

LAMPIRAN

amilase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri endofit yang mempunyai kemampuan amilolitik pada umbi talas (*Colocasia esculenta* L.) serta melakukan karakterisasi dan identifikasi secara morfologi, biokimia dan molekuler.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Mikrobiologi, Universitas Sebelas Budi, Surakarta, Jawa Tengah. Waktu penelitian adalah di bulan April–September 2018.

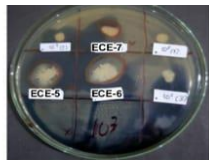
Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi Talas (*Colocasia esculenta* L.) yang diambil dari Desa Kalisoro Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar (7° 40' 11.9" S, 111° 08' 42.6" E), *anartes nutritum anar* (NA) Rasin Heat

Karakterisasi mikroskopis

Karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui morfologi bakteri dan sifat Gramnya. Pewarnaan Gram merupakan empat macam cat yakni Gram A (Kristal violet), Gram B (iodine lugol), Gram C (etanol 95%), dan Gram D (Safarini). Bakteri yang mempunyai sifat Gram positif akan berwarna biru keunguan sedangkan bakteri yang mempunyai sifat Gram negatif berwarna merah.

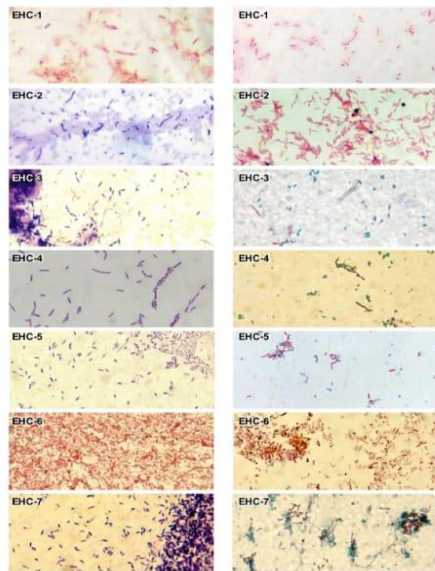
Metode ini menggunakan cat warna malachite green sebagai cat pewarna untuk spora. Pewarnaan dilakukan dengan cara membuat ulasan bakteri dan difiksasi kemudian digenangi dengan malachite green lalu dipanaskan. Selanjutnya mencuci sisa cat malachite green, kemudian ditambahkan cat Safarini untuk pewarnaan sel vegetatif bakteri.



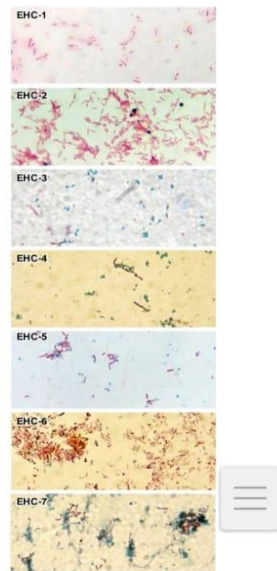
Gambar 2. Hasil pengujian amilolitik isolat bakteri endofit dari umbi *C. esculenta* L. setelah inkubasi warna 24 jam pada media NA amilum 2%.

Karakterisasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram dan spora pada masing-masing isolat bakteri. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan adanya perbedaan sifat Gram pada isolat bakteri. Dari hasil cat diperoleh hasil dua bakteri bersifat Gram negatif dan lima bakteri bersifat Gram positif (Gambar 3). Gram negatif denda dengan sel yang berwarna merah dan Gram positif ditandai dengan sel berwarna ungu. Adanya perbedaan warna tersebut dikarenakan komponen penyusun dinding sel bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif berbeda. Bakteri Gram positif dapat mempertahankan cat utama yang berisi kristal violet karena dinding selnya mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal. Bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna cat utama karena

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik... Wulandari et al.



Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram pada isolat bakteri endofit dari umbi *C. esculenta* L. (perbesaran 100x).



Gambar 4. Hasil pewarnaan pada spora isolat bakteri endofit dari umbi *C. esculenta* L. (perbesaran 100x).

J. Biodiversitas Indonesia – Vol 6 No 2 The 2019

pada dinding selnya terdapat lapisan lipoprotein yang akan larut ketika dicuci dengan etanol (Gram O) (Palczar dan Chan 2005). Hasil pewarnaan Gram menunjukkan isolat ECE-1 dan ECE-6 bersifat Gram negatif, sedangkan isolat ECE-2, ECE-3, ECE-4, ECE-5 dan ECE-7 bersifat Gram positif (Tabel 2).

Tabel 3. Hasil uji biokimia isolat bakteri endofit umbi *C. esculenta* L. menggunakan media KIA, LIA, SIM dan citrate

Isolat	KIA	SIM	LIA	Citrate
ECE-1	K ₂ /K(-)	+++	K ₂ /K(-)	+

Pemeriksaan ekstrak etil asetat buah merah sebagai zat warna primer (Muthiah H dkk.)

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan mikroorganisme yang jumlahnya paling banyak dan tempat hidupnya tersebar luas mulai dari tanah, air, tubuh manusia, sampai hidup di organisme lain. Bakteri yang terdapat di dalam tubuh manusia bersifat komensal, namun ada juga beberapa yang bersifat patogen. Bakteri dapat diidentifikasi dari bentuk tubuhnya menjadi tiga kelompok utama, yaitu coccus (bulat), basil (batang), dan spirochaetes (heliks). Bakteri ini juga dapat membentuk koloni pasangan (diplo), rantai (strepto), dan rangkaian seperti anggur (staphilo).¹

Bakteri memiliki ukuran yang sangat kecil berkisar 0,2 µm sampai 6 µm sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang.² Struktur sel bakteri dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian sel dinding sel, membran sitoplasma, membran sitoplasma, nukleoid, ribosom, cytoplasmic inclusions, serta struktur eksternal yang terdiri dari flagella, fimbriae, pili, glycocalyx dan kapsul. Kapsul merupakan salah satu struktur bakteri yang amat penting untuk bertahan dari desikasi, karena hal ini berkaitan erat dengan ketahanan pada manusia dan sel lainnya. Kapsul merupakan suatu lapisan yang terdiri dari polisakarida yang mengelilingi bakteri dan berfungsi sebagai media penyaluran bakteri pada jaringan manusia.³ Faktor virulensi yang berperan di dalam patogenisitasnya untuk menimbulkan penyakit.

Pengamatan terhadap bakteri sangat sulit bukan hanya karena ukurannya yang kecil, juga karena strukturnya yang transparan dan tidak berwarna. Kontrol untuk prosedur pewarnaan dan pencahayaan mikroskopis menjadi alat utama untuk melihat mikroorganisme. Untuk mengidentifikasi bakteri ke dalam kelas, pewarnaan Gram dan pengujian biokimia lainnya ke dalam grup yang lebih spesifik.⁴

Beragam teknik pewarnaan dapat digunakan untuk menggambar, mengidentifikasi dan membandingkan bakteri ke dalam beberapa teknik morfologi dan struktur sel. Tipe teknik pewarnaan yang digunakan sederhana (sederhana) yang menggunakan satu jenis zat warna untuk mewarnakan bentuk morfologi dan komposisi sel. Teknik sederhana lainnya yang menggunakan dua jenis zat warna untuk mewarnakan bakteri ke dalam kelas (pewarnaan gram) dan

untuk menggambarkan struktur bakteri (pewarnaan kapsul).⁵ Pewarnaan gram ini membagi bakteri menjadi dua kelompok, yakni gram positif yang menghasilkan warna ungu dan gram negatif yang menghasilkan warna merah muda.⁶ Bakteri tidak terdapat dalam kelompoknya karena isolat yang menjadi perantara bakteri sulit dilihat dengan mikroskop cahaya secara langsung, oleh karena itu zat warna digunakan untuk mewarnai mikroorganisme, ataupun latar belakangnya. Zat warna ini mampu mengadsorpsi dan memisahkan selnya.⁷

Pada penelitian biasa menggunakan teknik pewarnaan negatif kapsul untuk mengamati morfologi kapsul bakteri. Teknik ini menggunakan zat warna primer karbol fuchsin. Penetrasi sel kapsul bakteri yang menggunakan zat warna tersebut menimbulkan banyak menimbulkan kesulitan antara lain membutuhkan waktu lama untuk diwarnai negatif dan harga yang diwarnai tersebut sangat mahal. Indonesia kaya akan sumber daya alamnya, oleh karena itu, perlu adanya penelitian untuk menemukan alternatif zat warna primer pada teknik pewarnaan negatif kapsul.

Buah merah merupakan salah satu tanaman obat herbal yang saat ini menjadi fenomena di kalangan masyarakat. Kandungan bioaktif yang terdapat pada buah merah menyebabkan warnanya padabawah tersebut. Penelitian tentang buah merah ini telah banyak dilakukan tetapi baru terdapat pada penelitian mengenai antioksidan, antibakteri, antidiabetes, antiinflamasi, dan sebagainya. Kandungan ini juga telah dimanfaatkan sebagai pewarna makanan, namun, belum ada penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan buah merah sebagai bahan pewarnaan alami sebagai pengganti zat warna primer pada teknik pewarnaan negatif kapsul bakteri.

Ukuran data mendukung perlu untuk memilih menggunakan ekstrak etil asetat buah merah sebagai alternatif pengganti zat warna primer pada teknik pewarnaan negatif kapsul. Sifat semi polar pada ekstraksi etil asetat ini diharapkan mampu menghasilkan rendemen ekstrak yang cukup besar. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etil asetat buah merah dapat digunakan sebagai pengganti zat warna primer pada teknik pewarnaan negatif kapsul bakteri.

J. Ket. G. Upad. April 2017;2(1):35-40.

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik... Wulandari et al.

Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang ISSN : 2809-6447

Metode yang digunakan pada pemeriksaan bakteri hasil tanah asam (HTA) pada sampel ini adalah metode Ziehl-Neelsen karena digunakan metode pewarnaan Ziehl-Neelsen pada dinding Mycobacterium tuberculosis menggunakan zat yang disebut malachite green yang menyebabkan bakteri sekitar diwarnai dengan pewarna gram atau malachite green. Metode Ziehl-Neelsen ini merupakan metode yang dikembangkan oleh Dr. H.C. Ziehl. Hal ini digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Sporangium tersebut lalu diwarnai dengan zat warna karbol fuchsin yang tahan terhadap asam dengan 2% A. Carboll fuchsin 1% dan digunakan dengan menggunakan: Pewarnaan serta penembusan 2% A. Carboll fuchsin 1% ini bertujuan untuk membuka dinding sel Mycobacterium tuberculosis yang menggunakan lapisan lemak-lipid dalam komensal sel yang sangat resisten dalam penyusutan zat warna. Pewarnaan tersebut juga akan membuat zat warna tidak dapat dihilangkan oleh pelutur yang kuat sekalipun salah satunya adalah alkohol 3%.

Larutan alkohol berfungsi untuk membasah dan melunturkan zat warna (decolorization) pada sel bakteri. Saat sel-sel bakteri sudah mampu menyerap warna karbol fuchsin maka dinding sel tersebut akan kembali tertutup pada suhu semula, sehingga hasil di bagian bawah beberapa menit dan pada saat penembusan alkohol asam 3 %, maka bakteri yang bukan HTA akan diwarnai karena tidak mampu mengikat kuat karbol fuchsin seperti halnya HTA. Bakteri yang tahan terhadap zat warna setelah ditambah alkohol asam disebut "Basil Tahan Asam" dan akan berwarna merah setelah diwarnai. Bakteri yang tidak tahan asam maka dengan mudah dapat dihilangkan dengan alkohol asam akan berwarna biru setelah dilakukan pewarnaan methylene blue ini berfungsi sebagai latar belakang bagi bakteri sehingga memudahkan untuk melihat bakteri Mycobacterium tuberculosis pada saat diwarnai dibawah mikroskop (Gundushebra, 2013).

Setelah selesai dilakukannya pewarnaan selanjutnya dilakukan pembacaan hasil mikroskopis dengan menggunakan mikroskop, pembacaan ini dilakukan untuk mendagnosis dan mengetahui tingkat terinfeksi TB pasien. HTA dinyatakan positif apabila pada lapang pandang terlihat batang berwarna merah atau merah muda dengan latar belakang biru bila diwarnai dengan pewarnaan tubuh asam atau Ziehl-Neelsen. HTA biasanya berbentuk batang, namun kadang-kadang bisa lebih pendek, filamen, (seperti benang), atau berkelempok. Untuk padapan ditinjau jumlah HTA. Jika memungkinkan, bila HTA berkelempok, cukup dengan pengkiran kasar. Pembacaan hasil mikroskopis HTA menggunakan skala International Union Against Tuberculosis and Lung Diseases (IUATLD) sebagai berikut :

- Tidak ditemukan HTA dalam 100 lapang pandang disebut negatif.
- Ditemukan 1-9 HTA dalam 100 lapang pandang ditulis jumlah kuman yang ditemukan (scanty).
- Ditemukan 10-99 HTA dalam 100 lapang pandang disebut 1+.

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik... Wulandari et al.

Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang ISSN : 2809-6447

Neelsen, karena metode pewarnaan Ziehl-Neelsen merupakan pemeriksaan yang baik karena mudah, cepat, murah dan reagensia mudah diperoleh, dapat dilakukan atau dikerjakan di semua instansi labora. Untuk mendapatkan hasil yang optimal dalam pembuatan preparat HTA sebaiknya dengan menggunakan tabung dengan diameter ujungnya, sehingga mudah untuk memisahkan bagian-bagian dari sputum dan lebih



03.59 0.04 KB/S

didasarkan pada modifikasi pewarnaan Spora yang juga menggunakan tabung Reza.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, suhu pemanasan 60°C kurang optimal dalam menembus dinding sel tersebut meskipun konsentrasinya telah dinaikkan menjadi 0,5% dan 1%.

Hasil pewarnaan BTA yang tidak

259

JURNAL RISET KESEHATAN
POLTEKES DEPKES BANDUNG
Volume 11 No 1

optimal juga didapatkan pada penambahan *Carbol Fuchsin* 0,3% dengan suhu pemanasan 80°C. Hal tersebut menunjukkan bahwa suhu pemanasan 80°C yang tidak optimal dalam membuka dinding sel *M.tbc* mengakibatkan *Carbol Fuchsin* tidak dapat menembus dinding sel tersebut dan hasil pewarnaan BTA menjadi tidak optimal.

Pada penambahan *Carbol Fuchsin* 0,5% dengan suhu pemanasan 80°C memberikan hasil pewarnaan BTA yang kurang jelas. Hal tersebut menunjukkan suhu pemanasan yang kurang optimal dalam membuka dinding sel *M.tbc* mengakibatkan *Carbol Fuchsin* menjadi kurang optimal dalam menembus dinding sel tersebut meskipun konsentrasi telah dinaikkan menjadi 0,5%.

Sedangkan pada penambahan *Carbol Fuchsin* 1% dengan suhu pemanasan 80°C memberikan hasil yang jelas. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan suhu pemanasan 80°C yang optimal jika konsentrasi *Carbol Fuchsin* dinaikkan menjadi 1% konsentrasi *Carbol Fuchsin* 1% dapat menembus dinding sel *M.tbc* meskipun dengan volume penambahan *Carbol Fuchsin* yang sama dengan sputum dan kurang optimalnya suhu pemanasan 80°C dalam membuka lapisan lemak *M.tbc*.

Hasil pewarnaan BTA dengan penambahan *Carbol Fuchsin* dan pemanasan sputum sebelum pembuatan sedimen dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Kemudian didapatkan hasil bahwa penambahan *Carbol Fuchsin* dan pemanasan sputum setelah pembuatan sedimen memberikan hasil pewarnaan BTA yang lebih jelas. Hal tersebut dapat terjadi karena sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan sputum dengan volume yang banyak, mengakibatkan hasil pewarnaan menjadi kurang optimal dan penyerapan

zat warna menjadi kurang baik.

Penanganan terhadap limbah hasil pewarnaan BTA dilakukan berdasarkan Standar Operasional Prosedur. Limbah yang bersifat infeksius dan non-infeksius baik padat maupun cair dilakukan pemisahan dan dimasukkan ke dalam wadah penampungan limbah infeksius. Wadah yang digunakan merupakan wadah yang tidak bocor dan tahan terhadap tusukan. Sebelum limbah infeksius dibuang, dilakukan sterilisasi menggunakan Autoclave dan dilanjutkan insenerasi, sedangkan limbah cair dibuang melalui sistem IPAL. Alat kaca yang digunakan distertifikasi menggunakan Autoclave.

SIMPULAN

Hasil pewarnaan BTA dengan penambahan *Carbol Fuchsin* dan pemanasan sputum sebelum pembuatan sedimen dapat memuat *M.tbc* pada penambahan *Carbol Fuchsin* 0,3% dan 1% dengan suhu pemanasan sputum 60°C dan 80°C. Penambahan *Carbol Fuchsin* 1% memberikan hasil yang optimal pada suhu pemanasan 80°C.

Hasil penelitian masih memiliki banyak kekurangan. Perlu dilakukan pemeriksaan Kultur BTA untuk mengetahui kemampuan suhu pemanasan 60°C hingga 80°C dalam membunuh *M.tbc*. Membuat variasi perbandingan sampel dan *Carbol Fuchsin* untuk mengetahui adanya pengaruh volume sampel dan *Carbol Fuchsin* terhadap hasil pewarnaan BTA. Membuat variasi suhu di atas 80°C dan di bawah 100°C untuk mengetahui pengaruh suhu pemanasan terhadap kualitas sampel dan hasil pewarnaan BTA.

DAFTAR RUJUKAN

1. WHO., 2018, Global Tuberculosis Report, WHO, Geneva

260

airugosa

Gram C (alkohol) berfungsi sebagai pelarut dan terhir adalah Gram D (Safranin) yang berfungsi sebagai cat penutup. Dari hasil penelitian diperoleh hasil jika bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* mempunyai sifat Gram positif karena sel berwarna ungu setelah dilakukan pewarnaan, sel berbentuk batang dengan berkoloni seperti rantai (Gambar 2).

menyebabkan sel mengalami dehidrasi yang menyebabkan pori-pori menyut dan daya serap dinding sel menurun sehingga kompleks kristal violet-lugol tidak dapat keluar dari sel akibatnya sel tetap berwarna ungu.

Identifikasi selanjutnya adalah dengan melakukan pewarnaan spora. Spora adalah bentuk dari bakteri untuk mempertahankan diri dari kondisi yang kurang mendukung untuk hidup dari bakteri tersebut. Golongan bakteri yang mampu membentuk spora antara lain adalah golongan *Bacillus sp* dan *Clostridium sp*. Spora akan berwarna hijau dan sel vegetatif akan berwarna merah.

A

B

Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram (A) Bakteri *Bacillus subtilis* (B) bakteri *Bacillus siamensis*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x

Sifat Gram suatu bakteri sangat berkaitan erat dengan sifat fisik dan kimia dinding sel suatu bakteri. Karakteristik bakteri Gram positif adalah mempunyai kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri Gram negative mempunyai kandungan lipid yang tebal pada dinding selnya. Perbedaan struktur dinding sel ini menyebabkan bakteri Gram positif mempunyai afinitas yang tinggi terhadap Kristal violet sedangkan bakteri Gram negative mempunyai afinitas yang rendah. Bakteri Gram positif mampu membentuk kompleks antara Kristal violet-lugol, sehingga ketika ditambah dengan pelarut yang berisi alkohol akan

Gambar 3. Hasil pewarnaan spora (A) *Bacillus siamensis* (B) *Bacillus subtilis*. Spora berwarna hijau dan sel vegetatif bakteri berwarna merah. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x

Hasil pewarnaan spora menunjukkan jika bakteri endofit *Bacillus siamensis* dan *Bacillus subtilis* mempunyai spora, hal ini ditunjukkan dengan sel vegetatif yang berwarna hijau dan sel spora yang berwarna hijau (Gambar 3). Cat warna yang digunakan dalam pewarnaan spora adalah *malachite green* sebagai cat untuk

5. Sains Kes. 2021, Vol.3 No.5, p. 635- 293-3267, e- ISSN: 3077-4882

754

Limit 50 Juta, Cicil 9 Bulan, Bunga 0,2%

Dapatkan

22.35 0.00 KB/S

sejarah penelitian et al. (2020), industri makanan (van der Maarel et al., 2002), industri biodesel (Singh et al., 2014). Selain itu, mempunyai peranan yang luas dalam kehidupan sehari-hari.

248

J. Biosciend Bioscience Indonesia - Vol. 9, No. 2, Mei 2019

Karakterisasi mikroskopis

Karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui morfologi bakteri dengan Gramnya. Pewarnaan Gram memisahkan empat macam cat yakni Gram A (Kristal violet), Gram B (positif Lugol), Gram C (eterol 96%) dan Gram D (Safranin). Bakteri yang mempunyai sifat Gram positif akan berwarna biru keunguan sedangkan bakteri yang mempunyai sifat Gram negatif berwarna merah.

Metode ini menggunakan cat warna malachite green sebagai cat pewarna untuk spora. Pewarnaan dilakukan dengan cara membuat usapan bakteri dan dilakui kemudian digoreng dengan malachite green lalu dipanaskan. Selanjutnya mencuci sisa cat malachite green, kemudian ditambahkan cat Safranin untuk pewarnaan sel vegetatif bakteri.

Identifikasi dengan uji biokimia

Identifikasi secara uji biokimia dilakukan dengan meranam isolat bakteri pada media KIA, SIM, UJA dan Citrat. Pada media KIA bakteri diinkubasikan dengan cara tusuk dan gores kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tujuan inkulasi pada media ini adalah untuk mengetahui

Gambar 1. Tanaman talas (*Cobocasa esculenta* L.)

449

uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Cobocasa esculenta* L.) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

spora, sehingga jika terdapat spora maka akan berwarna hijau. Spora yang berhasil diwarnai akan mengikat kuat cat warna tersebut sehingga ketika ditutup kembali dengan cat warna lain (safranin) spora akan tetap mempertahankan warna awalnya.

3.2 Identifikasi Bakteri Uji *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Identifikasi bakteri uji perlu dilakukan untuk memastikan jika bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Pseudomonas aeruginosa* murni tanpa terkontaminasi bakteri lainnya. Identifikasi yang dilakukan meliputi identifikasi koloni, Pewarnaan Gram dan uji biokimia.

Identifikasi koloni dilakukan dengan cara menggoreskan biakan *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Pseudomonas selective agar* (PSA). Hasil penelitian menunjukkan koloni bulat, halus dan berwarna hijau (gambar 4). Warna hijau dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* karena mempunyai pigmen pyocyanin.

Tahap identifikasi selanjutnya adalah dengan uji biokimia menggunakan media KIA

Gambar 3. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x.

Gambar 4. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 1000x.

amilase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi bakteri endofit yang mempunyai kemampuan amilolitik pada umbi talas (*C. esculenta* L.) serta melakukan karakterisasi dan identifikasi secara morfologi, biokimia dan molekuler.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Mikrobiologi, Universitas Setia Budi, Sukoharjo, Jawa Tengah. Waktu penelitian adalah di bulan April-September 2018.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi Talas (*Cobocasa esculenta* L.) yang diambil dari Desa Kalisoro Kecamatan Tawangsongo Kabupaten Karanganyar (7° 40' 11,0" S, 111° 08' 42,8" E), aquades, nutrient agar (NA), Brain Heart Infusion (BHI), Kligler's Iron Agar (KIA), indole Test (BTB Medium), Lysine Iron Agar (LIA), media Citrat, Gram A, B, C dan D, amilum.

Isolasi bakteri amilolitik

Umbi talas yang sudah dibersihkan dari tanah dan kotoran dikupas. Umbi talas dipengirasi dengan metode maserasi (penghancuran). Tujuan penghancuran ini adalah agar bakteri yang terdapat di permukaan atau di dalam umbi talas dapat terambil semuanya. Hasil maserasi ditambah sebanyak 5 g dan dikuspensikan dalam 40 ml aquades. Hasil suspensi kemudian dibuat seri pengenceran 10⁻¹, 10⁻², dan 10⁻³. Masing-masing seri pengenceran kemudian dituangi sebanyak 1 ml dan dituang pada media NA yang ditambah dengan 2% pati (media starch agar). Koloni tunggal yang tumbuh pada media selanjutnya diteliti dengan iodine. Penambahan iodine digunakan untuk mendeteksi adanya hidrolisis pati oleh aktivitas enzim amilase (Siregar dan Subagyo 2012). Hidrolisis pati ditandai dengan terbentuknya zona bening pada media setelah diteliti iodine.

Karakterisasi morfologi koloni bakteri

Karakterisasi koloni bakteri dilakukan setelah koloni bakteri diinkubasi pada media NA selama 24-48 jam. Pengamatan yang dilakukan meliputi bentuk koloni, bentuk koloni, elevasi, permukaan koloni, dan warna koloni.

Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik... Yulianti et al.

Tabel 1. Karakterisasi secara makroskopis pada isolat bakteri amilolitik dari umbi *C. esculenta* L.

Isolat bakteri	Form	Pengamatan	Mengingat
ECE-1	Irreguler	Kuning	Merah ungu

