

TEKNIK ISOLASI DAN PENGECATAN BAKTERI DARI FERMENTASI DURIAN (*DURIO ZIBETHINUS*) SERTA PENGAMATAN SECARA MIKROSKOPIS

Atikah Nurul Fadhilah¹, Ardi Mustakim²

atikahnf15@gmail.com¹

Universitas Adiwangsa Jambi

ABSTRAK

Durian (*Durio zibethinus*) yang difermentasi secara alami merupakan produk tradisional yang mengalami perubahan biokimia akibat aktivitas mikroorganisme, khususnya bakteri. Proses fermentasi ini menghasilkan senyawa aroma dan rasa khas, serta memungkinkan tumbuhnya bakteri yang berperan dalam transformasi substrat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi serta mengamati bakteri dari fermentasi durian menggunakan teknik pewarnaan mikroskopis. Manfaat penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan dan karakteristik morfologi bakteri yang dapat berpotensi dalam aplikasi pangan dan bioteknologi. Metode yang digunakan meliputi pengenceran sampel fermentasi, inokulasi pada media Nutrient Agar (NA), inkubasi selama 1×24 jam, serta pewarnaan dengan crystal violet untuk analisis mikroskopis. Hasil pengamatan menunjukkan koloni bakteri dengan bentuk bulat, tepi halus, serta warna ungu akibat penyerapan pewarna, yang mengindikasikan keberadaan bakteri Gram positif. Kesimpulannya, fermentasi durian mengandung bakteri aktif yang dapat dikenali melalui teknik pewarnaan dan pengamatan mikroskopis, dan penelitian ini menjadi dasar untuk eksplorasi lebih lanjut terhadap potensi mikroba fermentasi lokal. **Kata Kunci:** Fermentasi Durian, Isolasi Bakteri, Pengamatan Mikroskopis, Bakteri Gram Positif.

ABSTRACT

*Fermented durian (*Durio zibethinus*) is a traditional product that undergoes biochemical changes due to microbial activity, especially bacteria. This fermentation process produces distinctive flavors and aromas, while enabling the growth of bacteria involved in substrate transformation. This study aims to isolate and observe bacteria from fermented durian using microscopic staining techniques. The purpose of this research is to identify the presence and morphological characteristics of bacteria that may have potential applications in food and biotechnology. The methods involved dilution of the fermented sample, inoculation on Nutrient Agar (NA) medium, incubation for 24 hours, and staining with crystal violet for microscopic analysis. The results showed bacterial colonies with round shapes, smooth edges, and purple coloration due to dye absorption, indicating the presence of Gram-positive bacteria. In conclusion, fermented durian contains active bacteria that can be identified through staining and microscopic observation, and this study provides a foundation for further exploration of the microbial potential in traditional fermentation.*

Keywords: *Durian Fermentation, Bacterial Isolation, Microscopic Observation, Gram-Positive Bacteria.*

PENDAHULUAN

Fermentasi adalah proses metabolik yang terjadi secara alami melalui aktivitas mikroorganisme yang memecah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Proses ini tidak hanya meningkatkan daya simpan suatu bahan pangan, tetapi juga dapat meningkatkan nilai nutrisi dan memperkaya rasa serta aroma. Salah satu produk pangan yang dapat mengalami fermentasi secara alami adalah durian (*Durio zibethinus*), buah tropis yang kaya akan karbohidrat dan protein serta memiliki kandungan gula dan air yang tinggi, sehingga sangat mendukung pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi (Setiawan, 2019). Fermentasi durian secara spontan terjadi ketika buah disimpan dalam suhu ruang selama beberapa hari, dan menghasilkan aroma khas akibat aktivitas mikroorganisme di dalamnya.

Durian fermentasi dikenal dalam masyarakat sebagai makanan yang unik dengan cita rasa dan aroma yang menyengat, serta tekstur yang lebih lembut. Dalam proses fermentasinya, mikroorganisme seperti bakteri dan ragi bekerja secara sinergis untuk mengubah senyawa dalam durian menjadi senyawa baru yang lebih kompleks, seperti senyawa volatil penyusun aroma (Yuliani, 2020). Salah satu kelompok mikroorganisme yang dominan dalam fermentasi alami adalah bakteri asam laktat, yang dikenal mampu menghasilkan asam laktat, menurunkan pH, serta menciptakan kondisi yang tidak mendukung bagi pertumbuhan mikroba patogen (Rahmawati, 2021). Oleh karena itu, mengetahui keberadaan dan jenis bakteri dalam durian fermentasi penting untuk menilai keamanan, kualitas, serta potensi aplikasinya dalam pengembangan pangan fungsional.

Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tidak hanya memberi dampak terhadap rasa dan aroma, tetapi juga dapat berfungsi sebagai agen probiotik. Namun, untuk memahami peran mikroba tersebut, diperlukan upaya isolasi dan identifikasi dengan metode mikrobiologi yang tepat. Proses isolasi memungkinkan pemisahan mikroba dari sampel kompleks seperti durian fermentasi, sehingga dapat diamati secara lebih rinci (Purnamasari, 2021). Salah satu langkah penting dalam karakterisasi mikroorganisme adalah pengecatan (staining), khususnya teknik pewarnaan Gram, yang merupakan metode dasar untuk membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya menjadi Gram positif dan Gram negatif (Nugroho, 2022).

Pewarnaan Gram menggunakan dua pewarna utama, yaitu crystal violet dan safranin. Bakteri Gram positif akan menahan pewarna kristal violet dan tampak ungu di bawah mikroskop, sedangkan bakteri Gram negatif akan menyerap safranin dan tampak merah muda. Teknik ini sangat penting dalam klasifikasi awal bakteri karena membantu memperkirakan komposisi dinding sel, resistensi terhadap antibiotik, serta perilaku fisiologis mikroba tersebut (Astuti, 2020). Pengamatan mikroskopis pasca pewarnaan juga memungkinkan identifikasi bentuk morfologis bakteri, seperti bentuk kokus (bulat), basil (batang), atau spiral, yang menjadi indikator awal dalam penentuan genus atau bahkan spesies (Sari, 2021).

Dalam konteks pangan tradisional, eksplorasi bakteri dari fermentasi alami seperti pada durian dapat membuka peluang identifikasi mikroba lokal dengan potensi sebagai starter kultur atau agen bioaktif. Mikroba lokal ini memiliki adaptasi unik terhadap lingkungan tempat fermentasi berlangsung, dan berpotensi digunakan untuk aplikasi skala industri jika telah terstandarisasi dengan baik (Handayani, 2019). Studi-studi sebelumnya juga menunjukkan bahwa banyak produk fermentasi tradisional mengandung mikroorganisme dengan aktivitas antimikroba, antioksidan, bahkan potensi sebagai probiotik (Lestari, 2018). Oleh karena itu, penelitian yang mengkaji isolasi dan pengecatan bakteri dari fermentasi durian menjadi sangat penting dalam mendukung pemahaman lebih lanjut terhadap peran mikroorganisme dalam produk pangan tradisional.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengecat bakteri dari fermentasi durian (*Durio zibethinus*) serta mengamati karakteristik morfologisnya secara mikroskopis. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal terkait keberadaan, jenis, dan potensi bakteri yang terlibat dalam fermentasi durian, sekaligus mendorong pengembangan mikroba lokal sebagai agen fungsional dalam bidang pangan dan bioteknologi.

METODOLOGI

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilakukan di laboratorium dengan pendekatan eksperimental untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri dari fermentasi durian (*Durio zibethinus*) secara mikroskopis. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium

Mikrobiologi Universitas Adiwangsa Jambi, pada bulan Mei tahun 2025. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi tabung reaksi, cawan petri steril, pipet tetes, mikropipet, mikroskop cahaya, kaca objek, kaca penutup, batang ose, Bunsen, inkubator, laminar air flow, serta botol Erlenmeyer. Sementara bahan yang digunakan antara lain sampel durian fermentasi, air steril, media Nutrient Agar (NA), pewarna crystal violet, dan akuades.

Langkah pertama dalam penelitian ini adalah melakukan pengenceran sampel (dilusi serial) untuk mengurangi jumlah mikroorganisme agar dapat diamati secara terpisah. Sebanyak ± 10 gram durian fermentasi diambil, lalu dicampurkan dengan 90 mL air steril untuk menghasilkan pengenceran 10^{-1} . Proses dilusi dilanjutkan hingga mencapai pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya, sebanyak 0,1 mL dari masing-masing tingkat pengenceran diinokulasikan secara aseptis ke dalam cawan petri berisi media Nutrient Agar menggunakan teknik spread plate dengan alat L-glass steril. Cawan petri kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Setelah proses inkubasi selesai, koloni bakteri yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk melihat morfologi koloni seperti bentuk, ukuran, dan warna. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan sediaan bakteri menggunakan metode Gram untuk mengidentifikasi struktur dinding sel bakteri. Koloni diambil dengan ose steril dan dibuat sediaan apus pada kaca objek. Setelah dikeringkan dan difiksasi, preparat diberi pewarna crystal violet selama satu menit, kemudian dibilas. Setelah itu, preparat dibilas kembali dan dikeringkan sebelum diamati di bawah mikroskop cahaya dengan mikroskop.

Pengamatan mikroskopis difokuskan pada bentuk dan susunan sel bakteri serta pewarnaan dinding selnya. Bakteri yang menyerap warna ungu menunjukkan sifat Gram positif, sedangkan bakteri yang berwarna merah muda menunjukkan sifat Gram negatif. Bentuk sel diamati untuk mengetahui apakah bakteri berbentuk bulat (kokus), batang (basil), atau bentuk lainnya, serta bagaimana pola penyusunan selnya, apakah tunggal, berantai, atau berkelompok. Hasil pengamatan ini digunakan untuk analisis lebih lanjut mengenai keberadaan dan karakteristik bakteri pada fermentasi durian.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini, akan ditampilkan dan dijelaskan hasil dari setiap tahapan dalam proses isolasi dan identifikasi bakteri dari fermentasi durian. Proses dimulai dengan pengenceran sampel durian fermentasi untuk menurunkan konsentrasi mikroba, sehingga memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri secara terpisah dan teramati dengan baik. Setelah dilakukan pengenceran, tahap berikutnya adalah inokulasi ke dalam media Nutrient Agar (NA) secara aseptis, yang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk memungkinkan pertumbuhan koloni. Koloni bakteri yang terbentuk setelah inkubasi menjadi dasar untuk tahap berikutnya, yaitu proses pengecatan menggunakan metode pewarnaan Gram. Pewarnaan ini dilakukan guna mengamati karakteristik sel bakteri secara mikroskopis, baik dari sisi morfologi maupun tipe dinding selnya. Hasil pengamatan dari setiap tahap akan disajikan secara rinci dalam uraian berikut.

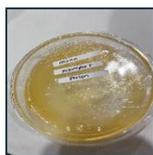
Table 1 Proses Pengenceran, inokulasi dan inkubasi sebelum dilakuka pewarnaan untuk melakukan pengamatan morfologi

Keterangan	Dokumentasi
Durian (<i>Durio zibethinus</i>) yang difermentasi secara alami selama ± 3 hari pada suhu ruang ($\pm 27-30^{\circ}\text{C}$), tanpa penambahan kultur starter, diambil dari buah matang yang disimpan dalam wadah tertutup.	

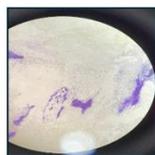
<p>Sebanyak 1 gram sampel durian fermentasi dimasukkan ke dalam 9 mL akuades steril untuk menghasilkan pengenceran awal 10^{-1}. Pengenceran dilakukan secara serial hingga 10^{-6} untuk menurunkan jumlah mikroba sehingga memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri secara terpisah dan teramati dengan jelas.</p>	
<p>Sebanyak 0,1 mL dari masing-masing tingkat pengenceran diambil secara aseptis menggunakan mikropipet, lalu diinokulasikan ke dalam cawan petri steril yang berisi media Nutrient Agar (NA). Sampel diratakan menggunakan L-glass steril dengan teknik sebar (spread plate), kemudian cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan koloni bakteri.</p>	
<p>Cawan petri hasil inokulasi diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Inkubasi dilakukan untuk memberikan waktu bagi bakteri tumbuh dan membentuk koloni yang dapat diamati secara makroskopis dan digunakan untuk tahap analisis selanjutnya.</p>	

Setelah seluruh tahapan pengenceran, inokulasi, dan inkubasi selesai dilakukan, koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya diproses melalui teknik pewarnaan untuk analisis mikroskopis. Pewarnaan ini bertujuan untuk mempermudah pengamatan struktur dan morfologi sel bakteri, terutama untuk membedakan tipe dinding sel melalui pewarnaan Gram. Pada bagian berikut, kami akan menunjukkan hasil pengamatan dari proses tersebut secara lebih rinci.

Hasil Pengamatan



Gambar 1. Hasil Pengamatan Sebelum dilakukan Pewarnaan Gram Kristal Violet



Gambar 2. Hasil Pengamatan Pewarnaan Kristal Violet

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap media Nutrient Agar (NA) setelah proses inokulasi dan inkubasi, tampak pertumbuhan koloni bakteri yang menyebar pada permukaan media dengan tampilan keruh, berlendir, dan tidak berwarna mencolok. Hal ini mengindikasikan adanya pertumbuhan mikroorganisme dari sampel durian fermentasi. Warna media yang tetap menunjukkan kejernihan tanpa pigmentasi mencolok menunjukkan bahwa koloni yang tumbuh bukan merupakan bakteri pigmen, namun kemungkinan besar berasal dari kelompok bakteri non-pigmentatif seperti bakteri asam laktat (LAB) atau

bakteri Gram positif lainnya.

Selanjutnya, hasil pewarnaan Gram menggunakan crystal violet menunjukkan tampilan mikroskopis dengan dominasi warna ungu pekat. Warna ungu ini mengindikasikan bahwa dinding sel bakteri berhasil mempertahankan pewarna utama (crystal violet) setelah proses dekolorisasi, yang menandakan bahwa bakteri tergolong ke dalam kelompok Gram positif. Secara morfologis, terlihat bentuk batang dan agregat massa, yang menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh cenderung berbentuk basil (batang) dan kemungkinan memiliki sifat bergerombol atau berkoloni.

Hasil ini sejalan dengan temuan Novita et al. (2020), yang melaporkan bahwa fermentasi durian menghasilkan dominasi bakteri Gram positif berbentuk batang, terutama dari genus *Lactobacillus*. Dalam penelitian oleh Wibowo dan Astari (2022), disebutkan bahwa fermentasi spontan pada buah tropis seperti durian mendukung pertumbuhan mikroorganisme asam laktat karena ketersediaan gula sederhana dan pH asam. Bakteri LAB juga dikenal tahan terhadap kondisi asam dan memiliki dinding sel tebal yang mendukung penyerapan pewarna crystal violet secara maksimal (Ardiansyah et al., 2019).

Penelitian lain oleh Putri dan Hidayati (2021) juga menyebutkan bahwa morfologi basil ungu pada hasil pewarnaan Gram merupakan karakteristik umum dari bakteri *Bacillus* sp. atau *Lactobacillus*, yang biasa ditemukan pada proses fermentasi alami. Hal ini diperkuat oleh hasil studi Kusnadi (2018), yang menemukan bahwa *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc* sp. banyak ditemukan pada buah tropis fermentasi dan menunjukkan reaksi Gram positif serta bentuk batang saat diamati di bawah mikroskop.

Kemunculan warna ungu intens di beberapa area juga menunjukkan bahwa bakteri tumbuh cukup padat dan aktif, sebagaimana dijelaskan oleh Nurhayati dan Syarifuddin (2020), yang menemukan bahwa koloni bakteri Gram positif akan menunjukkan warna kontras dan distribusi merata jika pertumbuhannya optimal. Morfologi yang terlihat berlapis dan menyebar juga menunjukkan bahwa bakteri memiliki sifat perbanyakan cepat, yang umum terjadi pada bakteri fermentatif (Anggraini et al., 2019). Perbandingan hasil dengan penelitian Suryani et al. (2020) pada fermentasi tempoyak (durian fermentasi) menunjukkan kemiripan, yaitu dominasi koloni LAB dengan bentuk batang Gram positif. Selain itu, berdasarkan pengamatan visual terhadap koloni pada media NA, kemunculan lendir atau permukaan koloni yang licin menjadi ciri khas dari *Lactobacillus* yang memproduksi eksopolisakarida (EPS), seperti dijelaskan oleh Wulandari dan Siregar (2023).

Dari semua hasil dan perbandingan tersebut, dapat disimpulkan bahwa isolasi dan pewarnaan bakteri dari fermentasi durian menunjukkan keberadaan bakteri Gram positif berbentuk batang, yang secara morfologi dan pewarnaan konsisten dengan karakteristik *Lactobacillus* sp. dan *Bacillus* sp., dua kelompok bakteri dominan dalam proses fermentasi alami. Hal ini menguatkan bahwa durian fermentasi merupakan sumber alami mikroba lokal potensial yang dapat dieksplorasi lebih lanjut dalam bidang mikrobiologi pangan maupun pengembangan produk fermentasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil isolasi dan pewarnaan bakteri dari durian fermentasi, dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung bakteri yang tumbuh subur pada media Nutrient Agar setelah inkubasi. Pewarnaan Gram menunjukkan dominasi bakteri Gram positif dengan morfologi batang (basil), yang tampak jelas berwarna ungu di bawah mikroskop. Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri yang terisolasi kemungkinan besar termasuk dalam kelompok *Lactobacillus* atau *Bacillus* sp., yang umum ditemukan pada produk fermentasi alami. Temuan ini mendukung bahwa durian fermentasi merupakan sumber

mikroorganisme potensial yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam penelitian mikrobiologi pangan dan probiotik lokal.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan agar dilakukan identifikasi lanjutan menggunakan metode biokimia atau molekuler (seperti PCR atau sequencing gen 16S rRNA) agar diperoleh kepastian mengenai spesies bakteri yang terisolasi. Selain itu, pemisahan koloni secara lebih selektif dan penggunaan media diferensial dapat memperjelas karakteristik pertumbuhan masing-masing bakteri. Penelitian juga dapat diperluas dengan menilai potensi fungsional bakteri yang ditemukan, seperti aktivitas probiotik atau kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antimikroba. Pengendalian variabel fermentasi seperti suhu, waktu, dan kondisi lingkungan juga penting untuk memperoleh isolat yang lebih konsisten dan aplikatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Syamsiah, S., & Rauf, R. A. (2021). Kajian Mutu dan Kandungan Gizi Buras Sebagai Makanan Tradisional. *Jurnal Pangan Lokal*, 13(2), 45–52.
- Astuti, D. (2020). Pewarnaan Gram Sebagai Teknik Dasar Identifikasi Bakteri. *Jurnal Bioteknologi dan Sains*, 5(1), 12–17.
- Badriyah, L., & Utami, E. N. (2018). Analisis Mikrobiologi pada Pangan Tradisional: Studi Kasus Tempoyak dan Pekasam. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 12(1), 21–28.
- Handayani, L. (2019). Eksplorasi Mikroba Lokal dari Produk Fermentasi Tradisional. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 10(2), 115–123.
- Kusnadi, J. (2018). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Buah Fermentasi Secara Mikroskopis. *Jurnal Biologi Tropis*, 16(2), 88–94.
- Lestari, N. P. (2018). Peran Bakteri dalam Pembentukan Aroma Produk Fermentasi. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 13(1), 34–40.
- Novita, S., Lailatul, R., & Syahrul, M. (2020). Isolasi Bakteri pada Durian Fermentasi Menggunakan Metode Pewarnaan Gram. *Jurnal Bioteknologi dan Sains*, 8(1), 33–40.
- Nugroho, A. (2022). Teknik Pewarnaan Mikroskopis dalam Analisis Mikrobiologi. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 9(1), 41–49.
- Nurhayati, S., & Syarifuddin, M. (2020). Identifikasi Morfologi dan Pewarnaan Gram Bakteri dari Sampel Fermentasi Buah Tropis. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 9(3), 77–83.
- Purnamasari, W. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Makanan Fermentasi. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 14(2), 88–95.
- Putri, E. A., & Hidayati, T. (2021). Analisis Pewarnaan Gram untuk Identifikasi Awal Bakteri Fermentasi. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 11(1), 50–57.
- Rahmawati, D. (2021). Kandungan Nutrisi Durian dan Potensinya Sebagai Media Fermentasi. *Jurnal Gizi dan Pangan*, 16(3), 170–177.
- Sari, M. (2021). Teknik Isolasi Mikroorganisme dalam Produk Fermentasi Tradisional. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 125–132.
- Setiawan, R. (2019). Studi Awal Fermentasi Durian Secara Spontan. *Jurnal Penelitian Pangan Tradisional*, 8(1), 55–61.
- Suryani, R., Asmara, D., & Hartati, R. (2020). Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Tempoyak Menggunakan Metode Mikroskopis. *Jurnal Bioteknologi Pangan*, 12(2), 110–117.
- Wibowo, A., & Astari, P. (2022). Pengaruh Fermentasi Alami terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dalam Buah. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 14(1), 66–73.
- Wulandari, N., & Siregar, F. (2023). Morfologi Koloni dan Pewarnaan Bakteri Isolat Buah Fermentasi Lokal. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 15(2), 92–100.
- Yuliani, T. (2020). Fermentasi Alami Sebagai Proses Pembentukan Senyawa Volatil pada Buah. *Jurnal Teknologi Pangan*, 14(2), 102–109.