

**BIOAUGMENTASI BAKTERI *Pseudomonas putida* DAN *Enterobacter sp* UNTUK
MENURUNKAN KADAR HISTAMIN PADA LIMBAH CAIR PEMINDANGAN**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :

FRENDI NUR CAHYA K.

NIM. 0710833004



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**BIOAUGMENTASI BAKTERI *Pseudomonas putida* DAN *Enterobacter sp* UNTUK
MENURUNKAN KADAR HISTAMIN PADA LIMBAH CAIR PEMINDANGAN**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh :

FRENDI NUR CAHYA K.

NIM. 0710833004



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2014

SKRIPSI

**BIOAUGMENTASI BAKTERI *Pseudomonas putida* DAN *Enterobacter sp* UNTUK
MENURUNKAN KADAR HISTAMIN
PADA LIMBAH CAIR PEMINDANGAN**

Oleh:

FRENDI NUR CAHYA.K

NIM. 0710833004

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 18 Maret 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M. Si)

NIP. 19640726 198903 2 004

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes)

NIP. 19611022 198802 2 001

Tanggal :

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**

(Ir. Yahya, MP)

NIP. 19630706 1999003 1 003

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)

NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal :

**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bawa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, Maret 2014

Mahasiswa

Frendi Nur Cahya K

NIM. 0710833004

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Diana Arfiati, MS selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
2. Ibu Dr. Ir Arning Wilujeng Ekawati, MS selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya
3. Bapak Dr. Ir. Hardoko, MS selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
4. Bapak Dr. Ir. Yahya, MP selaku Dosen Pembimbing I
5. Bapak Dr. Ir Heppy Nursyam, MS selaku Dosen Pembimbing II
6. Ibu Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, M. Si selaku Dosen Penguji I
7. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku Dosen Penguji II
8. Pemilik UD. Mina Jaya Sendang Biru Kabupaten Malang selaku pemilik rumah pemindangan Ikan Tuna.
9. Kepala UPT Laboratorium dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya beserta stafnya atas bantuan penelitiannya.
10. Sujud terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis persembahkan kepada Bapak H. Suparman, dan Mama Hj. Widah atas cinta, kasih sayang, do'a, petuah, nasehat, semangat dan materi yang telah diberikan.
11. Adikku yang hebat Riski Nur Afriawan , terima kasih untuk cinta, do'a dan semangatnya.
12. Presica Dinar Yuristina, terima kasih atas segala bentuk motivasi, nasehat, semangat dan bantuannya.

13. Sahabatku tersayang, Haris dan Teman-teman Himatrik 2007
14. Teman-teman kos 271, Simbah, Kadul, Andik, Juned, Ardi, Bayu, Fito dan lain-lain
15. Seluruh pihak yang telah ikut andil dalam penyelesaian Skripsi ini.

Malang, Maret 2014

Penulis



RINGKASAN

Frendi Nur Cahya K. Bioaugmentasi Bakteri *Pseudomonas Putida* Dan *Enterobacter Sp* Untuk Menurunkan Kadar Histamin Pada Limbah Cair Pemindangan (Di Bawah Bimbingan **Dr. Ir. Yahya, MS dan Dr. Ir. Happy Nursyam, MS**)

Desa Sendang Biru, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur merupakan salah satu daerah yang memiliki banyak industri pemindangan. Dalam proses pengolahan ikan tersebut dilakukan dengan cara merebus ikan dalam suasana bergaram selama waktu tertentu dan menghasilkan limbah berupa cairan. Limbah pemindangan tersebut pada umumnya mengandung kadar histamin tinggi dan dibuang langsung ke sungai atau perairan lainnya. Histamin merupakan senyawa yang penting dalam racun scromboid (racun yang ada di dalam ikan jenis scromboide), tetapi gejalanya tidak nampak ketika diaplikasikan dengan obat anti-histamin. Histamin merupakan salah satu amin biogenic yang mempunyai pengaruh terhadap efek fisiologis manusia. Dari fakta tersebut, perlu adanya proses pengolahan limbah pemindangan agar tidak menyebabkan pencemaran pada lingkungan di sekitarnya. Salah satu teknik pengolahan limbah secara organik menggunakan mikroorganisme yang dapat menurunkan kadar histamin adalah teknik Bioaugmentasi. bioaugmentasi digunakan untuk menyingkirkan produk sampingan dari bahan mentah dan polutan potensial dari limbah.

Dari latar belakang tersebut, dilakukan sebuah penelitian tentang bioaugmentasi pada limbah pemindangan yang ada di industri pemindangan Desa Sendangbiru, Kabupaten Malang. Dalam penelitian ini, bakteri yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter, Sp*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawiaya Malang, serta UPT Laboratorium dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya pada tanggal 19 Desember 2013 sampai dengan 16 Januari 2014 dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kedua bakteri tersebut dalam menurunkan kadar histamin pada limbah pemindangan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama dan isolat bakteri murni bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp* dan limbah pemindangan. Bahan pendukung lainnya adalah media cair TSB, aquades, larutan NaCl, air ledeng, kertas saring, masker, sabun cair, dan waring. Sedangkan untuk pengujian Histamin dibutuhkan: metanol, aquadest, glasswool, NaOH 1N, HCl 0,1 N, orto-ptalatdikarbodilidehid (OPT) 0,1 %, asam phospat (H_3PO_4) 3,57N, resin penukar ion jenis dowex 1-X8 50-10 mesh, larutan standart histamin, dan larutan kerja. Selanjutnya, peralatan pengambilan sampel, adalah coolbox; peralatan pembiakan dan pengenceran bakteri, antara lain: kulkas, lamiran flow, tabung reaksi, rak tabung reaksi tertutup, erlenmeyer, pipet volum, beaker glaass, timbangan digital, gelas arloji, osse, lamiran, gelas ukur, spatula, bunsen, botol semprot, nampan, inkubator, autoklaf; peralatan aerasi limbah yang digunakan adalah toples dan seperangkat aerator; dan peralatan pengujian kadar histamin, antara lain: corong dan botol filtrat contoh, kertas saring kasar, plastik, karet pengikat; kolom resin 20 cm x 0,8 cm, reservoir 2cm x 5 cm; labu takar 25 ml, 50 ml, 100 ml, dan 1000 ml; pipet volumetric, sprektrofluorometer, stiler plate, tabung reaksi 5ml tertutup, timbangan analisis, waterbath.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Prosedur penelitian diawali dengan pengambilan sampel limbah cair yang di UD. Mina Jaya Desa Sendang Biru Kabupaten Malang, Jawa Timur. Sebelum dilakukan uji coba bioaugmentasi, dilakukan penelitian tahap I yaitu pembiakan bakteri *Pseudomonas putida* dan bakteri *Enterobacter Sp*. Setelah dilakukan pembiakan, langkah selanjutnya adalah penelitian tahap II yaitu pengenceran bakteri 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Setelah bakteri diencerkan, kemudian bakteri sebanyak 1 ml dimasukkan pada botol-botol yang telah diisi dengan

limbah cair pemindangan 500 ml. Bakteri yang dimasukkan adalah bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter Sp* dan campuran *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp*. Langkah selanjutnya, limbah yang telah diberi bakteri tersebut diaerasi selama 10 hari menggunakan aerator. Setelah 10 hari, aerasi dihentikan dan dilakukan uji biogenic amine (histamin). Penelitian uji biogenic amine ini dilakukan di UPT Laboratorium dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya.

Kadar histamin yang diperoleh dari penelitian ini pada perlakuan limbah segar di dapatkan kadar histamin 10,995 mg/kg, pada perlakuan limbah dengan bakteri *Pseudomonas putida* didapatkan kadar histamin 3,025 mg/kg, pada perlakuan limbah dengan bakteri *Enterobacter sp* didapatkan kadar histamin 1,707 mg/kg, pada perlakuan campuran antara *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* didapatkan nilai kadar histamin 4,373 mg/kg.



KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur dan kemuliaan yang sempurna bagi Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Bioaugmentasi Bakteri *Pseudomonas Putida* Dan *Enterobacter Sp* Untuk Menurunkan Kadar Histamin Pada Limbah Cair Pemindangan” ini dengan baik. Tak lupa pula, Sholawat serta salam selalu tercurah kepada Nabi Besar Muhammad SAW yang telah memberikan tauladan sempurna bagi seluruh umat di dunia.

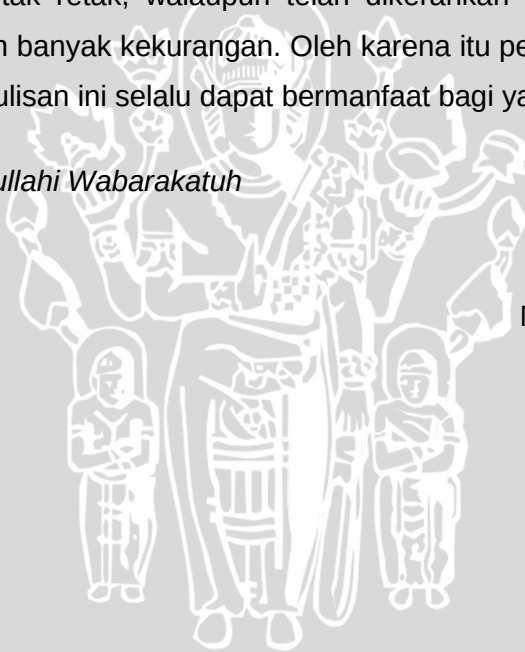
Tulisan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp* terhadap penurunan histamine dalam limbah cair pemindangan. Dengan adanya tulisan ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang membutuhkan.

Tak ada gading yang tak retak, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan, tetapi penulis masih merasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini selalu dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, Maret 2014

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

UCAPAN TERIMA KASIH	iv
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan Penelitian	4
1.5 Tempat dan Waktu	4

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Tuna	5
2.2 Limbah Ikan Tuna.....	7
2.3 Limbah Cair	8
2.4 Karakteristik Limbah Cair	9
2.5 Limbah Cair Pemindangan	12
2.6 Pengolahan Limbah Cair	13
2.7 Biogenic Amine (Histamin)	14
2.8 Bioaugmentasi	18
2.9 Bakteri <i>Pseudomonas Putida</i>	19
2.10 Bakteri <i>Enterobacter Sp</i>	21
2.11 Spektrofotometri	22

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian	24
3.2 Alat Penelitian	24
3.3 Metode Penelitian.....	25
3.4 Prosedur Penelitian	25
3.4.1 Pengambilan Sampel Limbah Cair	25
3.4.2 Penelitian Tahap I (Pembiakan Bakteri)	26

3.4.3	Penelitian Tahap II (Pengenceran Bakteri)	29
3.4.4	Penelitian Tahap III (Aerasi Limbah)	33
3.5	Pengujian <i>Biogenic Amine</i> (Histamin).....	35
3.6	Rancangan Percobaan.....	37

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Penelitian	40
4.2	Pembahasan	40
4.2.1	Analisa uji parameter utama (Histamin).....	40

5. PKESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	43

DAFTAR PUSTAKA.....	44
---------------------	----

LAMPIRAN.....	49
---------------	----



DAFTAR TABEL

Tabel

1. Komposisi Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Tuna (<i>Thunus Sp</i>).....	7
2. Komponen kandungan asam amino limbah cair pemindangan.....	10
3. Jenis-Jenis Bakteri <i>Pseudomonas</i>	20
4. Rancangan Percobaan Bentuk RAL Sederhana.....	38
5. Sidik Ragam Pada Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana.....	39
6. Kadar Histamin Dari Limbah Pemindangan.....	40



DAFTAR GAMBAR

Gambar

1. Rumus Ikatan Histidin Menjadi Histamin	17
2. <i>Diagram Optik Flourometer</i>	22
3. <i>Alat Spektrometri</i>	23
4. Prosedur Kerja Sterilisasi Alat	28
5. Prosedur Kerja Pembuatan Media Cair	28
6. Prosedur Kerja Peremajaan Bakteri	29
7. Prosedur Kerja Pembuatan Larutan Pengenceran	32
8. Prosedur Kerja Pengenceran Bakteri	32
9. Prosedur Kerja Aerasi Limbah	34
10. Grafik Kadar Histamin Limbah Cair Pemindangan	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Prosedur Penelitian atau foto penelitian	49
2. Kadar histamin dari Limbah Cair pemandangan	57
3. Hasil pengujian Histamin.....	58



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemindangan adalah merebus ikan dalam air dengan garam di bawah tekanan udara normal, tanpa perlakuan lanjutan sehingga kegiatan enzim dan autolisis serta bakteri pembusuk dapat dicegah. Pada pemindangan ikan dan garam yang telah tersusun dalam wadah kedap air dimasak pada bak pemasakan yang telah berisi air selama 2 jam. Setelah masak pindang diangkat dan ditiriskan. Limbah cair didapatkan berupa air sisa dari bekas memasak dan hasil meniriskan ikan (Afrianto dan Liviawaty, 1991).

Limbah cair yang bersumber dari usaha pengolahan ikan biasanya banyak menggunakan air dalam prosesnya. Disamping itu ada pula bahan baku yang mengandung air sehingga dalam proses pengolahannya harus dibuang. Air yang dibuang tersebut misalnya ketika setelah dipergunakan untuk pencuci suatu bahan sebelum proses selanjutnya (Rahayu, 2009).

Pengolahan limbah cair secara biologi pada dasarnya menggunakan kerja mikroorganisme untuk menguraikan limbah menjadi bahan-bahan yang sederhana. Pengolahan limbah secara biologi dapat dibedakan menjadi 2 yaitu: aerob dan anaerob. Pengolahan limbah cair secara anaerob berarti yang bekerja atau yang hidup adalah bakteri anaerob yang tidak memerlukan oksigen bebas. Bakteri ini dapat bekerja dengan baik pada suhu yang semakin tinggi sampai 40 derajat celcius, pH sekitar 7. Bakteri ini juga akan bekerja dengan baik pada keadaan yang gelap dan tertutup. Pengolahan limbah secara aerob berarti yang dipergunakan adalah bakteri aerob yang memerlukan oksigen bebas. Bakteri ini akan bekerja dengan baik pada pH sekitar 7 dengan suhu yang semakin tinggi sampai 40 derajat celcius. Pengolahan limbah secara aerob harus dimasukkan oksigen dari udara secara kontinyu (Sugiarto, 1987).

Beberapa bakteri sudah dikenal dapat meremediasi berbagai jenis limbah seperti bakteri *Sulfurospirillum barnesii*. Selanjutnya beberapa mikroorganisme seperti *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Ochrobactrum*, *Alcaligenes*, *Pandorea*,

Labrys dan *Fusarium*, dikenal dapat mendegradasi limbah semacam polisiklik aromatik hidrokarbon (Elvyeti, 2010).

Peranan mikroba dalam memperbaiki kualitas air mulai banyak dipelajari. Hasil penelitian Sasongko (2001) menyatakan bahwa adanya bakteri indigen (bakteri lokal) pendegradasi bahan organik akan membuat lingkungan menjadi lebih baik. Hal ini disebabkan bakteri memanfaatkan bahan organik yang ada. Aktivitas bakteri pendegradasi bahan organik akan menurunkan akumulasi bahan organik.

Dalam suatu bahan organik membawa sebuah racun yang disebut histamin. Histamin merupakan senyawa yang penting dalam racun scromboid (racun yang ada di dalam ikan jenis scromboide), tetapi gejalanya tidak nampak ketika diaplikasikan dengan obat anti-histamin. Histamin bukan hanya senyawa yang diresponsif untuk racun scromboid, karena tidak begitu beracun bila ikan tersebut dimakan secara langsung atau dalam keadaan segar. Racun histamin akan bertambah ketika bersama dengan senyawa amin yang lain, seperti putrescine dan cadaverin (Rodriguez et al., 1994). Selanjutnya, Aflal (2006) menambahkan histamin merupakan komponen yang kecil, mempunyai berat molekul rendah yang terdiri atas cincin imidazol dan sisi rantai etilamin. Histamin juga merupakan komponen yang tidak larut air. Histamin merupakan salah satu amin biogenik yang mempunyai pengaruh terhadap efek fisiologis manusia.

Salah satu teknik pengolahan limbah secara organik menggunakan mikroorganisme yang dapat menurunkan kadar histamin adalah teknik Bioaugmentasi. Bioaugmentasi didefinisikan sebagai penggunaan organisme hidup terutama mikroorganisme, untuk mendegradasi pencemar lingkungan yang merugikan ke tingkat atau bentuk yang lebih aman yaitu dengan penambahan atau introduksi satu jenis atau lebih organisme baik yang alami maupun yang sudah mengalami perbaikan sifat (*improved/genetically engineered strains*) (Irianto, 2007). Selanjutnya, Angga (2010) menambahkan bahwa bioaugmentasi digunakan untuk menyingkirkan produk sampingan dari bahan mentah dan polutan potensial dari limbah.

Dari latar belakang tersebut diatas, peneliti melakukan penelitian mengenai teknik bioaugmentasi dalam menurunkan kadar histamin pada limbah cair ikan pindang. Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp.* Kedua bakteri ini dipilih sebagai bahan penelitian karena sudah dikenal dapat meremediasi berbagai jenis limbah.

1.2 Identifikasi Masalah

Saat ini limbah industry perikanan lebih banyak langsung dibuang ke sungai ataupun ke laut. Industri tersebut tidak mengolah terlebih dahulu limbah yang dibuang. Sehingga mengakibatkan daerah sekitar sungai dan laut menjadi tercemar, air menjadi kotor, tidak dapat dipakai serta menimbulkan bau yang tidak sedap dan juga akan membahayakan makhluk hidup disekitarnya. Teknik yang diperlukan adalah teknik pengolahan limbah yang benar untuk mengatasi masalah tersebut yaitu dengan cara Bioaugmentasi. Teknik bioaugmentasi ini masih jarang dilakukan dan belum banyak diketahui manfaatnya oleh masyarakat luas. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai bioaugmentasi limbah cair pempindangan menggunakan bakteri *Pseudomonas putida* dan bakteri *Enterobacter Sp.*

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan sebagai berikut ini:

Apakah penambahan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp* dapat menurunkan kadar histamine dalam limbah cair pempindangan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp* terhadap penurunan histamine dalam limbah cair pempindangan.

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada pihak-pihak yang berkepentingan tentang manfaat dari penambahan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter Sp* dalam Proses Bioaugmentasi limbah cair pemindangan sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.5 Tempat, Waktu/Jadwal pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, serta UPT Laboratorium dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Surabaya pada tanggal 19 Desember 2013 sampai dengan 16 Januari 2014.



2.TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Tuna

Tuna adalah ikan laut yang terdiri dari beberapa spesies dari famili Scombridae, terutama genus *Thunnus*. Ikan ini adalah perenang andal (pernah diukur mencapai 77 km/jam). Tidak seperti kebanyakan ikan yang memiliki daging berwarna putih, daging tuna berwarna merah muda sampai merah tua. Hal ini karena otot tuna lebih banyak mengandung myoglobin dari pada ikan lainnya. Beberapa spesies tuna yang lebih besar, seperti tuna sirip biru (*Thunnus thynnus*), dapat menaikkan suhu darahnya di atas suhu air dengan aktivitas ototnya. Hal ini menyebabkan mereka dapat hidup di air yang lebih dingin dan dapat bertahan dalam kondisi yang beragam. Kebanyakan bertubuh besar, tuna adalah ikan yang memiliki nilai komersial tinggi (Wikipedia, 2014).

Ikan Tuna termasuk dalam keluarga Scombroidea, tubuhnya seperti cerutu. mempunyai dua sirip punggung, sirip depan yang biasanya pendek dan terpisah dari sirip belakang. Mempunyai jari-jari sirip tambahan (finlet) di belakang sirip punggung dan sirip dubur. Sirip dada terletak agak ke atas, sirip perut kecil, sirip ekor bercagak agak ke dalam dengan jari-jari penyokong menutup seluruh ujung hipural. Tubuh ikan tuna tertutup oleh sisik-sisik kecil, berwarna biru tua dan agak gelap pada bagian atas tubuhnya, sebagian besar memiliki sirip tambahan yang berwarna kuning cerah dengan pinggiran berwarna gelap (Ditjen Perikanan (1983) dalam Damandiri (2013)).

Menurut Saanin (1984) dalam Damandiri (2013), klasifikasi ikan tuna adalah sebagai berikut :

Phylum : *Chordata*

Sub phylum : *Vertebrata Thunnus*

Class : *Teleostei*

Sub Class : *Actinopterygii*

Ordo : *Perciformes*

Sub ordo : *Scombroidae*

Genus : *Thunnus*

Species : *Thunnus alalunga* (Albacore)

Thunnus albacores (Yellowfin tuna)

Thunnus macoyii (Southern bluefin tuna)

Thunnus obesus (Big eye tuna)

Thunnus tongkol (Longtail tuna)

Ikan tuna adalah jenis ikan dengan kandungan protein yang tinggi dan lemak yang rendah. Ikan tuna mengandung protein antara 22,6 - 26,2 g/100 g daging. Lemak antara 0,2 - 2,7 g/100 g daging. Di samping itu ikan tuna mengandung mineral kalsium, fosfor, besi dan sodium, vitamin A (retinol), dan vitamin B (thiamin, riboflavin dan niasin). Komposisi nilai gizi beberapa jenis ikan tuna dapat dilihat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi nilai gizi beberapa jenis ikan tuna (Thunnus sp) per 100 g daging Jenis Ikan Tuna

Komposisi	Jenis Ikan Tuna			Satuan
	Bluefin	Skipjack	Yellowfin	
Energi	121,0	131,0	105,0	Kal
Protein	22,6	26,2	24,1	g
Lemak	2,7	2,1	0,1	g
Abu	1,2	1,3	1,2	g
Kalsium	8,0	8,0	9,0	mg
Fosfor	190,0	220,0	220,0	mg
Besi	2,7	4,0	1,1	mg
Sodium	90,0	52,0	78,0	mg
Retinol	10,0	10,0	5,0	mg
Thiamin	0,1	0,03	0,1	mg
Riboflavin	0,06	0,15	0,1	mg
Niasin	10,0	18,0	12,0	mg

Sumber: Departement of Health, Education and Walfare (1972) dalam Maghfiroh (2000).

2.2 Limbah Ikan Tuna

Pengolahan pindang ikan Tuna sangat berperan dalam usaha pemanfaatan hasil perikanan di Indonesia, karena hampir 50 % dari hasil tangkapan memberikan hasil devisa yang cukup besar. Dalam proses pengolahannya ikan Tuna segar yang di pindang dengan bantuan air dan garam akan menghasilkan pindang ikan dan hasil sampingan berupa limbah cair yang berasal dari perebusandan penirisan. Pemindangan menempati urutan kedua setelah pengasinan ikan Tuna, baik dalam volume maupun nilai perdagangannya. (Moelyanto, 1992).

Pemindangan adalah merebus ikan dalam air dengan garam di bawah tekanan udara normal, tanpa perlakuan lanjutan sehingga kegiatan enzim dan autolisis serta bakteri pembusuk dapat dicegah. Pada pemindangan ikan dan garam yang telah tersusun dalam wadah kedap air dimasak pada bak pemasakan yang telah berisi air selama 2 jam. Setelah masak pindang diangkat dan ditiriskan. Limbah cair didapatkan berupa air sisa dari bekas memasak dan hasil meniriskan ikan (Afrianto dan Liviawaty, 1991).

2.3 Limbah cair

Limbah adalah buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga), yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis. Upaya pemerintah untuk mengatasi limbah masih sulit dicapai. Limbah yang dihasilkan dari kegiatan perikanan masih cukup tinggi, yaitu sekitar 20-30 persen (Ronquillo, 2009). Air limbah adalah kotoran dari masyarakat dan rumah tangga dan juga yang berasal dari industri, air tanah, air permukaan serta buangan lainnya, dengan demikian air buangan ini merupakan hal yang bersifat kotoran umum (Santi, 2004).

Industri pengolahan hasil perikanan merupakan salah satu agroindustri yang memanfaatkan hasil perikanan sebagai bahan pokok untuk menghasilkan suatu produk yang bernilai tambah lebih tinggi. Industri perikanan seperti juga industri-industri yang lain selain menghasilkan produk yang diinginkan, juga menghasilkan limbah baik limbah padat maupun limbah cair (Ibrahim, 2004).

Derajat limbah dalam industri pengolahan hasil laut sangat bervariasi. Ikan yang diolah menjadi tepung ikan tidak menghasilkan limbah padat. Pengolahan kepiting menghasilkan limbah padat hingga mencapai 85 persen. Setiap operasi pengolahan ikan akan menghasilkan cairan dari pemotongan, pencucian, dan pengolahan produk, cairan ini mengandung darah dan potongan-potongan kecil ikan dan kulit, isi perut, kondensat dari operasi pemasakan, dan air pendinginan dari kondensor (Jenie dan Rahayu, 1993).

Air buangan dari proses industri perikanan banyak mengandung nutrisi organik yang biasanya berupa nitrogen, dalam bentuk amoniak, nitrat dan nitrit yang akan menyebabkan pencemaran pada badan air penerima, berupa penurunan kadar oksigen terlarut, merangsang pertumbuhan tanaman air, memunculkan toksisitas terhadap kehidupan air, masalah bahaya kesehatan masyarakat, dan mempengaruhi kelayakan untuk penggunaan kembali air (River et al 1998 dalam Ibrahim et., all 2009).

2.4 Karakteristik limbah cair

Air rebusan dari proses pemindangan tersebut ikut mempengaruhi tingkat cemaran lingkungan sehingga perlu adanya solusi untuk masalah tersebut. Limbah yang tidak tertangani akan menyebar ke lingkungan dan lambat laun merugikan manusia. Limbah cair pada proses pemindangan ikan yang berasal dari air rebusan ikan memiliki kandungan gizi antara lain : protein 13,22%, lemak 2,10%, abu 2,60%, air 70%, garam 12,08% (Deptan 1995 dalam Murniati 2007).

Air rebusan dalam proses pemindangan merupakan limbah cair industri pangan yang mengandung berbagai komponen flavour yang menarik untuk dimanfaatkan agar dapat mengurangi pemborosan terhadap biaya pemulihan lingkungan yang tercemar. Limbah cair industri pangan khususnya air rebusan pindang mengandung banyak protein dan lemak sehingga meningkatkan konsentrasi BODS dan TTS yang cukup tinggi. Kadar BODS dan TTS tergantung pada tingkat produksi, jenis bahan mentah, kesegaran, dan pemindangan ikan yang berasal dari produk akhir yang dihasilkan (Dordland 1997).

Limbah cair industri pangan mengandung berbagai jenis protein yang begizi tinggi namun belum dapat dimanfaatkan secara optimal sehingga limbah tersebut dapat menimbulkan masalah di lingkungan bila tidak dilakukan proses pengolahan. Limbah cair tersebut berasal dari bekas pemasakan dan penirisan yang biasanya dimanfaatkan untuk kecap ikan, petis ikan dan flavour. Limbah yang dihasilkan air industri pangan khususnya hasil olahan ikan meliputi protein, karbohidrat terlarut, serpihan daging, dan komponen lainnya yang hilang selama perebusan (Morita 2002). Berikut ini adalah Komponen kandungan asam amino limbah cair pada pemindangan ikan:

Tabel 2. Komponen kandungan asam amino limbah cair pemindangan ikan

Komponen	Jenis Kandungan (g/kg)
Treonin	3,09
Glysin	7,12
Valin	2,70
Methionin	2,83
Isoleusin	4,60
Leusin	9,40
Phenil alanin	3,70
Lysine	10,60
Histidine	1,40
Arginin	5, 80

sumber :Deptan 1995 dalam Murniati 2007

Pada proses pemindangan terjadi proses penggaraman dan perebusan. Proses penggaraman berfungsi untuk memberikan rasa gurih pada ikan menurunkan kadar cairan pada tubuh ikan, mencegah dan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk maupun organisme lain. Proses penggaraman ini akan mempengaruhi air rebusan ikan karena pada saat proses perebusan cairan di dalam wadah akan terus bertambah yang disebabkan pengeluaran cairan di dalam tubuh ikan sehingga secara tidak langsung air rebusan bercampur dengan garam (Hognadottir 1999). Garam merupakan faktor penting pada penggaraman. Komponen Ca dan Mg yang terdapat pada garam menyebabkan ikan menjadi higroskopis, komponen $MgCl_2$ atau $MgSO_4$ menghasilkan rasa agak pahit pada air rebusan ikan sedangkan elemen Fe dan Cu dapat mengakibatkan ikan dan air rebusan berwarna coklat kotor atau kuning (Morita 2001).

Menurut Jenie dan Rahayu (1993). Derajat limbah dalam pengolahan hasil laut sangat bervariasi. Setiap operasi pengolahan ikan akan menghasilkan cairan dari pemotongan, pencucian dan pengolahan produk. Cairan ini mengandung darah dan

potongan-potongan kecil ikan dan kulit, isi perut, kondensat dari operasi pemasakan, dan air pendinginan dari kondensor.

Industri pengolahan hasil perikanan merupakan salah satu agroindustri yang memanfaatkan hasil perikanan sebagai bahan pokok untuk menghasilkan suatu produk yang bernilai tambah lebih tinggi. Industri perikanan seperti juga industri-industri yang lain selain menghasilkan produk yang diinginkan, juga menghasilkan limbah baik limbah padat maupun limbah cair (Ibrahim, 2004).

Air buangan dari proses industri perikanan banyak mengandung nutrisi organik yang biasanya berupa nitrogen, dalam bentuk amoniak, nitrat dan nitrit yang akan menyebabkan pencemaran pada badan air penerima, berupa penurunan kadar oksigen terlarut, merangsang pertumbuhan tanaman air, memunculkan toksisitas terhadap kehidupan air, masalah bahaya kesehatan masyarakat, dan mempengaruhi kelayakan untuk penggunaan kembali air (River et al 1998 dalam Ibrahim et., all 2009).

Air dari pabrik membawa sejumlah padatan dan partikel baik yang larut maupun mengendap. Bahan ini terdapat 2 macam yaitu kasar dan halus. kerap kali air dari pabrik berwarna keruh dan temperaturnya tinggi. Air yang mengandung senyawa kimia beracun dan berbahaya mempunyai sifat tersendiri. Air limbah yang telah tercemar memberikan 577 ciri yang dapat diidentifikasi secara visual dapat diketahui dari kekeruhan, warna air, rasa, bau yang ditimbulkan dan indikasi lainnya (Rahayu, 2009).

2.5 Limbah Cair Pemindangan

Menurut Budiman (2004) Pemindangan merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan ikan secara tradisional yang sudah lama digunakan oleh masyarakat di negara kita. Sebenarnya pemindangan juga merupakan rangkaian proses penggaraman yang diikuti dengan proses perebusan atau pengukusan. Jumlah produk pemindangan masih lebih kecil jika dibandingkan dengan produk hasil penggaraman dan pengeringan.

Ikan pindang adalah ikan awetan dengan kadar garam rendah. Pengolahan secara tradisional merupakan gabungan dari penggaraman dan perebusan sehingga memberikan rasa yang khas. Jenis ikan yang biasanya dibuat pindang antara lain ikan bandeng, tongkol, cakalang, lemuru, dan sekar (Margono, 2000).

Pemindangan ikan merupakan upaya pengawetan sekaligus pengolahan ikan yang menggunakan teknik penggaraman dan pemanasan. Cara pemindangan tradisional terdiri atas pindang garam (*dry-salting*) dan pindang air garam (*wet-salting*). Pemindangan garam ataupun pindang air garam sangat populer di beberapa Negara diantaranya Indonesia, Filipina dan Thailand. Teknologi pengolahan pindang sangat sederhana dan dapat dilakukan oleh berbagai kalangan masyarakat. Ikan dipreparasi terlebih dahulu dengan mengeluarkan isi perutnya, setelah itu disusun pada wadah secara selang-seling dengan garam kemudian dimasak. Untuk proses yang lebih cepat, dapat dilakukan dengan memasak air hingga mendidih terlebih dahulu, kemudian ikan dan garam dimasukkan ke dalam kantong plastik dan dikukus selama dua jam. Setelah dua jam, air yang berlebih dapat dibuang dan dilakukan penambahan garam pada ikan kemudian dikukus kembali selama dua jam. Ikan dapat dikeluarkan setelah dikukus dan disimpan pada suhu kamar (Agustina dkk 2008).

Pemindangan yang baik dapat dilakukan menggunakan garam dengan konsentrasi sekitar 2, 3 hingga 4% dengan perbandingan ikan dan garam adalah 1:2 atau 1:3 serta lama pemindangan berkisar antara 1,3,5 hingga 7 jam (Hognadottir 1999). Teknologi lain yang telah dikembangkan dalam pemindangan adalah dengan memasukan ikan mentah kedalam plastik dengan garam beserta air dengan perbandingan 16:6:2 dan divakumkan sehingga tidak ada udara yang masuk sebelum dimasak. Keuntungan dari proses ini adalah hanya memerlukan peralatan yang sederhana (Fellers 1965).

2.6 Pengolahan Limbah

Menurut Ronquillo (2009), Berbagai teknik penanganan dan pengolahan limbah telah dikembangkan. Masing-masing jenis limbah membutuhkan cara penanganannya khusus, berbeda antar jenis limbah yang satu dengan limbah lainnya. Namun secara garis besarnya, teknik

penanganan dan pengolahan limbah dapat dibagi menjadi penanganan dan pengolahan limbah secara fisik, kimiawi, dan biologis.

Menurut Sariawiria (2003), tujuan pengolahan air buangan antara lain:

- a. Ditinjau dari segi kesehatan untuk menghindari penyakit menular. Karena air merupakan media terbaik untuk kelangsungan hidup mikroba penyebab penyakit menular.
- b. Ditinjau dari segi estetika untuk melindungi air terhadap bau dan warna yang menyenangkan atau tidak diharapkan.
- c. Ditinjau dari segi kelangsungan kehidupan di dalam air untuk kelompok hewan dan tanaman air.

Semua air limbah perlu dikarakterisasi terlebih dahulu sebelum rancangan proses dimulai. Sifat air limbah yang perlu diketahui adalah volume aliran, konsentrasi organik, sifat-sifat karakteristik dan toksisitas (Jennie dan Rahayu, 1993).

Berdasarkan pada karakteristik air pengolahan buangan dibedakan menjadi tiga cara utama (Waluyo, 2005) yakni:

- Pengolahan secara fisik, antara lain dengan cara filtrasi, evaporasi, skringing, sentrifugasi, flotasi, dan "reverse-osmosis".
- Pengolahan secara kimia, antara lain dengan cara koagulasi, "ion exchange resin", klorinasi, dan ozonisasi.
- Pengolahan secara biologis, antara lain dengan lumpur aktif, filter, trickling, kolam oksidasi, fermentasi metana (penguraian anaerobik), dekomposisi bahan-bahan toksik, dan denitrifikasi.

2.7 Biogenic Amine (Histamin)

Histamin merupakan senyawa turunan dari asam amino histidin yang banyak terdapat pada ikan. Asam amino ini merupakan salah satu dari sepuluh asam amino esensial yang dibutuhkan oleh anak-anak dan bayi tetapi bukan asam amino esensial bagi orang dewasa. Di dalam tubuh kita, histamin memiliki efek *psikoaktif* dan *vasoaktif*. Efek

psikoaktif menyerang sistem saraf transmiter manusia, sedangkan efek *vasoaktif*-nya menyerang sistem vaskular. Pada orang-orang yang peka, histamin dapat menyebabkan migren dan meningkatkan tekanan darah.

Histamin merupakan suatu senyawa biogenik amin yang terbentuk akibat proses dekarboksilasi asam amino histidin yang terdapat pada tubuh ikan, yaitu histidin bebas dan histidin terikat dalam protein. Menurut kimata (1961) dan Taylor (1983), hanya histidin bebas yang dapat mengalami dekarboksilasi menjadi asam amino (Suliantari, 1994).

Histamin merupakan salah satu senyawa biogenik amin yang dianggap sebagai penyebab maag dan keracunan makanan yang berasal dari ikan, terutama dari kelompok skumbroid. Peda adalah produk fermentasi ikan yang umumnya dibuat dari ikan kembung yang merupakan kelompok ikan skumbroid, yang diketahui banyak mengandung asam amino histidin bebas, sehingga potensial menimbulkan masalah keracunan histamine (Indriati *et al*, 2006).

Pada proses penurunan mutu ikan, penguraian protein baru akan terjadi pada tingkat lanjut, sebab memiliki berat molekul besar, lebih tinggi dari 5000. Pada tingkat lanjut dimana metabolit-metabolit sederhana sudah habis, protein akan segera terurai dengan kecepatan yang semakin meningkat. Protein akan terurai menjadi peptide, dipeptida dan asam-asam amino bebas, yang kemudian akan menjadi senyawa-senyawa amin (misalnya, putresin, cadaverin, histamine, indol, skatol), asam disulfide, karbondioksida, asam-asam organik, dan lain-lain (Suwetja, 2011).

Bakteri yang memiliki enzim histidin dekarboksilase atau biasa disebut bakteri penghasil histamin, sebagian besar termasuk ke dalam famili Enterobacteriaceae. Diketahui banyak jenis bakteri yang mampu menghasilkan histidin dekarboksilase, seperti *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus* spp., *Enterobacter aerogenes* (Wei, 1990).

Histamin merupakan senyawa biogenik amin yang terbentuk akibat proses dekarboksilasi asam amino histidin yang terdapat pada tubuh ikan. Ada dua macam histidin

dalam daging ikan. yaitu histidin bebas dan hist idin terikat dalam protein (Suliantari *et al* , 1994).

Biogenik amina merupakan komponen dasar nitrogen yang dibentuk terutama oleh dekarboksilasi asam amino atau dengan transaminasi dari Aldehid dan keton. Biogenik amine merupakan sumber nitrogen dan prekursor untuk sintesis hormon, alkaloid, asam nukleat dan protein. Mereka juga dapat mempengaruhi proses dalam organisme seperti pengaturan suhu tubuh, asupan gizi, kenaikan atau penurunan tekanan darah (J.karovicova *et.,all.*,2003).

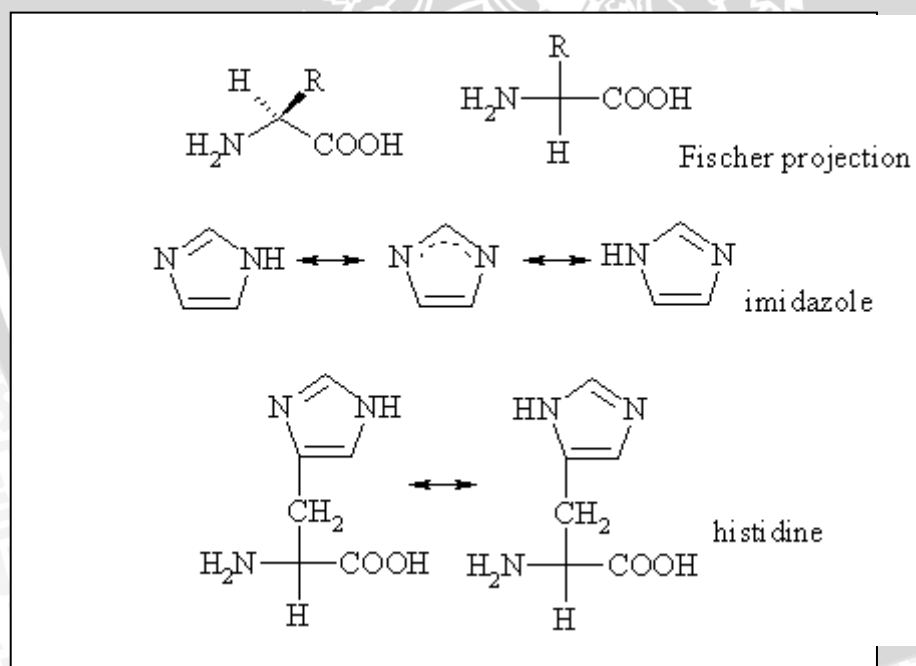
Biogenik amine adalah senyawa amin yang terbentuk sebagai hasil proses dekarboksilasi asam amino bebas yang terdapat di dalam tubuh ikan. Masalah yang dihadapi dalam pembuatan ikan pindang adalah terbentuknya suatu senyawa yang dapat menyebabkan keracunan yaitu biogenik amin akibat sanitasi yang buruk selama pengolahan maupun penyimpanan. Senyawa biogenik amin yang sering terbentuk pada ikan pindang adalah histamine (Danur,1993).

Menurut Dionex (2007), Biogenik amin dalam makanan rata-rata tidak berbahaya, tapi konsumsi dengan konsentrasi tinggi dapat mengakibatkan hipotensi (histamin, putresin, kadaverina), hipertensi (tyramine), migrain (tyramine, Phenylethylamine), mual, ruam, pusing, peningkatan cardiac output, dan peningkatan respirasi. Biogenic Amines (BA) dihasilkan dalam proses mikroba, sayuran, dan metabolisme hewan. Struktur kimia biogenik amin dapat berupa: alifatik (putresin, kadaverina, spermine, spermidine), aromatik (tyramine, phenylethylamine), heterocyclic (histamin, tryptamine). Biogenik amin merupakan sumber nitrogen dan prekursor untuk sintesis hormon, alkaloides, asam nukleat, dan protein. Mereka juga dapat mempengaruhi proses dalam organisme seperti pengaturan suhu tubuh, asupan gizi, kenaikan atau penurunan tekanan darah (Karovičová dan Kohajdová 2003).

Histamin adalah senyawa biogenic amin hasil perombakan asam amino histidin dekarboksilasi dari asam amino bebas serta terdapat pada berbagai bahan pangan seperti ikan, daging merah, keju, dan makanan fermentasi (Keer *et.,all.*2002).

Histamin merupakan komponen yang kecil, mempunyai berat molekul rendah yang terdiri atas cincin imidazol dan sisi rantai etilamin. Histamin juga merupakan komponen yang tidak larut air. Histamin merupakan salah satu amin biogenic yang mempunyai pengaruh terhadap efek fisiologis manusia (Aflal *et. al.*, 2006)

Histidina merupakan satu dari 20 asam amino dasar yang ada dalam protein. Bagi manusia histidina merupakan asam amino yang esensial bagi anak-anak. Rantai samping imidazol dan nilai pK_a yang relatif netral (yaitu 6,0) berarti bahwa perubahan sedikit saja pada pH sel akan mengubah muatannya. Sifat ini menjadikan histidina sering menjadi bagian dari gugus katalitik pada enzim maupun ligan koordinasi pada metaloprotein. Histidina menjadi prekursor histamin, suatu amina yang berperan dalam sistem saraf, dan karnosin, suatu asam amino. Terdapat dua enantiomer histidina yaitu D-histidin dan L-histidin, namun yang lebih dominan adalah L-histidin (atau S-histidin) (Wikipedia, 2014). Rumus ikatan kimia histidin menjadi histamin dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Rumus Ikatan Histidin Menjadi Histamin

Amina biogenic diproduksi pada jaringan ikan oleh bakteri dari family Enterobacteriaceae, seperti Morganella, Klebsiella, dan Hafnia yang menghasilkan enzim histidin Decarboxylase. Apabila telah diproduksi enzim Decarboxylase, maka akan terus menerus dihasilkan histamin meskipun pertumbuhan bakteri telah dihambat dengan suhu

dingin hingga 4°C. Produksi histamin akan semakin meningkat meskipun telah disimpan pada ruangan pendingin (Sumner et al, 2004).

Jenis bakteri penghasil histamin yang terdapat pada ikan laut dan spesifikasinya. Hampir semua bakteri tersebut dari golongan gram negatif dan bersifat anaerobik fakultatif sehingga mampu tumbuh pada kondisi aerobik maupun anaerobik (Martin et al. (1982)

2.8 Bioaugmentasi

Bioaugmentasi didefinisikan sebagai penggunaan organisme hidup terutama mikroorganisme untuk mendegradasi pencemar lingkungan yang merugikan ke tingkat atau bentuk yang lebih aman yaitu dengan penambahan atau introduksi satu jenis atau lebih mikroorganisme baik yang alami maupun yang sudah mengalami perbaikan sifat (improved/genetically engineered strains) (Irianto,2007).

Bioaugmentasi adalah proses penambahan produk bakteri komersial kedalam limbah cair untuk meningkatkan efisiensi dalam pengolahan limbah secara biologi(Parlina,2009).sedangkan menurut Angga (2010), Bioaugmentasi adalah penambahan organisme atau enzim pada suatu bahan untuk menyingkirkan bahan kimia yang tidak diinginkan. Bioaugmentasi digunakan untuk menyingkirkan produk sampingan dari mentah dan polutan potensial dari limbah.Organisme yang biasa digunakan proses ini adalah bakteri.

Bioaugmentasi dipilih apabila kontaminan membutuhkan waktu degradasi yang lama,bila lingkungan yang tercemar sulit dimodifikasi dalam rangka mencapai kondisi optimal bagi pertumbuhan mikroorganisme,atau bila tingginya konsentrasi kontaminan menghambat pertumbuhan mikroorganisme indogenus.Bioaugmentasi juga dilakukan untuk menurunkan keragaman jalur degradasi hidrokarbonpoliaromatik.Keberhasilan aplikasi Bioaugmentasi diukur dari peningkatan jumlah mikroorganisme yang berperan dalam proses degradasi serta daya tahan mikroorganisme oksigen pada lingkungan yang tercemar.

2.9 Bakteri *Pseudomonas Putida*

Pseudomonas putida bersel tunggal, batang lurus atau melengkung, namun tidak berbentuk heliks. pada umumnya berukuran 0,5 – 1,0 μm x 1,5 - 4,0 μm . Motil dengan flagelum polar; monotrikus atau multitrikus. Tidak menghasilkan selongsong prosteka. Tidak dikenal adanya stadium istirahat. Gram negatif. Kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi tidak pernah fermentatif. Beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif dapat menggunakan H_2 atau CO sebagai sumber energi. Oksigen molekuler merupakan penerima elektron universal. Aerobik sejati katalase positif (Placzar and chan, 2009).

Menurut Budiyanto (2003), bahwa *Pseudomonas Putida* dapat dikembangkan menjadi mikroorganisme yang mampu mencerna minyak bumi pada kasus pencemaran air laut oleh pengeboran minyak lepas pantai atau kecelakaan kapal pengangkut minyak. Bakteri ini juga digunakan untuk membersihkan limbah minyak (lemak) di pabrik-pabrik pengolahan daging. Kemampuan bakteri menguraikan minyak juga dimanfaatkan untuk membersihkan pipa – pipa yang mengalami penyumbatan oleh minyak (lemak) pada pabrik pengolahan daging tersebut.

Pseudomonas dengan 149 spesies dan 11 spesies tambahan berpigmen hijau muda atau hijau tua. pigmen meresap kedalam medium. Umumnya penghuni tanah atau air. Bergerak dengan flagel yang terdapat pada ujung. jumlah flagel satu lebih (Irianto, 2006). Adapun jenis-jenis bakteri *Pseudomonas* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Tabel Jenis-Jenis Bakteri *Pseudomonas*

Jenis Bakteri Pembeda	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
Pigmen:			
- Berdifusi:			
a) Berpijar	Hijau, terkadang tidak	Hijau	Hijau Tidak ada
b) Tidak berpijar	Biruhijau, merah, coklat-hitam atau tidak berwarna	Tidak ada atau berwarna oranye	Umumnya tidak ada, kuning (sangat jarang ada)
- Tidak berdifusi	Tidak ada	Pada umumnya tidak ada, oranye atau biru (jarang ada)	
Oksidase	+	+	+
Tumbuh pada 41°C	+	-	-
Hidrolisis gelatin	+	+	-
Hidrolisis kasein	+	+	-
Arginin dihidrolase	+	+	+
Lysin decarboxilase	-	-	-
Levan dari sukrosa	-	+	-
ONPG			
Sensitivitas pada polimixin B	+	+	+

Sumber : Skinner and Lovelock (1979)

2.10 Bakteri *Enterobacter Sp*

Enterobacter sp merupakan bakteri gram negatif anaerob fakultatif, berbentuk koliform (kokoid), dan tidak membentuk spora. Bakteri ini termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Dikenal dengan nama *Enterobacter cloacae* berpigmen kuning. Bakteri ini dapat menyebabkan radang selaput otak dan radang usus pada bayi. Kelompok bayi yang memiliki resiko tertinggi terinfeksi *E. sakazakii* yaitu neonatus (baru lahir hingga umur 28 hari), bayi dengan gangguan sistem tubuh, bayi dengan berat badan lahir rendah (BBLR), bayi prematur, dan bayi yang lahir dari ibu yang mengidap Human Immunodeficiency Virus (HIV) *Enterobacter sp.* merupakan patogen nosokomial yang

menjadi penyebab berbagai macam infeksi termasuk bakteremia, infeksi saluran pernapasan bagian bawah, infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran kemih, infeksi dalam perut, radang jantung, radang sendi, osteomyelitis, dan infeksi mata. Angka kematian akibat infeksi *E. sakazakii* mencapai 40-80%. Sebanyak 50% pasien yang dilaporkan menderita infeksi *E. sakazakii* meninggal dalam waktu satu minggu setelah diagnosa. Hingga kini belum ada penentuan dosis infeksi *E. sakazakii*, namun sebesar 3 cfu/100 gram dapat digunakan sebagai perkiraan awal dosis infeksi. *Enterobacter* sp, terutama *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter cloacae* dan *Enterobacter aerogenes* adalah bakteri patogen karena dapat menyebabkan berbagai jenis infeksi seperti *bacterimia*, infeksi saluran pernapasan ringan, infeksi kulit, infeksi saluran kencing, *endocarditis*, infeksi bagian dalam perut, *septic arthritis*, *osteomyelitis* dan infeksi pada mata. (Farmer, et al., 1985).

Enterobacter telah diduga kuat sebagai agen yang menyebabkan beberapa dari kondisi klinis pada *neonates*, termasuk *meningitis*, *bacterimia*, *sepsis*, dan *necrotizing enterocolitis* (Sanders dan Sanders, 1997).

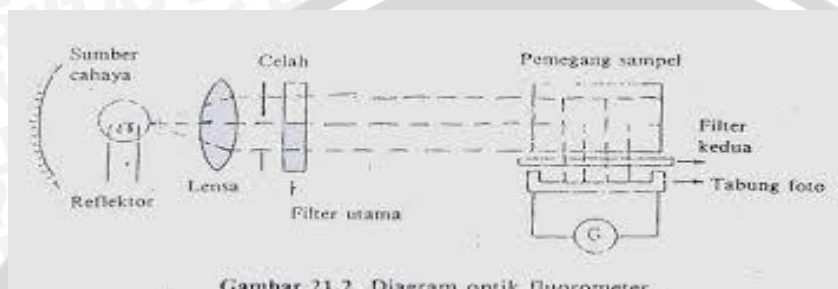
2.11 Spektrofluorometri

Spektrofluorometri adalah metode analisis kimia kuantitatif yang berdasarkan *flourecence*, *Flourecence* dan *phosporencence* adalah bagian dari *photoluminence*, yaitu tipe spektroskopi optik dimana sebuah molekul tereksitasi dengan mengabsorpsi ultraviolet, sinar tampak dan radiasi inframerah dekat. Molekul tereksitasi akan kembali kepada keadaan dasar atau ke tingkat eksitasi lebih rendah dengan dengan mengemisikan sinar. Sinar yang diemisikan inilah yang akan diukur (Widodo, 2010).

Dalam modul kuliah Spektroskopi (2007), spektrofotometri fluoresensi merupakan suatu prosedur yang menggunakan pengukuran intensitas cahaya fluoresensi yang dipancarkan oleh zat uji dibandingkan dengan yang dipancarkan oleh suatu baku tertentu. Pada umumnya cahaya yang diemisikan oleh larutan berfluoresensi mempunyai intensitas maksimum pada panjang gelombang yang biasanya 20 nm hingga 30 nm lebih panjang dari

panjang gelombang radiasi eksitasi (gelombang pita penyerapan sinar yang membangkitkannya). Pengukuran intensitas fluoresensi dapat dilakukan dengan suatu flourometer filter sederhana. Instrumen yang dipergunakan bermacam-macam mulai dari yang paling sederhana (filter flourometer) sampai ke yang sangat kompleks yaitu spektrofotometer.

Komponen-komponen utama dari masing-masing instrument yaitu:



Gambar 21.2 Diagram optik flourometer.

Gambar 2 . Diagram Optik Flourometer

Menurut Wanenoor (2010), peralatan pokok spektrofourometer adalah:

- Sumber spektrum yang kontinyu misalnya dari jenis lampu merkuri atau xenon.
- Monokromator kedua (M2) yang pada iradiasi konstan dapat dipakai menentukan panjang gelombang spektrum fluoresensi sampel.
- Detector berupa fotosel yang sangat peka misalnya fotomultiplier merah untuk panjang gelombang lebih besar dari pada 500 nm.
- Amplifier untuk mengandalkan radiasi dan meneruskan ke pembacaan.

Metode spektrofourometri mempunyai limit deteksi yang rendah dengan kemampuan analisis kimia relatif kecil sekitar sepersepuluh metoda spektrometri biasa dan daerah pengukurannya sekitar 0,1 sampai 0,001 ppm. Namun walaupun metoda analisa kimia flourometri ini sangat selektif, pemakaiannya terbatas pada senyawa-senyawa yang berfluoresensi atau yang dapat dibuat berfluoresensi (Novianty, 2007).



Gambar 3 . Alat Spektroflorometri

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama dan isolat bakteri murni bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp* dan limbah pemindangan. Bahan utama adalah limbah industri pemindangan yang diperoleh dari UD. Mina Jaya, Sendang Biru, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur. Sedangkan bakteri murni *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bahan pendukung lainnya adalah media cair TSB, aquades, larutan NaCl, air ledeng, kertas saring, masker, sabun cair, dan waring. Sedangkan untuk pengujian Histamin dibutuhkan: metanol, aquadest, glasswool, NaOH 1N, HCl 0,1 N, orto-ptalatdikarbodildehyd (OPT) 0,1 %, asam phospat (H_3PO_4) 3,57N, resin penukar ion jenis dowex 1-X8 50-10 mesh, larutan standart histamin, dan larutan kerja.

3.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari peralatan pengambilan sampel, peralatan pembiakan bakteri dan peralatan analisa. Peralatan pengambilan sampel, adalah coolbox. Peralatan pembiakan dan pengenceran bakteri, antara lain: kulkas, lamiran flow, tabung reaksi, rak tabung reaksi tertutup, erlenmeyer, pipet volum, beaker glaass, timbangan digital, gelas arloji, osse, lamiran, gelas ukur, spatula, bunsen, botol semprot, nampan, inkubator, autoklaf. Peralatan aerasi limbah yang digunakan adalah toples dan seperangkat aerator. Sedangkan untuk pengujian kadar histamin, antara lain: corong dan botol filtrat contoh, kertas saring kasar, plastik, karet pengikat; kolom resin 20 cm x 0,8 cm, reservoir 2cm x 5 cm; labu takar 25 ml, 50 ml, 100 ml, dan 1000 ml; pipet volumetric, sprektrofluorometer, stiler plate, tabung reaksi 5ml tertutup, timbangan analisis, waterbath.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksploratif. Metode eskploratif bertujuan untuk memperoleh pengetahuan tentang suatu gejala, sehingga

setelah melalui observasi, masalah serta hipotesisnya dapat dirumuskan. Dalam penelitian eksploratif pengetahuan tentang gejala yang hendak diteliti masih sangat terbatas dan merupakan langkah pertama bagi penelitian yang lebih mendalam (Singarimbun dan Effendi, 1989)

Amirin (2009) menyatakan bahwa penelitian eksploratif merupakan salah satu pendekatan dalam penelitian. Metode eksploratif berupaya menemukan informasi umum mengenai suatu topik/masalah yang belum dipahami sepenuhnya oleh seorang peneliti. Jadi, penelitian eksploratif merupakan salah satu pendekatan penelitian yang digunakan untuk meneliti sesuatu (yang menarik perhatian) yang belum diketahui, belum dipahami, belum dikenal, dengan baik.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel Limbah Cair

Limbah cair yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari limbah industri pemindangan ikan yang diperoleh dari Desa sendang biru, Kabupaten Malang, Provinsi Jawa Timur. Sampel langsung diambil dari bak penampungan limbah. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca steril ukuran 1 liter sebanyak 22 botol yang dilapisi dengan aluminium foil. Aluminium foil berfungsi untuk mencegah kontak langsung dengan cahaya matahari yang dapat menyebabkan oksidasi pada sampel. Sampel yang sudah dimasukkan ke dalam botol kaca kemudian dimasukkan ke dalam coolbox yang telah diisi es batu dan dibawa langsung ke laboratorium. Fungsi coolbox yaitu untuk menjaga suhu sampel agar konstan. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam lemari pendingin agar komponen sampel yang akan diuji tidak berubah.

3.4.2 Penelitian Tahap I (Pembiakan Bakteri)

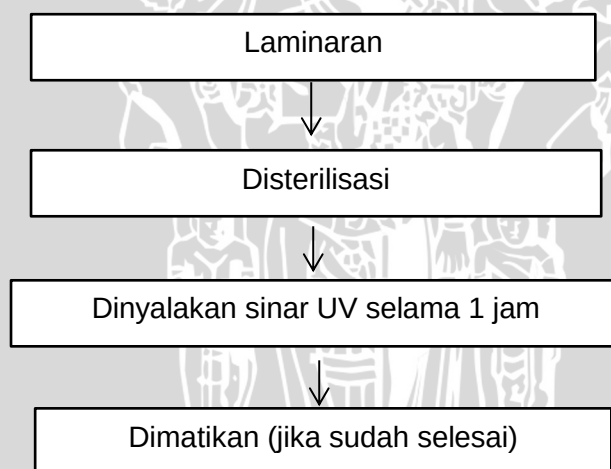
Sebelum melakukan penelitian terlebih dahulu dilakukan sterilisasi alat. Sterilisasi adalah suatu proses penguapan yang digunakan untuk beberapa produk dalam situasi dimana produk-produk tersebut terhindar dari infeksi (Dart, 2003). Karena stabilitas panas dari bakteri yang tidak bisa dihilangkan dengan cara direbus, sterilisasi menggunakan uap

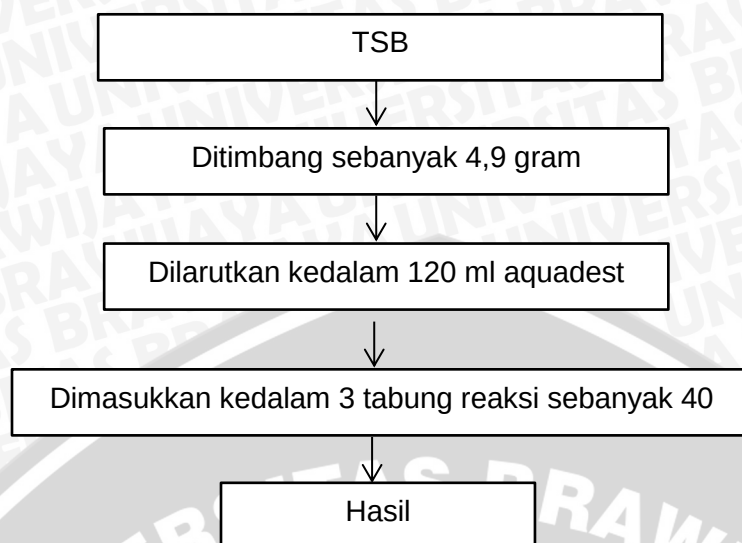
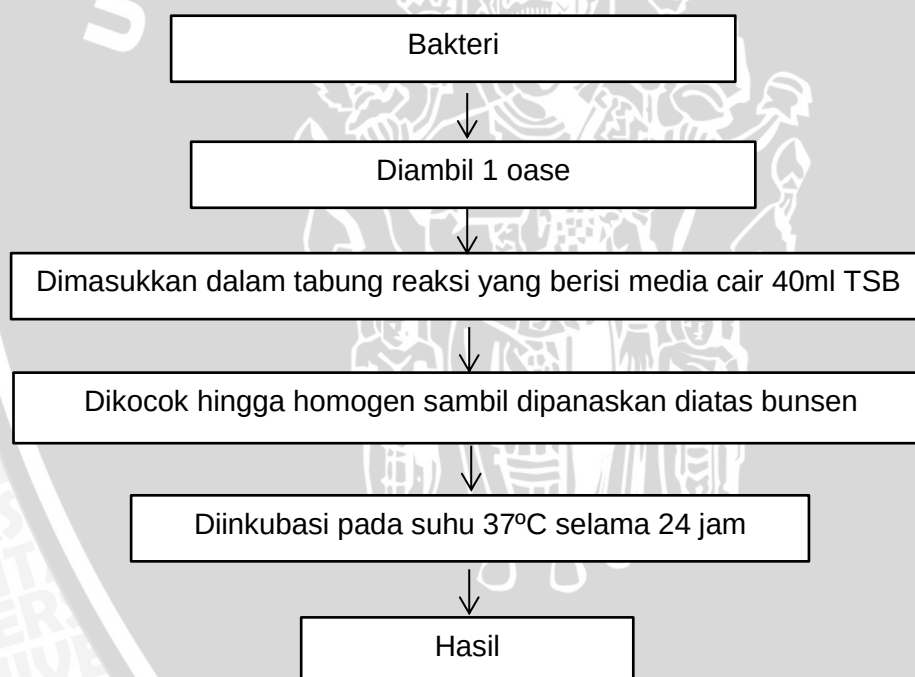
panas dilakukan pada suhu dan tekanan yang tinggi di dalam autoklaf. Mesin ini beroperasi pada suhu 121°C dan dapat membunuh mikroba (Nicklin.et.all,1999). Selain itu alat yang harus disterilkan yaitu laminaran vlow dengan cara menyemprot bagian dalamnya dengan cairan aseptis (alkohol 70%), kemudian lap semua bagiannya menggunakan serbet makan bersih agar aseptis, ditutup kaca laminaran dengan menekan tombol UV untuk menghidupkan sinar UV pada alat yang berfungsi sebagai pensteril laminaran selam 1 jam. Sambil menunggu laminaran selesai disterilkan, kemudian membuat larutan untuk memperkembang biakan bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* yaitu media TSB. Pertama yaitu menimbang media TSB sebanyak 3,6 gram menggunakan timbangan digital. Kemudian media TSB dimasukkan kedalam beaker glass 500ml dan diberi aquadest sebanyak 120ml, lalu diaduk dengan spatula sampai homogen. Kemudian didapatkan media cair, lalu dimasukkan kedalam 6 tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi sebanyak 40ml media cair. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit dengan tujuan menghilangkan kontaminan yang ada pada media. Setelah disterilisasi, media cair didiamkan sampai dingin agar botol tidak pecah ketika diberi perlakuan lebih lanjut.

Setelah 1 jam, sinar UV pada laminaran dimatikan lalu lampu laminaran dinyalakan untuk memudahkan penglihatan pada saat penanaman bakteri. Laminaran bagian dalam disemprot dengan alkohol agar aseptis. Kemudian tangan yang telah dipasang dengan sarung tangan disemprot juga agar tidak ada kontaminasi saat penanaman bakteri.kemudian bunsen dinyalakan dan diletakkan kedalam laminaran beserta isolat murni bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp*, campuran dari Bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* dan media cair yang diletakkan di rak tabung reaksi. Lalu ose pada bagian ujungnya disemprot dengan alkohol dan dipanaskan diatas bunsen sampai ose menyala. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari kontaminasi alat pada saat penanaman bakteri. Kemudian diambil sampel bakteri yang akan dibiakkan ,dibuka tutup tabung reaksi dipanaskan di atas bunsen untuk menjaga kondisi tetap aseptis. Ose disentuhkan di media isolat bakteri untuk mengurangi panas dari ose sehingga bakteri yang akan diambil tidak

mati. selanjutnya yaitu mengambil sebanyak 1 ose bakteri dengan cara menggores isolat dan dimasukkan kedalam media cair baru yang telah disiapkan (ose dimasukkan dipermukaan saja agar tidak terjadi kontaminasi, karena hanya bagian ujung ose yang disterilkan). Bakteri yang telah diinokulasi pada media baru, dipanaskan lagi diatas bunsen bagian permukaan tabung reaksi reaksinya yang segera ditutup. Ose dipanaskan diatas bunsen lagi bagian ujungnya agar kembali steril saat digunakan untuk membiakkan bakteri yang lain. Tabung reaksi dikocok-kocok agar bakteri dapat homogen dengan media, setelah itu diinkubator dalam suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah diinkubator, dilihat ada atau tidak endapan pada media, dimana adanya endapan berarti pembiakan telah berhasil dilakukan. Tabung reaksi diberi label nama bakteri agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan perlakuan fermentasi. Prosedur kerja sterilisasi alat, pembuatan media cair dan peremajaan bakteri dapat dilihat pada gambar 4,5,6.

Gambar 4. Prosedur Kerja Sterilisasi Alat



Gambar 5. Prosedur Kerja Pembuatan Media Cair**Gambar 6. Prosedur Kerja Peremajaan Bakteri**

3.4.3 Penelitian Tahap II (Pengenceran Bakteri)

Dalam melakukan pengenceran dan penanaman bakteri, keadaan lingkungan di sekitarnya harus aseptis agar mikroorganisme yang tumbuh nantinya benar-benar mikroorganisme yang berasal dari sampel yang diuji. Adapun cara pengkondisian aseptis adalah dengan menyalakan bunsen dan menyemprotkan alkohol. Agar tidak tertukar maka setiap tabung reaksi di beri tanda berupa label.

Laminaran yang akan digunakan sebagai tempat pembiakan bakteri disterrilkan dengan cara menyemprot bagian dalamnya dengan cairan aseptis (alkohol 70%), kemudian lap semua bagiannya menggunakan serbet makan bersih agar aseptis, ditutup kaca laminaran dengan menekan tombol untuk menghidupkan sinar UV pada alat yang berfungsi sebagai pensteril laminaran selama 1 jam. Langkah pertama yang dilakukan adalah dengan membuat larutan pengenceran yaitu dengan menimbang serbuk NaCl menggunakan timbangan digital sebanyak 4 gram. Kemudian NaCl dimasukkan kedalam beaker glass 500 ml dan diberi aquades sebanyak 432 ml, lalu diaduk hingga homogen menggunakan spatula. Media cair tersebut dimasukkan kedalam 48 tabung reaksi tertutup, masing-masing tabung reaksi berisi 9 ml. Tabung reaksi tertutup yang berisi media cair disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit dengan tujuan menghilangkan kontaminan yang ada pada media. Setelah disterilisasi, media cair didiamkan sampai dingin agar botol tidak akan pecah ketika diberi perlakuan lebih lanjut. Karena pengenceran dilakukan sampai 10^{-6} dari bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp*, campuran dari Bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* dan dilakukan secara duplo maka dibutuhkan 36 tabung.

Setelah 1 jam, sinar UV pada laminaran dimatikan lalu lampu laminaran dinyalakan untuk memudahkan penglihatan pada saat penanaman bakteri. Laminaran bagian dalam disemprot dengan alkohol agar aseptis. Kemudian tangan yang telah dipasang dengan sarung tangan disemprot juga agar tidak ada kontaminasi saat penanaman bakteri. Kemudian bunsen dinyalakan dan diletakkan kedalam laminaran beserta isolat murni bakteri yang sudah diremajakan yaitu: *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp*, campuran dari

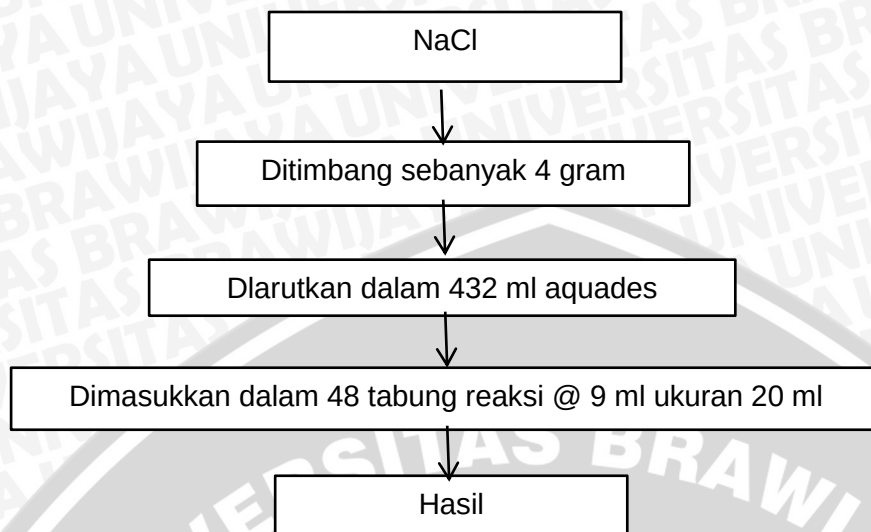
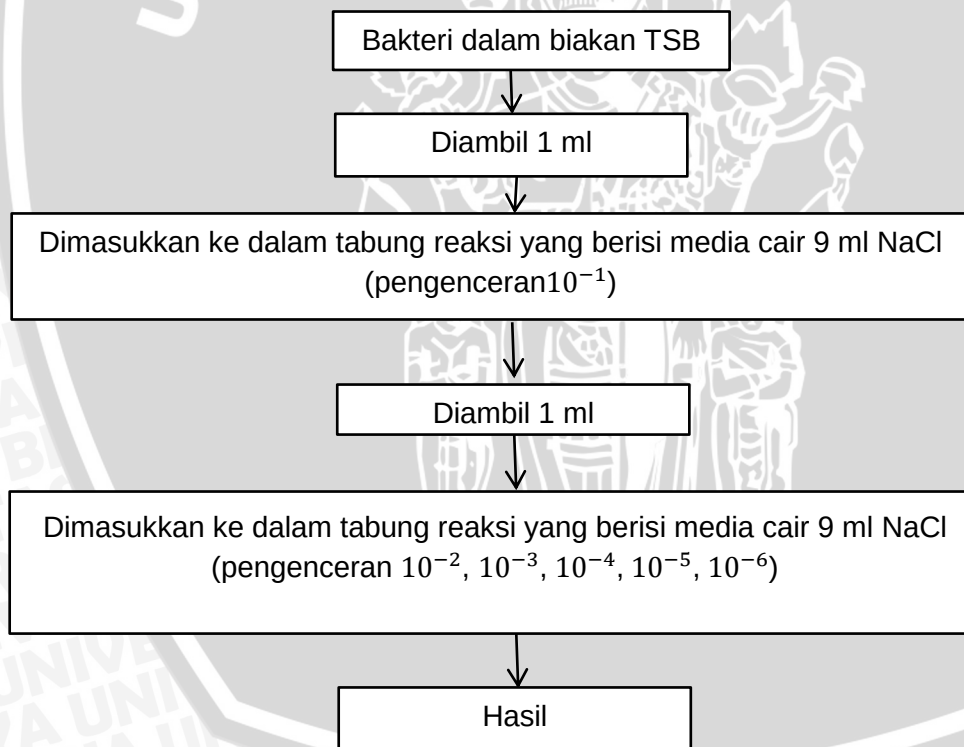
Bakteri *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* dan media cair pengenceran yang diletakkan di rak tabung reaksi. Pipet volum 1ml pada bagian ujungnya disemprot dengan cairan aseptis dan dipanaskan diatas bunsen. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari kontaminasi alat pada saat penanaman bakteri. Diambil sampel bakteri yang sudah diremajakan sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet volume, kemudian dibuka tutup tabung media cair pengenceran sambil dipanaskan diatas bunsen untuk menjaga kesterilan/kondisi tetap aseptis dan 1ml bakteri tersebut. Dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl sebagai larutan pengencer yang bersifat isotonis (pengenceran 10^{-6}) dan dihomogenkan tabung agar tercampur rata setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat yang bertujuan untuk mengurangi kepadatan mikroba. Adapun cara melakukan pengenceran bertingkat adalah dengan mengambil sebanyak 1 ml larutan pada tabung reaksi 10^{-1} menggunakan pipet volume yang sebelumnya telah disterilisasi di atas bunsen. Larutan yang diambil dari tabung tersebut lalu dimasukkan pada tabung reaksi 10^{-2} dan dihomogenkan. Pengenceran dilakukan sampai 10^{-6} dengan cara yang sama seperti pengenceran sebelumnya.

Tujuan dari pengenceran adalah untuk mengurangi kepadatan mikroba yang akan ditanam. Menurut Fardiaz (1993), bahan pangan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel mikroba pada per ml, per gram, atau per cm permukaan memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar didalam cawan petri sehingga setelah inkubasi akan terbentuk koloni dalam cawan petri, sehingga setelah inkubasi akan terbentuk koloni dalam jumlah yang dapat dihitung.

Proses pengenceran adalah mencapai larutan pekat (konsentrasi tinggi) dengan menambahkan pelarut agar diperoleh volume akhir yang lebih besar. (Brady, 1999).

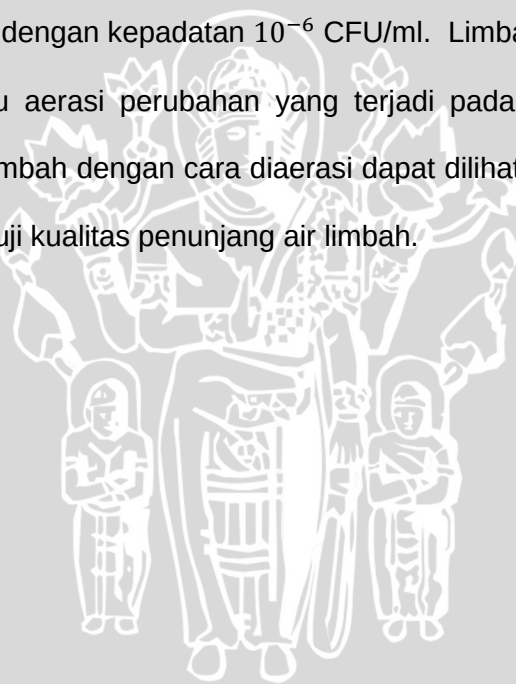
Menurut Dwijosaputro (1989) tujuan dari pengenceran adalah untuk mendapatkan satu koloni yang didapat kita jadikan piaraan murni.

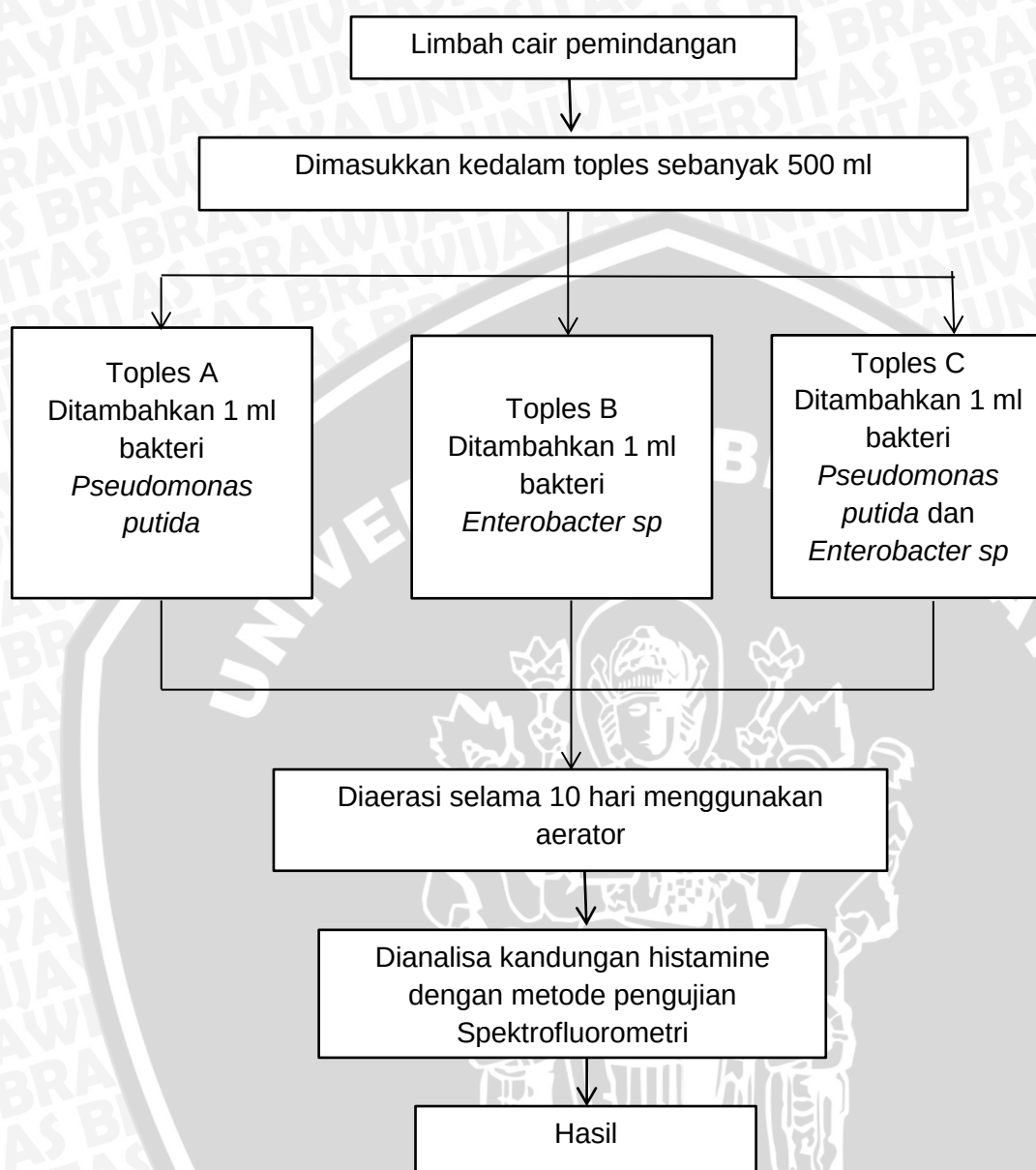
Proedur kerja pembuatan larutan pengenceran da pengenceran bakteri dapat dilihat pada gambar 7 dan 8.

Gambar 7. Prosedur Kerja Pembuatan Larutan Pengenceran**Gambar 8. Prosedur Kerja Pengenceran Bakteri**

3.4.4 Penelitian Tahap III (Aerasi Limbah)

Sampel limbah 500 ml untuk diuji kadar biogemik aminnya sebelum biaugmentasi dengan bakteri. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kadar biogenic amin terutama histamin sebelum perlakuan bakteri pada sampel dilakukan. Sisa sampel limbah dimasukkan ke dalam 3 toples dengan masing-masing toples diisi sebanyak 500 ml limbah. Masing-masing limbah kemudian diaerasi menggunakan aerator untuk pengkondisian oksigen di dalam toples agar bakteri dapat hidup. Kemudian dimasukkan 2 jenis bakteri ke dalam masing-masing toples yang berisi limbah. Toples A berisi bakteri *Pseudomonas putida* sebanyak 1 ml dengan kepadatan 10^{-6} CFU/ml. Toples B berisi bakteri *Enterobacter sp* sebanyak 1 ml dengan kepadatan 10^{-6} CFU/ml. Toples C berisi bakteri *Pseudomonas putida* dan bakteri *Enterobacter sp* sebanyak 1 ml dengan kepadatan 10^{-6} CFU/ml. Limbah kemudian diaerasi selama 10 hari. Selama waktu aerasi perubahan yang terjadi pada limbah diamati dan dicatat. Prosedur kerja aerasi limbah dengan cara diaerasi dapat dilihat pada gambar 9. Hal tersebut sama dilakukan untuk uji kualitas penunjang air limbah.



Gambar 9. Prosedur Kerja Aerasi Limbah

3.5 Pengujian *Biogenic Amine* (Histamin)

Sampel limbah yang telah difermentasi selama 10 hari diuji kadar biogenic aminnya secara kuantitatif menggunakan metode Spektrofluorometri. Analisa pengujian histamine secara kuantitatif ini menggunakan metode Spektrofluorometri sesuai SNI 2354.10 tahun 2009.

Prosedur Analisis:

- Timbang ± 250 ml sampel dalam beaker glass 250 ml dan tambahkan 50 ml methanol, blender hingga homogen.
- Panaskan di atas waterbath selama 15 menit pada suhu 60°C dijaga sampel dalam kondisi tertutup, dinginkan hingga suhu kamar.
- Tuangkan sampel ke dalam labu takar 100 ml dan tepatkan hingga volume labu dengan methanol
- Saring menggunakan kertas saring dan filtratnya ditampung dalam botol sampel. Dalam tahap ini *filtrate* sampel dapat disimpan dalam refrigerator.

Persiapan Resin:

- Timbang 3 gr resin untuk setiap kolom dalam beaker glass 250 ml
 - Tambahkan 15 ml NaOH 2 N/gr resin untuk mengubah resin menjadi bentuk OH
 - Aduk menggunakan *stirrer-plate* selama 30 menit
 - Tuang cairan pada bagian atas dan ulangi penambahan NaOH 2N dengan jumlah yang sama
 - Cuci/bilas resin dengan aquades sebanyak 3 kali
 - Saring melalui kertas No. 588 atau yang setara dan cuci kembali dengan aquades.
- Siapkan resin setiap minggu dan simpan dalam aquades

Persiapan Kolom Resin

- Masukkan *glasswool* ke dalam kolom resin setinggi $\pm 1,5$ cm
- Masukkan Resin dalam medium cair ke kolom resin setinggi ± 8 cm, pertahankan volume air yang berada di atas resin ± 1 cm dan jangan biarkan kering
- Letakkan labu takar 50 ml yang sudah berisi 5 ml HCl 1 N di bawah kolom Resin guna menampung elusi sampel yang dilewatkan pada kolom resin

Pemurnian Sampel

- Pipet 1 ml *filtrate* contoh, masukkan dalam kolom resin, kran kolom resin dalam posisi terbuka. Biarkan aliran menetes (hasil elusi) ditampung dalam labu takar 50 ml.
- Tambahkan aquades pada saat tinggi cairan ± 1 cm di atas resin dan biarkan cairan terelusi Lakukan seterusnya hingga hasil elusi dalam labu takar tepat 50 ml. Hasil elusi (contoh) dapat disimpan dalam refrigerator

Pembentukan Senyawa Turunan (Derivatisasi)

- Siapkan tabung reaksi 50 ml masing-masing untuk contoh, standard an blanko
- Pipet masing-masing 5 ml *fibrate* contoh, larutan standar kerja dan *blanko* (HCl 0,1 N)
- Tambahkan ke dalam tabung reaksi di atas berturut-turut:
 - o 10 l HCl 0,1 N, kocok
 - o 3 ml NOH 1 N, kocok, dalam waktu 5 menit harus sudah ditambah 1 ml OPT 0,1% kocok dan biarkan selama 4 menit
 - o 3 ml H₃PO₄ 3,57 N, kocok
- Lakukan pengukuran *fluorescence* terhadap sampel, standart blanko sesegera mungkin dengan alat *Spectrofluorometer* pada panjang gelombang exitasi 350 nm dan emisi 444 nm dalam jangka waktu 90 menit.

3.6 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian tahap ini adalah rancangan acak lengkap(RAL) sederhana yang disusun secara faktorial dengan tiga kali ulangan. Pemilihan rancangan tersebut berdasarkan pada materi penelitian dan faktor yang mempengaruhinya. RAL digunakan karena factor yang menjadi perlakuan dianggap homogen (sugandi dan sugiarto,1994). Menurut Hanafiah(1995) percobaan faktorial mempunyai beberapa keuntungan jika di bandingkan dengan percobaan tunggal yaitu:

1. Oleh karena percobaan faktorial seolah-olah merangkum beberapa percobaan faktor tunggal sekaligus, maka percobaan faktorial akan lebih efektif dan efisien waktu bahan, waktu, bahan, alat, tenaga kerja dan modal yang tersedia dalam mencapai semua sasaran percobaan-percobaan faktor tunggal sekaligus.
2. Adapun ulangan pada setiap perlakuan A atau B dan AB. Hal ini jelas akan meningkatkan derajat ketelitian pengamatan terhadap pengaruh –pengaruh faktor perlakuan dalam percobaan.
3. Jika pada percobaan faktor tunggal tidak akan diketahui bagaimana pengaruh faktor-faktor utama yang dikombinasikan, maka dalam percobaan faktorial akan diketahui pengaruh bersama (interaksi) terhadap data hasil percobaan.

Adapun denah rancangan percobaan dapat dilihat pada tabel 4.

Perlakuan	Ulangan		
Jenis Bakteri	1	2	3
A	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3

Tabel 4. Rancangan Percobaan Bentuk RAL Sederhana

Keterangan:

- A = Jenis bakteri pseudomonas
- B = Jenis bakteri enterobacter
- C = Campuran antara bakteri pseudomonas dan bakteri enterobacter

Model matematika yang digunakan pada penelitian tahap ini adalah sebagai

berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ijk} = hasil pengamatan perlakuan ke-1 dan ulanganke-....

μ = nilai rata- rata umum

α_i = pengaruh faktor perlakuan utama

β_j = pengaruh faktor perlakuan kedua

$(\alpha\beta)_{ij}$ = pengaruh interaksi perlakuan pertama dan kedua

ϵ_{ijk} = kesalahan percobaan

hasil dari analisa dilanjutkan dengan analisa sidik ragam (ANOVA). Bentuk analisa sidik ragam dapat di lihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Tabel Sidik Ragam Pada Rancangan Acak Lengkap (RAL) Sederhana

Sumber keragaman	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Ulangan						
Perlakuan						
Interaksi						
Galat						
Jumlah						

Jika hasil analisa sidik ragam menunjukkan hasil yang nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Uji BNT dapat dilakukan dengan rumus:

$$\text{BNT} = t_{\alpha/2} \times S_d$$



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil dari penelitian ini merupakan dasar untuk penelitian utama. Parameter uji yang dilakukan pada penelitian tahap ini adalah uji histamin dengan menggunakan metode spektrofotometri. Hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 6 :

Tabel 6. Kadar Histamin Dari Limbah Cair Pemindangan

No	Kode Sampel	Perlakuan
		10 Hari (mg/kg)
1	KONTROL 0	10,995
2	1A	3.025
3	1B	1.707
4	1C	4.373

Keterangan:

Kontrol 0 = limbah pemindangan 0 hari

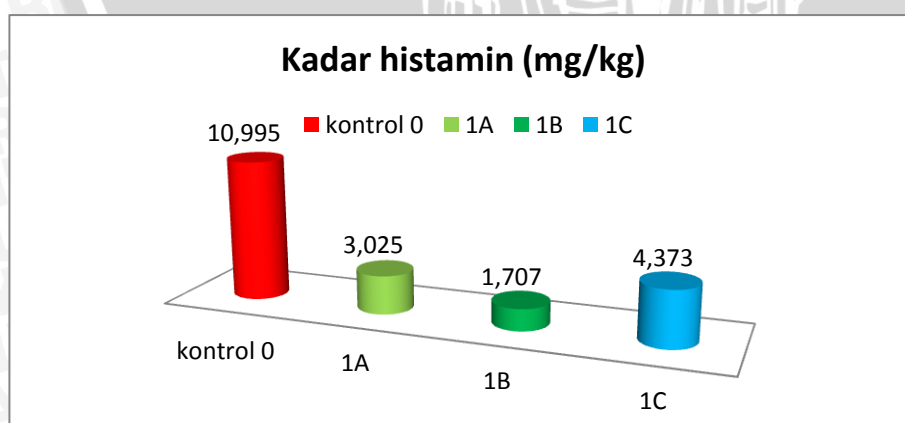
Bakteri 1A = *Pseudomonas putida*

Bakteri 1B = *Enterobacter sp*

Bakteri 1C = campuran antara *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp*

4.2 Pembahasan

4.2.1 Analisa Uji Parameter Utama (Histamin)



Gambar 10 . Grafik Hasil Kadar Histamin Dari Limbah Cair Pemindangan

Analisa uji histamin berdasarkan SNI 2009 yang dilaksanakan di Laboratorium Pengujian dan Pengawasan Mutu Hasil Perikanan Surabaya menggunakan metode spektrofotometri.

Berdasarkan gambar di atas, dapat dilihat bahwa limbah cair pemindangan asli dari tempat pemindangan mempunyai kadar histamin sebanyak 10,995 mg/kg. Setelah ditambah bakteri A berdasarkan lama waktu aerasi selama 10 hari sampel mengalami penurunan menjadi 3,025 mg/kg. Untuk penambahan bakteri B berdasarkan lama waktu aerasi 10 hari kadar histamin mengalami penurunan menjadi 1,707 mg/kg. Sedangkan campuran antara A dan B berdasarkan lama waktu aerasi 10 hari kadar histamin mengalami penurunan menjadi 4,373 mg / kg. Dari hasil anova penurunan kadar histamin pada limbah pemindangan tersebut secara statistik tidak berbeda nyata .

Biogenik amina histamin disintesis oleh dekarboksilasi dari asam amino histidin katalis oleh L-histidin dekarboksilase (HDC). Histamin dapat dimetabolisme oleh deaminasi oksidatif ekstraseluler dari gugus amino primer dengan diamina oksidase (DAO) atau metilasi intraseluler dari imidazole ring oleh histamin-N-methyltransferase (HNMT). Oleh karena itu, aktivitas enzim tidak cukup disebabkan oleh kekurangan enzim atau inhibisi dapat menyebabkan akumulasi histamin. Kedua enzim dapat dihambat oleh produk reaksi masing-masing di negatif feedbackloop . N-Methylhistamine adalah oksidatif deaminasi untuk N-metil-imidazole asetaldehida oleh monoamine oksidase B (MAO B) atau dengan DAO. Karena jalur metilasi terjadi di kompartemen sitosol sel, MAO B telah disarankan untuk mengkatalisis reaksi ini in vivo (Maintz dan Novak, 2007).

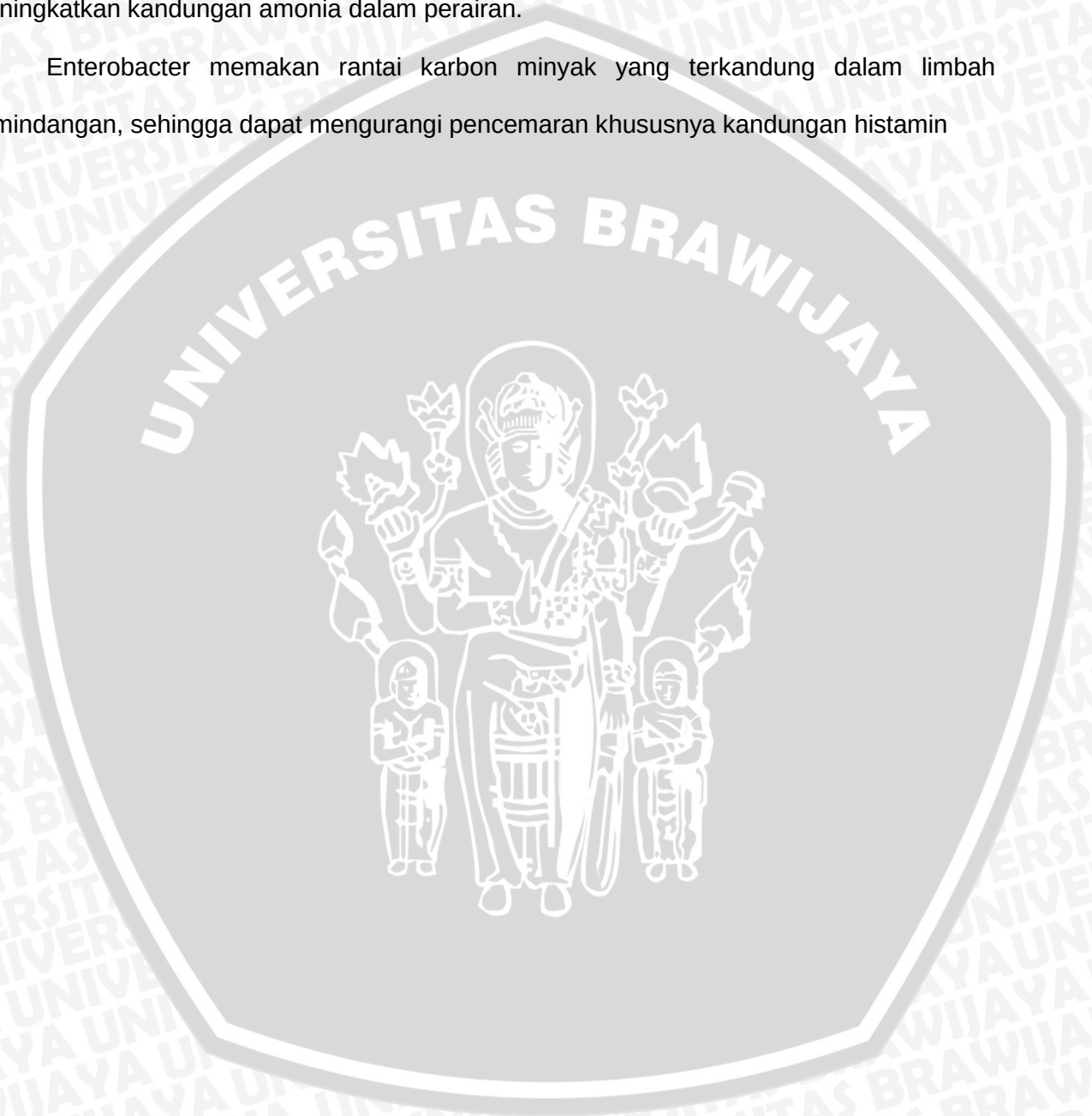
Menurut Bennour *et al.*, (1991), produksi histamin tidak selalu berkorelasi dengan besarnya jumlah bakteri penghasil histamin, tetapi lebih berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut mensintesis histidin dekarboksilase. Menurut Fletcher *et al.*, (1998), yang menyatakan bahwa tidak terdapat hubungan yang konsisten antara jumlah bakteri penghasil histamin dengan kadar histamin yang dihasilkan pada beberapa sampel ikan asap di pasar ikan Aucland.

Pseudomonas putida sangat penting bagi lingkungan terkait dengan metabolisme kompleksnya dan kemampuannya untuk mendegradasi hidrokarbon pada larutan organik. *P. putida* merupakan salah satu bakteri proteolitik yang mampu memproduksi enzim proteinase

ekstraseluler, yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel.

Bakteri *P. putida* merupakan mikroorganisme yang penting dalam proses amonifikasi, yaitu perombakan BO menjadi amonia, jadi keberadaan bakteri *P. putida* dapat meningkatkan kandungan amonia dalam perairan.

Enterobacter memakan rantai karbon minyak yang terkandung dalam limbah pemindangan, sehingga dapat mengurangi pencemaran khususnya kandungan histamin



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.

Berdasarkan penelitian mengenai bioaugmentasi limbah cair industri pemindangan menggunakan bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp*, campuran antara *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* diperoleh kesimpulan bahwa penambahan bakteri *Pseudomonas putida*, *Enterobacter sp*, dan campuran antara *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* tidak berbeda nyata terhadap penurunan kadar histamin. Kadar histamin yang diperoleh dari penelitian ini pada perlakuan limbah segar di dapatkan kadar histamin 10,995 mg/kg, pada perlakuan limbah dengan bakteri *Pseudomonas putida* didapatkan kadar histamin 3,025 mg/kg, pada perlakuan limbah dengan bakteri *Enterobacter sp* didapatkan kadar histamin 1,707 mg/kg, pada perlakuan campuran antara *Pseudomonas putida* dan *Enterobacter sp* didapatkan nilai kadar histamin 4,373 mg/kg.

5.2 Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan bakteri lain pada limbah pemindangan dalam upaya untuk mengurangi pencemaran lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

Aflal, M.A., Daoundi, H. Jdaini, S., Asehraou, dan Bouali, A. 2006. **Studi of The Histamine Production in a red Flesh Fish (Sardina Pilchardus) and a white Flesh Fish (Dicentrarchus Punctatus)**. J.of fish And Aquatic Science 6.

Afrianto dan Eliviawaty. 1991. **Pengawetan dan Pengolahan Ikan**. Gramedia. Jakarta.

Agustina, M., Basir, A., Seknun, N. 2008. **Program Kreativitas Mahasiswa Bidang Kewirausahaan. Bogor**: Departemen Teknologi Hasil Perairan, Institut Pertanian Bogor.

Allen, G. Green, D. P and Bolton, G.E. 2004. **Control of Histamine Production in Current Commercial Fishing Operation For Mahi-Mahi (Coryphaena hippurus) and Yellowfin Tuna (Thunnus albacares) in North Carolina**. Coressponding author: dave_green@ncsu.edu

Amirin T.M. 2009. **Penelitian Eksploratori (Efksploratif)**. www.tatangmanguny.wordpress.com. Diakses tanggal 25 september 2013.

Angga, D.I. 2010. **Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi**. <http://kampunghejo.blogspot.com>. Diakses pada tanggal 25 september 2013.

Badan POM. 2001. **Pedoman penatalaksanaan Keracunan Untuk Rumah Sakit. Sentra Informasi Keracunan**,. Jakarta

Bennour, M., marakchi, A.E., Bouchriti, N., Hamama, A. And Quadaa, M.E. 1991. **Chemical And Microbiological Assessment Of Mackerel (Scomber Scombrusti) Stored In Ice**. J Foot Prot. 54:789-792.

BPS (Badan Pusat Statistik). 2001. **Produksi Perikanan Laut yang dijual di Tempat Pelelangan Ikan**. Jakarta. Hal. 20

Brady, J. E. 1999. **Kimia Universitas Asas Dan Struktur**. Bina Dupa Aksara. Jakarta

Brinker, C., Maurice kerr and carl rayne. 2002. **Investigation of biogenic amines in fish and fish products**. Public health division. public health division. victoria

Budiman, Muhammad Sarif. 2004. **Teknik Pemindangan**. Dapertemen Pendidikan Nasional Jakarta.

Budyanto, M.A.K. 2003. **Mikrobiologi Terapan**. Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang (UMM Press). Malang.

Damandiri. 2013. **Ikan Tuna**. Diakses pada <http://www.damandiri.or.id/file/epirosptiipbbab2.pdf> pada tanggal 13 Januari 2014.

Danur, I.A.I. 1993. **Mempelajari Metode Reduksi Kadar Histamin dalam Pembuatan Pindang Tongkol**. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. http://iirc.ac.id/jspui/Betstream/123456789/30981/2/F93IAI_Abstact.pdf. Diakses pada tanggal 2 September 2013.

Dart, R.K. 2003. **Microbiology For The Analytical Chemist**. Loughborough University.

Dionex. 2007. **Determination of Biogenic Amines in Fruit, Vegetables, and Chocolate Using Ion Chromatography with Suppressed Conductivity and Integrated Pulsed Amperometric Detections.** Artikel. [terhubung berkala]. www.dionex.com/en-us/webdocs/57923/AU162_07May07_LPN1939.pdf. [3 Nov 2010].

Dwijoseputro. 2008. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Djambatan. Malang.

Dorland, W. E. Dan Rogers, J. A. 1997. **The Fragrance and Flavour Industry.** Wayne E. Dorland Co., New York.

Elvira Syamsir. 2013. **Artikel.** dimuat dalam Kulinologi Indonesia.

Fardiaz, S. 1993. **Analisa Mikrobiologi Pangan.** PT. Raja Gofindo Persada. Jakarta

Farmer, J. I. 2003. **Enterobacteriaceae: Introduction And Identification.**, p. 636–653. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed., vol. 1. Washington, D.C.

Fletcher, G.C., Summers, G. and van Veghel, P.W.C. 1998. **Level Of Histamine And Histamine Producing-Bacteria In Smoked Fish From New Zealand Markets.** J. Food Prot. 61 (8): 1064- 1070.

Fletcher, G.C., Summers, G., Winchester, R.V., And Wong, R.J. 1995. **Histamine And Histidine In New Zealand Marine Fish And Shellfish Species, Particular Kawawai (*Arripis Trutta*).** J. Aquat. Food Prod. Technol. 4: 533-574.

Fellers, C.R. 1965. **Food Preservation, Handbook of food and Agriculture.** Fred C. Blank (ed.) London: Chapman Hall Ltd

Frank, H.A., Yoshinga, D.H., and Nip, W.K., 1981 **Histamine Formation And Honeycombing During Decomposition Of Skipjack Tuna, *Katsuwonus Pelamis*, At Elevated Temperature.** Mar. Fish. Rev. 43: 9-14.

Hognadottir A. 1999. **Flavour perception and volatile compounds in fish [Tesis].** Departemen of Food Science .

Heruwati, Endang Sri.dkk. 2004. **Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Volume 10 Nomor 3**

Ibrahim, B, Erungan A.C, dan Harianto. **Nilai Parameter Biokinetika Proses Denitrifikasi Limbah Cair Industri Perikanan Pada Rasio COD/TKN yang Berbeda.** Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia VolXII Nomer 1 Tahun 2009. Jakarta.

Ibrahim, B. 2004. **Kaji Ulang Sistem Pengolahan Limbah Cair Industri Hasil Perikanan Secara Biologis Dengan Lumpur Aktif.** Jurnal Buletin Teknologi Hasil Perikanan Vol VII Nomer 2005. Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Irianto, K. 2007. **Mikrobiologi: Mengungkap Dunia Mikroorganisme Jilid 1.** Penerbit CV Yrama Widya. Bandung.

Indriati et al. 2006. **Studi Bakteri Pembentuk Histamin Pada Ikan Kembung Peda Selama Proses Pengolahan.** Vol. 1 No. 2

Jenie, B.S.L dan Rahayu; W.P.R. 1993. **Penanganan Limbah Industri Pangan**. Penerbit Kanisius.Yogyakarta.

Kerr, M. Lawicki, P. Aguirre, S. And Rayner, C. 2002. **Effect of Storage Condition on Histamine Formation in Fresh and Tuna**. State chemistry Laboratory, Victorian Government Departement of Human service. www.foodsafety.vic.gov.au.

Maghfiroh. 2000. **Pengelolaan Limbah Usaha Kecil dan Pemanfaatan Limbah**. Diakses pada [http:// www. menlh.go.id/usahakecil/](http://www.menlh.go.id/usahakecil/) tanggal 13 Januari 2014.

Maintz, Laura dan Natalija Novak. 2007. **Histamine and Histamine Intolerance**. The American Journal of Clinical Nutrition. USA

Margono. 1993. **Ikan Bandeng Bawean**. <http://www.ristek.go.id>. Diakses tanggal 18 September 2013.

Martinez-Mir MI, Pollard H, Moreau J, Arrang JM, Ruat M, Traiffort E et al. (1990). **Three Histamine Receptors (H1, H2 And H3) Visualized In The Brain Of Human And Non-Human Primates**. Brain Res 526: 322–327.

Moelyanto, 1992. **Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan**, Penerbit Swadaya. Jakarta.

Munoz, Dr. Rosario. 2008. **Bacterial Biogenic Amine Production**. Spanish Research Council (CSIC) – Instituto de Fermentaciones Industriales. <http://www.scitopics.com>. Diakses tanggal 17 Oktober 2013.

Morita K, Kubota K, Aishima T. 2001. **Sensory Characteristics And Volatile Components In Aromas Of Boiled Prawns Prepared According To Experimental Designs**. *Journal of food science* Vol 34 pages 473-481

Murniati D. 2007. **Pemanfaatan Kitosan Sebagai Koagulan Untuk Memperoleh Kembali Protein Yang Dihasilkan Dari Limbah Cair Industry Pemindangan Ikan**. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara.

Nicklin, Y.K. Gloema, C and T. Fogel. 1999. **Microbiology**. Blog Scientit Publisher.

Novyarti. 2007. **Kalibrasi Alat Spektrofluorometer Luminesen Is-5b Menggunakan Bahan Standar Ovalen**. Pusat Teknologi Bhana Bakar Nuklir, BATAN. Tangerang.

Olson, K. R., **Poisoning And Drug Overdose 5th Edition**, Mc. Graw-Hill Inc., 2007, p. 204-206

Parlina, I. 2009. **Bioaugmentasi**. <http://iinparlina.wordpress.com/2009/07/21/bioaugmentasi>. Diakses pada tanggal 20 Oktober 2013.

Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S. 2009. **Dasar-Dasar Mikrobiologi 2**. Penerjemah Hadioetomo R.S, Imas T, Tjotroso S.S, Angka S.L. Penerbit Universitas Indonesia (UI Press). Jakarta.

Rahayu, S. 2009. **Limbah Cair**. <http://www.chem-is-try-org> | Situs Kimia Indonesia_. Diakses tanggal 19 Oktober 2013.

Rodríguez-Jerez, J.J., López-Sabater, E.I., Hernández-Herrero, M.M., and Mora-Ventura, M.T. 1994. **Histamine, Putrescine And Cadaverine Formation In Spanish Semipreserved Anchovies As Affected By Time/Temperature.** J. Food Sci. 59: 993-997.

Ronquillo, U. 2009. **Penanganan Limbah Hasil Perikanan Secara Biologis.** <http://www.wordpress.com>. Diakses tanggal 19 Oktober 2013.

Suwetja. 2011. **Biokimia Hasil Perikanan.** Jakarta : Media Prima Aksara hal : 170-173

Suliantari *et al.* 1994. **Mempelajari Metode Reduksi Kadar Histamin Dalam Pembuatan Ikan Pindang Tongkol (*Euthynus Affinis*) (Study On The Methods Of Reduction Of Histamine Content In Salted Fish (*Euthynus Affinis*) Processing.** Vol. v No. 3. Hal 44, 48

Sanders, J.E. 1996. **Development of Biogenic Amine During Fermentation of Poultry Carcasses.** Department of Avian Medicine, College of Veterinary Medicine. The University of Georgia, Athens, GA 30602-4875

Santi, D.N. 2004. **Pengelolaan Limbah Cair Pada Industri Penyamakan Kulit Industri Pulp dan Industri Kelapa Sawit.** Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatra Utara. Sumatra Utara

Sariawiria, U. 2003. **Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengelolaan Buangan Secara Biologis.** PT. Alumni. Bandung.

Sasongko, L.A. 2006. **Kontribusi Air Limbah Penduduk di Sekitar Sungai Tuk Terhadap Kualitas Air Sungai Kali Garang Serta Upaya Penanganannya.** Tesis Program Magister Ilmu Lingkungan, Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro. Semarang.

Sentra Bisnis UKM. 2010. **Teknologi Pengawetan Ikan Dengan Cara Pemindangan.** <http://bisnisukm.com/teknologi-pengawetan-ikan-dengan-cara-pemindangan.html>. Diakses pada tanggal 19 Oktober 2013.

Singarimbun, M. Dan Effendi, S. 1989. **Metode Penelitian Survei Edisi Revisi.** LP3S. Jakarta.

Skinner, F.A and Lovelock, D.W. 1979. **Identification Method for Microbiologies.** Academic Press. New York.

Spektroskopi. 2007. **Modul Kuliah.** Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.

Sugiharto. 1987. **Dasar-Dasar Pengelolaan Air Limbah.** Penerbit UI Press. Jakarta.

vičová J, Kohajdová Z. 2003. **Biogenic Amines in Food. Review Article.** <http://www.chemicalpapers.com/papers/591a70.pdf>. [3 Nov 2010].

Wie, C.I, 1990. **Bacterial Growth And Histamin Production On Vacuum Packaged Tuna.** J. Food Sci. 55: 59-63.

Waluyo, L. 2009. **Mikrobiologi Lingkungan.** Penerbit Universitas Muhamadiyah Malang (UMM Press). Malang

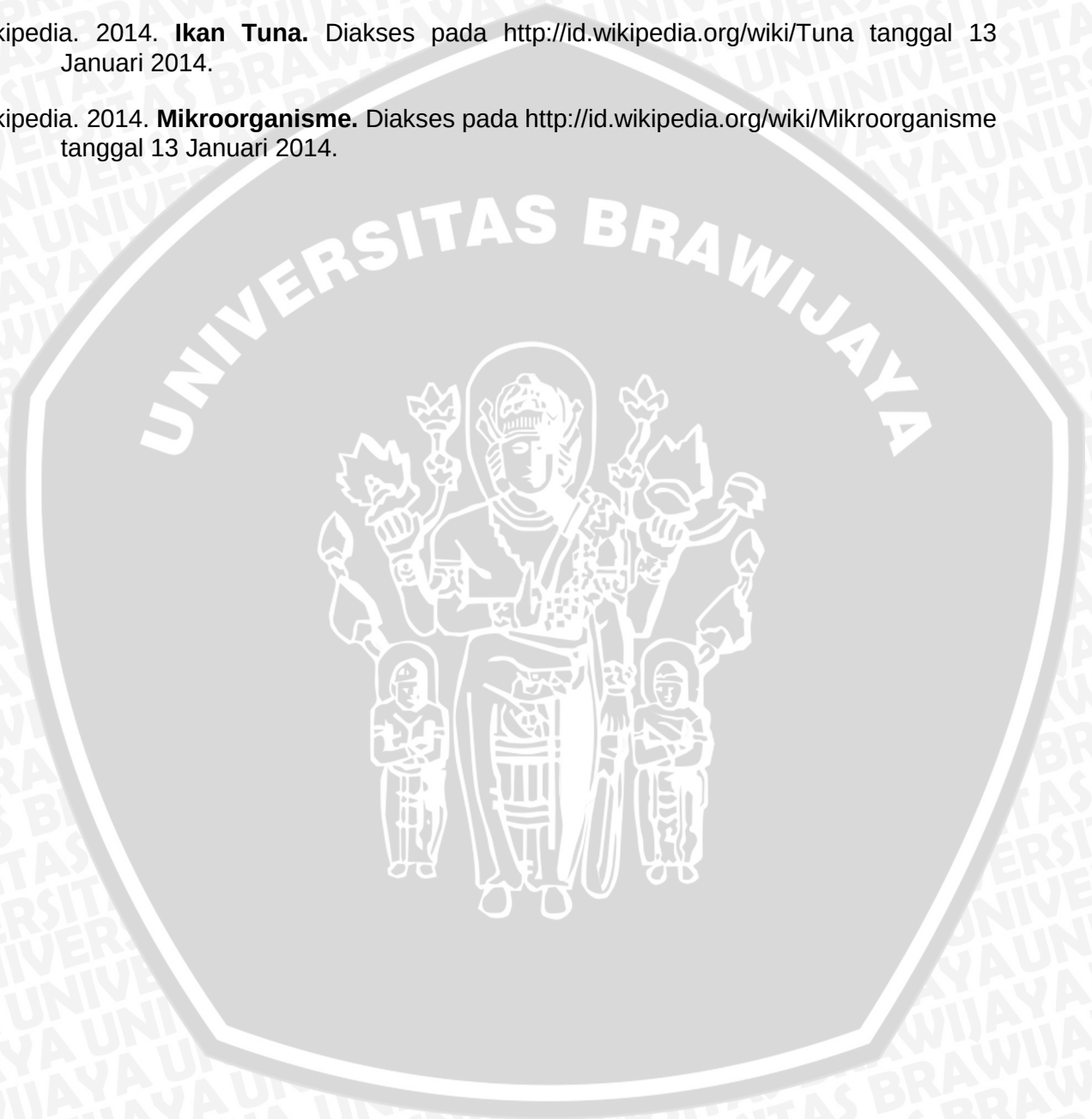
Wanenoer. 2010. **Penentuan Kadar Vitamin E Metode Fluorometri**. <http://id.shvoong.com> diakses pada tanggal 22 Januari 2014

Widodo, Wahyu Eko. 2010. **Spektrofluorometri Untuk Mengukur Kadar Kinin Sulfat**. <http://wordpress.com>. Dikases pada tanggal 2 Januari 2014

Wikipedia. 2014. **Rumus Histamin**. Diakses pada [histidin.http://id.wikipedia.org/wiki/Histidina](http://id.wikipedia.org/wiki/Histidina) tanggal 14 februari 2014

Wikipedia. 2014. **Ikan Tuna**. Diakses pada <http://id.wikipedia.org/wiki/Tuna> tanggal 13 Januari 2014.

Wikipedia. 2014. **Mikroorganisme**. Diakses pada <http://id.wikipedia.org/wiki/Mikroorganisme> tanggal 13 Januari 2014.



Lampiran 1. Foto Penelitian

❖ Sampel Limbah Cair



Limbah cair pemandangan yang ada di UD. Mina Jaya



Limbah cair pemandangan yang telah dimasukkan dalam botol dan diletakkan pada coolbox berisi es batu

❖ Pembuatan Media TSB



A



B



C



D

Keterangan :

A : penimbangan media

B : Dilarutkan dalam aquades

C : Dimasukkan dalam tabung reaksi

D : Di inkubasi dengan autoklaf

❖ **Peremajaan bakteri**



❖ **Pengenceran bakteri**



❖ Aerasi limbah



Keterangan :

A = *Enterobacter* sp

B = *Pseudomonas putida*



A



B



C

Keterangan :

A = Penambahan bakteri *pseudomonas* pada limbah pemindangan

B = penambahan bakteri *enterobacter* sp pada limbah pemindangan

C = Penambahan bakteri *pseudomonas* dan *enterobacter* pada limbah pemindangan

❖ Pengamatan selama aerasi

- Hari ke- 0



- Hari ke-1



- Hari ke-2



- Hari ke-3



- Hari ke-4



- Hari ke-5



- Hari ke-6



- Hari ke-7



- Hari ke-8



- Hari ke-9



- Hari ke-10



Lampiran 2 . Kadar Histamin Dari Limbah Cair Pemindangan

Perlakuan	Ulangan			jumlah	Rata-rata
	U1	U2	U3		
Bakteri 1%					
1A	1.34	2.525	5.21	9.075	3.025
1B	1.845	2.405	0.87	5.12	1.707
1C	1.62	2.165	9.335	13.12	4.373
jumlah	4.805	7.095	15.415	27.315	
Rata-rata	1.602	2.365	5.138		

Tabel ANOVA

Source	df	Sum of Square	Mean Square	F hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
ulangan	2	10.667	5.334	1.051	5.786	13.274
Perlakuan	2	20.782	10.391	2.048	5.786	13.274
Galat	5	25.364	5.073			
Total	9	56.813				

Hasil tabel ANOVA menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata yang signifikan antar perlakuan 1A, 1B, dan 1C dengan f hitung kurang dari f tabel.

Beda Nyata Terkecil

$$LSD = t_{tabel} \sqrt{\frac{2KTG}{r}} = 2.570 \times \sqrt{\frac{2 \times 5.073}{3}} = 4.727$$

Hasil Uji BNT 5%

Perlakuan	Rataan	1B	1A	1C	notasi
1B	1.707	0.000			a
1A	3.025	1.318	0.000		a
1C	4.373	2.667	1.348	0.000	a

Lampiran 3. Hasil Pengujian Kadar Histamin

UNIT PELAKSANA TEKNIS LABORATORIUM PENGENDALIAN DAN PENGUJIAN MUTU HASIL PERIKANAN DI JAWA TIMUR INDONESIA	PROVINCIAL LABORATORY FOR FISH INSPECTION AND QUALITY CONTROL IN EAST JAVA INDONESIA		
KETERANGAN HASIL ANALISA CERTIFICATE OF ANALYSIS			
0046			
No. : 523.3 / 0046 / 116.06 / 2014			
Menerangkan bahwa _____ : LIMBAH PEMINDANGAN TUNA This is to certify that _____ : (UD. MINA JAYA SENDANG BIRU KAB. MALANG)			
1. Nama barang Commodity	:		
2. Jumlah dan type kemasan Number and type packaging	:		
3. Kode produksi Code of batch	:		
4. Pemilik Owner	:		
5. No. Bukti penerimaan contoh Number of sample received	:		
6. Tanggal pemeriksaan Date of examination	:		
7. Hasil pemeriksaan Result of examination	:		
ORIGINAL			
No.	Code	Jenis Analisa	
		Histamin	Histamin
1	KDa (Kontrol 0 hari)	13.45	13 B2a (Enterobacter ul.2)
2	KDb (Kontrol 0 hari)	6.54	14 B2b (Enterobacter ul.2)
3	K10a (Kontrol 10 hari)	2.32	15 B3a (Enterobacter ul.3)
4	K10b (Kontrol 10 hari)	1.37	16 B3b (Enterobacter ul.3)
5	A1a (Pseudomonas ul.1)	2.16	17 C1a (Pseudomonas +Enterobacter ul.1)
6	A1b (Pseudomonas ul.1)	0.52	18 C1b (Pseudomonas +Enterobacter ul.1)
7	A2a (Pseudomonas ul.2)	1.65	19 C2a (Pseudomonas +Enterobacter ul.2)
8	A2b (Pseudomonas ul.2)	3.42	20 C2b (Pseudomonas +Enterobacter ul.2)
9	A3a (Pseudomonas ul.3)	4.62	21 C3a (Pseudomonas +Enterobacter ul.3)
10	A3b (Pseudomonas ul.3)	5.80	22 C3b (Pseudomonas +Enterobacter ul.3)
11	B1a (Enterobacter ul.1)	2.58	
12	B1b (Enterobacter ul.1)	1.21	
		Metode Uji	Satuan
		Histamin	mg/kg
		SN-01-2000.1991	Standar Mutu
			LoD 7.22 MRL 100
The Analysis Report only valid for the above sample Hasil pengujian hanya berlaku untuk contoh diatas		Surabaya, JANUARY 15, 2014 Kepala laboratorium Head of laboratory	