

Karakterisasi Dinamika Populasi Mikroba pada Cairan Hasil Samping Fermentasi Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.)

Syahirman Hakim^{1*}, I. Irwansyah¹, Jabar Khusni¹, Naya Desparita², B. Baihaqi³, Ifwarisan Defri⁴

¹Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim, Aceh

²Program Studi Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim, Aceh

³Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Halu Oleo

⁴Food Technology and Innovation Research Center of Excellence, Department of Food Industry, School of Agricultural Technology and Food Industry, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, Thailand

*Email korespondensi : syahirman.hakim@gmail.com

ABSTRAK

Fermentasi merupakan tahapan penting dalam pengolahan kopi Arabika yang melibatkan aktivitas berbagai mikroorganisme. Proses ini tidak hanya memengaruhi mutu biji kopi, tetapi juga menghasilkan cairan hasil samping yang berpotensi dimanfaatkan sebagai produk minuman probiotik agroindustri berbasis mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dinamika populasi mikroba pada cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika selama proses fermentasi. Pengambilan sampel cairan fermentasi dilakukan pada interval waktu fermentasi 5 hari, 10 hari, dan 15 hari. Analisis meliputi perhitungan total mikroba menggunakan metode Total Plate Count (TPC), isolasi bakteri asam laktat menggunakan media de Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA), serta pengukuran Uji Pewarnaan Gram. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan secara signifikan populasi mikroba selama fermentasi. Pada fermentasi hari ke-5 jumlah populasi mikroba tercatat sebesar $3,09 \times 10^8$ CFU/mL, meningkat menjadi $9,2 \times 10^8$ CFU/mL pada hari ke-10, dan mencapai puncaknya sebesar $3,09 \times 10^{10}$ CFU/mL pada hari ke-15. Hasil pengamatan mikroskopis melalui pewarnaan Gram menunjukkan isolat Gram positif berbentuk batang (basil) pada seluruh tahap fermentasi. Isolat dari hari ke-5 memperlihatkan kepadatan sel yang rendah, meningkat menjadi lebih kompak pada hari ke-10, dan mencapai kepadatan tertinggi pada hari ke-15. Morfologi isolat yang konsisten dengan genus *Lactobacillus* menunjukkan bahwa waktu fermentasi merupakan faktor penting dalam menentukan dinamika pertumbuhan populasi mikroba. Dinamika ini mengindikasikan peran penting mikroorganisme dalam proses fermentasi kopi serta potensi cairan hasil samping sebagai sumber mikroba fungsional. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pemanfaatan cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika dalam pengembangan produk agroindustri dan bioteknologi.

Kata kunci: buah kopi Arabika, cairan hasil samping, dinamika mikroba, fermentasi, isolasi

ABSTRACT

*Fermentation is a crucial stage in Arabica coffee processing involving the activity of various microorganisms. This process not only affects coffee bean quality but also generates a liquid by-product with potential application as a microbe-based probiotic beverage in agroindustry. This study aimed to characterize the dynamics of microbial populations in the liquid by-product of Arabica coffee fermentation during the fermentation process. Liquid samples were collected at fermentation intervals of 5, 10, and 15 days. Analyses included total microbial enumeration using the Total Plate Count (TPC) method, isolation of lactic acid bacteria on de Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA), and Gram staining tests. The results showed a significant increase in microbial populations with increasing fermentation time. Total microbial counts reached 3.09×10^8 CFU/mL on day 5, increased to 9.20×10^8 CFU/mL on day 10, and peaked at 3.09×10^{10} CFU/mL on day 15. Microscopic observations revealed Gram-positive rod-shaped isolates at all fermentation stages, with cell density increasing from day 5 to day 15. The morphological characteristics of the isolates were consistent with the genus *Lactobacillus*, indicating that fermentation duration is a key factor influencing microbial population dynamics. These findings highlight the important role of microorganisms in coffee fermentation and demonstrate the potential of fermentation by-products as a source of functional microbes for agroindustrial and biotechnological applications.*

Keywords: Arabica coffee cherries, by-product liquid, microbial dynamics, fermentation, isolation

PENDAHULUAN

Kabupaten Bener Meriah merupakan salah satu sentra utama penghasil kopi arabika di Provinsi Aceh, Indonesia, yang telah dikenal luas baik di tingkat nasional maupun internasional. Kopi arabika Gayo dari wilayah ini memiliki reputasi tinggi karena cita rasa dan kualitasnya yang khas, serta berperan penting dalam menopang perekonomian masyarakat. Lebih dari 70% penduduk Kabupaten Bener Meriah bergantung pada sektor perkebunan kopi sebagai sumber utama penghidupan (Pramulya et al., 2021). Berdasarkan data pemerintah daerah, luas areal kopi arabika di Bener Meriah mencapai 50.034,1 ha dengan total produksi sebesar 37.008,3 ton per tahun. Angka ini menyumbang sekitar 20% dari total produksi kopi arabika nasional, menjadikan daerah ini sebagai salah satu lumbung kopi terbesar di Indonesia (BPS, 2023). Tren produksi kopi arabika di Bener Meriah terus mengalami peningkatan sepanjang tahun 2020–2024 (Distanbun, 2023), yang di satu sisi memberikan dampak positif terhadap perekonomian, namun di sisi lain menghasilkan limbah pasca-panen dalam jumlah besar.

Fermentasi merupakan salah satu tahap krusial dalam pengolahan kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) yang memengaruhi perubahan biokimia serta kualitas biji kopi pasca panen (Pereira et al., 2025). Proses ini terjadi akibat aktivitas berbagai kelompok mikroorganisme seperti bakteri, khamir, dan kapang yang bereaksi terhadap substrat organik dalam buah kopi sehingga menghasilkan metabolit sekunder seperti asam organik, etanol, dan senyawa volatil yang mendukung profil aroma dan rasa kopi (Cruz-O'Byrne et al., 2021). Mikroba-mikroba tersebut berperan dalam pemecahan pektin dan senyawa kompleks lain pada mucilage, yang pada akhirnya membantu proses demucilaging secara alami dan memodifikasi kualitas fisikokimia biji kopi (Pereira et al., 2025). Selama fermentasi, komunitas mikroba mengalami perubahan dinamis yang dipengaruhi oleh durasi waktu, kondisi lingkungan, serta ketersediaan nutrisi (Silva, L. C et al., 2024). Dinamika komunitas ini bukan hanya penting dalam konteks mutu kopi, tetapi juga dalam pemahaman peran fungsional mikroba dalam transformasi substrat fermentasi (Shen et al., 2024).

Selain memengaruhi kualitas kopi, fermentasi juga menghasilkan cairan hasil samping (*side stream liquid*) yang memuat komunitas mikroba aktif (Hakim et al., 2024). Cairan ini sering kali belum dimanfaatkan secara optimal dalam praktik pascapanen kopi, padahal mengandung mikroba dengan potensi

fungsional yang tinggi, seperti bakteri asam laktat (BAL) yang dikenal memiliki sifat probiotik, kemampuan produksi asam organik, serta aplikasi dalam fermentasi pangan lain (Kim et al., 2024). Potensi mikroba dalam limbah cair ini berimplikasi pada pengembangan produk agroindustri dan bioteknologi, seperti kultur mikroba fungsional, probiotik, enzim industri, dan bioaktif lainnya (Kim et al., 2024). Penelitian tentang dinamika mikroba dalam cairan hasil fermentasi ini penting untuk mengevaluasi karakteristik populasi mikroba yang dominan, perubahan jumlah sel, serta peran mikroba terhadap metabolit yang dihasilkan sepanjang durasi fermentasi (Silva et al., 2024).

Hingga saat ini, penelitian mengenai karakterisasi dinamika populasi mikroba pada cairan hasil samping fermentasi kopi arabika belum banyak dilaporkan. Padahal Proses ini dapat dioptimalkan lebih lanjut untuk menghasilkan mikroba fungsional yang diisolasi dari cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika, sehingga memberikan dasar ilmiah untuk pemanfaatan cairan fermentasi sebagai bahan baku dalam pengembangan produk bernilai tambah di sektor agroindustri dan bioteknologi. Pendekatan karakterisasi mikroba melalui metode kuantitatif dan kualitatif, seperti *Total Plate Count* (TPC), isolasi bakteri asam laktat, serta uji pewarnaan Gram merupakan langkah awal yang penting untuk memahami dinamika komunitas mikroba ini.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kopi arabika dengan tingkat warna kematangan merah 90%, *Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), *nutrient Agar*, Media semi-solid, hydrogen peroxide, kristal violet, lugol/iodine, alkohol 95%, safranin, cat malachite green, kertas saring V60, NaCl 0,85%, aquades steril, minyak imersi. Sementara peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain wadah plastik popietilen, mikropipet dan tip steril, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri steril, erlenmeyer, gelas ukur, beaker glass, autoklaf (121 °C, 15 psi), inkubator (37 °C), mikroskop cahaya dengan perbesaran hingga 1000x, ose steril, Laminar Air Flow (LAF), koloni counter dan kamera mikroskop.

Tahapan Penelitian

Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel buah kopi Arabika dari perkebunan rakyat di Kabupaten Bener Meriah. Buah kopi dipanen pada tingkat kematangan optimal, dengan keseragaman warna merah mencapai

sekitar 90% (Rusma *et al.*, 2021). Setelah panen, buah kopi disortir melalui proses perendaman dalam air bersih untuk menghilangkan kotoran dan bahan asing, sehingga diperoleh sampel yang higienis dan layak digunakan pada tahap fermentasi. Proses fermentasi dilakukan secara anaerob, yaitu pemecahan senyawa organik oleh mikroorganisme menjadi etanol atau asam laktat tanpa adanya oksigen (Erkmen & Bozoglu, 2026). Fermentasi dilakukan dengan cara menempatkan buah kopi Arabika ke dalam wadah plastik LDPE dengan variasi lama fermentasi selama 5, 10, dan 15 hari. Setelah fermentasi selesai, cairan hasil fermentasi disaring menggunakan kertas saring tipe V60 untuk memisahkan sisa kotoran yang terdapat dalam sampel. Sampel hasil penyaringan kemudian dikirim ke Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, untuk dilakukan proses isolasi mikroba.

Penelitian Tahap Pertama

1. Fermentasi anaerob buah kopi arabika (Hakim *et al.*, 2023)
Sampel buah kopi arabika memiliki keseragaman warna merah 90%. Sampel disortasi melalui perendaman dengan menggunakan air bersih dan mengalir. Sampel dimasukkan ke dalam wadah kantong plastik LDPE dan difermentasi dengan waktu 5 hari, 10 hari dan 15 hari. Hasil saringan limbah cair fermentasi disaring menggunakan kertas saring model V60. Limbah cair hasil fermentasi dimasukkan ke dalam kemasan botol plastik dan siap untuk diisolasi.
2. Isolasi Mikroba (Zeng *et al.*, 2020; Yi *et al.*, 2020; Won *et al.*, 2020)
Isolasi mikroba dilakukan dari cairan hasil saringan fermentasi buah kopi Arabika yang diambil secara aseptik. Sampel diencerkan secara bertingkat menggunakan larutan NaCl fisiologis steril (0,85%) hingga 10^{-6} , kemudian diinokulasikan sebanyak 0,1 mL pada media Plate Count Agar (PCA) dan de Man, Rogosa and Sharpe Agar (MRSA) menggunakan metode spread plate. Media diinkubasi pada suhu 30–37 °C selama 24–48 jam. Koloni yang tumbuh diamati berdasarkan karakteristik morfologi dan dimurnikan dengan metode gores hingga diperoleh isolat murni untuk analisis lebih lanjut.

Penelitian Tahap Kedua

1. Total Pertumbuhan Koloni pada Media MRSA
Cairan hasil saringan fermentasi buah kopi arabika diambil sebanyak 10 ml.

Pengenceran dilakukan menggunakan larutan pengencer NaCl 0,85% berseri hingga 10^{-8} , kemudian diinokulasi ke dalam MRSA menggunakan metode tuang (pour plate). Selanjutnya, inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 48 jam dan koloni yang tumbuh dihitung menggunakan rumus pada Persamaan 1.

$$N = \frac{\sum c}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)} \dots \dots (1)$$

Keterangan:

N = Jumlah koloni produk (koloni/ml)

$\sum c$ = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = Pengenceran pertama yang dihitung

2. Pewarnaan Gram (Paray *et al.*, 2023)

Isolat diambil satu ose dan digoreskan di permukaan kaca preparat dan difiksasi di atas bunsen. Preparat kemudian diberi kristal violet 1 tetes dan didiamkan 1 menit. Preparat dibilas menggunakan akuades. Kaca preparat dikeringkan di atas bunsen. Preparat diberi larutan iod 1 tetes dan didiamkan hingga 1 menit. Preparat kemudian dibilas dengan alkohol 70% hingga warna luntur dan kembali dicuci menggunakan akuades. Preparat diberi 1 tetes safranin dan didiamkan selama 45 detik. Preparat lalu diberi akuades dan dikeringkan dengan tissue. Preparat diberi minyak emersi 1 tetes dan pengamatan dilakukan pada mikroskop perbesaran 100x.

Analisis Data

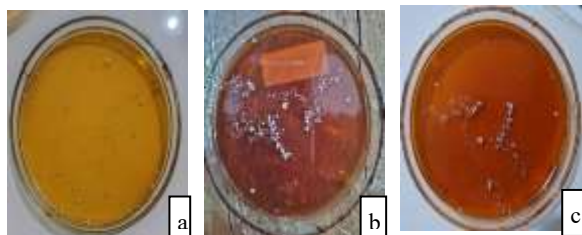
Data hasil isolasi dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan karakteristik mikroskopis isolat yang diperoleh dari cairan hasil saringan fermentasi buah kopi Arabika. Analisis meliputi hasil pewarnaan Gram, bentuk sel, dan kepadatan sel mikroba pada setiap waktu fermentasi. Pengamatan mikroskopis digunakan untuk menggambarkan perubahan karakter morfologi mikroba selama proses fermentasi serta kecenderungan dominasi kelompok mikroba tertentu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Mikroba

Hasil isolasi mikroba pada media de Man, Rogosa, and Sharpe agar (MRSA) menunjukkan adanya perbedaan pola pertumbuhan koloni pada setiap waktu fermentasi, yang mencerminkan dinamika populasi mikroba dalam cairan hasil saringan fermentasi kopi Arabika. Perbedaan tersebut terlihat jelas dari

jumlah, kerapatan, serta penyebaran koloni pada masing-masing perlakuan waktu fermentasi yang tersaji pada Gambar 1 dibawah ini.



Gambar 1. Isolasi dan pemurnian isolat mikroba pada media MRSA. (a) fermentasi hari ke 5, (b) fermentasi hari ke 10, (c) fermentasi hari ke 15

Gambar 1(a) memperlihatkan isolasi dari fermentasi hari ke-5, dimana koloni tumbuh relatif sedikit dan tersebar di permukaan media. Hal ini mengindikasikan bahwa pada tahap awal fermentasi, mikroba masih berada pada fase adaptasi dan belum menunjukkan pertumbuhan yang tinggi. Kondisi ini mirip dengan hasil studi yang menunjukkan bahwa pada fase awal fermentasi kopi, dominasi mikroba seperti *Leuconostoc* belum optimal dan komunitas mikroba mengalami fase adaptasi sebelum proliferasi lebih lanjut (Silva *et al.*, 2023). Pada Gambar 1(b), isolasi fermentasi hari ke-10 menunjukkan peningkatan jumlah dan kerapatan koloni secara signifikan dibanding hari ke-5. Koloni tampak lebih banyak dan tersebar lebih merata media MRSA, yang menandakan bahwa mikroba telah memasuki fase pertumbuhan eksponensial akibat ketersediaan nutrisi yang masih memadai. Peningkatan ini konsisten dengan literatur yang menemukan bahwa selama proses fermentasi kopi, bakteri asam laktat cenderung meningkat secara kuantitatif seiring berjalannya waktu fermentasi, sehingga berkontribusi pada produksi metabolit seperti asam organik (Shen *et al.*, 2024). Gambar 1(c) menunjukkan hasil isolasi pada fermentasi hari ke-15, dimana koloni tampak sangat padat dan cenderung berkelompok. Kepadatan koloni yang tinggi ini mengindikasikan bahwa populasi mikroba telah mencapai fase stasioner, dimana pertumbuhan mulai melambat akibat keterbatasan nutrisi dan akumulasi metabolit hasil fermentasi. Pola ini sesuai dengan dinamika komunitas mikroba yang dilaporkan, dimana bakteri asam laktat tetap dominan pada tahap akhir fermentasi dan komunitas lain menurun seiring bertambahnya waktu (Park & Manna, 2025).

Hasil isolasi pada ketiga waktu fermentasi menunjukkan adanya peningkatan jumlah dan densitas koloni mikroba seiring bertambahnya durasi fermentasi. Fermentasi kopi berlangsung melalui tahapan suksesi mikroba dari fase awal

yang kurang dominan menuju fase dimana komunitas seperti bakteri asam laktat berkembang dan mendominasi lingkungan fermentasi (Pereira *et al.*, 2025). Dinamika tersebut mendukung peran penting mikroorganisme dalam transformasi substrat selama fermentasi kopi Arabika, sekaligus menunjukkan bahwa cairan hasil samping fermentasi merupakan lingkungan yang kondusif bagi pertumbuhan mikroba fungsional (Sawant *et al.*, 2025).

Total Plate Count (TPC) Mikroba

Total Plate Count (TPC) digunakan sebagai indikator kuantitatif jumlah total mikroba dalam suatu sampel fermentasi. Jumlah total mikroorganisme dari cairan hasil samping fermentasi buah kopi Arabika ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Jumlah Total mikroba

Lama Fermentasi (Hari)	Total Mikroba (CFU/ml)
5	$3,09 \times 10^8$
10	$9,20 \times 10^8$
15	$5,90 \times 10^{10}$

Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa peningkatan jumlah total mikroba yang signifikan dalam cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika seiring dengan bertambahnya durasi waktu fermentasi mulai dari $3,09 \times 10^8$ CFU/mL pada fermentasi hari ke-5, meningkat menjadi $9,20 \times 10^8$ CFU/mL pada fermentasi hari ke-10, dan melonjak tajam menjadi $5,90 \times 10^{10}$ CFU/mL pada fermentasi hari ke-15. Jumlah mikroba pada fermentasi hari ke-10 mengalami kenaikan sebesar $0,47 \log_{10}$ dibandingkan pada fermentasi hari ke-5, sedangkan pada hari ke-15 mengalami kenaikan $2,00 \log_{10}$ dari jumlah total mikroba pada fermentasi hari ke-5. Kenaikan total $2 \log_{10}$ dari hari ke-5 ke hari ke-15 menggambarkan ekspansi populasi yang substansial dan berkelanjutan selama fermentasi proses fermentasi berlangsung (Sionek *et al.*, 2024).

peningkatan total mikroba tersebut mencerminkan bahwa lingkungan fermentasi cairan sampingan kopi Arabika cukup kondusif bagi pertumbuhan mikroba. Kondusivitas ini dipengaruhi oleh adanya substrat larut yang memenuhi kebutuhan nutrisi mikroba (misalnya gula, asam amino, senyawa organik), di samping faktor fermentasi seperti pH rendah yang mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat yang umumnya toleran terhadap kondisi asam. Studi fermentasi makanan lain juga menunjukkan bahwa durasi fermentasi berkorelasi positif dengan jumlah mikroba yang mampu tumbuh, terutama ketika kondisi

lingkungan mendukung aktivitas metabolik mikroba tersebut (Kitessa et al., 2024).

Peningkatan total mikroba selama fermentasi juga berimplikasi pada perubahan kimiawi substrat, termasuk pembentukan asam organik dan metabolit fungsional lain yang bermanfaat. Perubahan ini sering kali terjadi karena mikroba aktif memetabolisme nutrisi yang tersedia, sehingga total mikroba yang tinggi pada hari ke-15 dapat menunjukkan intensitas aktivitas mikroba yang lebih tinggi dibandingkan pada hari ke-5 dan ke-10. Kontribusi ini konsisten dengan ulasan ilmiah yang menunjukkan bahwa mikroba fermentatif tidak hanya berkembang secara jumlah tetapi juga memengaruhi kualitas produk melalui perubahan metabolit di sepanjang durasi fermentasi (Sawant et al., 2025).

Tren peningkatan jumlah total mikroba dari hari ke-5 hingga hari ke-15 menunjukkan adanya suksesi mikroba yang khas dalam fermentasi kopi Arabika dan menggambarkan dinamika komunitas mikroba yang mendukung proses transformasi substrat fermentasi menjadi produk yang memiliki potensi nilai tambah (Pereira et al., 2025).

Uji Pewarnaan gram

Pewarnaan gram dapat digunakan sebagai langkah awal dalam mengidentifikasi Bakteri asam laktat (BAL), hasil pewarnaan gram membantu dalam klasifikasi bakteri berdasarkan struktur dinding selnya. Pewarnaan gram dari hasil samping fermentasi buah kopi arabika ditunjukkan pada Tabel 2.

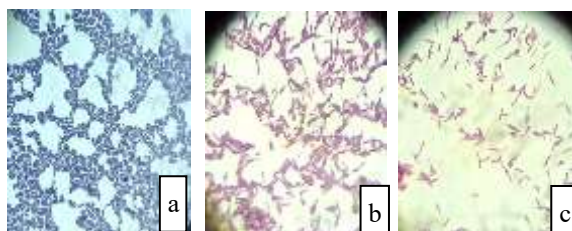
Tabel 2. Uji Pewarnaan gram Mikroba pada hasil samping fermentasi buah kopi arabika

Lama Fermentasi	Parameter	Hasil Pengamatan	Interpretasi Ilmiah	Genus
5 hari	Warna setelah pewarnaan Gram	Ungu/kebiruan	Bakteri tergolong Gram positif, mempertahankan kristal violet karena lapisan peptidoglikan tebal	<i>Bacillus</i> spp. - <i>Lactobacillus</i> spp. - <i>Streptococcus</i> spp. (bentuk rantai)
	Bentuk sel	Batang (basil)	Morfologi khas basil Gram positif	<i>Bacillus</i> , <i>Lactobacillus</i>
	Susunan sel	Rantai panjang dan kelompok	Menunjukkan kemampuan membelah secara berulang tanpa pemisahan	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bacillus</i> spp

	Reaksi Gram	Positif (tetap ungu setelah pewarnaan Gram)	sempurna antar sel Dinding sel kokoh, resisten terhadap pelarut alkohol dalam metode Gram	<i>Lactobacillus</i> spp.
	Distribusi koloni	Menyebar dalam agregat besar membentuk jaringan seperti filamen	Mengindikasikan kemampuan sel membelah berulang kali tanpa terpisah, khas BAL fermentatif	<i>Lactobacillus</i> spp.
	Konteks isolasi (fermentasi)	Isolat berasal dari lingkungan fermentasi	Produk fermentasi umumnya kaya BAL, sehingga genus paling dominan adalah <i>Lactobacillus</i> dibandingkan <i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus</i> spp.
10 hari	Warna Gram	Ungu/kebiruan	Menunjukkan dinding sel tebal dengan lapisan peptidoglikan dominan → Gram positif	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pediococcus</i>
	Bentuk sel	Batang (basil)	Termasuk kelompok basil, ciri khas bakteri Gram positif berbentuk panjang dan lurus	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bacillus</i>
	Susunan sel	Rantai pendek, berpasangan, atau kelompok	Beberapa genus BAL seperti <i>Lactobacillus</i> membentuk rantai, sedangkan <i>Bacillus</i> dapat bervariasi	<i>Lactobacillus</i>
	Reaksi Gram	Positif (ungu)	Menegaskan dinding sel kuat → stabil terhadap pelarut alkohol dalam	<i>Lactobacillus</i> sp.

	Ukura n relatif	Basil sedang- panjang (dibandin gkan dengan standar mikrosko p Gram)	pewarnaan n Gram Sesuai karakterist ik BAL dan <i>Bacillus</i>	<i>Lactoba cillus</i>
	Kontek s isolasi (ferme ntasi)	BAL dari sampel fermentasi	Lingkunga n fermentasi kaya BAL, sehingga genus dominan yang mungkin adalah <i>Lactobacill us</i>	<i>Lactoba cillus</i> sp.
15 hari	Warna Gram	Ungu/keu nguan	Menunjuk kan bakteri Gram positif dengan dinding sel kaya peptidoglik an	<i>Lactoba cillus</i> , <i>Bacillus</i>
	Bentuk Sel	Batang (rod- shaped/b asil)	Ciri khas kelompok basil Gram positif	<i>Lactoba cillus</i> , <i>Bacillus</i>
	Susuna n Sel	Tersebar, kadang berpasan gan atau rantai pendek	Mengindik asikan pola pembelah an yang tidak membentu k rantai panjang	<i>Lactoba cillus</i> sp.
	Reaksi Gram	Positif (ungu bertahan setelah pewarna an Gram)	Sesuai karakter dinding sel tebal yang resisten terhadap dekolorisasi	<i>Lactoba cillus</i> sp.
	Distribu si	Relatif jarang, tidak berkelom pok rapat	Bisa terkait fase pertumbuh an log/awal stasioner	<i>Lactoba cillus</i> sp.
	Kontek s isolasi (fermen tasi)	Isolat dari lingkunga n fermenta si	Lingkunga n kaya BAL, sehingga genus dominan biasanya <i>Lactobacill us</i> dibanding <i>Bacillus</i>	<i>Lactoba cillus</i> sp.

Hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri pada Tabel 2 dengan perlakuan lama fermentasi 5 hari menunjukkan bahwa sel tampak berwarna ungu kebiruan, yang menandakan bahwa bakteri ini mampu mempertahankan pewarna utama kristal violet setelah proses dekolorisasi dengan alkohol. Hal tersebut mengindikasikan bahwa bakteri tergolong Gram positif (Madigan *et al.*, 2019). Struktur dinding sel Gram positif kaya akan lapisan peptidoglikan tebal (20–80 nm), yang berfungsi mempertahankan warna dasar pewarnaan (Pasquina *et al.*, 2020). Bentuk sel bakteri yang diamati adalah batang (basil), dengan susunan sel yang sering membentuk rantai panjang maupun kelompok besar. Morfologi ini konsisten dengan karakteristik basil Gram positif dari genus tertentu, misalnya *Bacillus* spp. atau *Lactobacillus* spp., yang umumnya memperlihatkan susunan serupa ketika diamati dengan pewarnaan Gram (Dimri *et al.*, 2020). Pengamatan ini penting karena bentuk dan sifat Gram dari bakteri merupakan langkah awal dalam identifikasi mikroorganisme. Identifikasi morfologi melalui pewarnaan Gram memberikan gambaran awal mengenai kelompok bakteri yang diteliti sebelum dilakukan uji biokimia dan molekuler lebih lanjut (Chauhan & Jindal, 2020). Dengan demikian, hasil pewarnaan Gram pada isolat ini menguatkan dugaan bahwa bakteri termasuk dalam kelompok basil Gram positif, meskipun analisis lanjutan tetap diperlukan untuk memastikan spesiesnya. Morfologi hasil pewarnaan gram ditunjukkan pada gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Hasil uji pewarnaan Gram dengan pembesaran 1000x. (a) fermentasi hari ke 5, (b) fermentasi hari ke 10, (c) fermentasi hari ke 15

Hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri pada Tabel 2 dengan perlakuan lama fermentasi 10 hari menunjukkan bahwa sel bakteri berbentuk batang (basil) dengan warna dominan ungu keunguan. Warna ini menandakan bahwa isolat bakteri termasuk ke dalam kelompok Gram positif, karena mampu mempertahankan pewarna utama kristal violet-iodine complex setelah proses dekolorisasi dengan alkohol, berbeda dengan Gram negatif yang akan kehilangan pewarna tersebut dan berwarna merah muda akibat counterstain safranin

(Silhavy et al., 2010). Basil yang teramati memperlihatkan susunan berantai pendek maupun berpasangan, suatu ciri khas morfologi kelompok Gram positif dengan dinding sel kaya peptidoglikan. Susunan ini sesuai dengan karakteristik bakteri dari genus *Lactobacillus* spp. maupun *Bacillus* spp., yang sama-sama termasuk kelompok basil Gram positif (Shahid et al., 2025). Basil yang tampak tersusun berpasangan dan membentuk rantai pendek mengindikasikan pola pembelahan sel yang berulang tanpa pemisahan sempurna, suatu karakteristik khas pada kelompok Gram positif. Berdasarkan morfologi ini, kemungkinan besar isolat termasuk ke dalam genus *Bacillus* atau *Lactobacillus*, yang keduanya dikenal sebagai basil Gram positif dengan pola susunan berantai (Zhang et al., 2021).

Hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri pada Tabel 2 dengan perlakuan lama fermentasi 15 hari menunjukkan bahwa sel bakteri berbentuk basil (batang) dengan warna merah muda hingga merah. Warna ini mengindikasikan bahwa isolat termasuk kelompok Gram negatif, karena dinding selnya memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga pewarna utama kristal violet tidak dapat dipertahankan setelah proses dekolorisasi alkohol, dan sel kemudian menyerap pewarna kontras safranin (Singh et al., 2022). Pada Gambar pertama, tampak basil Gram negatif dengan susunan menyebar tidak teratur, menunjukkan bahwa sel-sel membelah secara tunggal maupun berpasangan. Gambar kedua memperlihatkan pola yang lebih jarang dengan basil tunggal berwarna merah muda yang lebih jelas terpisah. Variasi morfologi ini umum ditemukan pada bakteri Gram negatif, khususnya dalam genus *Enterobacteriaceae* (misalnya *Escherichia*, *Klebsiella*, atau *Enterobacter*) maupun genus non-fermentatif seperti *Pseudomonas* (Wang et al., 2021). Dengan demikian, hasil pewarnaan Gram ini menunjukkan isolat merupakan basil Gram negatif, yang secara morfologi sesuai dengan kelompok bakteri patogen oportunistik maupun bakteri lingkungan.

KESIMPULAN

Lama fermentasi berpengaruh signifikan terhadap dinamika populasi mikroba pada cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika. Jumlah total mikroba mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu fermentasi, dengan populasi tertinggi tercatat pada hari ke-15 fermentasi. Isolasi menggunakan media MRSA dan hasil pewarnaan Gram menunjukkan dominasi bakteri Gram positif berbentuk batang yang konsisten dengan karakteristik bakteri asam laktat, khususnya genus *Lactobacillus*. Kepadatan sel yang semakin meningkat pada

tahap fermentasi lanjut mengindikasikan bahwa waktu fermentasi merupakan faktor kunci dalam menentukan pertumbuhan dan dominasi mikroba. Temuan ini menegaskan peran penting mikroorganisme dalam proses fermentasi kopi serta menunjukkan bahwa cairan hasil samping fermentasi kopi Arabika berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber mikroba fungsional untuk pengembangan produk minuman probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi (KEMDIKTISAINTEK) Republik Indonesia atas dukungan pendanaan yang diberikan melalui skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun anggaran 2025, sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPS]. Badan Pusat Statistik. Bener Meriah Dalam Angka 2023. Diakses pada 25 Februari 2025
- Chauhan, A., & Jindal, T. (2020). Biochemical and molecular methods for bacterial identification. In *Microbiological methods for environment, food and pharmaceutical analysis* (pp. 425-468). Cham: Springer International Publishing.
- Cruz-O'Byrne, R., Piraneque-Gambasica, N., & Aguirre-Forero, S. (2021). Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. *International Journal of Food Microbiology*, 354, 109282.
- da Silva, M. D. C. S., Veloso, T. G. R., Junior, D. B., Bullergahn, V. B., da Luz, J. M. R., Menezes, K. M. S., Pereira, L. L. (2023). Bacterial community and sensory quality from coffee are affected along fermentation under carbonic maceration. *Food Chemistry Advances*, 3, 100554.
- de Melo Pereira, G. V., da Silva Vale, A., Ribeiro-Barros, A. I., Rodrigues, L. R. S., Mirção, G. M. D. F. B., Camilo, B & Soccol, C. R. (2025). Integrated microbial-metabolomic analysis reveals how fermentation contributes to the unique flavor of African Arabica coffee. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 100344.
- Dimri, A. G., Chaudhary, S., Singh, D., Chauhan, A., & Aggarwal, M. (2020). Morphological and biochemical characterization of food borne gram-positive and gram-negative bacteria. *Science Archives*, 1(1), 16-23.

- Distanbun Aceh. Statistik Perkebunan Aceh 2023. Dinas Pertanian dan Perkebunan Aceh. 2024. Provinsi Aceh.
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). Food microbiology, 2 volume set: Principles into practice (Vol. 2). John Wiley & Sons.
- Hakim, S., Irwansyah, I., Widayat, R., & Baihaqi, B. (2024). Analisis Kimia Kopi Cherry Arabika (*Coffea arabica*) dengan Kajian Kadar Alkohol, Kadar Kafein, Total Padatan Terlarut dan Total Asam Pada Limbah Hasil Fermentasi Anaerobik. *Jurnal Ilmiah Membangun Desa dan Pertanian*, 9(2), 172-179.
- Kim, S. G., Abbas, A., & Moon, G. S. (2024). Improved functions of fermented coffee by lactic acid bacteria. *Applied Sciences*, 14(17), 7596.
- Kim, S., Kim, J. C., Kim, Y. Y., Yang, J. E., Lee, H. M., Hwang, I. M., Kim, H. M. (2024). Utilization of coffee waste as a sustainable feedstock for high-yield lactic acid production through microbial fermentation. *Science of The Total Environment*, 912, 169521.
- Kitessa, D. A., Bacha, K., Tola, Y. B., Murimi, M. (2024). Effect of fermentation time and blending ratio on microbial dynamics, nutritional quality and sensory acceptability of Shameta: A traditional cereal-based fermented porridge for lactating mothers in Ethiopia. *Fermentation*, 10(3), 118.
- Madigan, M.T., Bender, K.S., Buckley, D.H., Sattley, W.M. and Stahl, D.A., 2019. Brock biology of microorganisms. Fifteenth.
- Paray, A. A., Singh, M., Mir, M. A., & Kaur, A. (2023). Gram staining: a brief review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336-341.
- Park, I., & Mannaa, M. (2025). Fermented Foods as Functional Systems: Microbial Communities and Metabolites Influencing Gut Health and Systemic Outcomes. *Foods*, 14(13), 2292.
- Pasquina-Lemonche, L., Burns, J., Turner, R. D., Kumar, S., Tank, R., Mullin, N., ... & Hobbs, J. K. (2020). The architecture of the Gram-positive bacterial cell wall. *Nature*, 582(7811), 294-297.
- Pereira, T. S., Batista, N. N., Pimenta, L. P. S., Martinez, S. J., Ribeiro, L. S., Naves, J. A. O., & Schwan, R. F. (2022). Self-induced anaerobiosis coffee fermentation: Impact on microbial communities, chemical composition and sensory quality of coffee. *Food Microbiology*, 103, 103962.
- Pramulya, R., Bantacut, T., Noor, E., & Yani, M. (2021). Desain Sistem Pertanian Dan Agroindustri Kopi Arabika Gayo Berkelanjutan Di Provinsi Aceh (Doctoral dissertation, Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor).
- Rusman, J., Michael, A., & Pasae, N. (2021). Deteksi Tingkat Kematangan Buah Kopi Arabika Berdasarkan Fitur Warna RGB Menggunakan Sensor TCS3200 Berbasis Arduino Uno. *Journal Dynamic Saint*, 6(1), 60-66.
- Sawant, S. S., Park, H. Y., Sim, E. Y., Kim, H. S., & Choi, H. S. (2025). Microbial Fermentation in Food: Impact on Functional Properties and Nutritional Enhancement-A Review of Recent Developments. *Fermentation (Basel)*, 11(1).
- Shahid, S., Asslam, F., & Imran, A. (2025). Harnessing the Potential of Crispr Technologies Across the Food Supply Chain. In *CRISPR-Based Gene Editing* (pp. 81-126). Apple Academic Press.
- Shen, X., Wang, Q., Wang, H., Fang, G., Li, Y., Zhang, J., & Liu, K. (2024). Microbial characteristics and functions in coffee fermentation: A review. *Fermentation*, 11(1), 5.
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The bacterial cell envelope. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(5), a000414.
- Silva, L. C., Pereira, P. V., Cruz, M. A. D., Costa, G. X., Rocha, R. A., Bertarini, P.L. & Santos, L. D. (2024). Enhancing sensory quality of coffee: The impact of fermentation techniques on *Coffea arabica* cv. Catiguá MG2. *Foods*, 13(5), 653.
- Silva, M. E. D. S., de Oliveira, R. L., de Lucena, R. M., da Silva, S. P., & Porto, T. S. (2024). Coffee fermentation as a tool for quality improvement: an integrative review and bibliometric analysis. *International Journal of Food Science & Technology*, 59(9), 5912-5925.
- Singh, S., Kumar, A., & Yadav, A. N. (2022). Gram staining and its applications in microbiology: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 937845. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.937845>
- Sionek, B., Szydłowska, A., Trzaskowska, M., & Kołożyn-Krajewska, D. (2024). The impact of physicochemical conditions on lactic acid bacteria survival in food products. *Fermentation*, 10(6), 298.
- Wang, H., Chen, Y., & Liu, Y. (2021). Advances in the taxonomy and identification of Gram-negative bacteria of clinical significance. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(12), e00921-21. <https://doi.org/10.1128/JCM.00921-21>

- Won, S. M., Chen, S., Park, K. W., & Yoon, J. H. (2020). Isolation of lactic acid bacteria from kimchi and screening of *Lactobacillus sakei* ADM14 with anti-adipogenic effect and potential probiotic properties. *Lwt*, 126, 109296.
- Yi, L., Qi, T., Hong, Y., Deng, L., & Zeng, K. (2020). Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria in Chinese homemade pickle and dry-cured meat, and bacteriocin identification by genome sequencing. *Lwt*, 125, 109177.
- Zeng, Y., Li, Y., Wu, Q. P., Zhang, J. M., Xie, X. Q., Ding, Y. & Wang, J. (2020). Evaluation of the antibacterial activity and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* isolated from Chinese homemade pickles. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2020(1), 8818989.
- Zhang, H., Dong, Y., & Yang, Z. (2021). Structure and function of Gram-positive bacterial cell walls: From molecules to cells. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(4), 443–456.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1903502>.