

Identifikasi Mikroorganisme yang Terlibat dalam Proses Fermentasi Tape Singkong (Manihot Utilissima) secara Mikroskopis dan Analisis

Ni'matullathifah^{1*}, Ardi Mustakim²

¹⁻² Universitas Adiwangsa Jambi

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

Korespondensi penulis: nimatullathifah60@gmail.com ^{1*}

Abstract. *Cassava (Manihot utilissima) fermentation is a traditional process that has long been used to produce tape singkong, a distinctive Indonesian fermented food product. This fermentation process relies on natural or inoculated microorganisms, such as yeast, mold, and lactic acid bacteria, which play a crucial role in converting starch in cassava into simpler sugars. This process results in the unique taste of tape, characterized by a balance of sweet and sour flavors and a soft texture that distinguishes tape singkong. This study aims to identify the microorganisms involved in the fermentation process of tape singkong through microscopic observation. Tape samples were collected at various stages of fermentation to obtain a comprehensive picture of the microbial changes occurring during the fermentation process. Gram staining was used to differentiate microbes based on their cell wall characteristics, while the morphology of molds and yeasts was examined to identify the types of microorganisms involved in the fermentation. The study's findings revealed that the microorganisms involved in cassava fermentation included a variety of species, including *Saccharomyces cerevisiae* (yeast), *Lactobacillus* spp. (lactic acid bacteria), and filamentous molds such as *Rhizopus* spp. These microorganisms play vital roles in the fermentation process by breaking down starch into simpler sugars, which contribute to the characteristic sweet and sour taste and soft texture of tape. This microscopic identification underscores the significant role of microbial activity in the success of the cassava fermentation process and provides insights into the microbiological profile of traditional fermented foods. These findings also open up opportunities for further development in biotechnology and the food industry, exploring the potential of local microorganisms to produce higher-quality and more diverse fermented food products.*

Keywords: BAL, Fermentation, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, Tapai

Abstrak. Fermentasi ubi kayu (*Manihot utilissima*) adalah proses tradisional yang telah lama digunakan untuk menghasilkan tape singkong, salah satu produk olahan pangan khas Indonesia. Proses fermentasi ini mengandalkan mikroorganisme alami atau yang diinokulasi, seperti khamir, kapang, dan bakteri asam laktat, yang memainkan peran krusial dalam mengubah pati dalam ubi kayu menjadi gula yang lebih sederhana. Proses tersebut menghasilkan rasa tape yang unik, dengan keseimbangan rasa asam manis dan tekstur lembut yang menjadi ciri khas tape singkong. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi tape singkong melalui pengamatan mikroskopis. Sampel tape dikumpulkan pada berbagai tahap fermentasi untuk memperoleh gambaran menyeluruh tentang perubahan mikroba yang terjadi selama proses fermentasi. Teknik pewarnaan Gram digunakan untuk membedakan mikroba berdasarkan karakteristik dinding sel mereka. Selain itu, pengamatan morfologi kapang dan khamir dilakukan untuk mengidentifikasi jenis mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tape. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroba yang terlibat dalam fermentasi tape singkong terdiri dari berbagai jenis, termasuk *Saccharomyces cerevisiae* (khamir), *Lactobacillus* spp. (bakteri asam laktat), dan kapang berfilamen seperti *Rhizopus* spp. Ketiga jenis mikroorganisme ini memiliki peran penting dalam proses fermentasi, dimana mereka membantu memecah pati menjadi gula yang lebih sederhana, yang berkontribusi pada pembentukan rasa asam manis serta tekstur lembut pada tape. Identifikasi mikroskopis ini menegaskan bahwa aktivitas mikroba memegang peranan utama dalam keberhasilan proses fermentasi tape singkong, serta memberikan wawasan mengenai profil mikrobiologis makanan fermentasi tradisional. Temuan ini juga membuka peluang untuk pengembangan lebih lanjut dalam bidang bioteknologi dan industri pangan, dengan menggali potensi mikroorganisme lokal dalam menghasilkan produk olahan fermentasi yang lebih berkualitas dan beragam.

Kata kunci: BAL (Bakteri Asam Laktat), Fermentasi, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, Tapai

1. LATAR BELAKANG

Tape singkong merupakan salah satu produk fermentasi tradisional khas Indonesia yang dibuat dari umbi singkong (*Manihot utilissima*) melalui proses fermentasi spontan dengan bantuan ragi. Proses fermentasi ini tidak hanya mengubah rasa dan tekstur singkong menjadi manis dan lunak, tetapi juga melibatkan aktivitas berbagai jenis mikroorganisme. Mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tape antara lain adalah ragi (khususnya *Saccharomyces cerevisiae*), bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* spp., serta kapang seperti *Rhizopus* spp. Mikroorganisme tersebut berkontribusi terhadap pemecahan karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana dan menghasilkan senyawa-senyawa yang mempengaruhi aroma serta rasa khas tape.

Identifikasi mikroorganisme dalam tape singkong sangat penting untuk memahami proses fermentasi secara ilmiah dan untuk memastikan keamanan serta kualitas produk akhir. Salah satu metode sederhana dan umum digunakan untuk identifikasi mikroorganisme secara langsung adalah melalui pengamatan mikroskopis. Pewarnaan Gram yaitu metode pewarnaan diferensial untuk mengidentifikasi dan mengklasifikasikan bakteri berdasarkan karakteristik dinding selnya. Prinsip pewarnaan Gram didasarkan pada perbedaan ketebalan lapisan peptidoglikan dalam dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga mampu mempertahankan pewarna utama kristal violet setelah proses pencucian dengan alkohol. Sebaliknya, bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis dan disertai membran luar yang kaya akan lipopolisakarida, sehingga kristal violet mudah larut dan hilang saat dicuci dengan alkohol, lalu diserap oleh pewarna kedua berupa safranin yang memberikan warna merah muda. Prosedur pewarnaan Gram meliputi empat tahapan, yaitu pemberian kristal violet sebagai pewarna primer, penambahan larutan iodin sebagai mordant untuk membentuk kompleks pewarna-iodin, pencucian dengan alkohol atau aseton sebagai zat dekolorisasi, dan pemberian safranin sebagai pewarna kontras. Melalui tahapan ini, bakteri Gram positif akan tampak berwarna ungu, sedangkan Gram negatif berwarna merah muda di bawah mikroskop.

Melalui pengamatan mikroskopis terhadap tape singkong yang telah difermentasi, diharapkan dapat diidentifikasi jenis-jenis mikroorganisme yang dominan selama proses fermentasi. Pengetahuan ini dapat memberikan kontribusi penting terhadap pengembangan produk fermentasi tradisional yang lebih higienis, konsisten, dan bernilai gizi tinggi.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Adiwangsa Jambi. Sampel penelitian yang digunakan adalah tape singkong.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilkan alat-alat seperti tabung reaksi, cawan petri, pipet, jarum inokulasi, dan gelas objek menggunakan autoklaf.

Siapkan bahan:

Tape singkong (sampel)

Media agar: NA (Nutrient Agar)

Pewarna Gram (kristal violet, iodine, alkohol, safranin)

Pengenceran Sampel (Serial Dilution 10^{-1} hingga 10^{-6})

Pertama buat pengenceran tape singkong dengan aquadest dalam gelas beker ambil 1 gram tape singkong. Setelah itu ambil 1mL masukkan kedalam 9 mL NaCl → ini menjadi pengenceran 10^{-1} . Pindahkan 0,1 ml dari 10^{-1} , masukkan kedalam 9 mL NaCl → 10^{-2} .

Lanjutkan hingga mencapai 10^{-6} . Menghasilkan penenceran dalam NaCl dan steril serta homogen. (Ini dilakukan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme agar koloni dapat tumbuh terpisah di media.)

Penanaman Sampel ke Media (Inokulasi)

Pindahkan 0,1 ml kultur secara aseptis dari larutan hasil pengenceran.

Teteskan di permukaan cawan petri berisi NA.

Ratakan menggunakan spreader steril, lalu inkubasi.

Pengamatan Koloni Mikroorganisme

Setelah inkubasi, amati pertumbuhan koloni pada cawan.

Pilih koloni yang tumbuh terpisah dan berbeda morfologi (warna, bentuk, pinggir, dll).

Koloni yang terpisah bisa digunakan untuk identifikasi mikroskopis.

Pewarnaan Gram

Ambil satu koloni bakteri menggunakan jarum ose steril, oleskan ke kaca objek dengan sedikit air steril (buat sediaan), keringkan di udara.

Lakukan pewarnaan Gram:

Teteskan kristal violet (1 menit) → bilas air

Teteskan iodine (lugol) (1 menit) → bilas air

Teteskan alkohol 96% (20 detik) → bilas air

Teteskan safranin (30–60 detik) → bilas air dan keringkan. Setelah itu, diamati dengan menggunakan mikroskop.

Pengamatan Mikroskopis

Tambahkan minyak imersi, amati dengan mikroskop perbesaran 1000x (lensa objektif 100x + okuler 10x).

Identifikasi berdasarkan:

Warna:

Ungu → Gram positif

Merah muda → Gram negatif

Bentuk sel: kokus (bulat), basil (batang), atau lainnya

Pencatatan dan Identifikasi

Catat bentuk, warna Gram, dan kemungkinan jenis mikroorganismenya.

Bandingkan hasil dengan literatur mikrobiologi untuk identifikasi kemungkinan spesies, misalnya:

Lactobacillus spp. → Gram positif, basil

Saccharomyces → ragi, oval, bisa terlihat tapi tidak selalu jelas dengan Gram stain

Rhizopus spp. → kapang, tidak optimal terlihat dengan Gram, butuh pewarnaan khusus.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi mikroorganisme pada fermentasi tape singkong secara mikroskopis bertujuan untuk mengetahui jenis mikroorganisme yang berkembang selama proses fermentasi. Proses dimulai dari tahap sterilisasi alat dan bahan, dilanjutkan dengan pengenceran sampel tape singkong menggunakan larutan NaCl fisiologis hingga derajat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} . Sampel hasil pengenceran kemudian ditanam (inokulasi) pada media pertumbuhan. Setelah inkubasi pada suhu kamar atau inkubator (sekitar 30–37°C), koloni mikroorganisme yang tumbuh diamati dan diambil untuk preparat pewarnaan Gram.

Preparat mikroskopis dibuat dengan metode pewarnaan Gram untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan adanya bakteri berbentuk kokus (bulat) dan basil (batang), dengan dominasi pewarnaan

berwarna ungu. Warna ungu ini menunjukkan bahwa sebagian besar bakteri yang teridentifikasi adalah bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif mempertahankan warna kristal violet karena dinding selnya yang tebal dan kaya peptidoglikan, sehingga tidak larut saat proses dekolorisasi dengan alkohol.

Mikroorganisme yang umum ditemukan dalam tape singkong antara lain adalah bakteri *Lactobacillus*, *Leuconostoc sp.*, dan khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*. *Lactobacillus* berbentuk batang dan biasanya tersusun tunggal atau berpasangan. Perannya sangat penting dalam menghasilkan asam laktat yang memberikan rasa asam pada tape. Keberadaan bakteri Gram positif ini menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan secara alami dan baik, karena mikroorganisme tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui produksi asam dan senyawa antimikroba.

Secara keseluruhan, hasil pengamatan menunjukkan bahwa mikroorganisme dominan pada fermentasi tape singkong secara mikroskopis adalah bakteri Gram positif, yang terlihat berwarna ungu di bawah mikroskop. Hasil ini sesuai dengan peran utama *Lactobacillus* dan mikroorganisme fermentatif lainnya dalam proses pembuatan tape singkong yang aman dan bercita rasa khas.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil identifikasi mikroorganisme pada fermentasi tape singkong secara mikroskopis, dapat disimpulkan bahwa mikroorganisme yang ditemukan didominasi oleh bakteri Gram positif, yang ditandai dengan pewarnaan ungu saat diamati di bawah mikroskop setelah pewarnaan Gram. Mikroorganisme ini umumnya berupa bakteri berbentuk batang seperti *Lactobacillus sp.* yang berperan penting dalam proses fermentasi tape dengan menghasilkan asam laktat. Dengan demikian, mikroorganisme utama yang berperan dalam fermentasi tape singkong adalah bakteri Gram positif, khususnya bakteri asam laktat yang mendukung proses fermentasi dan pembentukan cita rasa khas tape.

DAFTAR REFERENSI

- Baron, E. J., Peterson, L. R., & Finegold, S. M. (1994). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* (9th Ed.). Mosby-Year Book.
- Cappuccino, J. G., & Welsh, C. (2017). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11th Ed.). Pearson.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey And Scott's Diagnostic Microbiology* (12th Ed.). Mosby Elsevier.

- Goyal, R., & Singh, D. (2021). Morphological And Microscopic Techniques In Microbial Identification. *International Journal Of Scientific Research*, 10(3), 12-16.
- Leboffe, M. J., & Pierce, B. E. (2021). *Microbiology Laboratory Theory And Application* (5th Ed.). Morton Publishing.
- Macfaddin, J. F. (2000). *Biochemical Tests For Identification Of Medical Bacteria* (3rd Ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology Of Microorganisms* (15th Ed.). Pearson.
- Mahon, C. R., Lehman, D. C., & Manuselis, G. (2018). *Textbook Of Diagnostic Microbiology* (6th Ed.). Elsevier.
- Morlon-Guyot, J., Guyot, J. P., Pot, B., De Haut, I. J., & Raimbault, M. (1998). *Lactobacillus Manihotivorans* Sp. Nov., A New Starch-Hydrolyzing Lactic Acid Bacterium Isolated During Cassava Sour Starch Fermentation. *International Journal Of Systematic Bacteriology*. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1101>
- Mozzi, F., Raya, R. R., Vignolo, G. M., & Love, J. C. (2010). Biotechnology Of Lactic Acid Bacteria. In *Lactic Acid Bacteria: Microbiological And Functional Aspects* (pp. 118-130). <https://doi.org/10.1002/9780813820866>
- Njoku, O. U., & Okereke, J. N. (2016). Microscopic Techniques For Microbial Identification: A Review. *International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences*, 5(7), 718-726.
- Oyeleke, S. B., & Manga, B. S. (2008). *Essentials Of Laboratory Practical In Microbiology*. Tobest Publisher.
- Sutedjo, M. (1996). *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2020). *Microbiology: An Introduction* (13th Ed.). Pearson Education.
- Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2017). *Prescott's Microbiology* (10th Ed.). Mcgraw-Hill Education.