



Identifikasi *Bacillus sp.* pada Fermentasi Tapai Singkong

¹Uut Saridewi, ^{2*}I Nengah Kundera, ³I Made Budiarsa, ⁴Musdalifah Nurdin,
⁵Manap Trianto, ⁶Yulia Windarsih

^{1,2,3,4,5,6}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tadulako, Palu, Indonesia.

*Corresponding Author e-mail: nengahkundera@gmail.com

Received: May 2025; Revised: June 2025; Accepted: July 2025; Published: September 2025

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Bacillus sp.* pada fermentasi tapai singkong yang memiliki potensi sebagai bahan probiotik. Jenis penelitian yang digunakan adalah deskriptif eksploratif dengan menggunakan metode *Standar Plate Count* (SPC), Pewarnaan Gram, serta Uji Biokimia dengan *Microbant System 12B*. Sampel tapai singkong diperoleh dengan cara dilakukan fermentasi selama 5 hari. Fermentasi tapai singkong dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) Uji menggunakan *Standar Plate Count* diperoleh nilai tertinggi pada pengamatan hari ke-4 sebesar 231×10^{-2} CFU/ml, sedangkan nilai terendah pada pengamatan hari ke-1 sebesar 162×10^{-2} CFU/ml. (2) Pewarnaan Gram isolat bakteri yang diperoleh memiliki ciri morfologi Gram positif berbentuk batang. (3) Uji Biokimia dengan menggunakan *Microbant System 12B* mampu memfermentasi beberapa jenis karbohidrat seperti sorbitol, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, dan salisin, namun tidak mampu memfermentasi Inositol, Malonate, Rhamnose, Raffinose, dan Arginine. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diidentifikasi dari fermentasi tapai singkong mampu memfermentasi sesuai dengan kemampuan fisiologi *Bacillus sp.*

Kata Kunci: Identifikasi; tapai singkong; *Bacillus sp*

Abstract: This study aims to identify *Bacillus sp.* in cassava tapai fermentation that has potential as a probiotic ingredient. The type of research used is descriptive exploratory using the Standard Plate Count (SPC) method, Gram staining, and biochemical testing with the Microbant System 12B. Cassava tapai samples were obtained by fermenting them for 5 days. Fermentation of cassava tapai was carried out in the Biology Education Laboratory. The results of the study showed that (1) The Standard Plate Count test yielded the highest value on the 4th day of observation at 231×10^{-2} CFU/ml, while the lowest value was observed on the 1st day at 162×10^{-2} CFU/ml. (2) Gram staining of the bacterial isolates revealed Gram-positive rod-shaped morphology. (3) Biochemical testing using the Microbant System 12B showed the ability to ferment several types of carbohydrates such as sorbitol, sucrose, lactose, arabinose, adonitol, and salicin, but it cannot ferment inositol, malonate, rhamnose, raffinose, and arginine. Thus, it can be concluded that the bacteria identified from cassava tapai fermentation can ferment in accordance with the physiological capabilities of *Bacillus sp.*

Keywords: Identification; cassava tapai; *Bacillus sp*

How to Cite: Saridewi, U., Kundera, I., Budiarsa, I., Nurdin, M., Trianto, M., & Windarsih, Y. (2025). Identifikasi *Bacillus sp.* pada Fermentasi Tapai Singkong. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(3), 1641-1649. doi:<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.16707>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i3.16707>

Copyright© 2025, Saridewi et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



PENDAHULUAN

Bacillus merupakan salah satu genus bakteri yang umum ditemukan dalam kultur starter tapai. Menurut Liu *et al.* (2024) spesies *Bacillus* yang sering diidentifikasi dalam fermentasi tapai antara lain *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus licheniformis*. Peran utama *Bacillus* dalam fermentasi tapai adalah menghasilkan enzim amilolitik yang mampu memecah pati menjadi gula-gula sederhana. Enzim-enzim yang dihasilkan *Bacillus sp.*, seperti amilase, selulase, dan protease, membantu proses perubahan pati dalam singkong menjadi glukosa, fruktosa, dan maltosa. Proses ini menyebabkan rasa manis dan tekstur lembut yang khas pada tapai (Simair *et al.*, 2021). Fermentasi merupakan metode pengolahan dan pengawetan bahan makanan paling tua di dunia. Dalam proses fermentasi terjadi perombakan yang menghasilkan produk fermentasi yang stabil seperti etil, alkohol, asam laktat, gliserol dan lain-lain.

Mikroorganisme mempunyai peran yang sangat penting dalam proses dan produk makanan fermentasi. Mikroorganisme yang berperan penting dalam proses fermentasi adalah dari genus *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Acetobacter* (Kanino, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Manin *et al.* (2003) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Bacillus circulans* dan *Bacillus* sp. asal itik lokal Kerinci yang berpotensi untuk digunakan sebagai sumber probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang tepat, memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya, terutama dengan meningkatkan keseimbangan mikroflora usus. *Bacillus* sp yang termasuk dalam bakteri proteolitik yang merupakan bakteri yang dapat menghasilkan subtilin yang menurunkan jumlah mikroflora yang memproduksi enzim uricase dalam lumen saluran pencernaan, serta dapat menghambat konversi *uric acid* menjadi amonia dengan cara menggunakan *uric acid* sebagai zat nutrisinya (Riza *et al.*, 2018). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Manim *et al.* (2012) menunjukkan bahwa terjadinya penurunan emisi amonia feses dan litter menunjukkan bahwa probiotik mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme patogen yang dapat mengkonversi asam urat menjadi amonia. Hasil penelitian Liu *et al.* (2024) bahwa strain *Bacillus* probiotik telah diisolasi dari makanan fermentasi dapat menghasilkan metabolit antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya, sehingga meningkatkan keamanan produk fermentasi.

Tapai singkong merupakan salah satu produk makanan fermentasi tradisional yang banyak dikonsumsi di Indonesia. Proses fermentasi tapai singkong melibatkan mikroorganisme yang berasal dari ragi tapai yang dalam keadaan anaerob menghasilkan enzim amilase dan enzim amiloglukosidase, dua enzim yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi maltosa dan glukosa (Erika, 2022). Salah satu mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi ini dapat mempengaruhi kualitas dan keamanan tapai sebagai produk konsumsi. Salah satu kelompok bakteri yang sering terlibat dalam proses fermentasi adalah *Bacillus* sp., yang diketahui memiliki berbagai potensi, baik dalam peningkatan kualitas fermentasi maupun sebagai bahan probiotik. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Bidura (2020) penggunaan bakteri probiotik seperti *Bacillus* dapat mengurangi aktivitas urease, yaitu enzim yang menghidrolisis urea menjadi amonia. Sehingga, produksi amonia dapat berkurang atau bahkan menghilang. Amonia sendiri merupakan zat yang dapat menyebabkan keracunan. Menurut Asnidar (2019) bahwa bakteri yang bersifat probiotik mampu memberikan berbagai manfaat dalam kesehatan, seperti memiliki kemampuan antimikroba, menurunkan kadar kolesterol, merangsang sistem kekebalan tubuh, membantu tubuh dalam menyerap laktosa, mencegah gangguan diare, serta memiliki sifat antimutagenik yang berpotensi dalam pencegahan kanker usus.

Identifikasi dan karakterisasi bakteri *Bacillus* sp. yang terlibat dalam fermentasi tapai singkong belum banyak diteliti dan manfaatnya sebagai probiotik. Studi terkait keberadaan *Bacillus* sp. dalam proses fermentasi tapai singkong sangat penting. Identifikasi bakteri perlu dilakukan untuk mengetahui bahwa *Bacillus* berperan aktif dalam dekomposisi substrat pati menjadi gula sederhana melalui aktivitas enzimatis, terutama oleh enzim amilase yang dihasilkannya. Menurut Liu *et al.* (2015), spesies seperti *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus licheniformis* sering ditemukan selama fermentasi dan berkontribusi dalam meningkatkan cita rasa serta tekstur tapai. Penelitian lain oleh Simair *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. memiliki potensi besar dalam aplikasi bioteknologi karena kemampuannya menghasilkan enzim yang stabil. Dengan melakukan isolasi dan identifikasi spesifik terhadap *Bacillus* dari tapai singkong, kita dapat memahami perannya secara lebih mendalam,

mengontrol kualitas produk fermentasi, serta mengoptimalkan penggunaannya untuk inovasi produk pangan dan aplikasi bioproses yang lebih efisien.

Berdasarkan latar belakang dan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Bacillus* sp. yang berperan dalam proses fermentasi tapai singkong. Identifikasi ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru mengenai keberadaan dan peran *Bacillus* sp. dalam membentuk karakteristik tapai

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah jenis penelitian deskriptif eksploratif. Penelitian deskriptif eksploratif adalah penelitian yang menggambarkan keadaan suatu fenomena, dalam penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menguji hipotesis tertentu tetapi hanya menggambarkan apa adanya suatu variabel, gejala atau keadaan (Aini, 2018). Adapun sampel tapai diperoleh dengan cara dilakukan proses fermentasi selama 5 hari.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop, incubator, cawan petri, bunsen, jarum ose, botol semprot, kaca objek dan penutup, aluminium foil, kertas kuarto atau koran, penangas listrik, timbangan digital, gelas kimia, tabung reaksi, batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet, labu erlenmeyer, autoklaf, kertas label, spatula, *strip Microbact System 12B* dan *colouni counter*. Sementara bahan yang digunakan adalah adalah tapai singkong, media *Bacillus Agar Base, NA (Nutrient Agar)*, larutan kristal violet, larutan safranin, larutan aseton, larutan NaCl, larutan iodine, alkohol, aquades dan reagen *Microbact*.

Fermentasi tapai singkong dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tadulako. Tahap pembuatan fermentasi tapai singkong mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Berlian *et al.* (2016) yang telah dimodifikasi. Pertama, singkong sebanyak 1 kg dikupas, dicuci dan di potong-potong. Kemudian dimasak dengan panci. Setelah masak kemudian didinginkan di wadah. Kemudian taburkan ragi yang sudah dihaluskan sebanyak 3 biji, pada singkong dan diaduk sampai rata. Langkah selanjutnya dimasukkan kedalam wadah yang dilapisi daun pisang kemudian ditutup rapat. Singkong difermentasi selama 3 hari pada suhu kamar (28-30°C).

Tahapan identifikasi *Bacillus* sp. dimulai dengan sterilisasi alat menggunakan autoklaf dan persiapan medium pertumbuhan sesuai instruksi label, kemudian medium dituangkan ke cawan petri secara aseptik. Selanjutnya dilakukan pengenceran sampel dengan menimbang sampel tapai singkong sebanyak 1 g, kemudian dihaluskan. Sampel tapai yang sudah dihaluskan dilarutkan kedalam 20 ml larutan NaCl 0,85%, kemudian dihomogenkan. Setelah dihomogenkan diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya melakukan pengenceran $10^{-2} - 10^{-3}$. Tahap ini bertujuan untuk memperoleh jumlah mikroba yang dapat diamati secara optimal.

Isolasi bakteri dilakukan dengan medium *Bacillus Agar Base*. Masing-masing sampel yang telah ditumbuhkan pada medium *Natrium Agar (NA)* diambil sebanyak 1 ose, lalu digoreskan secara aseptik diatas permukaan medium *Bacillus Agar Base* pada cawan petri. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Koloni bakteri yang tumbuh diamati, dilakukan pewarnaan gram dari koloni yang positif dan diamati di bawah mikroskop.

Identifikasi selanjutnya dilakukan dengan *Microbact system 12B*, yaitu sampel pada medium *Bacillus Agar Base* diencerkan lalu diteteskan ke papan *Microbact System*, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam. Setelah itu amati perubahan warnanya untuk dicocokkan dengan standar warna *Microbact System*.

Teknik pewarnaan gram dilakukan dengan metode apusan pada kaca objek, kemudian kaca objek yang berisi sampel bakteri ditetesi larutan kristal violet, iodine, alkohol, dan safranin. Isolat bakteri diamati di bawah mikroskop untuk mengidentifikasi morfologi bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

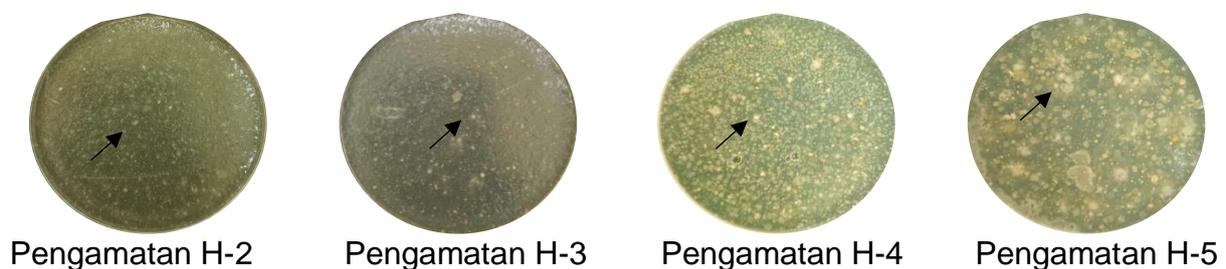
Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium *Nutrient Agar* (NA) berdasarkan nilai *Standar Plate Count* (SPC) dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1. Hasil perhitungan nilai *Standar Plate Count* (SPC) koloni bakteri

Sampel Bakteri pada Tapai Singkong	Jumlah Koloni Mikroba/Tingkat Pengenceran			Nilai SPC
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
Pengamatan hari ke-2	300	162	120	162×10^{-2}
Pengamatan hari ke-3	297	170	131	170×10^{-2}
Pengamatan hari ke-4	288	231	168	231×10^{-2}
Pengamatan hari ke-5	208	176	139	176×10^{-2}

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada Tabel 1 menunjukkan hasil yang berbeda pada setiap pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} dari empat perlakuan sampel tapai singkong. Menurut aturan Wahyuni (2013), menyatakan bahwa cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni 30-300, untuk mendapatkan nilai SPC maka jumlah koloni dikali 1 kemudian dibagi dengan pengenceran tabung tengah. Pengenceran tabung tengah yang digunakan adalah pengenceran 10^{-2} . Sehingga berdasarkan hal tersebut didapatkan nilai *Standar Plate Count* (SPC) pada pengamatan hari ke-2 sebesar 162×10^{-2} CFU/ml pada pengenceran 10^{-2} , pengamatan hari ke-3 sebesar 170×10^{-2} CFU/ml pada pengenceran 10^{-2} , pengamatan hari ke-4 sebesar 231×10^{-2} CFU/ml pada pengenceran 10^{-2} , dan pengamatan hari ke-5 sebesar 176×10^{-2} CFU/ml pada pengenceran 10^{-2} .

Sampel yang diambil dari fermentasi tapai singkong yang ditumbuhkan pada medium *Nutrient Agar* (NA). adapun pertumbuhan koloni bakteri pada medium *Nutrient Agar* (NA) ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni bakteri pada medium *Nutrient Agar* (NA)

Pengenceran dilakukan secara bertingkat agar mendapatkan sampel yang tidak pekat (Aprilia, 2018). Sampel yang pekat akan menyulitkan dalam perhitungan koloni dengan kemungkinan untuk TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung). Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri pada medium *Nutrien Agar* (NA) dengan menggunakan metode *Standar Plate Count* (SPC) maka didapatkan jumlah SPC pada pengamatan hari ke-2 sebesar 162×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} , bakteri yang diperoleh dari pengamatan hari ke-3 sebesar 170×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} .

², bakteri yang diperoleh dari pengamatan hari ke-4 sebesar 231×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} , bakteri yang diperoleh dari sampel pengamatan hari ke-5 sebesar 176×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} . Pada perhitungan koloni bakteri yang menggunakan metode SPC ditemukan sampel yang memiliki jumlah koloni terbanyak ialah pada pengamatan hari ke-4 yaitu 231×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} . Sedangkan sampel bakteri yang memiliki jumlah koloni sedikit ditemukan pada pengamatan hari ke-2 yaitu 162×10^{-2} sel/ml pada pengenceran 10^{-2} . Peningkatan jumlah koloni bakteri selama fermentasi, seperti yang ditunjukkan pada pengamatan hari ke-2 - hari ke-4, merupakan proses fermentasi alami karena adanya pertumbuhan dan aktivitas metabolik mikroorganisme, termasuk Bakteri. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et al.* (2020) mengenai dinamika mikroba pada fermentasi tapai, yang menjelaskan bahwa jumlah mikroorganisme seperti Bakteri akan cenderung meningkat pada fase eksponensial fermentasi karena kondisi lingkungan seperti suhu, pH, dan nutrisi yang mendukung. Fase ini terjadi pada hari ke-2 - ke-4, di mana bakteri tumbuh lebih cepat dan mencapai jumlah yang maksimum sebelum nantinya menurun akibat berkurangnya nutrisi atau akumulasi senyawa antimikroba.

Berdasarkan teori dan beberapa penelitian yang telah dilakukan, bahwa peningkatan jumlah koloni Bakteri yang tertinggi pada hari ke-4 merupakan indikasi fase pertumbuhan eksponensial yang aktif dalam proses fermentasi tapai singkong. Penurunan yang terjadi setelahnya disebabkan oleh berkurangnya nutrisi atau efek kompetitif beberapa mikroorganisme lainnya. Oleh karena itu, hasil penelitian ini sangat relevan dengan dinamika pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi yang umum telah banyak dijelaskan dalam literatur ilmiah

Hasil dari penanaman bakteri pada medium selektif yaitu medium *Bacillus Agar Base* menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang memiliki warna, bentuk dan karakteristik yang sama. Adapun koloni bakteri yang tumbuh pada medium *Bacillus Agar Base* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Contoh koloni bakteri pada medium *Bacillus Agar Base*

Medium *Bacillus Agar Base* memiliki warna dasar merah, tetapi ketika medium digoreskan bakteri menggunakan Teknik goresan (*Streak Plate*) menunjukkan perubahan warna dari merah menjadi pink keunguan. Berdasarkan hasil pertumbuhan bakteri pada medium *Bacillus Agar Base* dengan lama inkubasi 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan bahwa bakteri memiliki bentuk koloni yang bulat, hijau metalik dengan permukaan koloni yang tidak teratur dan tepian yang licin. Menurut Ghahramani *et al* (2020). Media selektif seperti *HiCrome™ Bacillus Agar* mengandung substrat kromogenik seperti X-glu yang akan dipecah oleh enzim tertentu (β -glukosidase) yang dihasilkan oleh bakteri. Pecahan substrat akan menghasilkan warna, seperti biru atau hijau kebiruan pada koloni. Menurut Banerjee *et al.* (2011), beberapa spesies *Bacillus*, misalnya seperti *Bacillus cereus*, mampu menghasilkan pigmen alami berwarna hijau sebagai produk hasil metabolit sekunder. Pigmen ini bukan hanya memberi warna pada koloni, tetapi juga dapat memiliki aktivitas biologis, seperti antimikroba.

Strain *Bacillus* seperti *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan pigmen berwarna hijau yang berasal dari senyawa fenolik hasil jalur biosintetik tertentu, yang aktif terhadap bakteri patogen (Bharti *et al.* 2016). Pigmen hijau dari *Bacillus* sp. menunjukkan potensi sebagai agen antibakteri. Media diferensial yang mengandung indikator pH atau substrat kromogenik memungkinkan identifikasi spesies *Bacillus* melalui perubahan warna koloni akibat aktivitas enzim. Pigmen yang dihasilkan oleh *Bacillus* bervariasi tergantung kondisi media, suhu, dan substrat yang tersedia, yang dapat mempengaruhi intensitas warna serta bentuk koloni (Verma *et al.* 2021).

Pewarnaan Gram pada bakteri bertujuan untuk mengelompokkan jenis bakteri ke dalam Gram negatif dan Gram positif. Pengamatan ini dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000. Mubarak *et al.* (2016), menjelaskan fungsi dari pemberian larutan kristal violet akan mewarnai seluruh permukaan bakteri. Pemberian larutan lugol atau iodin akan mengikat kristal violet sehingga terjadi pengikatan zat warna oleh bakteri. Penetasan larutan etanol 96% akan menyebabkan denaturasi protein pada dinding sel bakteri, sehingga pori-pori pada sel bakteri akan menjadi kecil dan kompleks sehingga sel bakteri dapat mempertahankan warna dari kristal violet. Pemberian larutan safranin berfungsi sebagai pengontras pewarnaan bakteri Gram positif dan menjadi warna utama bagi Gram negatif. Adapun bentuk morfologi sel bakteri yang ditemukan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Pewarnaan Gram *Bacillus* sp.

Berdasarkan hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. termasuk ke dalam kelompok bakteri gram positif berbentuk batang pendek seperti rantai dengan warna ungu. Bakteri *Bacillus* sp. dapat mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan Gram dan bentuk selnya adalah batang. Bakteri Gram positif mampu mempertahankan warna kristal violet karena bakteri ini memiliki struktur dinding sel dengan peptidoglikan yang tebal dan membran sel yang mengandung sedikit lemak. Menurut Pratiwi & Asri (2022), bakteri dari genus *Bacillus* memiliki karakteristik bentuk selnya bulat dan batang, bakteri Gram positif, motil, serta memiliki kandungan peptidoglikan yang tebal. Peptidoglikan tebal inilah yang bersifat tidak larut dalam proses dekolorisasi sehingga menyebabkan zat warna dari reagen kristal violet dapat dipertahankan.

Peptidoglikan merupakan komponen utama dari dinding sel bakteri Gram positif yang membentuk struktur kaku dan berpori, memungkinkan kristal violet-iodine complex tetap berada di dalam sel. *Bacillus* sp. sebagai anggota dari famili Bacillaceae, diketahui memiliki dinding sel dengan peptidoglikan yang kuat, serta mengandung asam teikoat yang mendukung kestabilan dinding sel dan berperan dalam interaksi permukaan sel (Prescott *et al.*, 2020). Penelitian yang dilakukan Setiawan *et al.* (2021) menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. dari lingkungan fermentasi menunjukkan karakteristik Gram positif dengan morfologi batang tunggal atau berantai, dan mampu mempertahankan pewarnaan kristal violet karena ketebalan peptidoglikan melebihi 20–80 nm, jauh lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif yang hanya sekitar 2–3 nm.

Microbact system merupakan uji lanjutan yang dilakukan untuk memperkuat proses identifikasi *Bacillus* sp. pada fermentasi tapai singkong. Adapun hasil uji biokimia bakteri dengan menggunakan *Microbact system* dapat dilihat pada Tabel 2.

Table 2. Hasil uji biokimia bakteri dengan menggunakan *microbact system*

Sampel	Hasil											
	gel	mal	ino	sor	rha	suc	lac	ara	ado	raf	sal	arg
A	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-
B	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-

Keterangan: A : Pengamatan Hari ke-4

B : Pengamatan Hari ke-5

Berdasarkan hasil uji biokimia menggunakan *Microbact System* pada setiap bakteri yang ditunjukkan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa semua sampel bakteri mampu menghasilkan senyawa Gelatin, Sorbitol, Sucrose, Lactose, Arabinose, Adonitol, dan Salicin. Pada sampel B tidak mampu untuk memfermentasi Inositol. Kemampuan isolat *Bacillus* sp. dari fermentasi tapai singkong untuk menghasilkan gelatinase dan memfermentasi beberapa jenis gula seperti sorbitol, sukrosa, laktosa, arabinosa, adonitol, dan salisin menunjukkan adanya aktivitas enzimatik yang tinggi dalam memecah senyawa protein dan karbohidrat. Produksi gelatinase menjadi indikator adanya aktivitas proteolitik, yaitu kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino selama proses fermentasi. Penelitian yang dilakukan Feng *et al.* (2015) menyatakan bahwa beberapa jenis *Bacillus* menghasilkan enzim proteolitik seperti gelatinase dan protease yang berperan dalam fermentasi substrat yang kaya akan protein dan pati seperti singkong. Aktivitas ini mampu mempercepat pelunakan substrat dan berkontribusi terhadap cita rasa pada produk hasil fermentasi. Sementara itu, ketidakmampuan memfermentasi Inositol, Malonate, Rhamnose, Raffinose, dan Arginine, menunjukkan bahwa adanya keterbatasan ekspresi gen atau ketersediaan enzim tertentu pada fase fermentasi. Hal ini sejalan dengan konsep fase pertumbuhan mikroba, di mana ekspresi enzim dapat berubah tergantung pada usia kultur dan ketersediaan substrat (Madigan *et al.*, 2019).

Berdasarkan panduan identifikasi *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, spesies yang termasuk dalam genus *Bacillus* menunjukkan pola metabolisme yang beragam terhadap berbagai senyawa karbohidrat dan senyawa organik lainnya. Sebagai contoh, *Bacillus subtilis* diketahui mampu memanfaatkan beberapa substrat seperti laktosa, sukrosa, arabinosa, adonitol, dan salisin. Namun, kemampuan dalam memetabolisme inositol tidak bersifat seragam, karena hanya strain tertentu saja yang memiliki kemampuan tersebut. Hal ini disebabkan oleh perbedaan genetik yang memengaruhi produksi enzim seperti inositol dehidrogenase, yang diperlukan dalam proses metabolisme inositol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa hasil identifikasi bakteri *Bacillus* sp. pada fermentasi tapai singkong menunjukan bahwa telah ditemukan keberadaan *Bacillus* sp pada tapai. Hal ini menunjukan bahwa adanya potensi *Bacillus* sp. sebagai alternatif bahan probiotik dalam hasil fermentasi tapai singkong.

REKOMENDASI

Rekomendasi dari penelitian ini adalah diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan, untuk memperkuat pemanfaatan *Bacillus* sp. yang diisolasi dari tapai

singkong sebagai kandidat probiotik potensial dalam bidang pangan fungsional dan kesehatan masyarakat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memudahkan penulis dalam menyelesaikan penelitian dengan baik. Penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada orang tua yang telah memberikan bimbingan, nasehat dan do'a yang tulus menyertai penulis hingga penelitian ini berakhir. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing, tim peneliti serta semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, I. N. (2018). Etnomatematika: Matematika dalam kehidupan petani di Kabupaten Karawang. *Teorema: Teori dan Riset Matematika*, 2(2), 101–106.
- Asnidar, A. (2019). *Pemanfaatan isolat probiotik asal tape singkong sebagai antidotum logam merkuri (Hg) pada tikus Rattus norvegicus* [Disertasi doktoral, Universitas Hasanuddin].
- Banerjee, D., Chatterjee, S., Banerjee, U. C., Guha, A. K., & Ray, L. (2011). Green pigment from *Bacillus cereus* M 1 16 (MTCC 5521): Production parameters and antibacterial activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164, 767–779.
- Bergey, D. H., & Boone, D. R. (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., Vol. 3). Springer.
- Berlian, Z., Aini, F., & Ulandari, R. (2016). Uji kadar alkohol pada tapai ketan putih dan singkong melalui fermentasi dengan dosis ragi yang berbeda. *Jurnal Biota*, 2(1), 106–111.
- Bharti, D., Shivakumar, D., & Sharma, S. (2016). Pigment production by *Bacillus subtilis* and its biological activities: An eco-friendly approach. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(12), 4844–4850.
- Bidura, I. G. N. G. (2020). Pengaruh probiotik *Saccharomyces spp.* dalam ransum terhadap pencernaan pakan dan kandungan gas ammonia dalam ekskreta ayam. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 23(2), 84–90.
- Erika, D. R. (2022). Uji sensoris dan pH tapai singkong (*Manihot esculenta* L) dengan fermentasi aerasi. *Jurnal Ilmiah*, 1(1), 9–15.
- Feng, J., Wang, L., Zhou, L., Yang, X., & Zhao, G. (2015). Characterization of *Bacillus subtilis* strains isolated from fermented soybean products. *International Journal of Food Microbiology*, 199, 72–81.
- Ghahramani, M., Yousefi, R., Khoshaman, K., Moghadam, S. S., & Kurganov, B. (2020). Analysis of the data on titration of native and peroxy-nitrite-modified α A- and α B-crystallins by Cu^{2+} ions. *Data in Brief*, 30, 105492. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105492>
- Liu, X. F., Li, Y., Li, J. R., Cai, L. Y., Li, X. X., Chen, J. R., & Lyu, S. X. (2015). Isolation and characterisation of *Bacillus* spp. antagonistic to *Vibrio parahaemolyticus* for use as probiotics in aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31, 795–803.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2019). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Manin, F., Hendalia, E., & Yusrizal, Y. (2012). Potensi bakteri *Bacillus* dan *Lactobacillus* sebagai probiotik untuk mengurangi pencemaran amonia pada kandang unggas. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 14(2), 360–367.

- Mubarak Zaku, S., Chismirina, & Daulay, H. M. (2016). Aktivitas antibakteri ekstrak propolis alami dari sarang lebah terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2), 171–186.
- Pratiwi, W. M., & Asri, M. T. (2022). Isolasi dan identifikasi bakteri indigenous pendegradasi pestisida profenofos dan klorantraniliprol di Jombang, Jawa Timur. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 300–309.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., & Klein, D. A. (2020). *Microbiology* (11th ed.). McGraw-Hill Education.
- Rahayu, E. S., Lioe, H. N., & Utami, T. (2020). Microbial dynamics and metabolite production during cassava tapai fermentation. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 21(1), 13–22.
- Rai, M., Rathod, D., Agarkar, G., & Yadav, A. (2018). Exploitation of bacterial pigment for industrial applications. In *Microbial biotechnology for sustainable development* (pp. xx–xx). Springer. (Catat: halaman tidak dicantumkan, silakan lengkapi bila tersedia)
- Riza, H., Wizna, W., Rizal, Y., & Yusrizal, Y. (2018). Pengaruh level energi dan protein dengan bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* sebagai probiotik untuk mengurangi pencemaran amonia pada kandang ayam broiler. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 20(2), 99–107.
- Setiawan, R., Hidayat, T., & Lestari, D. (2021). Karakterisasi bakteri amilolitik dari tapai singkong berdasarkan pewarnaan Gram dan uji biokimia. *Jurnal Mikrobiologi Terapan Indonesia*, 5(1), 18–24.
- Simair, A. A., Qureshi, A. S., Khushk, I., Ali, C. H., Lashari, S., Bhutto, M. A., & Lu, C. (2017). Production and partial characterization of α -amylase enzyme from *Bacillus* sp. BCC 01-50 and potential applications. *BioMed Research International*, 2017, 1–8.
- Verma, R., Yadav, A. N., Kazy, S. K., & Saxena, A. K. (2021). Bioprospecting of *Bacillus* strains from extreme environments: Pigment production and their application in agriculture and medicine. *Archives of Microbiology*, 203(4), 1839–1850.
- Wahyuni, I. (2013). *Deteksi bakteri caliform dan Escherichia coli pada minuman es jeruk di café lesehan Pantai Talise Palu* [Skripsi tidak diterbitkan, Universitas Tadulako].