

**Isolasi dan identifikasi bakteri dari produk fermentasi telur ikan tambakan
(*Helostoma temminckii* C.V)
(*Isolation and identification of bacteria from fermented kissing gourami fish roes
(Helostoma temminckii C.V)*)**

Rafitah Hasanah

*Jurusan Budidaya Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman
Jl. Gunung Tabur No. 1. Kampus Gn. Kelua Samarinda 76123
E-mail: vitah31@gmail.com*

ARTICLE INFO

Article history:

Received March 1, 2022

Received in revised form April 7, 2022

Accepted August 2, 2022

Keywords: *fermentation, isolation, identification, kissing gourami fish roes*



ABSTRACT

*Kissing gourami fish roes is a traditional salt fermented fish product widely consumed in east Kalimantan. This product is still made traditionally by applying spontaneous fermentation with added salt. This research aimed to isolate and identify bacteria found in fermented kissing gourami fish roes. The research consists of three steps: producing, isolating and bacteria-identifying. In this research kissing gourami fish roes has been fermented for one year so that fish roes fermented can be obtained. Those colonies were isolated and preserved using tryptic soy agar (TSA) media and determined using BBL Crystal method. The results described 5 (five) different colony of bacteria grew dominantly. The bacteria were identified as *Bacillus megaterium*, *Leifsonia aquatica*, *Corynebacterium propinquum* and *Lysinibacillus sphaericus*.*

PENDAHULUAN

Ikan tambakan merupakan komoditas lokal yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, masyarakat biasa membudidayakannya untuk dikonsumsi maupun sebagai ikan hias. Pada umumnya ikan ini dikonsumsi dalam bentuk segar dan produk olahan seperti ikan asin. Telur ikan tambakan merupakan produk samping selama proses pengolahan ikan. Masyarakat Kalimantan Timur memanfaatkan telur ikan ini untuk diolah menjadi produk fermentasi yang dikenal dengan nama telur biawan. Proses fermentasi yang dilakukan oleh masyarakat daerah tersebut adalah dengan metode penggaraman. Usaha pengolahan telur ikan oleh masyarakat telah berlangsung hingga sekarang, hal ini didukung oleh adanya ketersediaan bahan baku. Data hasil tangkapan ikan tambakan di daerah Kutai Kartanegara pada tahun 2010 adalah sebesar 3.443,1 ton (KKP Kutai Kartanegara 2010).

Majundar dan Basu (2010) menyatakan bahwa fermentasi merupakan metode pengawetan secara tradisional yang mudah dan murah dengan tujuan untuk pengawetan dan pengolahan. Selama proses fermentasi bahan pangan akan mengalami perubahan sifat fisik dan kimia, seperti flavor, aroma, tekstur, daya cerna, dan daya simpan. Proses fermentasi biasanya dilakukan terhadap ikan dengan ukuran kecil, ikan yang kurang baik mutunya, dan sisa-sisa ikan pada waktu penangkapan yang terdiri dari campuran berbagai jenis ikan (rucah). Proses ini dilakukan untuk meningkatkan nilai ekonomis ikan tersebut.

Fermentasi telur ikan tambakan merupakan fermentasi spontan, karena selama pembuatan produk pangan tersebut tidak ditambahkan starter mikroba. Sanni *et al.* (1998); Holzapfel, (2002); diacu dalam Huch *et al.* (2008) menyatakan bahwa mikroba yang berperan aktif dalam proses fermentasi berkembang biak secara spontan yang berasal dari lingkungan sekitar. Fermentasi secara spontan pada produk perikanan umumnya menggunakan garam dengan konsentrasi tinggi untuk menyeleksi mikroba tertentu dan menghambat pertumbuhan mikroba yang menyebabkan kebusukan sehingga hanya mikroba tahan garam yang hidup.

Penelitian fermentasi semakin penting untuk masa yang akan datang, disamping sebagai pengawetan juga sebagai usaha diversifikasi produk pangan sehingga dapat menjadi pangan fungsional. Kualitas produk yang dihasilkan sangat ditentukan oleh peranan bakteri yang terlibat selama proses fermentasi. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi bakteri yang terlibat dalam fermentasi spontan. Bakteri yang didapatkan diharapkan merupakan bakteri yang menguntungkan sehingga dapat diaplikasikan kembali sebagai *starter* guna mempercepat proses fermentasi.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini, dilaksanakan pada bulan Agustus 2010 hingga April 2011, di Laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Ilmu dan Kelautan. Bahan baku yang digunakan adalah telur ikan tambakan segar yang berasal dari pasar tradisional Segiri, Samarinda Kalimantan Timur.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui 3 tahap, yaitu (1) pembuatan produk fermentasi telur tambakan, (2) isolasi bakteri dan (3) identifikasi bakteri.

1. Pembuatan Produk Fermentasi Telur Ikan Tambakan

Proses pembuatan fermentasi telur Tambakan adalah sebagai berikut: telur tambakan dibersihkan terlebih dahulu. Telur yang telah bersih kemudian diberi garam rakyat sebanyak 250 gram untuk 1 Kg telur ikan. Campuran antara telur tambakan dan garam kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca yang sudah bersih lalu ditutup rapat dan disinilah dimulai proses fermentasi berlangsung. Produk fermentasi yang digunakan pada penelitian ini menggunakan sampel yang telah difermentasi selama setahun.

2. Isolasi Bakteri (Anihouvi *et al.* 2007)

Mikroorganisme dikembangbiakkan dengan menginokulasikan mikroorganisme ke agar nutrient. Teknik inokulasi yang digunakan adalah teknik cawan tuang, dengan sebelumnya dilakukan pengenceran terlebih dahulu agar hasil koloni yang didapat berupa biakan murni. Setelah diinkubasi dalam keadaan aerob selama 24 jam, koloni tunggal yang terbentuk diperiksa menggunakan pewarnaan Gram untuk melihat karakteristik dinding sel dan bentuk dari sel tersebut. Pengamatan dengan mikroskop dilakukan dengan menggunakan mikroskop jenis mikroskop cahaya. Untuk pengamatan dinding sel bakteri, digunakan perbesaran sebesar 1000x dan menggunakan minyak emersi.

3. Identifikasi Bakteri

Bakteri kultur murni yang telah diperoleh, diidentifikasi untuk mengetahui jenis bakteri pada produk fermentasi telur ikan tambakan. Metode identifikasi ini menggunakan kit BBL Crystal Garam positif. Prinsip dari metode ini adalah menanam bakteri pada *microplates* (mikro cawan) tertentu yang akan mengubah kandungan warna dalam lubang mikro sehingga didapatkan data warna-warna yang akan dicocokkan pada tabel warna yang memiliki nilai tertentu. Nilai-nilai tersebut selanjutnya dimasukkan dalam bank data (*software*) BBL Crystal dan diperoleh hasil identifikasi bakteri hingga tingkat spesies.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Deskripsi Produk

Produk fermentasi telur ikan tambakan yang telah mengalami proses fermentasi menghasilkan perubahan warna coklat, tekstur sedikit agak keras. Memiliki paduan rasa ikan, asin, gurih dan asam seimbang. Aromanya merupakan paduan aroma ikan, asam dan khas fermentasi ikan seimbang. Produk fermentasi telur ikan tambakan adalah produk yang umum dikenal dan dikonsumsi oleh masyarakat Kalimantan Timur. Produk ini disukai baik oleh pria dan wanita, dikonsumsi merata disemua kelompok usia dan semua kelompok pekerjaan, tetapi tidak dikonsumsi secara rutin.

2. Hasil Isolasi Bakteri

Hasil isolasi diawali dengan pengenceran pada sampel fermentasi telur ikan dengan larutan pengencer (0,85% NaCl) steril, kemudian dilanjutkan dengan penanaman sampel ke media agar *Tryptic soy agar* (TSA). Pengenceran ini dilakukan untuk mengetahui perkiraan jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam sampel fermentasi telur ikan. Selain itu, hal ini juga dilakukan agar koloni bakteri yang tumbuh pada agar tidak terlalu padat dan memudahkan dalam pengidentifikasian bakteri selanjutnya. Pengenceran dilakukan dari 10^{-1} hingga 10^{-5} , sehingga diperoleh jumlah koloni bakteri $1,49 \times 10^4$ koloni.

3. Identifikasi Bakteri

Seluruh koloni bakteri yang tumbuh pada masing-masing hasil pengenceran, diambil beberapa koloni berbeda untuk kemudian diidentifikasi. Pemilihan koloni yang berbeda didasarkan pada morfologinya. Berdasarkan pemilihan tersebut, didapat 5 koloni bakteri, yang diberi nama iso 1, iso 2, iso 3, iso 4, dan iso 5. Untuk identifikasi pada tahap awal dilakukan pemurnian dan pewarnaan Gram untuk melihat apakah bakteri tersebut sudah murni atau belum. Pewarnaan Gram juga dilakukan untuk melihat bentuk bakteri dan reaksi pewarnaan Gram. Bila bakteri sudah murni maka dapat dilakukan uji biokimia selanjutnya, untuk menentukan genus dan spesies dari masing-masing bakteri. Hasil uji biokimia isolat bakteri ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Karakteristik uji biokimia isolat bakteri

Pengamatan uji biokimia	Isolat Bakteri					Cowan (1974)	Ballows (1991)	Babay (2001)	Cowan (1974)/ Ballows (1991)
	Iso 1	Iso 2	Iso 3	Iso 4	Iso 5	BM	LA/CA	CP	LB/BS
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-
Bentuk sel	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang	batang
Katalase	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+	ND	ND	ND
O/F	-	O/F	F	F	F	-	ND	ND	ND
Motilitas	+	-	-	-	-	+	+/+ (b)	ND	+
Trehalose	+	-	-	-	-	ND	ND	-	ND
Lactose	-	-	-	-	-	+(a)	+(b)	-	ND
Methyl- α & β -glucoside	-	-	-	-	-	+(a)	+/+ (b)	-	-/-
Sucrose	+	-	-	-	-	+(a)	+/- (b)	-	-
Mannitol	+	-	-	-	-	+/- (a)	+/+ (b)	-	-/-
Maltotriose	-	-	-	-	-	ND	ND	-	ND
Arabinose	-	-	-	-	-	+/- (a)	ND	-	-/-
Glycerol	-	-	-	-	-	ND	ND	-	ND
Fructose	+	-	-	-	-	+(a)	ND	-	ND
Urea	-	-	+	+	+	+	-/- (b)	-	+
Esculin	+	-	-	-	-	ND	-/+ (b)	ND	ND
Identity	BM= 82%	LA/CA = 58 %	CP = 76 %	LS/BS = 52%	LS/BS = 52 %				

Keterangan: BM = *Bacillus megaterium*, LA/CA = *Leifsonia aquatica* / *Corynebacterium aquaticum*, CP = *Corynebacterium propinquum*, LS/BS = *Lysinibacillus sphaericus* / *Bacillus sphaericus*. ND = tidak ada data. O = oksidatif, F = fermentatif, (a) = Sanni *et al.* (2002), (b) = Giammanco *et al.* (2006),

Teori dari identifikasi bakteri dengan teknik konvensional adalah membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri yang ciri-cirinya 100% serupa, maka dilakukan pendekatan terhadap bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru (Cowan 1974). Berdasarkan hasil uji biokimia memberikan empat jenis spesies bakteri yang ditunjukkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri

Isolat	Jenis bakteri teridentifikasi
Iso 1	<i>Bacillus megaterium</i>
Iso 2	<i>Leifsonia aquatica</i>
Iso 3	<i>Corynebacterium propinquum</i>
Iso 4,5	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>

Jenis bakteri pada isolat iso 1 adalah *Bacillus megaterium*. Bakteri ini biasanya terdapat pada produk fermentasi, seperti kecap ikan, dan terasi (Adawyah 2008). Anihouvi *et al.* (2007) menyatakan bahwa bakteri dari spesies *Bacillus* termasuk dalam golongan halofilik karena dapat tumbuh dalam kondisi garam dengan konsentrasi tinggi dan keberadaannya dalam jumlah besar dapat memanfaatkan protein sebagai sumber energi. Hal ini berarti bakteri ini bersifat proteolitik, hasil aktivitas proteolitik ini dapat membentuk aroma dan flavor pada produk fermentasi. Sekhon *et al.* (2006) menambahkan bahwa *Bacillus megaterium* juga mampu menghasilkan lipase pada kisaran pH 4-11 dan menghasilkan lipase tertinggi pada kisaran pH 6,5-8.

Bakteri yang terkandung pada isolat 2 adalah *Leifsonia aquatica*. Menurut Luckman dan Wehle (2007) bakteri *Leifsonia aquatica* merupakan bakteri dari turunan *Corynebacterium aquaticum*. Bakteri jenis ini biasanya banyak terdapat di saluran usus ikan segar, sehingga diduga ikut berperan pada saat proses fermentasi. *Corynebacterium* juga ikut berperan pada produk fermentasi seperti peda, terasi, bakasang dan *lanhouin* (Adawyah 2008; Anihouvi *et al.* 2007). Beberapa spesies dari *Corynebacterium* telah digunakan untuk memproduksi asam amino, termasuk L- asam glutamat yang merupakan bahan tambahan pada makanan (Burkovski 2008).

Isolat iso 3 adalah *Corynebacterium propinquum*. Anihouvi *et al.* (2007) menyatakan bahwa *Corynebacterium* juga termasuk dalam golongan bakteri halofilik. Pada proses fermentasi dengan konsentrasi garam yang tinggi bakteri ini dapat tumbuh walaupun dalam jumlah yang kecil. Kebanyakan dari bakteri ini (tidak semua) memfermentasi karbohidrat dengan menghasilkan asam laktat (Murray 2005).

Isolat iso 4 dan iso 5 diidentifikasi sebagai bakteri *Lysinibacillus sphaericus*. Baumann *et al.* (1991) diacu dalam Josic *et al.* (2008) menyatakan bahwa bakteri ini juga dikenal sebagai *Bacillus sphaericus*. Bakteri ini dapat memetabolisme berbagai senyawa organik dan asam amino akan tetapi tidak dapat memetabolisme gula. Bakteri ini termasuk dalam golongan halofilik karena dapat tumbuh dengan konsentrasi garam 6 %. Bakteri ini terdapat pada produk fermentasi *jeotgal* (produk fermentasi dari bahan baku udang, kerang, ikan, telur ikan dan jeroan ikan) yang berasal dari Korea (Guan *et al.* 2011).

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini diperoleh jumlah bakteri yang tertinggi pada *Tryptic soy agar* + NaCl 5% dengan jumlah bakteri $1,5 \times 10^4$ (koloni/g). Jenis bakteri yang teridentifikasi dari produk fermentasi telur ikan tambakan adalah *Bacillus megaterium*, *Leifsonia aquatica*, *Corynebacterium propinquum*, *Lysinibacillus sphaericus*. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan cara penambahan jumlah garam yang bervariasi pada proses fermentasi, waktu fermentasi dan menginokulasikan bakteri-bakteri lain yang diduga juga ikut berperan dalam proses pembuatan produk fermentasi telur ikan tambakan. Perlu dikaji lebih lanjut identifikasi bakteri melalui uji biokimia yang lebih rinci dan teknik molekuler 16s RNA serta umur simpan produk fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawyah R. 2008. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta.
- Anihouvi VB, Dawson ES, Ayenor GS, Hounhouigan JD. 2007. Microbiological changes in naturally fermented cassava fish (*Pseudolithus* sp) for *lanhouin* production. *J. of Food Microbiology*. 116; 287-291.
- Babay AH. 2001. Pleural effusion due to *Corynebacterium propinquum* In a patient with squamous cell carcinoma. *Annals of Saudi Medicine*. Vol 21. No 5-6.
- Burkovski A. 2008. *Corynebacteria: Genomics and Molecular Biology*. [http:// www. horizonpress.com](http://www.horizonpress.com) [21 April 2011].
- Ballows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. 1991. *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology. Washington DC.
- Cowan ST. 1974. *Manual for Identification of Medical Bacteria*. Great Britain: Cambridge University Press.
- Giammanco MG, Pignato S, Grimont PAD, Grimont F, Santangelo C, Leonardi G, Giuffrida A, Legname V, Giammanco G. 2006. Interstitial pulmonary inflammation due to *Microbacterium* sp. after heart transplatation. *J. of Medical Microbiology*.
- Guan L, Cho KH, Lee JH. 2011. Analysis of the cultivable bacterial community in *jeotgal*, a Korean salted and fermented seafood, and identification of its dominant bacteria. *J. Food Microbiology*. 28: 101-113.
- Huch M, Hanak A, Specht I, Dortu CM, Thonart P, Mbugua S, Holzapfel WH, Hertel C, Franz CMAP. 2008. Use of *Lactobacillus* strains to start cassava fermentations for gari production. *J. of Food Microbiology*. 128: 258–267.
- Josic JD, Porobic M, Milicivic M, Vukovic D, Pivic R, Zdravkovic M, Coric T. 2008. RAPD fingerprinting of indigenous *Lysinibacillus fusiformis* isolates from stabilized sludge and oil-polluted soil. International Meeting on Soil Fertility Land Management and Agroclimatology. p: 927-933.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2010. Data statistik Hasil Tangkapan Ikan Tambakan. Dinas Perikanan Kutai Kartanegara. Kalimantan Timur.
- Majundar RK, Basu S. 2010. Characterization of the traditional fermented fish product *lona ilish* of Northeast India. *J. of Traditional Knowledge*. Vol.3. 453-458.
- Murray PR, Rosenthal KS, Pflaller MA. 2005. *Medical Microbiology*. Publisher: Elsevier Mosby. United States of America.
- Sanni AI, Asiedut M, Ayenort GS. 2002. Microflora and Chemical Composition of Momoni, a Ghanian Fermented Fish Condiment. *Journal of food composition and analysis*. 15: 577-583.
- Sekhon A, dahiya N, Tewari RP, Hoondal GS. 2006. Production of Extracellular Lipase by *Bacillus megaterium* AKG-1 in Submerged Fermentation. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol.5 pp. 179-183.