

## PENGAMATAN MIKROSKOPIS DAN KLASIFIKASI BAKTERI TAHU BERDASARKAN TEKNIK PEWARNAAN DIFERENSIAL

Naifah Nahda<sup>1</sup>, Ardi Mustakim<sup>2</sup>  
[naifahnahda66@gmail.com](mailto:naifahnahda66@gmail.com)<sup>1</sup>  
Universitas Adiwangsa Jambi

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati dan mengklasifikasikan bakteri yang terdapat pada tahu dengan menggunakan teknik pewarnaan diferensial, khususnya pewarnaan Gram. Sampel tahu terlebih dahulu diencerkan secara bertahap menggunakan larutan steril, kemudian diinokulasikan ke dalam media agar nutrisi untuk mengisolasi dan mengembangkan koloni bakteri. Setelah inkubasi, dilakukan pewarnaan Gram pada bakteri hasil isolasi untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya. Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi morfologi dan jenis bakteri yang tumbuh. Hasil praktikum menunjukkan adanya dua kelompok bakteri utama yang berbeda warna setelah pewarnaan, yaitu bakteri Gram positif yang berwarna ungu dan bakteri Gram negatif yang berwarna merah muda. Teknik pewarnaan diferensial ini terbukti efektif dalam mengklasifikasikan bakteri pada tahu dan memberikan gambaran mengenai keragaman mikroorganisme yang dapat ditemukan pada produk makanan fermentasi tersebut. Informasi ini penting untuk penilaian kualitas dan keamanan pangan tahu serta sebagai dasar pengendalian mikrobiologi dalam produksi tahu.

**Kata Kunci:** Bakteri Tahu, Pewarnaan Diferensial, Pewarnaan Gram, Klasifikasi Bakteri, Media Agar, Pengenceran Sampel, Pengamatan Mikroskopis, Keamanan Pangan.

### ABSTRACT

*This research was conducted to observe and classify the bacteria found in tofu using differential staining techniques, especially Gram staining. The tofu sample is first diluted in stages using a sterile solution, then inoculated into nutrient agar media to isolate and develop bacterial colonies. After incubation, Gram staining was carried out on the isolated bacteria to differentiate Gram positive and Gram negative bacteria based on differences in cell wall structure. Microscopic observations were carried out to identify the morphology and type of bacteria growing. The practical results show that there are two main groups of bacteria that differ in color after staining, namely Gram-positive bacteria which are purple and Gram-negative bacteria which are pink. This differential staining technique has proven effective in classifying bacteria in tofu and providing an overview of the diversity of microorganisms that can be found in this fermented food product. This information is important for assessing the quality and food safety of tofu and as a basis for microbiological control in tofu production.*

**Keywords:** Tofu Bacteria, Differential Staining, Gram Staining, Bacterial Classification, Agar Media, Sample Dilution, Microscopic Observation, Food Safety.

### PENDAHULUAN

Tahu merupakan salah satu produk makanan fermentasi yang sangat populer di Indonesia dan banyak dikonsumsi karena kandungan gizinya yang tinggi serta harganya yang terjangkau. Produk ini dihasilkan dari proses koagulasi susu kedelai yang kemudian difermentasi oleh mikroorganisme tertentu. Namun, selama proses produksi dan penyimpanan, tahu dapat terkontaminasi oleh berbagai jenis bakteri yang dapat memengaruhi kualitas, keamanan, dan umur simpan produk. Oleh karena itu, penting untuk melakukan identifikasi dan klasifikasi bakteri yang terdapat pada tahu guna memastikan produk yang aman untuk dikonsumsi dan memenuhi standar kesehatan pangan. (Suhartin, 2017; Jiwintarum et al., 2017).

Mikrobiologi pangan memegang peranan penting dalam mengontrol kualitas makanan, termasuk produk fermentasi seperti tahu. Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengidentifikasi bakteri adalah teknik pewarnaan diferensial, khususnya pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram merupakan teknik yang membedakan bakteri berdasarkan perbedaan struktur dinding selnya, yaitu bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel tebal dan mampu mempertahankan warna kristal violet, serta bakteri Gram negatif yang memiliki dinding sel tipis dan kehilangan warna primer sehingga diwarnai ulang dengan safranin. Dengan teknik ini, bakteri dapat diklasifikasikan secara cepat dan akurat, sehingga memudahkan dalam analisis mikrobiologi produk pangan. (Zuraidah, Wahyuni, & Astuty, 2020)

Dalam praktikum ini, dilakukan pengamatan mikroskopis dan klasifikasi bakteri pada tahu menggunakan teknik pewarnaan Gram. Sampel tahu terlebih dahulu diencerkan secara bertahap untuk mendapatkan konsentrasi bakteri yang sesuai, kemudian diinokulasikan ke media agar nutrisi untuk mengisolasi bakteri yang tumbuh. Setelah inkubasi, koloni bakteri diambil untuk dilakukan pewarnaan Gram dan diamati morfologi serta warna reaksinya di bawah mikroskop cahaya. Melalui proses ini, diharapkan dapat diperoleh gambaran mengenai jenis bakteri yang ada pada tahu serta karakteristiknya berdasarkan pewarnaan diferensial.

Penelitian ini penting karena keberadaan bakteri tertentu pada tahu dapat berpengaruh terhadap kualitas produk, seperti menyebabkan pembusukan atau bahkan berpotensi sebagai patogen yang membahayakan kesehatan konsumen. Dengan mengetahui jenis dan karakteristik bakteri yang ada, produsen tahu dapat mengambil langkah pengendalian yang tepat untuk menjaga mutu produk. Selain itu, hasil praktikum ini juga memberikan pemahaman yang lebih baik mengenai teknik pewarnaan Gram sebagai metode dasar dalam mikrobiologi untuk identifikasi bakteri. (Zuraidah et al., 2020).

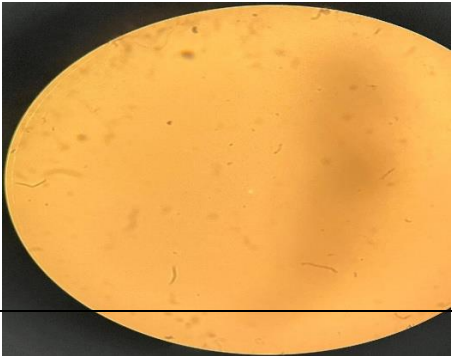
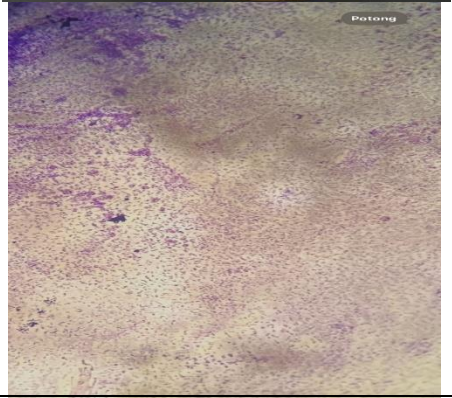
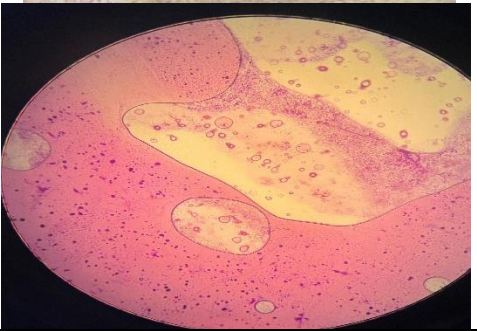
Secara keseluruhan, praktikum ini bertujuan untuk mengaplikasikan teknik pewarnaan diferensial dalam mengidentifikasi dan mengklasifikasikan bakteri pada tahu, sekaligus menambah wawasan tentang mikrobiologi pangan dan pentingnya pengendalian mikroorganisme dalam produksi makanan fermentasi. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat menjadi dasar bagi penelitian lebih lanjut maupun penerapan praktis dalam industri pangan.

## **METODE PENELITIAN**

Sampel tahu diencerkan secara bertahap menggunakan larutan steril untuk mengurangi konsentrasi bakteri. Suspensi hasil pengenceran diinokulasikan ke media agar nutrisi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah pertumbuhan koloni, dilakukan isolasi dengan metode streak plate untuk mendapatkan koloni murni. Koloni bakteri kemudian diambil untuk dilakukan pewarnaan Gram dengan prosedur standar: pemberian kristal violet, iodine, dekolorisasi dengan alkohol, dan pewarnaan ulang dengan safranin. Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x untuk mengamati warna dan morfologi bakteri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

NO	KETERANGAN	GAMBAR
1	Setelah dilakukan fiksasi panas pada preparat sebelum pewarnaan, pengamatan awal menunjukkan bahwa bakteri yang menempel pada kaca objek memiliki bentuk yang bervariasi, yaitu berupa batang (basil) dan bulat (kokus). Fiksasi ini memastikan bakteri melekat kuat dan siap untuk proses pewarnaan selanjutnya.	
2	Pengamatan mikroskopis pada preparat pewarnaan Gram menunjukkan banyak bakteri berwarna ungu, menandakan Gram positif. Bakteri ini memiliki dinding sel peptidoglikan tebal yang mempertahankan pewarna kristal violet. Morfologi yang terlihat berupa basilus dan kokus. Bakteri Gram positif pada produk tahu biasanya berasal dari bakteri fermentatif yang berperan dalam fermentasi atau pembusukan.	
3	Bakteri berwarna merah muda menunjukkan Gram negatif, karena dinding sel yang tipis tidak mempertahankan kristal violet dan hanya menyerap safranin. Morfologi basilus dengan jumlah lebih sedikit, yang dapat mengindikasikan kontaminasi atau sanitasi kurang baik selama produksi atau penyimpanan tahu.	

### Pembahasan

Analisis mikrobiologi pada sampel tahu segar dimulai dengan tahap pengambilan dan pengenceran sampel. Sampel tahu segar diambil secara aseptis untuk menghindari kontaminasi dari lingkungan luar. Karena konsentrasi bakteri pada sampel segar biasanya masih relatif tinggi, dilakukan pengenceran serial menggunakan larutan steril, seperti aquades steril atau larutan garam fisiologis.

Pengenceran bertujuan untuk menurunkan jumlah bakteri sehingga koloni yang tumbuh pada media agar dapat dihitung dan dianalisis dengan lebih akurat. Pengenceran dilakukan secara bertahap dengan memindahkan sejumlah larutan dari tabung pengenceran pertama ke tabung berikutnya yang berisi larutan steril, sehingga konsentrasi bakteri berkurang secara sistematis.

Setelah pengenceran, inokulasi dilakukan pada media agar nutrisi yang telah disiapkan. Media agar dibuat dengan melarutkan bahan-bahan seperti pepton, ekstrak daging, dan agar-agar dalam air suling, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf untuk memastikan media bebas dari mikroorganisme pengganggu. Media yang sudah steril dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis dan dibiarkan mengering. Selanjutnya,

suspensi bakteri hasil pengenceran diinokulasi ke permukaan media agar menggunakan teknik sebar atau tuang. Setelah inokulasi, media diinkubasi pada suhu optimal sekitar 37°C selama 24-48 jam agar bakteri dapat tumbuh dan membentuk koloni yang dapat diamati.

Setelah masa inkubasi, koloni bakteri yang tumbuh diamati dan dipilih untuk pembuatan preparat mikroskopis. Pengambilan biakan bakteri dilakukan secara aseptis menggunakan ose bermata yang telah disterilkan dengan api bunsen. Biakan tersebut dioleskan tipis dan merata pada kaca objek, kemudian dikeringkan di udara. Setelah kering, preparat difiksasi dengan melewatkannya beberapa kali di atas nyala api bunsen. Fiksasi panas ini berfungsi untuk menempelkan bakteri pada kaca objek, membunuh sel tanpa merusak morfologi, serta memudahkan penetrasi zat warna pada tahap pewarnaan.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya. Proses dimulai dengan pemberian kristal violet sebagai pewarna primer yang menembus dinding sel bakteri dan mewarnai seluruh sel menjadi ungu. Kemudian, larutan iodium ditambahkan sebagai mordant yang membentuk kompleks dengan kristal violet sehingga warna menjadi lebih stabil. Preparat dicuci dengan alkohol sebagai dekoloran yang melarutkan lapisan lipid pada dinding sel bakteri Gram negatif, sehingga warna ungu hilang pada bakteri tersebut. Tahap terakhir adalah pewarnaan ulang dengan safranin sebagai pewarna tandingan yang mewarnai bakteri Gram negatif menjadi merah muda, sementara bakteri Gram positif tetap berwarna ungu karena dinding selnya yang tebal dan kaya peptidoglikan mampu mempertahankan warna kristal violet.

Pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan menunjukkan perbedaan warna dan bentuk bakteri yang jelas. Bakteri Gram positif tampak berwarna ungu dengan bentuk batang (basil) dan bulat (kokus), sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah muda dengan bentuk batang yang memanjang. Perbedaan warna ini mencerminkan perbedaan struktur dinding sel yang sangat penting dalam klasifikasi bakteri dan berpengaruh pada respons bakteri terhadap antibiotik dan lingkungan.

Secara keseluruhan, rangkaian prosedur mulai dari pengenceran sampel tahu segar, inokulasi pada media agar, pembuatan preparat, fiksasi, hingga pewarnaan Gram merupakan tahapan penting yang harus dilakukan secara teliti dan aseptis untuk mendapatkan hasil identifikasi bakteri yang akurat dan dapat dipertanggungjawabkan. Teknik pewarnaan Gram tidak hanya memudahkan identifikasi awal bakteri, tetapi juga memberikan informasi penting mengenai karakteristik dinding sel yang berguna dalam pengendalian mutu produk tahu dan penelitian mikrobiologi pangan.

## **KESIMPULAN**

Dari rangkaian proses yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pengenceran sampel tahu segar sangat penting untuk memperoleh konsentrasi bakteri yang sesuai agar koloni yang tumbuh pada media agar dapat dianalisis dengan tepat. Media agar nutrien yang digunakan efektif mendukung pertumbuhan bakteri sehingga memungkinkan pengamatan morfologi sel secara jelas. Proses fiksasi panas pada preparat berhasil mempertahankan bentuk dan posisi bakteri sebelum dilakukan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram mampu membedakan bakteri menjadi dua kelompok utama, yaitu Gram positif yang berwarna ungu dan Gram negatif yang berwarna merah muda, berdasarkan perbedaan struktur dinding sel mereka. Teknik ini sangat berguna dalam identifikasi awal bakteri pada sampel tahu segar dan dapat menjadi dasar dalam pengendalian kualitas produk serta penelitian mikrobiologi pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aritekin, G. W., Rahmawati, R., & Rida. (2023). Analisis koloni bakteri terhadap pemberian probiotik komersial. *Jurnal Ilmiah Mikrobiologi*, 10(2), 45-53.
- Balitbang KKP. (2023). Pengujian agar sebagai media mikrobiologi. *Jurnal Kesehatan Pangan*, 5(1), 12-20.
- Fikkia, S. (2019). Modul bakteriologi dan mikologi. Surabaya: Fakultas Ilmu Kesehatan.
- Jurnal Biotropikal Sains*. (2024). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair tahu. *Jurnal Biotropikal Sains*, 21(3), 74-82.
- Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*. (2024). Pewarnaan Gram untuk identifikasi bakteri pada sampel air tahu dan tebu. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 7(2), 149-156.
- Jurnal Mikrobiologi Pangan*. (2022). Teknik pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi bakteri pada produk fermentasi pangan. *Jurnal Mikrobiologi Pangan*, 6(4), 101-110.
- Jurnal Mikrobiologi Terapan*. (2023). Analisis mikroskopis dan klasifikasi bakteri pada produk tahu menggunakan teknik pewarnaan diferensial. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 8(1), 33-40.
- Journal Bioma*. (2023). Karakteristik Salmonella sp. sebagai bakteri Gram negatif. *Journal Bioma*, 10(1), 15-22.
- Prosiding AIPTLMI-IASMLT. (2023). Limbah ampas tahu sebagai media alternatif untuk pertumbuhan bakteri Gram negatif. *Prosiding AIPTLMI-IASMLT*, 3(1), 55-60.
- Scribd. (2025). Laporan tetap mikrobiologi umum pengenceran dan pewarnaan Gram. *Dokumen Mikrobiologi*, 1(1), 1-10.