



Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada bekasam ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dadih

Noor Ira Sari*, Tjipto Leksono, Cindi Harta Yuliana

Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

Article history

Diterima:
2 September 2022
Diperbaiki:
30 Januari 2023
Disetujui:
7 Februari 2023

Keyword

bekasam;
dadih;
lactic acid bacteria;
oreochromis niloticus

ABSTRACT

*Bekasam is a fermented fish product with an additional carbohydrate source that has a salty and sour. The purpose of the research was to determine the effect of adding dadih at different concentrations (without dadih, 5%, 10%, and 15% dadih based on fish meat weight) to carp bekasam on the sensory evaluation, pH value, total lactic acid bacteria and the type of lactic acid bacteria grown on carp bekasam. The research method used is experimental and designed as a completely randomized design (CRD) for sensory evaluation, pH values, and total lactic acid bacteria. Meanwhile, the methods of descriptive were used for identifying the types of lactic acid bacteria. The results showed that sensory evaluation is the value of odor (8.2), taste (7.9), texture (7.9), appearance (8.0), pH value (4.83; 4.58; 4.52; 4.37), and total lactic acid bacteria (1.5×10^6 ; 2.1×10^6 ; 3.2×10^6 ; 5.3×10^6 cfu/g). Bekasam with the addition of 5% dadih gave the best results but was not significantly different from the results of the addition of 10% dadih. Thus, adding 5% dadih is used more efficiently in the production of bekasam. The morphological and physiological bacteria isolated from carp bekasam without adding dadih were *Bacillus* sp. Meanwhile, the bacteria isolated from carp bekasam added with dadih (5, 10, and 15%) were *Lactobacillus* sp.*



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi
Email : n.ira@lecturer.unri.ac.id
DOI 10.21107/agrointek.v17i4.16669

PENDAHULUAN

Bekasam merupakan produk fermentasi ikan dengan tambahan sumber karbohidrat yang memiliki rasa asin dan asam yang khas, umumnya menggunakan ikan air tawar seperti ikan nila dan mas (Nuraini et al. 2014). Bekasam berasal dari daerah Provinsi Sumatera Selatan dan Kalimantan Selatan, dan pembuatannya biasanya ada dua cara yaitu secara spontan dan tidak spontan (penambahan *starter*) (Antoni 2016). Cara pembuatan bekasam secara spontan yaitu dengan fermentasi ikan dengan penambahan karbohidrat (nasi putih) dan garam.

Nasi putih bermanfaat sebagai pengganti gula untuk memberi energi dan mempercepat pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL). BAL akan menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat, etil alkohol, asetat, dan propionat, dimana senyawa-senyawa tersebut berfungsi sebagai pengawet dan menimbulkan rasa asam pada bekasam (Hutabarat et al. 2018). Garam memiliki tekanan osmotik tinggi sehingga menyebabkan terjadinya osmosis pada daging ikan dan pada sel-sel mikroorganisme, sehingga plasmolisis yang menyebabkan air bebas pada sel mikroorganisme keluar dan mikroorganisme menjadi mati (Irianto 2013). Untuk menambah jumlah bakteri asam laktat pada bekasam bisa menggunakan starter tambahan selain nasi, salah satunya yaitu dadih.

Dadih merupakan salah satu jenis *yoghurt* yang mengandung bakteri probiotik hidup dimana pembuatannya menggunakan susu fermentasi tradisional yang khas di daerah Sumatera Barat, Riau, dan Jambi. Dadih biasanya terbuat dari susu kerbau pada tabung bambu dan tertutup dengan daun pisang serta terfermentasi secara alami pada suhu ruang selama 2 hari. Proses fermentasi ini memanfaatkan berbagai macam mikroba yang terdapat pada permukaan dalam bambu, permukaan daun pisang, dan susu kerbau. Ruas-ruas dalam bambu memiliki mikroba diantaranya khamir, kapang, dan mikroba pembentuk asam laktat (Dasril 2019).

Bakteri asam laktat memiliki peran penting pada proses fermentasi bahan organik. Peranan BAL dalam proses fermentasi menghasilkan bahan pangan dengan citarasa dan karakteristik yang berbeda dibanding bahan pangan kondisi segar (Lestari et al. 2018). BAL mampu menghasilkan asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2), dan berbagai hasil metabolisme seperti

asam organik yang memiliki manfaat untuk kesehatan (Bawole et al. 2018). BAL memiliki peran besar memberikan manfaat fungsional bagi tubuh sebagai zat penghasil antibakteri/bakteriosin dan bakteri probiotik (Marini et al. 2016).

Astriani (2011) telah melakukan penelitian tentang aplikasi *yoghurt* sebagai sumber BAL pada bekasam ikan mas menghasilkan nilai aroma, rasa, tekstur dan rupa terbaik secara berurut 6,03; 5,85; 5,69; dan 5,95, nilai pH 4,61 serta total bakteri asam laktat $9,2 \times 10^7$ cfu/ g. Penelitian tentang identifikasi BAL yang terdapat pada bekasam ikan nila dengan penambahan dadih belum cukup banyak sehingga belum diketahui secara pasti jenis dan jumlah mikroba yang berperan aktif di dalamnya. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, penulis tertarik melakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada bekasam ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dadih.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ikan nila hidup dengan kisaran berat 70-220 g/ekor dari penjual ikan segar di Pekanbaru. Bahan lainnya yaitu dadih dari Kecamatan Kampar, Kabupaten Kampar; garam halus (merk dolphin), dan nasi putih. Bahan analisis mikrobiologi dan kimia yaitu larutan fisiologis (NaCl 0,9%) (Merck, Jerman), *de Man Rogosa Shape Agar* (MRSA) (Merck, Jerman), akuades (Aqua DM, Indonesia), kristal violet (Merck, Jerman), larutan iodine (Merck, Jerman), alkohol 96% (Merck, Jerman), alkohol 70% (Brataco, Indonesia), safranin (Merck, Jerman), pewarna malasit (Merck, Jerman), minyak immersi (Merck, Jerman), *nutrient broth* (Merck, Jerman), 3% H_2O_2 (Merck, Jerman), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Merck, Jerman), MRSA + $CaCO_3$ 1%, MR-VP (Merck, Jerman), indikator *methyl red* (Merck, Jerman), *Simmons Citrate Agar* (SCA) (Merck, Jerman), dan *bromthymol blue* (Merck, Jerman).

Peralatan dalam pembuatan bekasam ikan nila yaitu baskom, talenan, pisau, toples plastik, timbangan analitik, plastik steril, kertas label. Peralatan analisis mikrobiologi yaitu sarung tangan, penutup kepala, masker, gelas erlenmeyer merek pyrex, mortar, kapas, cawan petri,

timbangan digital, jarum ose, oven, aluminium foil, tabung reaksi merek pyrex, bunsen, spiritus, mikropipet, blue tip, autoklaf, inkubator, gelas objek, cover glass, mikroskop, tissue, colony counter, hot plate, magnetic stirrer. Peralatan analisis kimia yaitu cawan porselin, pipet, gelas ukur dan pH meter.

Proses Pembuatan Bekasam Ikan Nila

Langkah-langkah pembuatan bekasam ikan nila dengan penambahan dadih berdasarkan metode modifikasi dari Astriani (2011). Proses pembuatan bekasam dimulai dengan mematikan ikan dengan cara memukulnya, kemudian membuang sisik dan insang, membuang isi perut. Selanjutnya, membelah ikan menjadi dua bagian tanpa putus, kemudian dicuci dan ditiriskan selama 30 menit. Ikan ditimbang terlebih dahulu lalu diberi garam secara merata di dalam plastik steril dengan jumlah 10% dari masing-masing berat ikan dan diamankan selama 15 menit dalam kondisi suhu ruang. Kemudian tambahkan dadih sebanyak 0, 5, 10, dan 15% dari berat ikan. Lalu tambahkan nasi putih sebagai sumber karbohidrat sebanyak 30% dari berat ikan pada masing-masing ikan. Selanjutnya aduk ikan yang telah tercampur dadih dan nasi dengan cara meremas-remas sehingga dadih dan nasi tercampur dan menutupi permukaan ikan secara merata, lalu masukkan ke dalam toples dan tutup rapat. Beri label setiap ikan sesuai perlakuan. Kemudian fermentasi dalam suhu ruang (diletakkan dalam lemari) selama 3 hari dengan keadaan gelap tertutup dengan kain hitam.

Uji Organoleptik (SNI 01-2346-2006)

Uji organoleptik memiliki peran penting untuk mendeteksi mutu produk agar penyimpangan dan perubahan dalam produk dapat terdeteksi. Uji organoleptik pada penelitian ini terdiri dari nilai aroma, rasa, tekstur dan rupa menggunakan lembar penilaian hedonik dari SNI 01-2346-2006 tentang petunjuk pengujian organoleptik atau sensoris. Jumlah panelis mengikutsertakan 25 mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau semi terlatih.

Analisis Nilai pH (AOAC 2005)

Ukur pH Sampel dengan menggunakan pH meter. Hidupkan pH meter terlebih dahulu dan netralkan dengan menggunakan akuades, kemudian encerkan sampel dengan 10 ml akuades, lalu celupkan pHmeter untuk mengetahui nilai pH, biarkan sebentar sampai muncul pembacaan yang

stabil. Angka yang muncul dari hasil pembacaan pada pHmeter merupakan nilai pH tetap.

Total Bakteri Asam Laktat (Fardiaz 1989)

Tahap pertama uji total bakteri asam laktat yaitu melakukan pengenceran, homogenkan 1g sampel pada 9 ml garam fisiologis. Lalu ambil sampel yang telah homogen sebanyak 1mL dan pindahkan ke dalam tabung reaksi berisi 9mL larutan fisiologis yang telah steril, lalu homogenkan kembali, tabung tersebut merupakan pengenceran 10^{-1} . Setelah homogen ambil lagi sebanyak 1mL, tambahkan 9ml larutan fisiologis untuk pengenceran 10^{-2} . Lakukan pengenceran sampai pengenceran 10^{-6} . Pindahkan 1mL dari masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri dan tambahkan media MRSA sebanyak 15mL, lalu homogenkan dengan cara menggeser cawan dengan bentuk angka delapan. Penumbuhan bakteri pada media MRSA sebanyak dua kali ulangan (duplo) pada tiap pengenceran. Selanjutnya inkubasi pada suhu 30°C selama 2 x 24 jam. Setelah koloni bakteri tumbuh lakukan perhitungan jumlah total bakteri asam laktat. Penghitungan total BAL melalui rumus sebagai berikut:

$$\text{Total bakteri (cfu/ g)} = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] \times d}$$

Keterangan

ΣC : jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

$n1$: jumlah koloni pada cawan pengenceran pertama yang dihitung

$n2$: jumlah koloni pada cawan pengenceran kedua yang dihitung

d : besar pengenceran pertama yang dihitung

Tahap Isolasi Bakteri (Candra *et al.*, 2006)

Identifikasi sampel dadih dan masing-masing perlakuan bekasam (0, 5, 10, dan 15% penambahan dadih) untuk mengetahui jenis BAL yang tumbuh pada masing-masing sampel. Langkah awal dalam proses isolasi bakteri yaitu mengambil sebanyak 1g dari masing-masing sampel, lalu homogenkan dengan cara menghancurkannya dalam mortar steril. Setelah homogen masukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis, tabung ini merupakan pengenceran pertama (10^{-1}). Ambil 1 ml dari

pengenceran pertama, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis, aduk sampai homogen, tabung merupakan pengenceran kedua (10^{-2}). Pengenceran dilakukan sampai tingkat pengenceran kelima. Ambil 1 mL dari setiap pengenceran menggunakan mikropipet, kemudian masukkan ke dalam cawan petri steril berisi media agar MRSA. Selanjutnya inkubasi biakan ini pada suhu 30°C selama 2 x 24 jam.

Koloni terpisah yang tumbuh berwarna putih, tepian bening, dan berukuran 0,1-3mm pada media agar MRSA selanjutnya inokulasi kembali pada media MRSA + CaCO_3 1% dengan metode goresan kuadran dan inkubasi pada suhu 30°C selama 2 x 24 jam agar diperoleh bakteri murni. Setelah diinkubasi, koloni yang tumbuh pada media dipergunakan untuk uji morfologi dan fisiologi.

Pewarnaan Gram (Mustaqim et al. 2014)

Untuk mengamati karakteristik mikroskopis sel bakteri perlu uji pewarnaan gram. Perlakuan pewarnaan gram yaitu pada isolat bakteri setelah selesai inkubasi selama 2 x 24 jam. Langkah pertama ambil isolat bakteri dan ratakan pada gelas objek yang sudah bersih. Fiksasi pada api bunsen sampai kering, lalu teteskan zat warna kristal violet, tunggu selama satu menit supaya kristal violet meresap pada sel bakteri. Kemudian bilas dengan akuades mengalir lalu tetesi larutan iodine, tunggu selama satu menit dan bilas kembali dengan akuades mengalir, lanjutkan dengan pembilasan menggunakan alkohol 96% yang mengalir. Teteskan dengan zat warna safranin, tunggu selama 30 detik dan bilas kembali dengan akuades mengalir. Tunggu hingga preparat kering lalu amati pada mikroskop dengan perbesaran 100 kali. Bakteri gram positif akan terlihat dengan warna ungu karena bakteri tersebut bisa mengikat zat warna pada kristal violet, sementara itu bakteri gram negatif akan menunjukkan warna merah atau merah muda (Yulvizar et al., 2014).

Pewarnaan Spora (Mustaqim et al. 2014)

Ambil isolat bakteri lalu ratakan pada gelas objek secara aseptis lalu fiksasi di atas bunsen. Setelah itu, tetesi dengan pewarna hijau malakit dan biarkan selama 20 menit tanpa pemanasan. Lalu bilas dengan air mengalir dengan posisi gelas objek miring, selanjutnya keringkan dengan tissue. Setelah kering, teteskan zat warna safranin dan biarkan selama 30 detik lalu cuci kembali dengan air mengalir dan keringkan. Amati di

bawah mikroskop menggunakan lensa objektif yang telah teroles minyak immersi dengan perbesaran 100 kali. Endospora yang terdapat dalam sel vegetatif ataupun spora bebas akan berwarna hijau-biru, sementara sel vegetatif akan berwarna merah sampai merah muda.

Uji Motilitas (Mustaqim et al. 2014)

Tusukan isolat bakteri menggunakan jarum ose yang bagian ujungnya lurus pada *nutrient broth* yang mengandung agar 0,5% (agar lunak). Lalu inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 30°C . Bila pertumbuhan isolatnya menyebar, maka bakteri tersebut bersifat motil, namun apabila pertumbuhannya hanya berupa garis dan tidak menyebar, maka bakteri tersebut bersifat non-motil.

Uji Katalase (Mustaqim et al. 2014)

Ambil sedikit isolat bakteri dengan jarum ose lalu pindahkan ke gelas objek secara aseptis. Kemudian teteskan preparat dengan larutan 3% H_2O_2 . Keberadaan enzim katalase akan menunjukkan terbentuknya gelembung-gelembung udara seketika, namun jika tidak ada enzim katalase maka tidak akan terbentuk gelembung udara.

Uji MR-VP (*Methyl Red-Voges Praskauer*) (Mustaqim et al. 2014)

Inokulasikan isolat bakteri yang tumbuh pada media agar MRSA kedalam tabung reaksi berisi media MR-VP. Selanjutnya inkubasi pada suhu 30°C selama 2 x 24 jam. Selanjutnya tambahkan 5 tetes indikator *methyl red* pada tabung, jika hasilnya positif maka tabung akan berwarna merah, tetapi jika negatif maka tabung akan berwarna kuning.

Uji Sitrat (Mustaqim et al., 2014)

Inokulasikan isolat bakteri pada agar miring media *simmons citrate agar* secara aseptis lalu inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 30°C . Indikator pH yang digunakan yaitu *bromthymol blue*. Jika terjadi perubahan warna pada media dari hijau menjadi biru maka artinya uji tersebut positif. Uji sitrat positif menandakan bahwa bakteri tersebut mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, namun jika negatif media akan tetap berwarna hijau.

Uji TSIA (Mustaqim et al., 2014)

Tusukkan isolat bakteri pada agar miring TSIA pada bagian tegaknya dan menggores pada permukaan miringnya, lalu di inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 30°C . Uji ini berguna untuk

mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa, atau sukrosa, pembentuk gas dari glukosa dan produksi H₂S. Reaksi-reaksi pada media TSIA dapat dilihat pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian hedonik pada bekasam ikan nila dengan penambahan dadih meliputi nilai aroma, rasa, tekstur dan rupa. Hasil uji hedonik bekasam ikan nila dengan penambahan dadih dapat dilihat pada Tabel 2.

Nilai Aroma

Rata-rata nilai hedonik aroma bekasam ikan nila dengan penambahan dadih memiliki nilai tertinggi pada perlakuan bekasam dengan penambahan dadih 5% (D₅) dengan nilai 8,2 dan kriteria harum khas bekasam, spesifik bau asam, alkohol, segar. Nilai terendah pada perlakuan tanpa penambahan dadih (D₀) dengan nilai 6,0 dan kriteria cukup bau alkohol, asam, kurang segar. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi dadih berbeda pada bekasam ikan nila berpengaruh nyata dimana $F_{hitung} (2.139,48) > F_{tabel} (4,07)$ pada tingkat kepercayaan 95%, maka H₀ ditolak. Maka selanjutnya lakukan uji lanjut beda nyata jujur.

Hasil uji beda nyata jujur menunjukkan bahwa perlakuan D₀ berbeda nyata dengan semua perlakuan. D₅ tidak berbeda nyata dengan D₁₀, tetapi berbeda nyata dengan D₁₅. Perlakuan D₁₅ berbeda nyata dengan semua perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%.

Semakin tinggi konsentrasi dadih membuat nilai aroma semakin menurun, karena bau asam dan alkoholnya yang semakin menyengat sehingga panelis kurang menyukainya. Hal ini terjadi karena perpaduan nasi dan dadih menyebabkan kandungan lemak semakin banyak, lemak akan terpecah menjadi asam lemak bebas dan gliserol, lalu akan terpecah lagi menjadi aldehid dan keton rantai pendek yang menimbulkan bau khas. Bakteri asam laktat menghasilkan enzim protease, α -amilase, fitase, kitinase, dan lipase. Enzim lipase produksi bakteri menghidrolisis molekul lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Gliserol dan asam lemak yang teroksidasi ini menghasilkan energi dalam kondisi aerobik sehingga menimbulkan aroma yang khas pada bekasam. Selain itu, adanya garam pada pembuatan bekasam ini juga merangsang terjadinya oksidasi lipid. Hal ini menyebabkan terbentuknya asam-asam lemak volatil hasil dari asam-asam amino dan oksidasi lemak (Sari *et al.*, 2013).

Tabel 1 Reaksi-reaksi pada media TSIA

Bagian agar tegak (bawah)		Bagian agar miring (atas)		Keterangan
Reaksi	Warna	Reaksi	Warna	
Basa	Merah	-	Oranye	Tidak memfermentasi glukosa
Asam	Kuning	Basa	Merah	Fermentasi glukosa
Asam	Kuning	Asam	Kuning	Fermentasi laktosa atau sukrosa
Agar pecah/terangkat ke atas		-	-	Produksi gas
Agar berwarna hitam		-	-	Produksi H ₂ S

Sumber: (Fardiaz, 1989)

Tabel 2 Rata-rata nilai hedonik bekasam ikan nila dengan penambahan dadih

Perlakuan	Rata-rata			
	Aroma	Rasa	Tekstur	Rupa
D ₀ (tanpa dadih)	6,0 ^a ± 0,05	3,5 ^a ± 0,04	3,8 ^a ± 0,11	5,6 ^a ± 0,07
D ₅ (dadih 5%)	8,2 ^c ± 0,04	7,9 ^c ± 0,11	7,9 ^c ± 0,07	8,0 ^c ± 0,02
D ₁₀ (dadih 10%)	8,1 ^c ± 0,04	7,7 ^c ± 0,08	7,6 ^{bc} ± 0,08	8,0 ^c ± 0,06
D ₁₅ (dadih 15%)	7,7 ^b ± 0,02	5,8 ^b ± 0,06	7,4 ^b ± 0,14	6,8 ^b ± 0,02

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh notasi huruf yang berbeda berarti perlakuan berbeda nyata ($p < 0,05$)

Nilai Rasa

Rata-rata nilai hedonik rasa bekasam ikan nila dengan konsentrasi dadih berbeda memiliki nilai tertinggi pada perlakuan bekasam dengan penambahan dadih 5% (D₅) dengan nilai 7,9 dan kriterianya spesifik rasa bekasam ikan nila, asam, asin dan cukup gurih. Nilai terendah pada perlakuan tanpa penambahan dadih (D₀) dengan nilai 3,52 dan kriterianya asin, sedikit asam, tidak enak. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi dadih berbeda pada bekasam ikan nila berpengaruh nyata dimana $F_{hitung} (2.141,48) > F_{tabel} (4,07)$ pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Maka selanjutnya lakukan uji lanjut beda nyata jujur (BNJ).

Hasil uji beda nyata jujur menunjukkan bahwa perlakuan D₀ berbeda nyata dengan semua perlakuan. D₅ tidak berbeda nyata dengan D₁₀, tetapi berbeda nyata dengan D₁₅. Perlakuan D₁₅ berbeda nyata dengan semua perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%.

Bekasam secara umum menghasilkan rasa yang asam, rasa asam yang muncul selama fermentasi karena asam-asam organik yang terbentuk (Nuraini et al. 2014). Rasa asam pada bekasam terbentuk karena selama proses fermentasi terjadi penurunan pH dan peningkatan total asam (Andika 2018). Glukosa dalam karbohidrat akan pecah menjadi senyawa asam melalui jalur glikolisis yang menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat akan diubah oleh bakteri asam laktat menjadi senyawa-senyawa asam lain, seperti asam laktat, formiat, butirrat, asetat dan propionat. Senyawa-senyawa ini dapat menyebabkan rasa asam pada produk serta juga berfungsi sebagai pengawet (Desniar et al. 2012).

Bakteri homofermentatif bisa memecah glukosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis atau *Embden-Meyerhorf-Parnas* (EMP). Enzim yang berperan pada tahap ini yaitu enzim aldolase dan heksosa isomerase. Bakteri heterofermentatif bisa memecah glukosa menjadi asam laktat, propionat, asetat dan etanol melalui jalur oksidatif pentosa fosfat dengan enzim yang berperan yaitu fosfoketolase. BAL akan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat pada kondisi anaerob melalui tiga tahapan. Tahap pertama yaitu zat pati dari sumber karbohidrat (nasi putih) akan terhidrolisis menjadi maltosa oleh enzim α dan β amilase, selanjutnya molekul maltosa ini akan terpecah lagi menjadi glukosa

oleh maltase, tahap terakhir yaitu glukosa berubah menjadi asam laktat oleh BAL (Candra et al. 2006).

Pada fermentasi, glukosa akan pecah menjadi molekul asam piruvat, NADH, CO₂, H₂O, dan ATP, tetapi fermentasi tidak bereaksi sempurna memecah glukosa menjadi CO₂, H₂O dan besar ATP terbentuk juga tidak sebesar ATP pada kondisi aerob. Selama proses fermentasi berlangsung, asam amino juga akan terus mengalami peningkatan akibat dari adanya pemecahan protein oleh enzim peptidase sehingga memengaruhi citarasa bekasam. Citarasa pada bekasam juga pengaruh dari adanya inosin monofosfat yang terbentuk dari penguraian ATP (*Adenosin Trifosfat*) oleh aktivitas enzim (Candra et al. 2006).

Semakin tinggi konsentrasi dadih pada pembuatan bekasam membuat nilai rasa bekasam ikan nila semakin rendah karena semakin tidak gurih. Hal ini terjadi akibat aktivitas bakteri lipolitik yang menghidrolisis lemak menjadi asam lemak yang menyebabkan rasa dan bau agak tengik pada bekasam. Bakteri ini mampu menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol dengan bantuan enzim lipase (Candra et al. 2006).

Nilai Tekstur

Rata-rata nilai hedonik tekstur bekasam ikan nila dengan penambahan dadih memiliki nilai tertinggi pada perlakuan bekasam dengan penambahan dadih 5% (D₅) dengan nilai 7,9 dan kriterianya kenyal, lembek, daging lembut, dan cukup basah. Nilai terendah pada perlakuan tanpa penambahan dadih (D₀) dengan nilai 3,8 dan kriterianya tidak kenyal, kurang lembek, daging tidak lembut. Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi dadih berbeda pada bekasam ikan nila berpengaruh nyata dimana $F_{hitung} (1.056,05) > F_{tabel} (4,07)$ pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Maka selanjutnya lakukan uji lanjut beda nyata jujur (BNJ).

Hasil uji beda nyata jujur menunjukkan bahwa perlakuan D₀ berbeda nyata dengan semua perlakuan. D₅ tidak berbeda nyata dengan D₁₀, tetapi berbeda nyata dengan D₁₅. Perlakuan D₁₀ tidak berbeda nyata dengan D₁₅ pada tingkat kepercayaan 95%.

Perubahan tekstur bekasam menjadi kenyal, lembut dan lembek terjadi akibat proses

biokimiawi pada tubuh ikan sebagai akibat dari proses metabolisme bakteri pada bahan pangan dalam kondisi anaerob. Enzim amylase hasil produksi bakteri menghidrolisis amilum menjadi molekul maltosa, glukosa dan dekstrin. Bakteri yang terlibat pada proses fermentasi memerlukan energi dari glukosa, sehingga menghasilkan substrat setengah terurai. Hasil penguraian ini adalah energi, karbondioksida, air dan asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, etanol, alkohol dan ester. Bakteri asam laktat pada proses fermentasi menghasilkan asam laktat dari degradasi karbohidrat. Proses-proses ini menyebabkan tekstur ikan lebih lunak setelah fermentasi karena proses penguraian tubuh ikan akibat adanya aktivitas bakteri, enzim dan asam (Aulia *et al.*, 2018).

Tekstur basah pada bekasam terjadi akibat proses hidrolisis pati menjadi glukosa pada nasi putih dalam pembuatan bekasam. Hidrolisis pati merupakan proses substitusi hidroksil dan ion hidrogen hasil penguraian molekul air pada senyawa amilosa maupun amilopektin, sehingga ikatan glukosida putus dan membebaskan glukosa yang terikat pada senyawa amilosa. Hidrolisa pati dapat terjadi secara non-enzimatik (hidrolisa asam) dan hidrolisa enzimatik (menggunakan enzim α amilase dan β glukoamilase). Proses hidrolisis akan melalui dua tahapan yaitu likuifikasi dan sakarifikasi. Pada proses likuifikasi akan menghasilkan dekstrin yang akan berubah menjadi glukosa oleh enzim pada proses sakarifikasi. Proses fermentasi mendukung terjadinya proses sakarifikasi karena bekerja optimal pada pH 4-4,5. Enzim β glukoamilase merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses sakarifikasi pati (Jayanti, 2011).

Semakin banyak penambahan dadih membuat tekstur bekasam semakin lembek. Hal ini terjadi karena aktivitas bakteri asam laktat dan enzim yang mendegradasi protein ikan. Enzim protease hasil produksi bakteri menghidrolisis polipeptida menjadi peptida dan asam amino. Bakteri memanfaatkan asam amino terutama senyawa nitrogen untuk pertumbuhan. Senyawa ini tidak dapat melakukan sintesis oleh bakteri sehingga butuh dari lingkungan hidup bakteri. Sumber senyawa nitrogen dipecah dari asam amino, peptida, pepton dan asam nukleat. Bakteri memanfaatkan senyawa nitrogen ini untuk memperbaiki sel yang rusak, nutrisi pertumbuhan dan sintesis DNA/RNA. Kemampuan bakteri asam laktat dalam menghidrolisis protein juga

sebagai salah satu kriteria bakteri probiotik (Suciati *et al.*, 2019).

Nilai Rupa

Rata-rata nilai hedonik rupa bekasam ikan nila dengan penambahan dadih memiliki nilai tertinggi pada perlakuan bekasam dengan penambahan dadih 5% (D_5) dengan nilai 8,0 dan kriterianya menarik dan warna agak cerah kekuningan. Nilai terendah pada perlakuan tanpa penambahan dadih (D_0) dengan nilai 5,6 dan kriterianya kurang menarik dan warna agak kusam kecokelatan. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi dadih berbeda pada bekasam ikan nila berpengaruh nyata dimana F_{hitung} (1.645,33) > F_{tabel} (4,07) pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Maka selanjutnya lakukan uji lanjut beda nyata jujur (BNJ).

Hasil uji beda nyata jujur menunjukkan bahwa perlakuan D_0 berbeda nyata dengan semua perlakuan. D_5 tidak berbeda nyata dengan D_{10} , tetapi berbeda nyata dengan D_{15} . Perlakuan D_{15} berbeda nyata dengan semua perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%.

Semakin tinggi konsentrasi dadih membuat nilai rupa semakin menurun dan kurang disukai oleh panelis. Hal ini terjadi karena warna bekasam semakin kuning kecokelatan. Warna kuning kecokelatan ini terbentuk karena terjadi perubahan biokimiawi pada saat fermentasi yaitu hidrolisis pati pada nasi berubah menjadi glukosa dan asam-asam organik sehingga warna nasi yang semula putih berubah menjadi lebih kuning kecokelatan. Perubahan warna terjadi akibat penambahan dadih, karena dadih mengandung dua pigmen kuning yaitu karoten yang banyak terdapat pada lemak susu dan riboflavin yang banyak terkandung pada *whey* susu (Rohman and Maharani 2020).

Penggunaan kombinasi nasi dan dadih pada bekasam menyediakan sumber karbohidrat dan nutrisi bagi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat pada proses fermentasi berperan menguraikan karbohidrat yang tersedia dan menurunkan pH. Dadih yang termasuk pada produk *yoghurt* memiliki kandungan asam laktat sebanyak 0,5-2% serta pH dengan kisaran 4,4-4,5 (BSN 1992). Kondisi asam serta tingginya populasi bakteri menyebabkan jaringan pada tubuh ikan mengalami hidrolisis oleh enzim dan bakteri sehingga ikan terfermentasi menjadi lebih lunak. Selain memanfaatkan karbohidrat dari nasi,

bakteri asam laktat juga memnfaatkan komponen jaringan ikan lainnya seperti mineral dan nitrogen. Pemanfaatan komponen jaringan ini menyebabkan perubahan rupa pada ikan fermentasi. Kombinasi nasi dan dadih juga menyebabkan penguraian ikan lebih cepat sehingga memengaruhi bentuk rupa dari ikan (Kusumah et al. 2018).

Sumber asam amino yang berasal dari ikan selama proses fermentasi menyebabkan konsentrasi asam-asam amino meningkat yaitu asam aspartat, asam glutamat, prolin, dan valin yang memberikan pengaruh terhadap *flavor* bekasam (Wikandari et al. 2012). Jika penguraian laktosa dan protein susu, bahkan penguraian jaringan tubuh ikan semakin tinggi, maka perubahan warna pada produk fermentasi juga akan semakin cepat. Biasanya perubahan warna yang terjadi membuat produk menjadi kurang menarik karena berwarna kecokelatan (Zahirudin et al. 2010).

Nilai pH

Nilai derajat keasaman (pH) merupakan suatu metode untuk mengetahui tingkat keasaman atau kebasaaan suatu produk. Nilai rata-rata pH pada bekasam ikan nila dengan penambahan dadih setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai pH terendah bekasam ikan nila dengan penambahan dadih setelah fermentasi selama tiga hari terdapat pada bekasam perlakuan penambahan dadih 15% (D₁₅) dengan nilai sebesar 4,37. Sementara pH tertinggi terdapat pada bekasam tanpa penambahan dadih (D₀) dengan nilai sebesar 4,83.

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan konsentrasi dadih berpengaruh nyata terhadap nilai pH setelah fermentasi dimana $F_{hitung} (36,91) > F_{tabel} (4,07)$ pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut yaitu uji beda nyata jujur (BNJ). Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa perlakuan D₀ berbeda nyata pada semua perlakuan lainnya. D₅ tidak berbeda nyata dengan D₁₀, tetapi berbeda nyata dengan D₁₅. D₁₀ tidak berbeda nyata dengan D₅ dan D₁₅ pada tingkat kepercayaan 95%.

Selama proses fermentasi berlangsung, bekasam ikan nila mengalami penurunan pH.

Penurunan terjadi karena proses hidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat dan enzim. Asam laktat merupakan asam organik yang paling dominan pada ikan fermentasi. Penurunan pH juga dipercepat karena faktor penambahan dadih. pH dadih diuji terlebih dahulu dan menghasilkan nilai berkisar 4,38-4,52. Kondisi dadih yang cukup asam semakin mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat (Andarwulan 2011).

Dadiah pada pembuatan bekasam bermanfaat untuk menambah jumlah bakteri dan menurunkan pH. Peningkatan jumlah bakteri dan penurunan pH ini terjadi karena proses hidrolisis protein dan pati. Proses hidrolisis protein mengubah polipeptida menjadi peptida dan asam-asam amino. Protein hidrolisis pati mengubah nasi menjadi glukosa, selanjutnya oleh proses metabolisme bakteri asam laktat glukosa akan diubah menjadi asam laktat dan asam-asam organik lainnya. Proses sakarifikasi yang merupakan salah satu dari proses hidrolisis pati terjadi karena penguraian amilolitik oleh khamir, jamur dan bakteri asam laktat yang tumbuh selama proses fermentasi. Pada proses sakarifikasi, pati akan dihidrolisis menjadi maltosa dan glukosa oleh α -amilase. Lalu enzim maltase akan bekerja mengubah maltosa menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk akibat proses sakarifikasi ini oleh bakteri asam laktat akan berubah menjadi asam laktat dan asam-asam organik lainnya yang akan menurunkan nilai pH dan meningkatkan jumlah total asam (Wikandari et al. 2012).

Tabel 3 Rata-rata nilai pH bekasam ikan nila dengan penambahan dadih

Perlakuan	Rata-rata
D ₀ (tanpa dadih)	4,83 ^c ±0,09
D ₅ (dadih 5%)	4,58 ^b ±0,03
D ₁₀ (dadih 10%)	4,52 ^{ab} ±0,01
D ₁₅ (dadih 15%)	4,37 ^a ±0,05

Tabel 4 Rata-rata nilai total bakteri asam laktat bekasam ikan nila dengan penambahan dadih

Perlakuan	Rata-rata
D ₀ (tanpa dadih)	1,5 x 10 ^{6a} ±0,26
D ₅ (dadih 5%)	2,1 x 10 ^{6ab} ±0,15
D ₁₀ (dadih 10%)	3,2 x 10 ^{6b} ±0,31
D ₁₅ (dadih 15%)	5,3 x 10 ^{6c} ± 0,55

Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat penting untuk mengetahui jumlah kandungan bakteri asam laktat yang terdapat pada bekasam ikan nila setelah fermentasi selama tiga hari. Hasil perhitungan total bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel 4. Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai total bakteri asam laktat tertinggi terdapat pada bekasam perlakuan bekasam penambahan dadih 15% (D_{15}) dengan nilai rata-rata $5,3 \times 10^6$ cfu/ g dan rata-rata total bakteri asam laktat terendah terdapat pada bekasam pada perlakuan bekasam tanpa dadih (D_0) dengan nilai $1,5 \times 10^6$ cfu/ g.

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi dadih berbeda berpengaruh nyata terhadap nilai total bakteri asam laktat $F_{hitung} (52,38) > F_{tabel} (4,07)$ pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Kemudian lanjutkan dengan uji lanjut yaitu uji beda nyata jujur (BNJ). Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa perlakuan D_0 tidak berbeda nyata pada perlakuan D_5 , tetapi berbeda nyata dengan D_{10} dan D_{15} . D_5 tidak berbeda nyata dengan D_{10} , tetapi berbeda nyata dengan D_{15} . D_{15} berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya pada tingkat kepercayaan 95%.

Pertumbuhan bakteri asam laktat memiliki banyak faktor, diantaranya yaitu ketersediaan substrat (media pertumbuhan), temperatur, keberadaan oksigen, keberadaan mikroba patogen, kandungan air bebas (a_w), komposisi kimia dan total padatan. Bakteri asam laktat memerlukan karbohidrat sebagai sumber energi untuk metabolisme. Tambahan nasi pada pembuatan bekasam menjadi sumber glukosa untuk bakteri yang akan diubah menjadi asam laktat oleh aktivitas proteolitik.

Kandungan bakteri asam laktat pada ikan nila segar yang diuji sebelum melakukan penelitian utama menunjukkan total hasil $1,6 \times 10^3$ cfu/ g. Sementara total bakteri asam laktat pada dadih yang digunakan untuk pembuatan bekasam yaitu $1,2 \times 10^7$ cfu/g. Pada hal ini penggunaan dadih pada bekasam sudah memenuhi standar SNI 2981-2009 tentang *yoghurt* yaitu jumlah bakteri minimal pada *yoghurt* yaitu 10^7 cfu/g. Dapat terlihat bahwa dadih yang digunakan dalam pembuatan bekasam mengandung bakteri asam laktat lebih banyak daripada bakteri asam laktat yang pada ikan segar. Oleh karena itu dadih merupakan starter bakteri asam laktat yang sangat baik untuk pembuatan bekasam. Keberadaan

bakteri asam laktat yang tinggi dalam dadih mempercepat pertumbuhan populasi bakteri asam laktat selama proses fermentasi berlangsung (Usman *et al.* 2018). Semakin banyak penambahan dadih pada pembuatan bekasam semakin meningkatkan jumlah bakteri asam laktat pada bekasam. Total bakteri asam laktat yang meningkat karena semakin banyaknya nutrisi yang bisa dimanfaatkan oleh bakteri (Rizqiyati *et al.* 2021). Penambahan karbohidrat juga dapat membuat lingkungan yang menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri asam laktat dan menjadi sumber energi bagi bakteri tersebut. Jumlah bakteri yang tumbuh juga bergantung oleh penggunaan garam pada pembuatan bekasam. Garam dapat memperlambat proses pembusukan serta menyeleksi mikroba-mikroba penyebab pembusukan yang tidak tahan garam. Menurut Priyanto and Djajati (2018) garam merupakan komponen yang bisa mengikat air bahan sehingga dapat meningkatkan tekanan osmosis.

Identifikasi Bakteri Asam Laktat

Identifikasi bakteri asam laktat ini berdasarkan pada uji morfologi dan fisiologi. Identifikasi berlaku terhadap dadih dan semua perlakuan bekasam ikan nila dengan penambahan dadih. Hasil identifikasi morfologi dan biokimia terdapat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil uji antara bekasam tanpa penambahan dadih dan bekasam dengan penambahan dadih. Dadih dan bekasam dengan penambahan dadih (5, 10, dan 15%) memberikan hasil yang sama yaitu gram positif karena membentuk sel berwarna ungu, bentuk basil panjang, spora negatif karena memberikan warna merah tua, non-motil karena tidak menunjukkan penyebaran bakteri pada bekas tusukan, katalase negatif karena tidak membentuk gelembung, MR-VP negatif karena warna media tidak berubah menjadi merah (tetap kuning), sitrat negatif karena warna media tetap hijau, tidak membentuk gas maupun H_2S serta mampu memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa.

Berdasarkan hasil pengujian morfologi dan fisiologi bakteri isolasi dari dadih dan bekasam ikan nila dengan penambahan dadih, jenis bakteri asam laktat yang tumbuh pada bekasam dapat teridentifikasi.

Tabel 5 Rata-rata nilai total bakteri asam laktat bekasam ikan nila dengan penambahan dadih

Sampel	D	D ₀	D ₅	D ₁₀	D ₁₅
Pewarnaan					
-Gram	+	+	+	+	+
-Spora	-	-	-	-	-
Bentuk sel bakteri	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Uji motilitas	-	-	-	-	-
Uji katalase	-	+	-	-	-
Uji MR-VP	-	-	-	-	-
Uji sitrat	-	+	-	-	-
Uji TSIA:					
-H ₂ S	-	+	-	-	-
-Gas	-	+	-	-	-
-G	+	+	+	+	+
-L	+	-	+	+	+
-S	+	-	+	+	+

Keterangan: D = Dadih, D₀ = Bekasam tanpa dadih, D₅ = Bekasam dengan dadih 5%, D₁₀ = Bekasam dengan dadih 10%, D₁₅ = Bekasam dengan dadih 15%, (+) ada reaksi terhadap uji, (-) tidak ada reaksi terhadap uji, G = Glukosa, L=Laktosa, S = Sukrosa

Berdasarkan kunci identifikasi Cowan and Steel (1974), isolat dari bekasam tanpa penambahan dadih (D₀) merupakan bakteri asam laktat *Bacillus* sp. Sifat morfologi dari bakteri tersebut adalah bentuk sel basil/batang pendek, gram positif, tidak mempunyai spora dan non-motil. Sifat fisiologis dari bakteri ini adalah katalase positif, mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, MR-VP negatif, membentuk H₂S, memfermentasi glukosa tetapi tidak laktosa dan sukrosa serta membentuk gas.

Hasil ini berkaitan oleh penelitian Putri dan Kusdiyantini (2018) yang berhasil mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (inasua) yaitu jenis *Bacillus* sp. Penelitian lainnya yaitu Rukmi *et al.* (2012) yang berhasil mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat pada growol (makanan fermentasi tradisional berbasis kasava), salah satu jenis yang teridentifikasi yaitu *Bacillus* sp. Penelitian lainnya yaitu Ernawati (2009) yang mengidentifikasi isolat bakteri asam laktat dari susu kambing segar dimana salah satu yang teridentifikasi adalah jenis *Bacillus mycoides* yang menunjukkan ciri-ciri hasil uji biokimia gram positif, katalase positif dan dapat memfermentasi glukosa.

Berdasarkan kunci identifikasi dari Cowan and Steel (1974) tentang kunci identifikasi bakteri gram positif, isolat bakteri dari dadih merupakan bakteri *Lactobacillus* sp. Isolat dari bekasam dengan penambahan dadih 5% (D₅), 10% (D₁₀), dan 15% (D₁₅) juga termasuk dalam genus

Lactobacillus sp. Sifat morfologi dari keempat isolat bakteri tersebut adalah bentuk sel basil/batang panjang, gram positif, tidak mempunyai spora dan non-motil. Sifat fisiologisnya yaitu katalase negatif, tidak mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, MR-VP negatif, tidak membentuk H₂S, memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa tanpa adanya gas.

Hasil ini berkaitan oleh penelitian Masitah (2016) yang berhasil mengidentifikasi bakteri asam laktat jenis *Lactobacillus* sp pada usus ikan bandeng dengan hasil uji morfologi dan fisiologi yang hampir sama. Penelitian lainnya yaitu Sunaryanto and Marwoto (2012) yang mengidentifikasi BAL pada dadih dengan metode 16S rRNA dan mendapati hasil semua isolat merupakan *Lactobacillus plantarum* dengan menunjukkan ciri-ciri hasil uji biokimia yang sama. Hasil penelitian Nurhamidah *et al.* (2019) yang mengidentifikasi BAL pada makanan tradisional ale-ale dan cincalok dengan karakteristik BAL bakteri gram positif, negatif indol, mampu memfermentasi glukosa, katalase negatif, mampu menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon dan energi, non motil, memproduksi karbohidrat dengan cara fermentasi, tipe fermentasi heterofermentatif, tumbuh pada suhu 10°C dan 37°C, dan dapat tumbuh pada konsentrasi NaCl 4% dan 6,5% dan kesimpulannya BAL tersebut merupakan *Lactobacillus* sp.

KESIMPULAN

Penambahan dadih (0, 5, 10, dan 15%) dari berat ikan pada pembuatan bekasam ikan nila berpengaruh nyata terhadap nilai aroma, rasa, tekstur, rupa, pH dan total bakteri asam laktat. Perlakuan bekasam ikan nila penambahan dadih 5% memberikan hasil terbaik tetapi tidak berbeda nyata dengan hasil penambahan dadih 10%. Dengan demikian, penambahan dadih 5% lebih efisien digunakan dalam pembuatan bekasam.

Berdasarkan hasil uji morfologi dan fisiologi, isolat dari bakteri pada bekasam ikan nila tanpa penambahan dadih adalah *Bacillus* sp. Sedangkan isolat bakteri dari dadih dan dari bekasam ikan nila dengan penambahan dadih (5, 10, dan 15%) adalah *Lactobacillus* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau serta dosen dan mahasiswa yang terlibat dalam penelitian ini. Begitu pun segenap pihak yang terlibat baik secara langsung ataupun tidak dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standarisasi Nasional. 1992. Yoghurt, SNI 01-2981-1992.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. Petunjuk pengujian organoleptik dan atau sensori, SNI 01-2346-2006.
- Andarwulan. 2011. Pengaruh penggunaan starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap total bakteri asam laktat, kadar asam dan nilai pH dadih susu sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 13(6), 279-285.
- Andika, S. 2018. Pengaruh penambahan cairan sauerkraut dan lama fermentasi terhadap mutu bekasam instan ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Antoni. 2016. Fermentasi Spontan Bekasam Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Menggunakan Kerak Nasi [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Association of Official Analytical Chemist. 2005. Metode analisis baku. Edisi ke 16. Virginia: Asosiasi Resmi Analisis dan Ahli Kimia.
- Astriani, L. 2011. Aplikasi yoghurt sebagai sumber bakteri asam laktat dalam fermentasi ikan mas (*Cyprinus carpio*) [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Aulia, H., Bambang, S., Gres, M., Andri, J. 2018. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap mutu bekasam ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Tadris Pendidikan Biologi*, 9(1), 84-99.
- Bawole, K., Umboh, S., Tallei, T. 2018. Uji ketahanan bakteri asam laktat hasil fermentasi kubis merah (*Brassica oleracea* L.) pada pH 3. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 7(2), 20-23.
- Candra, J.I., Zahiruddin, W., Desniar. 2007. Isolasi karakteristik bakteri asam laktat dari produk bekasam ikan bandeng. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 10 (2), 14-24.
- Cowan, S.T., Steel. 1975. Manual for identification of medical bacteria. Edisi ke 2. Cambridge University Press, Cambridge.
- Dasril, O. 2019. Pemanfaatan susu sapi dan susu kedelai dalam pembuatan dadih sebagai makanan fungsional serta cara penyajiannya. *Jurnal Kesehatan Sainika Meditory*, 2(2), 83-88.
- Desniar., Iriani. S., Retno, S. 2012. Perubahan parameter kimia dan mikrobiologi serta isolasi bakteri penghasil asam selama fermentasi bekasam ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(3), 21-28.
- Ernawati. 2009. *Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada susu kambing segar*. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fardiaz, S. 1989. Analisis mikrobiologi pangan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hutabarat, S.R., Sari, N.I., Leksono, T. 2018. Pengaruh penambahan gula aren (*Arenga pinnata*) konsentrasi berbeda terhadap mutu bekasam ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Online Mahasiswa*, 5(2),1-7.
- Irianto. 2013. Produk ikan fermentasi tradisional Indonesia. Jakarta: Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
- Jayanti, R.T. 2011. Pengaruh pH, suhu hidrolisis enzim alfa-amilase dan konsentrasi ragi roti

- untuk produksi etanol menggunakan pati bekatul. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Kusumah, K.P., Ginting., Nurminah. 2018. Pengaruh penambahan sari kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai antimikroba dan jenis kemasan terhadap mutu bekasam instan ikan mujair (*Oreochromis mossabicus*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 6(3), 434-442.
- Lestari, S., Huriyah, S., Rinto, A. 2018. Peningkatan sifat fungsional bekasam menggunakan starter *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(1), 179-187.
- Marini, S., Desniar., Santoso, J. 2016. Karakteristik minuman jelly probiotik dengan penambahan *Lactobacillus plantarum* (SK5) asal bekasam selama penyimpanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 19(3), 288-296.
- Masitah, S.T. 2016. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari usus ikan bandeng (*Chanos chanos*) [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makassar.
- Mustaqim., Roza, R.M., Leni, F.B. 2014. Isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik pada saluran pencernaan ikan lais (*Kryptopterus* spp.). *JOM FMIPA*, 1(2), 248-257
- Nuraini, A., Ratna, I., Laras, R. 2014. Pengaruh penambahan konsentrasi sumber karbohidrat dari nasi dan gula merah terhadap mutu bekasam ikan nila merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Saintek Perikanan*, 10(1), 19-25.
- Nurhamidah, A., Warsidah., Idiawati, N. 2019. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari ale-ale dan cincalok. *Jurnal Laut Khatulistiwa*, 2(3), 85-90
- Priyanto, A. D., Djajati, S. 2018. Bekasam ikan wader pari menggunakan berbagai macam olahan berasa terhadap sifat mikrobiologi dan organoleptik. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Perikanan*, 2(2), 107-115.
- Putri, A.L., Kusdiyantini, E. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Rizqiyati, H., Mulyani, S., Ramadhanti, D.L. 2021. Pengaruh variasi konsentrasi sukrosa terhadap total bakteri asam laktat, pH, kadar alkohol dan hedonik water kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(1), 54-62
- Rohman, E., Maharani, S. 2020. Peranan warna, viskositas, dan sineresis terhadap produk yoghurt. *Edufortech*, 5(2), 97-107.
- Rukmi, W.D., Haryadi., Marseno, D.W., Cahyanto, M.N. 2012. Isolation and characterization of amylolytic lactic acid bacteria during growol fermentation, an Indonesian traditional. *Food Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(1), 52-60
- Sari, N.I., Dahlia., Octavian, D. 2013. Quality characteristics fermented tilapia (*Oreochromis niloticus*) different carbohydrate source. *Berkala Perikanan Terubuk*, 41(2), 23-31
- Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Dewi Masithah, E., Pramono, H. 2019. Aktivitas enzimatis isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan kepiting bakau (*Scylla spp.*) sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 8(2), 94-108.
- Sunaryanto, R., Marwoto, B. 2012. Isolasi, Identikasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari dadih susu kerbau. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14(3), 228-233.
- Usman, N.A., Suradi., Gumilar. 2018. Pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus Plantarum* dan *Lactobacillus casei* terhadap mutu mikrobiologi dan kimia mayones probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak*, 18 (2), 1-9
- Wikandari, P.R., Suparmo., Marsono, Y., Rahayu, E.S. 2012. Karakterisasi bakteri asam laktat proteolitik pada bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(1), 120-125.
- Yulvizar, C., Dewiyanti, A., Irma, N. 2014. Seleksi bakteri berpotensi probiotik dari ikan mas *Indegenous jantho* berdasarkan aktivitas antibakteri secara in vitro. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(2), 20-24.
- Zahiruddin, W., Septiani, H.S., Suptijah, P. 2010. Pembuatan kecap ikan petek (*Leioguathus splendens*) secara fermentasi enzimatis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 13(2), 143-156.