121: 116-121.
- Kilinc B, Cakli S, Tolasa S, Dincer T. 2006. Chemical, microbiological and sensory changes associated with fish sauce processing. *European Food Research and Technology* 222: 604-613.
- Kopermsub P, Vichitphan S, Yunchalard S. 2006. Lactic acid bacteria isolated from *Plaa-som*, a Thai fermented fish product. *Thai Journal of Biotechnology* 7: 32-39.
- Nair PS, Surendran PK. 2005. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from fish and prawn. *Journal of Culture Collection* 4: 48-52.
- Olympia MSD. 1992. Fermented fish products in the Philippines. Dalam: *Application of Biotechnology to Traditional Fermented Foods*. Washington: National Academy Press
- Paludan-Muller C, Madsen M, Sophanodora P, Gram L, Møller PL. 2002. Fermentation and microflora of *plaa-som*, a Thai fermented fish product prepared with different salt concentrations. *International Journal Food Microbiology* 73: 61-70.
- Paludan-Muller C, Huss HH, Gram L. 1999. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Thai low-salt fermented fish product and the role of garlic as substitute for fermentation. *International Journal of Food Microbiology* 46:219-229.
- Rahayu WP, Ma'oen S, Suliantari, Fardiaz S. 1992. *Teknologi Fermentasi Produk Perikanan*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi.
- Ringo E. 2004. Lactic acid bacteria in fish and fish farming. Di dalam Salminen S, Wright SV, Ouwehand A, editor. *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Tanasupawat S, Shida O, Okada S, Komagata K. 2000. *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. And *Weissella thailandensis* sp. nov., isolated from fermented fish in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50: 1479-1485.
- Tanasupawat S, Okada S, Komagata K. 1998. Lactic acid bacteria found in fermented fish in Thailand. *The Journal of General and Applied Microbiology* 44:193-200
- Veljovic K, Terzic-Vidojevic A, Vukasinovic M, Strahinic I, Begovic J, Lozo J, Ostojic M, Topisirovic L. 2007. Preliminary characterization of lactic acid bacteria isolated from Zlata cheese. *Journal of Applied Microbiology* 103: 2142-2152.
- Yahya, Wibowo J, Darmadji P. 1997. Karakterisasi bakteri asam laktat dan perubahan kimia pada fermentasi bekasam ikan mujair (*Tilapia mossambica*). *BBPS-UGM* 10(1B): 105-116.

