



Identifikasi dan Karakterisasi Mikroba pada Tape Singkong (*Manihot esculenta*) Setelah Pengisolasian melalui Teknik Pengecatan

Annisa Tuzzahra^{1*}, Ardi Mustakim²

¹⁻²Universitas Adiwangsa Jambi, Indonesia

Alamat: Jl. Sersan muslim No. RT 24, Thehok, Kec. Jambi Selatan, Kota Jambi, Indonesia

Korespondensi penulis: atuzzahra385@gmail.com*

Abstract. Cassava tape is a traditional fermented product widely consumed in Indonesia, especially in rural areas. It is produced from cassava (*Manihot esculenta*) through the activity of microorganisms during the fermentation process. The presence of microbes in this process plays a crucial role in the flavor, aroma, texture, and final quality of the product. The microorganisms involved, including bacteria, molds, and yeasts, work synergistically to break down the carbohydrate components of cassava into simpler products, resulting in the sweet taste and distinctive aroma of tape. This study aimed to identify and characterize the microbes present in cassava tape through isolation and microscopic staining using safranin. The isolation process involved several stages: sequential sample dilution, inoculation onto Nutrient Agar (NA) media using the pour method, and incubation at 37°C for 24 hours. The growing microbial colonies were observed macroscopically, then collected and subjected to simple safranin staining to determine the shape and distribution pattern of the microbial cells microscopically. Observations revealed colonies with diverse morphologies, including rod-shaped (bacilli) and spherical (cocci), evenly distributed across the observation area. This indicates that cassava tape contains microorganisms of various morphologies that play a role in the fermentation process. Simple safranin staining has been shown to provide an initial overview of the presence and form of microbes, although further identification to the genus or species level requires further tests such as Gram staining, biochemical tests, and molecular analysis. These findings open up opportunities for further in-depth research into consumption safety, the functional role of microbes in tape fermentation, and its potential use as a source of natural probiotics in traditional fermented foods.

Keywords: Cassava Tape, Fermentation, Microbial Isolation, Morphology, Safranin Staining.

Abstrak. Tape singkong merupakan salah satu produk fermentasi tradisional yang banyak dikonsumsi di Indonesia, terutama di daerah pedesaan, yang dihasilkan dari singkong (*Manihot esculenta*) melalui aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi. Keberadaan mikroba dalam proses ini berperan penting dalam pembentukan rasa, aroma, tekstur, serta kualitas akhir produk. Mikroorganisme yang terlibat, baik bakteri maupun kapang dan khamir, bekerja secara sinergis untuk menguraikan komponen karbohidrat pada singkong menjadi produk-produk yang lebih sederhana, sehingga menghasilkan cita rasa manis dan aroma khas tape. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi mikroba yang terdapat pada tape singkong melalui metode isolasi dan pewarnaan mikroskopis menggunakan pewarna safranin. Proses isolasi dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu pengenceran sampel secara bertingkat, inokulasi pada media Nutrient Agar (NA) dengan metode tuang, serta inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni mikroba yang tumbuh diamati secara morfologi makroskopis, kemudian diambil dan dilakukan pewarnaan sederhana dengan safranin untuk mengetahui bentuk serta pola penyebaran sel mikroba secara mikroskopis. Hasil pengamatan menunjukkan adanya koloni dengan morfologi beragam, termasuk bentuk batang (basil) dan bulat (kokus) yang tersebar merata pada bidang pengamatan. Hal ini mengindikasikan bahwa tape singkong mengandung mikroorganisme dari berbagai morfologi yang berperan dalam proses fermentasi. Pewarnaan sederhana dengan safranin terbukti mampu memberikan gambaran awal mengenai keberadaan dan bentuk mikroba, meskipun identifikasi lebih lanjut hingga tingkat genus atau spesies memerlukan uji lanjutan seperti pewarnaan Gram, uji biokimia, dan analisis molekuler. Temuan ini membuka peluang untuk penelitian lebih mendalam terkait keamanan konsumsi, peran fungsional mikroba dalam fermentasi tape, serta potensi pemanfaatannya sebagai sumber probiotik alami dalam pangan tradisional fermentasi.

Kata kunci: Tape Singkong, Fermentasi, Isolasi Mikroba, Morfologi, Pewarnaan Safranin.

1. LATAR BELAKANG

Tape singkong merupakan salah satu produk fermentasi tradisional Indonesia yang populer dan memiliki nilai budaya serta ekonomi yang tinggi. Produk ini dibuat dari singkong (*Manihot esculenta*) melalui proses fermentasi alami yang melibatkan berbagai jenis mikroorganisme, terutama ragi dan bakteri. Fermentasi tersebut berlangsung secara spontan dalam kondisi lingkungan yang mendukung, menghasilkan tape dengan tekstur lunak, rasa manis, serta aroma khas yang disukai oleh banyak kalangan (Utami, 2021). Selain memberikan karakteristik sensorik yang unik, proses fermentasi juga mengubah kandungan nutrisi singkong, sehingga berpotensi meningkatkan nilai fungsional tape sebagai pangan fermentasi.

Keberhasilan fermentasi tape sangat dipengaruhi oleh mikroorganisme yang terlibat. Mikroorganisme tersebut, khususnya bakteri asam laktat dan khamir, berperan dalam pemecahan karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana, serta menghasilkan senyawa volatil yang membentuk rasa dan aroma tape (Ramadhani, 2020). Oleh karena itu, penting untuk mengetahui komposisi mikroba dalam tape guna menjamin kualitas, keamanan, serta potensi kesehatannya. Identifikasi mikroba ini juga berperan dalam pengembangan produk fermentasi sebagai sumber probiotik lokal (Putra, 2019).

Identifikasi dan karakterisasi mikroba dari pangan fermentasi tradisional seperti tape singkong penting dilakukan tidak hanya untuk tujuan ilmiah, tetapi juga sebagai dasar dalam standarisasi mutu produk fermentasi rumah tangga yang saat ini belum banyak memiliki regulasi mikrobiologis. Salah satu pendekatan awal yang dapat dilakukan adalah dengan melakukan isolasi mikroba menggunakan media umum seperti Nutrient Agar (NA), yang mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri dari sampel tape (Handayani, 2021). Proses isolasi mikroba ini diawali dengan pengenceran serial untuk menurunkan konsentrasi mikroba, dilanjutkan dengan inokulasi ke dalam media, dan inkubasi pada suhu yang sesuai agar koloni dapat tumbuh optimal.

Setelah diperoleh koloni mikroba dari tape singkong, karakterisasi lanjutan dapat dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni secara makroskopis serta teknik pewarnaan mikroskopis. Salah satu metode pewarnaan yang sederhana namun efektif untuk identifikasi awal morfologi mikroba adalah pengecatan dengan safranin. Pewarnaan safranin digunakan sebagai pewarna kontras yang mempermudah visualisasi bentuk sel bakteri, seperti bentuk batang (basil), bulat (kokus), maupun susunan sel (Safitri, 2020). Teknik ini menjadi alternatif praktis dalam studi mikrobiologi dasar karena tidak memerlukan prosedur kompleks seperti pewarnaan Gram, namun tetap dapat memberikan informasi visual awal terhadap bentuk sel bakteri.

Pengamatan morfologi sel dengan mikroskop, meskipun bersifat deskriptif, tetap menjadi salah satu metode dasar dalam identifikasi awal mikroba karena dapat membantu menyaring jenis mikroba dominan dalam suatu sampel (Anggraini, 2021). Proses ini akan sangat bermanfaat terutama pada penelitian awal untuk memetakan potensi mikroba dari produk fermentasi lokal. Hal ini juga diperkuat oleh pendapat Fadhilah (2022) yang menyatakan bahwa pemetaan mikroba tape singkong sangat penting mengingat setiap wilayah atau rumah produksi dapat menghasilkan komposisi mikroba yang berbeda akibat perbedaan lingkungan fermentasi.

Dengan mempertimbangkan pentingnya peran mikroorganisme dalam fermentasi dan potensi fungsionalnya, maka penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi mikroba yang terdapat dalam tape singkong. Proses dilakukan melalui isolasi koloni menggunakan media NA dan pengamatan mikroskopis menggunakan teknik pengecatan safranin untuk mengamati bentuk serta sebaran mikroba secara awal.

2. METODE PENELITIAN





Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif laboratorium yang bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi mikroorganisme dalam tape singkong melalui proses isolasi dan pewarnaan mikroskopis. Sampel tape singkong yang telah difermentasi selama dua hari diambil secara aseptis dari bagian tengah produk dan dimasukkan ke dalam wadah steril. Sebanyak 1 gram tape ditimbang dan dimasukkan ke dalam 9 mL akuades steril, lalu dikocok hingga homogen untuk menghasilkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, sebanyak 0,1 mL larutan hasil pengenceran diambil dan diinokulasikan ke dalam cawan petri berisi media Nutrient Agar (NA) menggunakan metode sebar (spread plate). Cawan kemudian diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam.

Setelah masa inkubasi, koloni bakteri yang tumbuh diamati secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, dan pola pertumbuhannya. Beberapa koloni yang mewakili diambil menggunakan jarum ose, lalu dibuat sediaan mikroskopis pada kaca objek. Pewarnaan dilakukan menggunakan metode pewarnaan sederhana dengan safranin, di mana sediaan yang telah dikeringkan dan difiksasi ditetesi larutan safranin selama 30–60 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Setelah itu, sediaan diamati menggunakan mikroskop cahaya pada Mikroskop. Data yang dikumpulkan berupa deskripsi morfologi sel mikroba, seperti bentuk (batang, bulat), ukuran relatif, dan pola sebaran, yang digunakan sebagai dasar identifikasi awal.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN



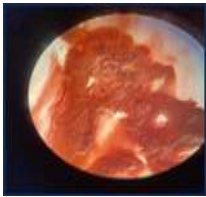
Setelah seluruh tahapan isolasi mikroba melalui proses pengenceran, inokulasi pada media NA, dan inkubasi selama 24 jam selesai dilakukan, tahap selanjutnya adalah melakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis terhadap mikroorganisme yang tumbuh. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui morfologi koloni serta bentuk sel mikroba yang terdapat pada tape singkong. Proses identifikasi dilanjutkan dengan pewarnaan menggunakan safranin, yang bertujuan untuk memperjelas struktur sel saat diamati di bawah mikroskop. Hasil pengamatan dari keseluruhan tahapan tersebut akan ditunjukkan dalam tabel berikut.

Tabel 1. Hasil pengamatan dari keseluruhan tahapan

| Keterangan | Dokumentasi |
|--|--|
| Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa tape singkong hasil fermentasi alami selama dua hari pada suhu ruang. Pengambilan dilakukan secara aseptis dari bagian tengah tape untuk memperoleh mikroorganisme aktif yang berkembang selama proses fermentasi. |  |
| Proses pengenceran dilakukan dengan menimbang 1 gram tape singkong, kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL akuades steril dan dikocok hingga homogen untuk menghasilkan pengenceran 10^{-1} . Tujuan dari pengenceran ini adalah untuk mengurangi kepadatan mikroba agar koloni dapat tumbuh terpisah dan teramati secara jelas pada media. |  |
| Suspensi mikroba dari tape singkong diambil 0,1 mL, kemudian diinokulasikan pada media Nutrient Agar dengan metode sebar dan diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam. |  |
| Media yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam untuk memungkinkan pertumbuhan mikroba. |  |

Setelah proses inokulasi dan inkubasi selesai, sampel mikroba dari media kultur kemudian dilakukan pewarnaan Gram menggunakan pewarna safranin. Proses pewarnaan ini bertujuan untuk mengamati morfologi sel, seperti bentuk, ukuran, dan pewarnaan bakteri pada preparat mikroskopis. Hasil pengamatan dari pewarnaan safranin akan menjadi dasar penting dalam identifikasi dan karakterisasi mikroba pada tape singkong.

Tabel 2. Hasil pengamatan dari pewarnaan safranin

| Keterangan | Dokumentasi |
|---|---|
| <p>Satu tetes pewarna safranin diberikan pada preparat yang telah dioles dengan sampel menggunakan jarum ose, kemudian dibiarkan selama 30–60 detik sebelum dibilas dengan air dan dikeringkan untuk diamati di bawah mikroskop.</p> |  |
| <p>Setelah tetesan safranin diberikan pada preparat, sampel didiamkan selama 1 menit agar pewarna meresap dengan baik ke dalam sel mikroba. Selanjutnya preparat dianginkan secara hati-hati di atas api selama beberapa detik untuk mengeringkan pewarna, kemudian dianginkan kembali hingga benar-benar kering sebelum diamati menggunakan mikroskop. Proses ini bertujuan agar hasil pewarnaan optimal dan detail morfologi mikroba dapat terlihat dengan jelas.</p> |  |
| <p>Hasil Pengamatan setelah diberikan pewarnaan Tunggal yakni pewarnaan Safranin.</p> |  |

Hasil pengamatan mikroskopis terhadap preparat tape singkong menunjukkan adanya struktur mikroorganisme yang cukup kompleks, dengan morfologi berfilamen serta warna yang cenderung kemerahan akibat pewarnaan safranin. Hal ini menandakan adanya koloni bakteri Gram-negatif dan kemungkinan juga jamur fermentatif yang berkembang selama proses fermentasi.

Struktur hifa dan spora yang terlihat pada pengamatan ini menunjukkan keterlibatan jamur jenis *Amylomyces rouxii* atau *Rhizopus oryzae* dalam fermentasi, seperti dijelaskan oleh (Nugraheni et al. 2020) yang menyatakan bahwa tape singkong secara umum mendominasi oleh jamur dengan kemampuan amilolitik tinggi. Penelitian oleh (Kurniawan & Susanti. 2019) juga mendukung temuan ini, di mana mikroorganisme utama pada tape singkong terdiri dari *Saccharomyces cerevisiae* dan jamur dari kelompok *Mucoraceae* yang mampu mendegradasi pati menjadi glukosa. Warna dan struktur yang terlihat melalui pewarnaan safranin memperkuat keberadaan mikroorganisme tersebut, khususnya *S. cerevisiae*, yang menunjukkan karakteristik bulat dan berwarna merah muda di bawah mikroskop. Selain itu,

berdasarkan penelitian oleh (Wijayanti et al. 2021), pewarnaan Gram dapat memperlihatkan perbedaan morfologi bakteri fermentatif. Dalam tape singkong, ditemukan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* dan *L. fermentum* yang memiliki bentuk batang, yang secara mikroskopis dapat diidentifikasi melalui pewarnaan diferensial.

Hasil ini sejalan dengan studi dari (Rosyida et al. 2023) yang mengungkap bahwa kombinasi mikroba tersebut penting untuk menghasilkan cita rasa, tekstur, dan kandungan alkohol rendah pada tape. Struktur kasar dan agregat koloni yang terlihat mendukung keberadaan komunitas mikroba campuran, yang juga dijelaskan oleh (Aditya & Wahyuni. 2020) dalam studi tentang komunitas mikroba dalam fermentasi cassava.

Lebih lanjut, menurut (Prasetya et al. 2021), jamur amilolitik dalam fermentasi menghasilkan enzim-enzim seperti amilase dan glukoamilase yang mempercepat proses hidrolisis pati. Ini tampak melalui pembentukan zona bening atau translusen di sekitar koloni, yang juga teramati pada preparat penelitian ini. Studi oleh (Lestari dan Yuliana. 2018) menambahkan bahwa suhu dan kelembaban selama fermentasi memengaruhi aktivitas mikroorganisme, yang bisa menjelaskan kenapa distribusi koloni dalam hasil pengamatan tampak tidak merata.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Proses fermentasi tape singkong melibatkan berbagai jenis mikroba, terutama bakteri asam laktat dan jamur amilolitik, yang berperan penting dalam mengubah pati menjadi gula dan menghasilkan produk dengan cita rasa khas. Pewarnaan Gram dengan safranin efektif digunakan untuk mengamati morfologi dan karakteristik mikroba yang terlibat dalam fermentasi. Faktor lingkungan seperti suhu dan kelembaban juga memengaruhi pertumbuhan mikroba selama fermentasi. Secara keseluruhan, fermentasi tape merupakan proses simbiotik antar mikroorganisme yang menghasilkan produk bernilai gizi dan rasa yang baik.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan metode identifikasi mikroba yang lebih spesifik dan akurat, seperti teknik molekuler, guna mengetahui komposisi mikroba secara detail. Selain itu, perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai pengaruh variabel lingkungan seperti suhu, pH, dan waktu fermentasi terhadap kualitas tape singkong. Pengembangan teknik pewarnaan dan observasi mikroskopis yang lebih canggih juga diharapkan dapat meningkatkan pemahaman tentang mikroba dalam proses fermentasi.

DAFTAR REFERENSI

- Aditya, R., & Wahyuni, R. (2020). Profil komunitas mikroba dalam fermentasi cassava tradisional. *Jurnal Bioteknologi Tropika*, 4(2), 87–94.
- Anggraini, D. (2021). Teknik pewarnaan mikroskopis untuk identifikasi bakteri dalam makanan fermentasi. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 5(2), 78–85.
- Baskoro, T., Rahmawati, S., & Putri, D. A. (2022). Peran pewarnaan mikroskopis dalam analisis morfologi mikroorganisme tape. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 11(1), 66–72.
- Dewi, R. (2022). Isolasi dan pengamatan koloni mikroba pada tape singkong menggunakan media NA. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 9(1), 66–72.
- Fadhilah, S. (2022). Kajian awal mikrobiologi pangan fermentasi tradisional. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Nusantara*, 11(2), 101–108.
- Handayani, M. (2021). Identifikasi mikroflora fermentasi lokal dan potensinya sebagai probiotik. *Jurnal Biologi Tropis*, 8(1), 54–60.
- Kurniawan, H., & Susanti, R. (2019). Karakterisasi mikrobiota tape singkong tradisional. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains*, 7(3), 133–141.
- Lestari, M. D., & Yuliana, E. (2018). Pengaruh kondisi lingkungan terhadap pertumbuhan mikroba fermentasi tape. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 6(2), 23–30.
- Nugraheni, L. P., Suryani, T., & Handoko, B. (2020). Identifikasi jamur amilolitik pada fermentasi tape singkong. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 8(1), 22–29.
- Prasetya, B., Wulandari, R., & Hartati, Y. (2021). Aktivitas enzim amilolitik oleh kapang fermentasi. *Jurnal Enzimologi Indonesia*, 9(2), 55–61.
- Putra, A. D. (2019). Komunitas mikroba pada proses fermentasi tape singkong. *Jurnal Bioteknologi Pangan Indonesia*, 7(2), 89–96.
- Ramadhani, F. (2020). Transformasi pati menjadi gula oleh mikroorganisme fermentatif. *Jurnal Sains Pangan*, 6(2), 77–82.
- Rosyida, N. H., Mulyani, R., & Setiawan, A. (2023). Mikrobiota berperan dalam fermentasi tape sebagai proses simbiotik. *Jurnal Pangan dan Gizi Tropika*, 10(1), 44–51.
- Safitri, N. (2020). Aplikasi pewarnaan safranin dalam identifikasi bakteri tape. *Jurnal Laboratorium Terpadu*, 4(3), 112–118.
- Utami, Y. (2021). Tape singkong sebagai pangan fermentasi tradisional bernilai fungsional. *Jurnal Pangan Lokal Indonesia*, 10(2), 93–100.
- Wijayanti, T., Sari, M., & Nugroho, F. (2021). Pewarnaan Gram untuk identifikasi bakteri asam laktat pada fermentasi. *Jurnal Laboratorium Biologi*, 5(1), 10–17.