



Identifikasi Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif Pada Air Limbah Pabrik Tepung Tapioka Kabupaten Malang

Idelia Diny Rachmawati, Erni Yohani Mahtuti*, Faisal

Program Studi D-III Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Maharani Malang, Malang, Indonesia

*)Koresponden Penulis : yohanierni@stikesmaharani.ac.id

Abstrak

Air limbah tapioka mengandung bahan organik tingkat tinggi yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan, terutama di sungai. Air limbah pabrik tapioka mengandung air, pati terlarut, nitrogen, fosfor, lemak, protein, Ca, Mg, Fe, Cu, Pb, dan Zn, kandungan bahan-bahan organik yang cukup tinggi ini menyebabkan pencemaran lingkungan khususnya air sungai. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui bakteri gram positif dan gram negatif yang ada pada air limbah pabrik tepung tapioka Kabupaten Malang. Jenis penelitian ini deskriptif, desain kualitatif menggunakan teknik random sampling. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel air limbah tepung tapioka, pembuatan isolasi koloni bakteri dengan media MCA dan MSA, pembuatan kultur murni, dan pewarnaan, dilanjutkan uji biokimia dan uji enzimatis (katalase dan koagulase). Hasil penelitian menemukan bakteri gram positif yaitu *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus*. Ditemukan bakteri gram negatif, yakni *Escherichia coli* glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa (+), H₂S (-), motilitas (-), indol (+), Mr (+), Vp (-), citrat (-). *Pseudomonas aeruginosa* glukosa (+), laktosa, manitol, maltosa dan sukrosa (-), H₂S dan Motilitas (+), indol (-), Mr (+), Vp (-), citrat (+), dan *Proteus vulgaris* glukosa, maltosa, dan sukrosa (+), laktosa dan manitol (-), H₂S (+), motilitas (+), indol (+), Mr (+), Vp (-), citrat (-). Saran melakukan pemeriksaan secara fisika dan kimiawi, serta menggunakan media agar lainnya untuk mendapatkan bakteri yang lebih beragam. Bakteri yang diketemukan berpotensi dalam pencegahan penularan bakteri patogen serta sebagai potensi bioremediasi.

Kata kunci: Air Limbah Tepung Tapioka, Identifikasi, Mikroorganisme.

Abstract

Tapioca wastewater contains high levels of organic matter that may cause environmental pollution, especially in rivers. Tapioca plant wastewater contains water, dissolved starch, nitrogen, phosphorus, fat, protein, Ca, Mg, Fe, Cu, Pb, and Zn, the content of these organic materials is quite high and causes environmental pollution, especially river water. The purpose of this study is to determine gram-positive and gram-negative bacteria in the wastewater of the tapioca flour factory in Malang Regency. This type of research is descriptive, qualitative design using random sampling techniques. The research stages include sampling of tapioca flour wastewater, making isolation of bacterial colonies with MCA and MSA media, making pure cultures, and staining, followed by biochemical tests and enzymatic tests (catalase and coagulase). The results of the study found gram-positive bacteria, namely *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. Gram-negative bacteria were found, namely *Escherichia coli* glucose, lactose, mannitol, maltose, and sucrose (+), H₂S (-), motility (-), indole (+), Mr (+), Vp (-), citrate (-). *Pseudomonas aeruginosa* glucose (+), lactose, mannitol, maltose and sucrose (-), H₂S and Motility (+), indole (-), Mr (+), Vp (-), citrate (+), and *Proteus vulgaris* glucose, maltose, and sucrose (+), lactose and mannitol (+), H₂S (+), motility (+), indole (+), Mr (+), Vp (-), citrate (-). Suggestions are to conduct physical and chemical examinations, as well as use other agar media to obtain more diverse bacteria. This bacteria are potential to prevent the transmission of pathogenic bacteria and are potential bioremedies.

Keywords: Tapioca Flour Wastewater, Identification, Microorganism.

Histori Artikel

Submit : 11 Juni 2025

Direvisi : 1 Juli 2025

Diterima : 22 Juli 2025

DOI : 10.33474/e-jbst.v11i1.630

Sitasi : I. D. Rachmawati, E. Y. Mahtuti, and Faisal, "Identifikasi Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif pada Air Limbah Pabrik Tepung Tapioka Kabupaten Malang," *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, vol. 11, no. 1, pp. 109–114, Aug. 2025. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v11i1.630>



Pendahuluan

Bakteri merupakan mikroorganisme yang kita temukan di berbagai tempat misalnya bekas air rendaman, makanan yang sudah basi, tumpukan sampah, limbah industri, dan masih banyak lagi. Selain itu bakteri juga dapat tumbuh dimana saja, hal ini dapat terjadi karena bakteri bisa dengan cepat beradaptasi di lingkungan yang baru dengan suhu yang ekstrim dan lingkungan yang mendukung. Salah satu yang terindikasi adanya pertumbuhan bakteri yaitu air limbah pabrik tapioka [1],[2]

Kandungan yang ada dalam limbah pabrik tepung tapioka seperti karbohidrat, Mg, Ca, Zn, Cu, nitrogen [3] dan sulfur merupakan nutrisi yang diperlukan oleh bakteri untuk dapat hidup dan berkembang biak. Warna limbah yang dihasilkan dari pabrik tepung tapioka memiliki warna putih kekuning - kuning, hal ini disebabkan karena air limbah tersebut berasal dari proses pemisahan pati, sedangkan warna air limbah yang berasal dari proses pencucian akan berwarna putih kecoklat - coklat disertai suspensi yang berasal dari kotoran dan kulit singkong. Kandungan tersebut merupakan senyawa organik yang bermanfaat dalam mendukung pertumbuhan dan perkembangan biakan bakteri dalam limbah sehingga akibat aktifitas metabolik tersebut terdapat senyawa samping yang berdampak pada limbah seperti perubahan warna, bau, pH serta mudahnya penularan bakteri dalam badan air. Beberapa penelitian telah menemukan beberapa bakteri indigen serta menggunakan metode MPN, tetapi penelitian mengenai jenis bakteri gram positif dan gram negatif menggunakan media selektif masih terbatas. Identifikasi dilakukan dengan isolasi, pewarnaan dan uji biokimia melalui tahapan yang sedikit panjang [4], [5], [6].

Lokasi pabrik tepung tapioka yang berada di daerah Kabupaten Malang diketahui berada dekat dengan pemukiman warga, oleh karena itu salah satu masalah yang sering muncul di kalangan masyarakat setempat adalah bau menyengat limbah. Selain itu pembuangan limbah ini sendiri tidak terdapat adanya IPAL sehingga langsung mengalir ke sungai setempat. Keterbaruan penelitian ini yakni mengidentifikasi bakteri pada limbah dengan uji biokimia sehingga dapat diketahui sifat fisiologis bakteri serta adanya peluang memanfaatkan bakteri untuk proses bioremediasi jangka menengahnya. Sehingga berdasarkan uraian diatas tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui bakteri gram positif dan gram negatif yang ada pada air limbah pabrik tepung tapioka Kabupaten Malang.

Material dan Metode

Rancangan Penelitian dan Pengambilan Sampel

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kualitatif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Central STIKes Maharani Malang pada bulan Januari 2025. Sampel dari penelitian, sampel air limbah pembuangan pertama dan pembuangan terakhir dengan masing – masing sebanyak 250ml. Teknik sampling dalam penelitian ini menggunakan random sampling. Analisa data yang digunakan secara deskriptif dengan penyajian data menggunakan tabel tabulasi dimana akan dikelompokkan berdasarkan uji yang telah dilakukan.

Cara Kerja Penelitian

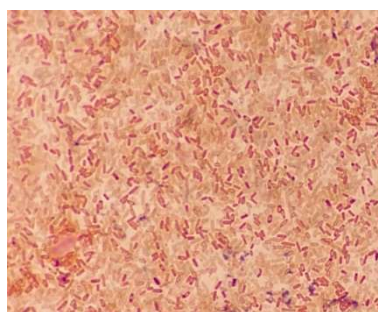
- **Alat dan Bahan:** Alat yang digunakan adalah tabung reaksi (Pyrex®), beaker glass (Herma®), neraca analitik, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, erlenmeyer (Herma®), bunsen, cawan petri, autoklaf, inkubator (Dnp-9052), jarum ose, *object glass*, aluminium foil, gelas ukur (Herma®), mikroskop (Olympus®), corong kaca (Pyrex®), kertas label, dan kapas. Bahan yang digunakan adalah KOH 40%, Na Citrat 3,8%, H₂O₂ 3%, akuades, media MSA (Mannitol Salt Agar), media MCA (Mac Conkey Agar), media gula-gula (glukosa, laktosa, manitol, maltosa, sukrosa), media indol, media MR (Methyl Red), media VP (Voges Prakaer), media citrat, peptone water, reagen konvac indol, reagen methyl red, indikator BTB (Bromtimol Blue), reagen alfa naftol, 1 set pewarnaan gram, minyak imersi.
- **Prosedur Penelitian:** Mekanisme kerja penelitian melalui tahapan isolasi bakteri dalam air limbah pabrik tepung tapioka yang ditanam pada media MCA dan MSA, kemudian

dilakukan inkubasi selama 2x 24 jam, dan dilakukan pengamatan makroskopis koloni bakteri. Langkah selanjutnya pembuatan biakan murni pada media miring MCA dan MSA dengan mengambil satu ose koloni yang terpisah, kemudian di inkubasi 2 x 24 jam. Setelah 2 x 24 jam dilakukan pewarnaan bakteri gram untuk membedakan gram positif dan gram negatif. Kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 1000x. Tahapan setelah pewarnaan gram yaitu uji biokimia dan uji enzimatis untuk mengetahui spesies bakteri, uji enzimatis meliputi glukosa laktosa, mannitol, maltosa, sukrosa, H₂S, indol, motilitas, MR, VP, dan citrat, untuk uji enzimatis meliputi uji katalase dan koagulase.

- Pembacaan hasil dilakukan dengan melihat perubahan reaksi dari bakteri terhadap senyawa dalam media pertumbuhan dan mencocokkan dengan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* [7],[8].

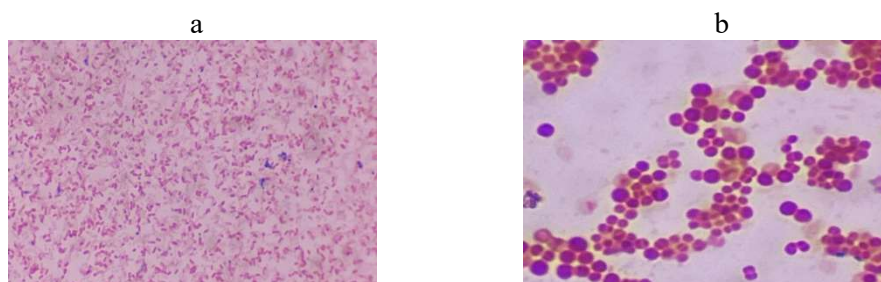
Hasil dan Diskusi

Hasil penelitian dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram MCA (Mac Conkey Agar)

Pada Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri pada perbesaran 1000x diketahui hasil pewarnaan gram dari sampel A1 hingga B4 adalah bakteri gram negatif dengan morfologi berbentuk batang, susunan menyebar, dan warna merah.



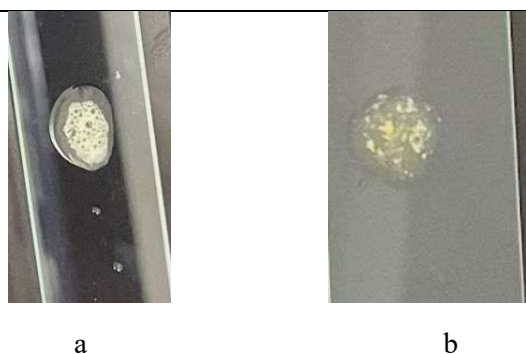
Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram MSA (Mannitol Salt Agar)

Pada Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri pada perbesaran 1000x diketahui hasil pewarnaan gram pada kode sampel A1, A2, A4, B1, dan B4 adalah bakteri gram positif dengan morfologi bulat atau coccus, susunannya berkelompok, dan berwarna ungu. Pada sampel A3, B2 dan B3 adalah bakteri gram positif dengan morfologi berbentuk batang atau basil, susunan menyebar, dan warna ungu.

Tabel 1. Hasil Uji Biokimia Bakteri Pada Air Limbah Pabrik Tepung Tapioka

Sampel	Asal Media	Glu	Lac	Man	Mal	Suc	H ₂ S	Ind	Mot	MR	VP	Cit	Spesies Bakteri
--------	------------	-----	-----	-----	-----	-----	------------------	-----	-----	----	----	-----	-----------------

A1, B1, B3	MCA	+g	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
A2, A3, A4, B4	MCA	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
A3, B2, B3	MSA	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus cereus</i>
B2.	MCA	+g	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Proteus Vulgaris</i>



Gambar 3. a. Hasil uji katalase dan b. Hasil uji koagulase

Hasil katalase pada sampel A1 hingga B4 menunjukkan hasil positif adanya gelembung gas (O_2) yang diproduksi oleh genus *Staphylococcus*, namun pada sampel A3, B2, dan B3 karena pada proses pewarnaan gram morfologi bakterinya adalah basil maka tidak bisa dikatakan sebagai bakteri *Staphylococcus* oleh karena itu perlu dilakukan uji tambahan yaitu biokimia untuk mengetahui spesies lebih lanjut. Pada sampel A1, A2, A4, B1, dan B4 menunjukkan hasil positif pada uji koagulase dengan adanya pembentukan gumpalan sehingga mengarah pada temuan bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki frekuensi paling banyak dibanding bakteri yang lain karena *Staphylococcus aureus* dalam pertumbuhannya membutuhkan nutrisi berupa karbohidrat, protein, mineral dimana pada kandungan air limbah tapioka karbohidrat dan protein lah yang memiliki kadar paling tinggi, selain itu proses pencucian bahan baku yang masing memerlukan bantuan tangan manusia juga menjadi salah satu faktor keberadaan bakteri ini semakin dominan.

Bacillus cereus dapat hadir dalam limbah tepung tapioka karena bakteri ini mampu memfermentasi beberapa karbohidrat seperti glukosa, laktosa, dan sukrosa. *Bacillus cereus* hidup secara aerob fakultatif, suhu pertumbuhan maksimum 37–40°C dan minimum 5–20°C serta pH pertumbuhan 5,5–8,5. *Bacillus cereus* bersifat kosmopolit, suhu pertumbuhan optimum 30°C, *Bacillus cereus* biasa ditemukan di alam (tanah, debu, air) dan dalam pangan, tingginya kehadiran *Bacillus cereus* dalam pati singkong merupakan konsekuensi dari proses pembuatannya yang dilakukan dengan tangan, di mana kontaminasi tepung dengan *Bacillus cereus* terjadi selama pengeringan tepung pada terpal plastik yang diletakkan di tanah di bawah sinar matahari, di lingkungan udara terbuka. [9].

Bakteri *Escherichia coli* dapat ditemukan pada limbah tepung tapioka karena bakteri ini merupakan organisme yang umum ditemukan di lingkungan, terutama di usus manusia dan hewan. Oleh karena itu, keberadaannya di air limbah bisa terjadi karena beberapa faktor yaitu, pada proses pembersihan bahan baku yaitu singkong menggunakan bantuan tangan manusia, dari tangan manusia yang mungkin kurang higienis inilah dapat mengandung bakteri *Escherichia coli* [10].

Manusia, termasuk para pekerja pabrik, juga bisa menjadi sumber kontaminasi *Escherichia coli* jika mereka terinfeksi jika kebersihan pribadi mereka tidak dijaga dengan baik dan penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih.

Nutrisi utama *Staphylococcus aureus* yaitu karbohidrat dan protein oleh karena itu bakteri ini dapat ditemukan pada limbah salah satunya yaitu limbah tepung tapioka karena didalam limbah ini



mengandung karbohidrat dan protein, *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang flora normalnya ada pada tubuh manusia. Bakteri ini tergolong sebagai bakteri pathogen yang dapat menyebabkan keracunan pada manusia, terutama melalui makanan yang mengalami kontak dengan manusia selama penanganan, pengolahan, penyimpanan

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berada dalam limbah tepung tapioca karena di dalam limbah tersebut mengandung logam berat (Pb), walaupun konsentrasi dari Pb ini tidak terlalu tinggi tetapi hal ini bisa memicu keberadaan dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu pH dari limbah tepung tapioka <5 hal ini menunjukkan bahwa limbah memiliki pH asam, Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu bertahan di kondisi lingkungan asam hingga pH 5 [11], bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam limbah juga bisa disebabkan oleh air yang digunakan pada proses pembersihan singkong sudah terkontaminasi.

Penemuan bakteri pada identifikasi air limbah pabrik tepung tapioka yaitu bakteri *Proteus vulgaris*. *Proteus vulgaris* terdapat di semua limbah yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri dan sumber kontaminasi salah satunya yang mengandung logam besi (Fe), pada limbah tepung tapioka selain Ca, Mg, Cu, dan Pb, juga mengandung logam besi (Fe) oleh karena itu bakteri *Proteus vulgaris* dapat ditemukan pada limbah tepung tapioka ini [12].

Bakteri yang ada pada air limbah pembuangan pertama dan pembuangan terakhir mengalami perbedaan karena pH pada awal pembuangan adalah 6 hingga 9, sedangkan pada pembuangan akhir mengalami penurunan yaitu 4 hingga 5, hal ini juga menjadi salah satu faktor mengapa bakteri yang dapat hidup pada kedua tempat ini berbeda. Selain itu faktor suhu dan juga tempat pembuangan limbah pertama dan akhir memiliki jarak sekitar 200 meter hal ini juga bisa menjadi penyebab karena adanya kontaminasi antara limbah dengan tanah maupun pipa pembuangan limbah tersebut

Kesimpulan

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi bakteri dari limbah cair tapioca. Bakteri yang paling dominan, ditemukan *Bacillus cereus* (18,75%), *Escherichia coli* (18,75%), *Staphylococcus aureus* (31,25%), *Pseudomonas aeruginosa* (25%), dan *Proteus vulgaris* (6,25%).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada STIKes Maharani Malang atas fasilitas dalam penulisan dan kepada seluruh pihak terkait atas bantuan dan dukungan finansial.

Daftar Pustaka

- [1] S. R. Istiqomah, S. Hastuti dan V. Suryanti, "Utilization of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) seed powder as a coagulant and activated natural zeolite as an adsorbent for improving of tapioca and tofu wastewater qualities," *Journal of Physics: Conference Series*, 2556(1), 012001. 2023.
- [2] P. Singh V. K. Singh, R. Singh, A. Borthakur, S. Madhav, A. Ahamad A, "Bioremediation: a sustainable approach for management of environmental contaminants. In: Abatement of environmental pollutants," Elsevier; p. 1–23, 2022.
- [3] I. Dwi dan K. Wardani Abstract Physicochemical Characteristics Of The Three Types Of Fermented Tapioca (*Case Study On The Itara Rukun Santosa East Lampung*). 2022
- [4] P. N. Febriningrum dan M. S. M, "The Addition Effect of Chitosan and *Bacillus amyloliquefaciens* Bacteria in the Tapioca Liquid Waste Phytoremediation Process," *Indonesian Journal of Chemical Science*, 10(1), 1–7. 2021.
- [5] B. Utomo dan M. Waruwu, *Analisis Populasi Bakteri Probiotik Lokal Pada Air Limbah Industri Tahu*. 11(2), 2023. <https://doi.org/10.20961/mateksi.v11i2>
- [6] S. Wulandhani, R. Lohing dan A. Hasyim, "Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Indigen Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Dari Limbah Biomedis Cair. *Healthcaring*," *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 2(2), 34–42, 2023.



- [7] G. M. Garrity, (Ed.). (2001–2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2nd ed.)*. Springer. 2012.
- [8] H. Smith dan A. Brown, *LooseLeaf for Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual--Complete Version*. 2017.
- [9] P. D. Apriliani, I. Kurniati, A. Dermawan dan A. I. N. Indra, "Penggunaan Tepung Kacang Kedelai Hitam (*Glycine soja* L. Merr) Sebagai Media Alternatif Nutrient Agar (NA) Untuk Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*," Jurnal Kesehatan Siliwangi, 4(1), 268–276. 2023. <https://doi.org/10.34011/jks.v4i1.1490>.
- [10] D. I. Ardina, A. Indrayati, A dan G. E. Pramukantoro, "Uji Aktifitas Fibrinolitik Ekstrak Etil Asetat Bakteri Yang Berasal Dari Limbah Cair Rumah Potong Ayam (RPA) Di Karanganyar. Prepotof," Jurnal Kesehatan Masyarakat, 8(2), 3405–3415, 2024.
- [11] Y.Yennie, Dewanti, R. Hariyadi, H. D. Kusumaningrum dan A. Poernomo, "Contamination Of *Staphylococcus Aureus* And *Bacillus Cereus* In Sushi at Retail Level in Jabodetabek Area," Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 25(2), 331–344. 2022. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.42066>
- [12] C. Yulvizar, M. Misrahanum, E. Iskandar dan Y. S. Ismail, "Isolasi dan Skrining Bakteri Asam Laktat dari Daging Kerbau Aceh," Jurnal Bioleuser, 6(3), 2022.