

## ISOLASI, KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT, DAN ANALISIS PROKSIMAT DARI MAKANAN FERMENTASI BEKASAM IKAN MUJAIR (*Oreochromis mossambicus* Peters)

Olivia Nisa Mumtiah, Endang Kusdiyantini dan Anto Budiharjo

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang,  
Semarang 50275 Telepon (024)7474754; Fax. (024)76480690  
email: olivianisa@gmail.com

### Abstract

Bekasam is one of the traditional fermented food made from freshwater fish with the addition of salt and carbohydrate sources. Mozambique fish is used as a raw material, because it has high protein content and can be easily obtained in the market at affordable prices. Mozambique fish is used to make bekasam with the addition of salt as much as 18% of the weight of the fish and brooded for 48 hours, then added with toasted rice as much as 15% of the weight of the fish and fermented for 7 days. This study aimed to isolate and characterize lactic acid bacteria and analyze the nutritional value of mozambique fish bekasam. The methods used were isolation, characterization and proximate analysis of the mozambique fish bekasam. Isolation of lactic acid bacteria was carried out on mozambique fish as a control, mozambique fish before and after the addition of toasted rice. Isolation obtained 6 isolates of Gram positive bacteria, 5 isolates of cocci shaped bacteria and 1 rod shaped bacteria. Based on morphological and physiological tests, six isolates were Gram positive, non motile, catalase negative, positive to produce acid and had proteolytic activity. Bekasam mozambique fish contained as much as 0.64% lactic acid and pH is 5.39. The results of the proximate analysis bekasam mozambique fish showed that the fermentation process increased the nutritional value bekasam quality mozambique fish with 5.5270% water content, 33.0628% ash content, 0.0788% crude fiber content, 45.0546% crude protein content, 7.9419% crude fat content and 13.9407% carbohydrate content.

Keywords : bekasam , lactic acid bacteria , isolation, characterization, proximate analysis

### Abstrak

Bekasam merupakan salah satu produk fermentasi tradisional yang dibuat dari ikan air tawar dengan penambahan garam dan sumber karbohidrat. Ikan mujair digunakan karena memiliki kandungan protein yang tinggi dan bisa diperoleh dengan mudah dipasaran dengan harga terjangkau. Penelitian ini menggunakan ikan mujair dalam pembuatan bekasam dengan penambahan garam sebanyak 18% dari berat ikan dan diperam selama 48 jam, setelah itu dilakukan penambahan beras sangrai sebanyak 15% dari berat ikan dan difermentasi selama 7 hari. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi bakteri asam laktat, menguji karakterisasi isolat berdasarkan sifat bakteri asam laktat dan analisis proksimat bekasam ikan mujair. Metode yang digunakan adalah isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat dan analisis proksimat terhadap bekasam ikan mujair. isolasi bakteri asam laktat dilakukan pada ikan mujair, ikan mujair sebelum dan sesudah pemberian beras sangrai. Hasil isolasi diperoleh 6 isolat bakteri Gram positif, 5 isolat bakteri berbentuk kokus dan 1 isolat bakteri berbentuk batang. Berdasarkan uji morfologis dan fisiologis yang meliputi uji motilitas, uji katalase, uji pembentukan asam dan uji proteolitik, menunjukkan bahwa enam isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif, non motil, katalase negatif, positif pembentukan asam dan mempunyai aktivitas proteolitik. Bekasam

ikan mujair memiliki kandungan asam laktat sebanyak 0,64% dengan pH 5,39. Hasil analisis proksimat bekasam ikan mujair menunjukkan bahwa proses fermentasi meningkatkan kualitas nilai nutrisi bekasam ikan mujair dengan kadar air 5,5270%, kadar abu 33,0628%, kadar serat kasar 0,0788%, kadar protein kasar 45,0546%, kadar lemak kasar 7,9419% dan kadar karbohidrat 13,9407%.

Kata kunci : bekasam, bakteri asam laktat, isolasi, karakterisasi, analisis proksimat

## Pendahuluan

Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta beberapa asam, namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak. Hasil fermentasi diperoleh karena terjadinya metabolisme mikroba pada suatu bahan pangan dalam keadaan anaerob dengan hasil penguraiannya adalah air, CO<sub>2</sub>, energi dan sejumlah asam organik lainnya, seperti asam laktat, asam asetat, etanol serta bahan-bahan organik yang mudah menguap.. Perkembangan mikroba-mikroba dalam keadaan anaerob biasanya dicirikan sebagai proses fermentasi (Muchtadi, 2010).

Fermentasi ikan merupakan suatu cara pengolahan melalui proses memanfaatkan penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks. Protein kompleks tersebut terdapat dalam tubuh ikan yang diubah menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana dengan bantuan enzim yang berasal dari tubuh ikan atau mikroorganisme serta berlangsung dalam keadaan yang terkontrol (Adawyah, 2007).

Bekasam merupakan produk olahan ikan dengan cara fermentasi yang rasanya asam. Olahan tersebut banyak dikenal di daerah Jawa Tengah, Sumatera Selatan dan Kalimantan Selatan. Ikan yang dapat digunakan sebagai bekasam merupakan jenis ikan air tawar. Pengolahan bekasam di daerah Kalimantan Selatan umumnya dikenal dengan nama samu. Bahan baku

berupa ikan gabus, betok, sepat siam dan sepat rawa dengan penambahan garam sekitar 15-20%, dan ditambahkan samu atau beras sangrai sebanyak 15%, kemudian difermentasi sekitar satu minggu sampai menghasilkan aroma dan rasa yang khas bekasam (Adawyah, 2007).

Bakteri asam laktat berperan dalam memperbaiki cita rasa produk fermentasi dan mempunyai efek pengawetan. Prinsip pengawetan bahan pangan dengan metode fermentasi bakteri asam laktat adalah peningkatan konsentrasi asam laktat dan penurunan pH melalui metabolisme karbohidrat oleh bakteri asam laktat. Konsentrasi asam laktat yang relatif tinggi dan pH yang rendah akan menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen, sehingga produk pangan terfermentasi yang dihasilkan akan dapat disimpan lebih lama dan aman bagi konsumen (Aryanta, 2007).

Bakteri asam laktat adalah mikroorganisme yang dominan ditemukan dalam produk fermentasi ikan (Ostergaard, 1998). Bakteri asam laktat mempunyai peran penting dalam fermentasi makanan yang dapat menyebabkan perubahan rasa, bau/aroma dan tekstur dengan meningkatkan pengawetan makanan. Proses pengawetan ini menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. Bakteri asam laktat memproduksi beberapa metabolit seperti asam organik (laktat dan asetat), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin (Desniar, 2013).

Fermentasi asam laktat terbagi menjadi dua jenis, yaitu

homofermentatif (sebagian besar hasil akhir merupakan asam laktat) dan heterofermentatif (hasil akhir berupa asam laktat, asam asetat, etanol dan CO<sub>2</sub>). Secara garis besar, keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat akan diubah menjadi laktat (atau asam laktat) dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD<sup>+</sup>. Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim-enzim yang berperan di dalam jalur metabolisme glikolisis (Hidayat et.al., 2006).

Bakteri asam laktat secara fisiologi dikelompokkan sebagai bakteri Gram positif. berbentuk kokus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* (Yang, 2000).

Produk fermentasi biasanya mengandung nilai gizi yang lebih tinggi dari bahan asalnya, fermentasi dapat mengawetkan makanan dan juga memberikan sifat-sifat tertentu yang dapat menjadi daya tarik bagi konsumen, unik, serta dapat meningkatkan nilai ekonomis (Hutkins, 2006). Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui komponen utama dari suatu bahan makanan, komponen utamanya terdiri dari kadar air, kadar abu, karbohidrat, protein serta lemak (Hui, 2006).

## Metode Penelitian

### Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika dan Laboratorium Ilmu Nutrisi dan Pakan Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro

pada bulan September 2013 – April 2014.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah autoklaf, lampu bunsen, kapas sumbat, inkubator, ose, tabung reaksi, cawan petri, pipet volume, micropipet, gelas benda, gelas penutup, pipet tetes, erlenmeyer, gelas kimia, hot plate, vortex, timbangan analitik, mortar, refrigerator, toples kaca, blender, labu kjedahl, soxhlet, oven, cawan porselen, pH meter, gelas piala, gelas beker, tutup gelas beker, botol timbang, pinset, eksikator, tanur listrik, cawan porselin, kompor listrik, gelas ukur, pompa vacuum, batang pengaduk, buchner, labu penyari, kondensor, water bath, labu destilasi, buret mikro, corong gelas, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah ikan mujair, garam, beras sangrai, De Man Ragosa Sharpe Agar (MRSA), Skim Milk Agar (SMA), Nutrient Broth (NB), DTBPA (Dextrose Trypton Bromkesol Purple Agar), 0,5% CaCO<sub>3</sub>, 0,9% NaCl, Larutan Hucker's Kristal Violet (Gram A), Larutan Mordan Lugol's Iodin (Gram B), Larutan Alkohol Aseton (Gram C), Larutan cat Gram Safranin (Gram D), Aquadest steril, buffer 4.0 dan 7.0, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> teknis, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 N, air suling, NaOH 1,5 N, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4%, HCl 0,1 N, NaOH 45%, selenium reagen mixture, fenolftealin, kertas saring Watchman 41 dan pelarut N-Hexane.

### Pembuatan Bekasam Ikan Mujair

Bekasam dibuat dari ikan mujair yang diperoleh dari pasar tradisional. Pertama, ikan disiangi, dibuang insang, isi perut dan kepala, kemudian dicuci bersih lalu ditiriskan. Penambahan garam dilakukan pada ikan dengan perbandingan 18% dari

berat ikan mujair kemudian diperam selama 48 jam, setelah 48 jam garam pada ikan dibersihkan, kemudian dilakukan penambahan sumber karbohidrat berupa beras sangrai dengan perbandingan 15% dari berat badan ikan mujair dan diperam selama 7 hari untuk dilakukan proses fermentasi. Pengamatan bakteri asam laktat dilakukan pada ikan mujair sampel fermentasi sebagai kontrol, 48 jam dan 7 hari pada proses fermentasi (sebelum dan sesudah penambahan beras sangrai).

#### Isolasi dan Karakterisasi BAL pada Bekasam Ikan Mujair

Isolasi bakteri dari bekasam ikan mujair dengan mengambil sampel bekasam dikulturkan ke dalam medium MRSA sebagai medium selektif dalam pertumbuhan bakteri asam laktat dengan penambahan 0,5%  $\text{CaCO}_3$ . Tahapan kultur bakteri tersebut adalah sebagai berikut: sebanyak 1 gram sampel bekasam dihancurkan dalam mortar steril untuk mendapatkan kondisi sampel yang homogen, kemudian sampel bekasam yang telah homogen dilakukan pengenceran dengan menggunakan 45 ml NaCl 0,9%, sehingga di dapatkan pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl, sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ , begitulah seterusnya hingga didapatkan pengenceran  $10^{-5}$ . Selanjutnya dari pengenceran  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  di ambil sebanyak 1 ml dan di inokulasikan pada cawan petri yang berisi medium MRSA. Cawan petri yang berisi biakan mikroba tersebut diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam, kemudian dipilih koloni yang tumbuh dan mempunyai morfologi berbeda satu sama lainnya. Pengamatan terhadap morfologi koloni meliputi bentuk, warna, tepi, dan elevasi koloni. Koloni

yang telah terpilih kemudian diisolasikan kedalam medium MRSA dengan metode kuadran untuk dilakukan pemurnian. Pemurnian isolat dilakukan dari koloni yang didapatkan pada tahap isolasi sebelumnya dengan diinokulasikan pada medium miring MRSA, sehingga didapatkan isolat murni bakteri. Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui sifat morfologis dan fisiologis bakteri.

#### Uji Sifat Morfologi

##### Pengecatan Gram

Pengecatan Gram dilakukan dengan membuat apusan mikroba yang telah didapatkan dari proses isolasi pada gelas benda dengan cara aseptis, kemudian pada apusan ini ditetesi larutan hucker's kristal violet (Gram A) dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dibilas dengan air dengan cara memegang gelas benda pada posisi miring. Sisa air yang tertinggal pada gelas benda dibuang dan ditetesi dengan larutan mordan lugol's iodine (Gram B) dan dibiarkan selama 1 menit, setelah itu dicuci kembali dengan air, kemudian dihilangkan warnanya dengan menggunakan larutan alkohol 96% (Gram C) dan dibiarkan selama 30 detik, lalu dicuci dengan air, kemudian diwarnai dengan larutan safranin (Gram D) dan dibiarkan selama 2 menit. Gelas benda selanjutnya dibilas dengan air dan dikeringanginkan. Pengamatan dilakukan secara mikroskopik menggunakan mikroskop, sehingga dapat ditentukan bentuk sel bakteri serta reaksi Gramnya. Bakteri Gram positif akan ditunjukkan dengan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif akan ditandai dengan warna merah.

##### Uji Motilitas

Pengujian motilitas bakteri dilakukan dengan mengambil secara aseptis isolat bakteri dengan menggunakan jarum ose lancip. Isolat bakteri ditusukkan ke dalam Nutrient Broth (NB) yang mengandung agar 0,5% (semi solid). Inkubasi dilakukan pada suhu 35°C selama 48 jam. Hasil positif motilitas bakteri ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada medium. Bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar dan hanya berupa garis saja, maka bakteri tersebut bersifat non motil.

#### Uji Sifat Fisiologi

##### Uji Katalase

Uji katalase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kandungan enzim katalase atau peroksidase pada suatu bakteri yang dapat mendegradasi akumulasi senyawa toksik berupa H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada bakteri tersebut. Hasil positif pada uji katalase ditunjukkan dengan munculnya gelembung udara (O<sub>2</sub>) dari koloni bakteri yang ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Uji katalase dilakukan secara aseptik, gelas objek dibersihkan menggunakan alkohol, lalu larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% ditetaskan diatas gelas objek, kemudian isolat bakteri diletakkan dalam tetesan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dan diamati adanya gelembung-gelembung O<sub>2</sub> di dalam larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% tersebut.

##### Uji Aktivitas Proteolitik

Uji aktivitas proteolitik dilakukan untuk mengetahui bakteri asam laktat proteolitik yang terdapat pada bekasam ikan mujair. Isolat bakteri asam laktat yang didapatkan pada tahap isolasi selanjutnya diuji aktivitas proteolitiknya dengan menginokulasikan isolat pada medium skim milk agar, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Isolat proteolitik ditandai

dengan pembentukan zona bening pada medium skim milk agar.

##### Uji Pembentukan Asam

Uji pembentukan asam merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kandungan asam pada suatu isolat. Isolat digoreskan pada medium DTBPA (Dextrose Trypton Bromkesol Purple Agar) dan diinkubasi selama 24–48 jam. Uji dikatakan positif jika terbentuk area berwarna kuning pada sekitar koloni yang tumbuh.

##### Total Asam Laktat

Sebanyak 10 gram sampel dihancurkan dengan menggunakan mortar. Sampel yang telah homogen dilarutkan dengan akuades dalam gelas piala sampai tanda tera 100 ml, kemudian sampel didiamkan selama 30 menit dan diaduk. Larutan yang berisi sampel tersebut disaring dan di pipet sebanyak 10 ml untuk dimasukkan ke dalam gelas beker, kemudian ditambahkan 2-3 tetes fenolftalin dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai warna berubah menjadi merah muda. Persentase asam laktat yang terbentuk dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Total Asam Laktat} = \frac{a \times b \times c \times d}{e} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Jumlah NaOH yang dibutuhkan dalam titrasi (ml)

b = Normalitas NaOH (0,1 N)

c = Berat molekul asam laktat (90)

d = Faktor pengenceran (10)

e = Berat sampel (mg)

##### pH

Sampel sebanyak 1 g dilarutkan dalam 10 ml aquades dan dihomogenkan, kemudian pH diukur. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan buffer pH 4.0 dan pH 7.0.

### Analisis Proksimat

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui komponen utama dari suatu bahan makanan, komponen utamanya terdiri dari kadar air, kadar abu, serat kasar, karbohidrat, protein kasar, serta lemak kasar.

### Hasil dan Pembahasan

#### Pembuatan Bekasam Ikan Mujair

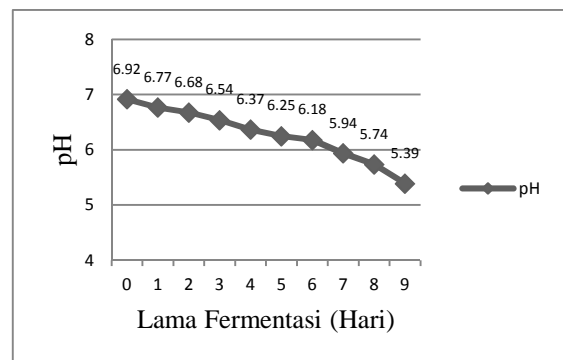
Bekasam dibuat dari ikan mujair dengan penambahan garam dan beras sangrai. Penambahan garam berfungsi untuk menarik air dari jaringan ikan mujair dan mikroorganisme pembusuk pada ikan yang tidak tahan garam. Penambahan garam ini juga sebagai seleksi bakteri yang toleran terhadap garam seperti bakteri asam laktat, fermentasi dengan garam ini dilakukan selama 48 jam, penambahan beras sangrai dilakukan setelah penambahan garam. Fermentasi ikan dan beras sangrai ini dilakukan selama 7 hari. Irianto (2012) menyatakan bahwa karbohidrat didekomposisi melalui proses fermentasi menjadi gula-gula sederhana, kemudian dikonversi menjadi asam yang berperan sebagai pengawet dan memberikan rasa dan bau spesifik pada bekasam.

#### Nilai pH dan Total Asam Laktat

Nilai pH produk fermentasi bekasam mengalami penurunan setiap harinya, nilai pH awal dari bekasam adalah 6,92 dan setelah dilakukan fermentasi selama 48 jam dengan menggunakan garam, nilai pH bekasam menjadi 6,68. Nilai pH bekasam terus mengalami penurunan hingga hari ke-7 pada proses fermentasi dengan menggunakan beras sangrai yaitu 5,39. Hal ini menunjukkan bahwa produk bekasam mempunyai sifat asam,

#### Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Bekasam Ikan Mujair

asam yang dihasilkan disebabkan oleh aktivitas bakteri yang tumbuh selama proses fermentasi. Menurut Aryanta (2007), konsentrasi asam laktat yang relatif tinggi dan pH yang rendah akan menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk dan patogen, sehingga produk pangan fermentasi yang dihasilkan akan dapat disimpan lebih lama dan aman bagi konsumen.



Gambar 1. Perubahan nilai pH selama fermentasi bekasam ikan mujair

Total asam laktat pada produk bekasam selama proses fermentasi adalah sebanyak 0,64%. Asam laktat ini dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang tumbuh pada produk bekasam selama proses fermentasi berlangsung, hal ini disebabkan karena adanya pemecahan glukosa oleh bakteri asam laktat. Ostergaard et.al (1998) menyatakan bahwa bakteri yang dominan ditemukan dalam fermentasi ikan adalah bakteri asam laktat. Menurut Wikandari (2011), penurunan pH dan peningkatan total asam pada bekasam diduga diawali dengan proses sakarifikasi karbohidrat menjadi glukosa dan selanjutnya glukosa akan dimetabolisme terutama oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat dan asam-asam organik lainnya selama proses fermentasi bekasam

Tabel 1. Ciri-ciri morfologi isolat bakteri bekasam ikan mujair

Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		
	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi	Bentuk Sel	Gram	Motilitas
B1	Circular	Transparant	Entire	Raised	Coccus	Positive	( - )
B2	Circular	White-Yellowish	Entire	Flat	Bacil	Positive	( - )
B3	Circular	Transparant	Entire	Flat	Coccus	Positive	( - )
B4	Circular	White-Yellowish	Entire	Flat	Coccus	Positive	( - )
B5	Circular	White	Entire	Flat	Coccus	Positive	( - )
B6	Circular	White	Entire	Raised	Coccus	Positive	( - )

Keterangan :

( - ) menunjukkan uji negatif ,

( + ) menunjukkan uji positif

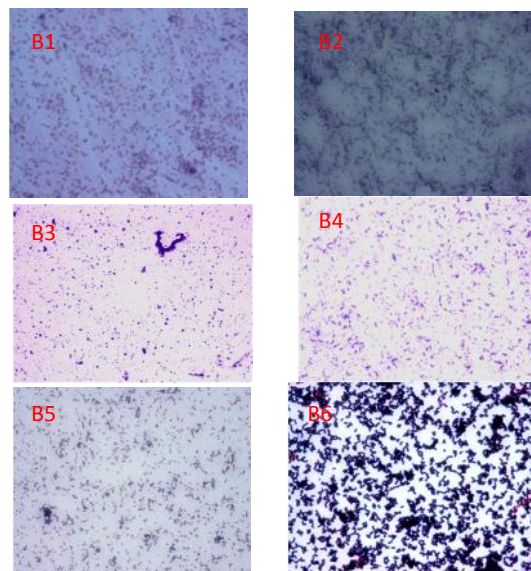
B1, B2 merupakan isolat kontrol / ikan mujair

B3, B4, B5 merupakan isolat ikan mujair dengan penambahan garam

B6 merupakan isolat ikan mujair dengan penambahan beras sangrai

Semua isolat yang didapatkan pada tahap isolasi tersebut merupakan bakteri Gram positif, karena menunjukkan warna ungu setelah dilakukan pengecatan Gram Hal ini sesuai dengan pendapat Irianto (2007), bahwa bakteri asam

laktat merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif akan memberikan warna ungu ketika di beri cat Gram, Hasil pengamatan dibawah mikroskop didapatkan bakteri dengan bentuk batang dan kokus atau bulat.



Gambar 2. Pewarnaan Gram isolat bakteri bekasam ikan mujair pada perbesaran 1000x

Uji motilitas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui pergerakan suatu bakteri pada medium agar semi solid. Bakteri dikatakan motil apabila pertumbuhannya menyebar dalam

agar tegak dan tumbuh di sekeliling tusukan agar, ini menunjukkan bahwa bakteri mempunyai Flagella, yaitu salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas)

pada sel bakteri. Bakteri dikatakan non motil apabila pertumbuhannya hanya terpusat pada tusukan agar dan tidak menyebar dari tusukan awal. Uji motilitas dilakukan terhadap keenam isolat bakteri yang didapatkan dari fermentasi bekasam dan semuanya menunjukkan hasil negatif atau non motil, karena semua isolat hanya tumbuh pada tusukan medium agar tegak.

Uji Katalase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui adanya enzim katalase pada suatu isolat bakteri. Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri berdasarkan kebutuhannya terhadap oksigen. Enam isolat bakteri tersebut menunjukkan uji negatif terhadap  $H_2O_2$ , hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat anaerob fakultatif, karena tidak mempunyai enzim katalase. Katalase adalah enzim yang dapat mengkatalisasi penguraian hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) menjadi air dan  $O_2$ . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel, karena bahan ini dapat menginaktivasi enzim katalase dalam sel.

Berdasarkan uji pembentukan asam yang telah dilakukan didapatkan hasil bahwa keenam isolat menunjukkan hasil positif memfermentasikan karbohidrat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna medium DTBPA (Dekstrosa Trypton Bromkresol Purple Agar) menjadi kuning. Hal ini sekaligus menunjukkan bahwa terdapat bakteri asam yang berperan dalam perubahan rasa asam produk bekasam hasil fermentasi. Menurut Ross et.al. (2002), Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang dapat memproduksi asam organik, yaitu asam laktat dan asam asetat yang juga berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk, hal ini diperkuat dengan pendapat Theron dan Lues (2011), bahwa asam

organik efektif digunakan dalam pengawetan makanan, karena selain aktivitas anti bakteri, asam organik juga bertindak sebagai penambah rasa asam (acidulants).

Uji aktivitas proteolitik terhadap enam isolat yang diuji menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona bening pada medium skim milk agar. Aktivitas proteolitik bakteri pada produk bekasam ini menunjukkan bahwa protein pada ikan mengalami penguraian oleh bakteri proteolitik menjadi komponen yang lebih sederhana yang secara langsung akan menyebabkan perubahan citarasa khas produk bekasam yang dihasilkan. Menurut Adawyah (2007), selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptida, kemudian asam-asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam membentuk citarasa produk.

Berdasarkan uji morfologis dan fisiologis terhadap keenam isolat bakteri bekasam ikan mujair dapat diketahui bahwa terdapat bakteri pada ikan mujair berbentuk kokus dan batang, pada tahap awal hingga akhir fermentasi didapatkan bakteri berbentuk kokus, bakteri yang didapatkan merupakan bakteri asam laktat, karena memiliki sifat Gram positif, non motil, katalase negatif, positif pembentukan asam dan mempunyai aktivitas proteolitik. Menurut Afriani (2010), Proses fermentasi pangan secara tradisional dilakukan oleh lebih dari satu jenis mikroorganisme yang bersifat sinergistik.

Pertumbuhan mikroorganisme pada beberapa jenis makanan fermentasi bersifat suksesi, artinya proses perubahan yang terjadi selama fermentasi dilakukan oleh beberapa jenis mikroorganisme yang tumbuh secara bergantian. Isolat bakteri yang berbentuk kokus



merupakan bakteri dari genus *Pediococcus*, *Leuconostoc*, ataupun *Streptococcus*, sedangkan isolat bakteri yang berbentuk batang merupakan bakteri genus *Lactobacillus*.

#### Analisis Proksimat

Analisis proksimat merupakan suatu analisis yang dilakukan untuk menggolongkan komponen suatu bahan pangan berdasarkan komponen kimia dan fungsinya, antara lain adalah kadar air, abu, serat, protein, lemak dan karbohidrat.

Tabel 2. Perbandingan nilai nutrisi ikan mujair dan bekasam ikan mujair dalam 100% bahan kering

Komponen (%)	Ikan Mujair Segar	Bekasam Ikan Mujair
Kadar Air	7,0089	5,527
Kadar Abu	16,0206	33,0628
Serat Kasar	3,0574	0,0788
Protein	67,9882	45,0546
Lemak	12,7062	7,9419
Karbohidrat	3,2850	13,9407

Kadar air ikan mujair lebih besar apabila dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Penurunan kadar air ini terjadi karena proses penggaraman yang dilakukan pada proses fermentasi, karena garam akan menarik molekul air yang ada pada jaringan ikan, sehingga menghindarkan terjadinya pembusukan pada ikan. Menurut Winarno (1995), penggaraman pada ikan dengan cara menaburkan kristal garam pada daging ikan akan menyerap dan menarik air dari dalam daging ikan, air merupakan komponen penting dalam bahan pangan yang dapat mempengaruhi penampakan, tekstur dan citarasa.

Kadar abu pada suatu bahan pangan menunjukkan kandungan

komponen unsur mineral utama seperti kalsium, kalium, magnesium, natrium, sulfur dan fosfor pada suatu produk pangan. Kadar abu pada ikan mujair lebih kecil bila dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Meningkatnya kadar abu ini disebabkan karena penambahan garam pada ikan mujair selama proses fermentasi, karena garam mengandung beberapa unsur mineral seperti kalsium dan mineral lain yang akan menambah kandungan mineral pada ikan mujair selama proses fermentasi. Peningkatan kadar abu pada bekasam disebabkan karena adanya penambahan garam dalam proses pembuatan bekasam.

Serat kasar ikan mujair lebih besar apabila dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Hal ini terjadi karena perubahan sifat ikan yang mengalami proses perubahan fisiologis pada tubuh ikan, sehingga mempengaruhi struktur daging ikan yang dihasilkan.

Kadar protein kasar pada ikan mujair lebih besar dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Penurunan kadar protein selama proses fermentasi ikan dikarenakan terjadinya degradasi protein menjadi bentuk yang lebih sederhana yang diakibatkan oleh aktivitas proteolitik bakteri yang mengandung enzim protease selama proses fermentasi berlangsung. Menurut Winarno (1995), protein dapat mengalami degradasi yaitu pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana oleh pengaruh enzim. Hasil-hasil degradasi protein dapat berbentuk seperti proteosa, pepton, polipeptida, peptida, asam amino, dan beberapa senyawa lainnya.

Kadar lemak mengalami penurunan selama proses fermentasi, hal ini dapat diketahui dari jumlah kadar lemak pada ikan mujair lebih besar bila dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Lemak

dihasilkan dari oksidasi lemak yang berasal dari pemecahan lemak yang dapat menghasilkan asam-asam lemak yang banyak menghasilkan aroma-aroma yang khas pada suatu produk pangan, selain itu penempatan produk selama proses fermentasi juga mempengaruhi penurunan kadar lemak. Pendapat Aryanta (1994), selama fermentasi berlangsung akan terjadi degradasi lemak karena adanya aktivitas enzim lipase yang secara alami terdapat dalam bahan pangan atau yang dihasilkan oleh mikroba yang tumbuh dalam bahan pangan fermentasi. Lemak akan dipecah menjadi asam lemak volatil dan non volatil yang akan membentuk aroma dan cita rasa. Syarif dan Halid (1993) menyatakan bahwa penyimpanan produk pada toples gelas dan dalam suatu ruang yang terhindar dari matahari akan memperlambat reaksi oksidasi lemak. Suasana yang bebas dari oksigen ini menyebabkan tidak adanya oksidasi lemak yang terkandung dalam daging ikan. Menurut Efendi (2010), hasil degradasi protein dan lemak dapat menghasilkan senyawa cita rasa, bau khas disebabkan karena adanya senyawa metil keton dan butil aldehyd. Selain itu, kandungan asam amino nitrogen yang tinggi juga dapat mempengaruhi cita rasa.

Hasil analisis proksimat menunjukkan bahwa kadar karbohidrat mengalami peningkatan selama proses fermentasi berlangsung, hal ini dapat diketahui dari jumlah kadar karbohidrat pada ikan mujair lebih kecil bila dibandingkan dengan bekasam ikan mujair. Peningkatan kadar karbohidrat selama proses fermentasi ini disebabkan karena penambahan beras sangrai sebagai sumber karbohidrat pada proses fermentasi, mikroorganisme pada ikan akan menghidrolisis karbohidrat pada

produk pangan menjadi komponen yang lebih sederhana, sehingga menyebabkan peningkatan kadar karbohidrat pada bekasam ikan mujair.

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa terdapat enam isolat bakteri asam laktat dari bekasam ikan mujair yang merupakan bakteri Gram positif, non motil, katalase negatif, positif pembentukan asam dan mempunyai aktivitas proteolitik. Nilai pH bekasam ikan mujair adalah 5,39 dengan total asam laktat 0,64%. Hasil analisis proksimat bekasam ikan mujair menunjukkan kadar air 5,5270%, kadar abu 33,0628%, kadar serat kasar 0,0788%, kadar protein kasar 45,0546%, kadar lemak kasar 7,9419% dan kadar karbohidrat 13,9407%.

### Daftar Pustaka

- Adawyah, R. 2007. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. Bumi Aksara, Jakarta.
- Aryanta, W.R. 1994. Lactid Acid Fermented Fish Product. *Majalah Chemic Unud* 42(21): 10-15.
- Aryanta, I W. R. 2007. Peranan Bakteri Asam Laktat Dalam Industri Pengolahan Bahan Pangan. *Prosiding Orasi Ilmiah Guru Besar Universitas Udayana tahun 1991 – 2005*. Badan Penjaminan Mutu Universitas Udayana, Denpasar.
- Desniar, I. Rusmana, A. Suwanto, dan N.R. Mubarik. 2013. Characterization of lactic acid bacteria isolated from an Indonesian fermented fish (bekasam) and their antimicrobial activity against pathogenic bacteria. *Journal*

- food agriculture 25(6) : 489-494.
- Efendi, Y dan Yusra. 2010. Dasar-Dasar Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Bung Hatta Press, Padang.
- Hidayat, N, Masdiana dan Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Hui dan H. Yiu. 2006. Handbook of Food Science, Technology and Engineering. Taylor & Franscis Group, Boca Raton.
- Hutkins, R.W. 2006. Microbiology and Technology of Fermented Foods. IFT Press, USA.
- Irianto, K. 2007. Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Yrama Widya, Bandung.
- Irianto, H.E. 2012. Produk Fermentasi Ikan. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Muchtadi, T.R dan F. Ayustaningwarno. 2010. Teknologi Proses Pengolahan Pangan. Alfabeta, Bandung.
- Ostergaard, A, P.K. Ben, E.M. Barik, J. Yamprayoon, C. Wedel-Neergaard, H.H. Huss, and L. Gram. 1998. Fermentation and Spoilage of Som-faka Thai Low-salt Fish Product. Jurnal Tropical Science 38:105-112.
- Ross, R.P dan C.H. Morgan. 2002. Preservation and Fermentation. Journal Int J Food Microbiology 79:1-16.
- Theron, M.M dan J.F.R. Lues. 2011. Organic Acids and Food Preservation. CRC Press, United States.
- Wikandari, P.R.; Suparno; Y. Marsono, dan E.S. Rahayu. 2011. Potensi Bekasam Bandeng (*Chanos chanos*) sebagai Sumber Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitor. Jurnal Biota 16(1):145-152.
- Winarno. 1995. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yang, Z. 2000. Antimicrobial compounds and ectracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria structures and properties. Disertation. Univercity of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry, Helsinki.