1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemajuan tekhnologi yang sangat pesat berdampak pada laju perkembangan pembangunan di setiap wilayah. Pembangun pada setiap wilayah tergantung pada potensi daerah, biasanya sering berkaitan dengan pembangunan industri, karena pendirian industri dengan tekhnologi yang lebih maju merupakan solusi dalam menjawab kebutuhan masyarakat yang semakin pesat dan bervariatif.

Industri gula PT.Tlogo Kelang merupakan salah satu industri gula yang berlokasi di Kabupaten Malang. Industri gula PT.Tlogo Kelang merupakan industri gula yang terletak cukup jauh dari pemukiman warga, namun sangat dekat dengan lahan pertanian, baik tebu, padi, dan lahan perkebunan dengan berbagai macam jenis tumbuhan. PT.Tlogo Kelang bukanlah industri besar jika dibandingkan dengan industri gula lainnya yang berlokasi di Malang, dengan kapasitas produksi hanya 1600 Ton dalam sekali produksi (PT.Tlogo Kelang, 2014).

Hasil samping produksi yang berupa limbah, khususnya limbah cair hasil pencucian alat, sisa tumpahan tebu pada saat digiling dan sebagainya, diolah terlebih dahulu pada bak penampungan yang telah diberi kincir air sebagai daya aerasi limbah sebelum dialirkan ke sungai (Handayani, 2012). Hal ini sangat baik untuk mengurangi kadar bahan organik serta padatan terlarut yang terkandung di dalam limbah serta menurunkan suhu air limbah yang cenderung tinggi. Namun penanganan limbah dengan menggunakan aerasi saja tidak memberi efek yang begitu baik bagi limbah, karena ketika limbah dialirkan ke sungai dalam keadaan tanpa aerasi, warna dan bau limbah masih tetap ada. Hal tersebut dapat

mengganggu kualitas badan air yang penerima limbah, dalam hal ini adalah sungai terdekat (Handayani, 2012).

Air limbah industri berasal dari seluruh rangkaian proses produksi suatu industri sehingga air limbah akan mengandung komponen-komponen organik bahan baku produksi, jika air limbah dibuang tanpa melalui proses pengolahan limbah yang benar, maka akan mengakibatkan terganggunya proses kehidupan bagi organisme pada badan air penerima limbah. Dampak pencemaran air limbah industri gula terhadap mutu badan air penerima bervariasi tergantung kepada sifat dan jenis limbah, volume, dan frekuensi air limbah yang dibuang oleh masing-masing industri gula (Moertinah, 2010).

Berdasar pada pengertian dalam PP No.82 tahun 2001, air limbah merupakan sisa dari suatu hasil usaha atau kegiatan yang berwujud cair. Air limbah yang dihasilkan, dikhawatirkan akan membawa pengaruh bagi keseimbangan lingkungan, oleh karena itu perlu untuk mengetahui baku mutu air limbah sebagai acuan dalam menghasilkan dan mengolah air limbah. Baku mutu air limbah perlu diperhatikan, dalam PP No.82 tahun 2001, menjelaskan bahwa baku mutu air limbah merupakan ukuran batas terhadap kadar atau jumlah unsur pencemar yang diatur keberadaannya dalam air limbah yang akan dibuang atau dialirkan ke dalam sumber air suatu kegiatan atau usaha.

Air limbah dengan kandungan bahan pencemar melebihi baku mutu air limbah yang dianjurkan jika dilepas ke lingkungan akan menjadi pengganggu bagi ekosistem. Namun tidak hanya mengganggu, limbah juga dapat menjadi media yang baik dalam mendukung pertumbuhan mikroorganisme, seperti pertumbuhan bakteri yang sesuai dengan karakteristik limbah sebagai media hidupnya.

Hal tersebut sesuai dengan pernyataan (Karigar dan Rao, 2011) salah satu kemampuan organisme yang sangat baik dalam beradaptasi dimiliki oleh

mikroorganisme. Mikroorganisme sangat sensitif terhadap perubahan lingkungan, dan aktivitas mikroorganisme berdasar pada penyesuaian terhadap bagaimana mereka mampu bertahan hidup. Jika terjadi perubahan kondisi lingkungan terhadap mikroorganisme, reaksi tersebut sering menyebabkan terjadinya perubahan terhadap ekspresi gen terhadap mikroorganisme, sehingga dapat meningkatkan kemampuan mikroorganisme dalam bertahan hidup. Proses tersebut dapat memungkinkan terbentuknya bakteri patogen (Gospodarek *et al.* 2009).

Pertumbuhan dan aktifitas bakteri patogen merupakan hal yang sangat perlu diperhitungkan, dengan menempati bagian permukaan yang memungkinkan mikroorganisme melakukan attachment. Dari beberapa penelitian menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri secara bertahap meningkat dan dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan sekitar media. Dengan memanfaatkan nutrisi seperti zat warna polysakarida, ruthenium red, dan osmium tetroxide (Kokare *et al.* 2008)

Penanganan limbah industri sangat perlu dilakukan agar tidak terjadi kerusakan lingkungan akibat pembuangan sisa hasil produksi yang berupa limbah. Salah satu alternatif pengolahan limbah yang sangat diminati saat ini adalah dengan menggunakan jasa mikroorganisme atau yang dikenal dengan bioremidiasi.

Bioremidiasi merupakan tekhnologi ramah lingkungan yang disebabkan oleh penggunaan mikroorganisme dalam bioremidiasi, yang bertujuan untuk mengurangi polutan di lingkungan. Dalam prosesnya, enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme akan memodifikasi senyawa-senyawa beracun melalui pengubahan struktur kimia dari polutan yang biasa disebut dengan biotransformasi. Biotransformasi adalah tahap sebelum menjadi biodegradasi, ketika senyawa organik beracun terdegradasi, maka strukturnya akan menjadi

lebih sederhana, dan pada akhirnya akan menjadi metabolit yang tidak berbahay dan tidak mengandung bahan beracun (Wikipedia, 2014).

Penggunaan jasa mikroorganisme, dapat mengurai limbah organik menjadi senyawa organik sederhana, dengan mengkonversikan senyawa organik menjadi bentuk gas karbondioksida (CO2), metana (CH4), Hidrogen (H2), dan hidrogen sulfida (H2S), serta air (H2O) maupun energi yang diperuntukkan bagi proses pertumbuhan dan produksinya. Limbah organik meliputi limbah yang mengandung minyak dan lemak, karbohidrat, protein, hidrokarbon, dan fenol. Limbah organik pada umumnya berupa limbah yang mudah busuk atau terdegradasi oleh mikroorganisme (Retnosari dan Shovitri, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

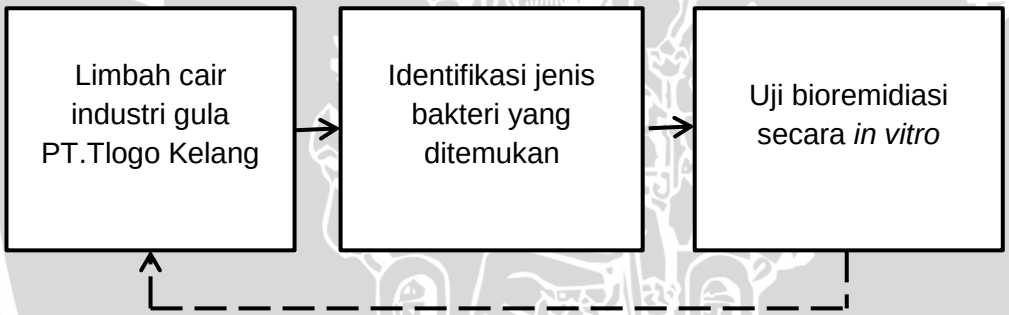
Penanganan limbah industri sangat perlu dilakukan, sehingga kerusakan lingkungan akibat pembuangan sisa hasil produksi berupa limbah buangan, dapat ditekan sekecil mungkin.

PT. Tlogo Kelang merupakan salah satu industri gula yang berlokasi di Kabupaten Malang. Penanganan limbah cair PT.Tlogo Kelang masih sangat sederhana yaitu hanya dengan pemberian aerator pada bak penampungan air limbah. Hal ini tidak banyak membantu ketika air limbah dialirkan ke badan air penerima limbah, kondisi limbah akan tetap mengalami perubahan baik terhadap warna, bau, yang tentunya dipengaruhi oleh aktifitas mikroorganisme yang terkandung di dalamnya.

Menanggapi permasalahan tersebut, pengolahan air limbah secara spesifik perlu dilakukan. Salah satu alternatif cara pengolahan air limbah adalah dengan menggunakan jasa mikroorganisme. Pada dasarnya air limbah buangan industri akan digunakan sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme.

Pengolahan air limbah menggunakan jasa mikroorganisme yang sesuai dengan kondisi limbah sangat dianjurkan. Dengan beberapa alasan yaitu selain mudah dilakukan juga ramah lingkungan, sehingga hasil akhir pembuangan limbah industri tidak akan menimbulkan masalah yang serius, khususnya bagi kualitas badan air penerima limbah. Identifikasi jenis bakteri dominan yang ditemukan pada lilmbah melalui hasil identifikasi bakteri, akan digunakan sebagai agen bioremidiasi pada limbah cair industri gula. Bakteri dominan yang ditemukan, diduga berperan besar dalam melakukan aktifitas remidiasi.

Untuk lebih jelas permasalahan yang akan dibahas dapat dirangkum dalam bentuk bagan sebagai berikut :



Gambar 1. Diagram Alir Rumusan Masalah

1.3 Tujuan

Tujuan dari dilaksanakannya penelitian ini adalah :

1. Untuk mengidentifikasi bakteri yang dominan tumbuh pada limbah cair industri gula PT.Tlogo Kelang Kabupaten Malang.
2. Untuk melakukan uji *in vitro* terhadap bakteri dominan yang ditemukan sebagai bakteri remidiasi pada limbah cair industri gula PT.Tlogo Kelang Kabupaten Malang

1.4 Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini adalah :

1. Meningkatkan pengetahuan terkait dengan keberadaan mikroorganisme yang hidup pada limbah cair industri gula PT.Tlogo Kelang, beserta faktor penyebab dan fungsinya sebagai bioremidiasi sehingga dapat dikaitkan dengan aplikasi Manajemen Sumberdaya Perairan.
2. Bioremidiasi dapat diaplikasikan melalui prinsip 3R (Reuse, Reduce, dan Recycling) dalam menangani kebutuhan air masa depan.
3. Sebagai acuan bagi perusahaan terkait khusunya PT.Gula Tlogo Kelang dalam melakukan pengolahan air limbah selanjutnya.

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari 2015. Pengambilan sampel dilakukan di PT.Tlogo Kelang, Kabupaten Malang, Jawa Timur sedangkan uji kualitas air dilaksanakan di Laboratorium Biotekhnologi dan Penelitian, serta persiapan penanaman bakteri dilakukan di Laboratotium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan identifikasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

II. TINJAUAN PUSTAKA

3.1 Industri Gula

Keberadaan suatu industri merupakan indikator kemajuan dari suatu daerah. Suatu daerah dianggap mampu mengelola hasil buminya dengan adanya industri yang berdiri pada daerah tersebut. Pembangunan industri ditujukan untuk memberi kemudahan dalam pemenuhan kebutuhan masayarakat dalam bentuk yang beranekaragam, sehingga kebutuhan masyarakat sekitar terpenuhi dan kehidupan masyarakat menjadi tentram. Pada dasarnya industri dibangun untuk memenuhi tuntutan perekonomian bangsa yang berdasar pada kebutuhan masyarakat (Jurnal Riset Industri, 2009). Menurut Undang-Undang Nomor 5 Tahun 1984 Pasal 1 ayat 2 tentang Perindustrian menjelaskan bahwa kegiatan ekonomi yang mengelola bahan mentah, bahan baku, barang setengah jadi, dan/atau barang jadi menjadi barang dengan nilai yang lebih tinggi untuk penggunaanya, termasuk kegiatan rancang bangun dan perekayasaan industri.

Menurut Tya (2010) tahapan pendirian suatu industri harus dimulai dengan penemuan proses pada tahap riset, kemudian dilanjutkan dengan tahap pengembangan dan perancangan proses, peralatan, evaluasi ekonomi, konstruksi, serta operasi. Dalam merancang industri harus feasible baik secara teknis, ekonomis, dengan memperhatikan aspek keselamatan yang maksimal dan mempunyai dampak pada lingkungan yang minimal. Dengan adanya pertimbangan mengenai keadaan lingkungan sekitar industri maka akan dihasilkan suatu industri yang selain memperhatkan dampak ekonomi juga berwawasan lingkungan. Hal tersebut sangat penting diterapkan mengingat daya dukung alam yang semakin menurun, sementara industri tumbuh semakin cepat.

Tumbuhnya industri yang berbassis lingkungan akan memberi hubungan timbal balik yang baik bagi lingkungan.

Rahmawati (2011) menyatakan bahwa sektor industri merupakan salah satu sektor yang berpengaruh penting dalam pembangunan suatu wilayah, dengan kehadiran insudtri dianggap mampu menjadi solusi bagi tenaga kerja yang meganggur, selain itu industri juga merupakan pendorong pertumbuhan tekhnologi yang bermanfaat bagi kehidupan manusia, yang pada akhirnya menjadi pendorong pembangunan yang utama melalui perkembangan jaringan industri tersebut.

Indonesia memilliki potensi yang besar dalam bidang industri, dalam hal ini adalah industri gula. Dijelaskan di dalam Departemen Pertanian (2009) bahwa Indonesia sangat berpotensi sebagai produsen gula dunia, karena adanya dukungan dari agroekosistem, luas lahan, dan tenaga kerja. Selain itu, prospek akan pasar gula di Indonesia sangat menjanjikan dengan konsumsi gula yang mencapai 4,2 – 4,7 juta ton/tahun.

Sektor industri menjadi salah satu sektor penting dalam pembangunan suatu wilayah. Industri dianggap mampu membuka lapangan pekerjaan bagi tenaga yang menganggur, mendorong pertumbuhan teknologi yang berguna bagi kehidupan manusia, menumbuhkan berbagai kagiatan yang saling berkaitan dalam jaringan industri sehingga mampu berfungsi sebagai pendorong pembangunan (Rahmawati, 2011).

Pentingnya suatu industri didirikan tidak hanya untuk memenuhi kebutuhan masyarakat akan barang maupun jasa dalam kehidupan sehari-hari, namun untuk memenuhi kebutuhan sosial, dan pada akhirnya akan berdampak pula pada lingkungan. seperti halnya pada industri gula, yang menggunakan tebu sebagai bahan baku utama. Tebu yang merupakan bahan baku pembuatan gula,

dalam operasionalnya setiap musim giling (setiap 6 bulan), pabrik gula selalu menghasilkan limbah yang berbentuk cairan, padatan, dan gas (Tya, 2010).

3.2 Pencemaran Lingkungan oleh Limbah Cair Industri Gula

Pabrik gula Tlogo Kelang kabupaten Malang, Jawa Timur merupakan salah satu pabrik gula yang memanfaatkan sumberdaya daerah sekitar sebagai bahan bakunya. Selain itu pekerja pada pabrik ini sebagian besar adalah warga masyarakat sekitar. Pabrik gula yang terletak cukup jauh dari perkampung warga ini juga menghasilkan limbah padat yang berupa ampas tebu yang langsung digunakan oleh pabrik pupuk organik yang berada tidak jauh dari lokasi pabrik gula, dan juga menghasilkan limbah cair yang diolah langsung oleh pabrik (PT.Tlogo Kelang, 2014).

Industri gula merupakan salah satu industri yang diduga dapat menimbulkan pencemaran dari limbah yang dihasilkan. Dalam proses produksi gula dari tanaman tebu yang diproses sampai menjadi gula kasar atau gula murni hingga mempunyai nilai jual yang tinggi, memiliki hasil samping produk berupa limbah. Limbah yang dihasilkan berupa limbah padat yaitu ampas tebu dari proses panggilingan dan penyaringan kotoran setelah dari proses pemerasan tebu, limbah padat dari industri gula disebut blotong. Blotong berpotensi untuk dijadikan pupuk organik karena dianggap sebagai sumber hara yang cukup lengkap juga dapat membantu memperbaiki sifat-sifat fisik, kimia dan biologi tanah (Muhsin, 2011).

Menurut Nasution (2004) limbah cair industri gula memiliki potensi terhadap pencemaran lingkungan karena berbau, berwarna, mengandung nilai COD, BOD serta padatan tersuspensi. Apabila limbah tersebut langsung dibuang ke badan penerima maka sebagian akan mengendap terurai secara perlahan, mengkonsumsi oksigen terlarut, menimbulkan kekeruhan dan pada akhirnya

dapat merusak ekosistem badan penerima. Seperti halnya limbah cair industri gula yang masih berwarna, berbau akibat adanya proses fermentasi oleh bakteri, akan dapat mencemari kondisi badan penerima limbah. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.5 Tahun 2010 telah menetapkan baku mutu air limbah bagi industri gula dengan kapasitas yang kurang dari 2.500 Ton yang diolah per hari, yang dapat dilihat pada **Lampiran 1.**

3.3 Karakteristik Limbah Cair Industri Gula

Manusia dalam perkembangannya selalu menciptakan sesuatu yang baru, dalam memenuhi kebutuhannya sehingga aktivitas domestik manusia semakin meningkat yang mengiringi terpenuhinya kebutuhan manusia. Setiap aktivitas manusia baik dalam skala rumah tangga maupun industri akan selalu menghasilkan limbah, limbah tersebut jika dalam skala kecil tidak akan menimbulkan masalah bagi lingkungan, karena alam memiliki kemampuan untuk melakukan pemulihan kembali dengan kemampuan menguraikan kembali komponen-komponen yang terkandung dalam limbah (Nasution, 2004).

Nugroho (2006) menyebutkan bahwa salah satu penyebab terjadinya pencemaran lingkungan adalah kurangnya kesadaran dalam melakukan remidiasi terhadap limbah yang dihasilkan baik domestik maupun industri. Industri yang kurang mematuhi peraturan yang ada yang disebabkan oleh rendahnya pengetahuan dan kesadaran maupun tanggungjawab di bidang lingkungan.

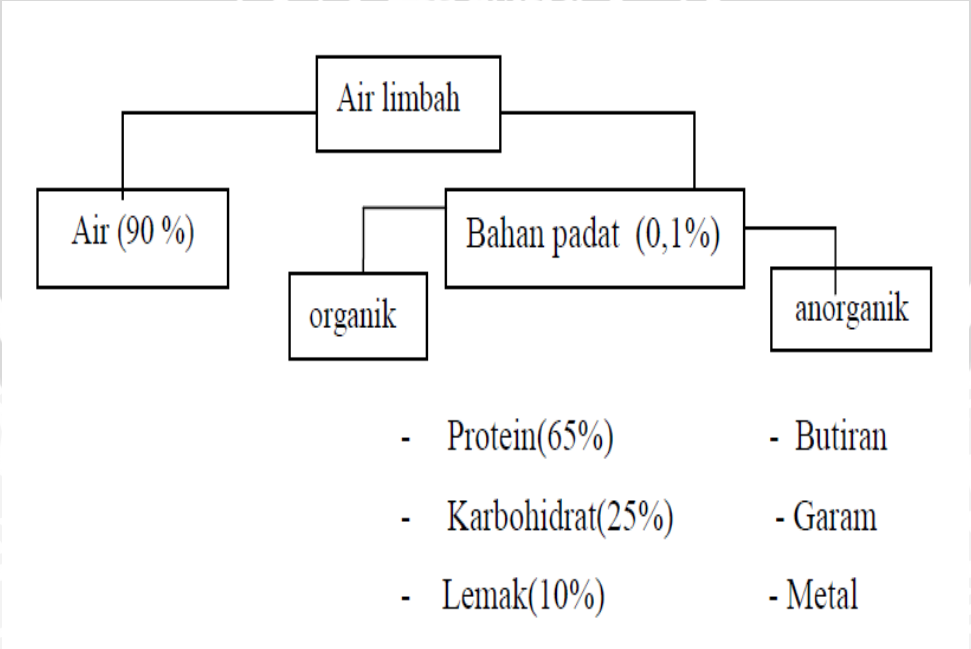
Permasalahan yang dominan dihadapi lingkungan saat ini adalah limbah cair yang berasal dari hasil kegiatan rumah tangga dan industri. Limbah cair yang tidak dikelola akan menimbulkan dampak pada perairan atau lingkungan sekitar, sehingga sistem pengolahan limbah cair dimaksudkan untuk meminimalisir

pencemaran limbah yang terjadi, serta untuk mengurangi bahkan menghilangkan kadar bahan pencemar yang terkandung di dalam perairan.

Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No.112 Tahun 2003, menerangkan bahwa air limbah domestik dan industri terdiri dari parameter BOD, TSS, pH, minyak dan lemak yang apabila keseluruhan parameter tersebut dibuang langsung ke badan penerima, maka akan mengakibatkan pencemaran air. Oleh karena itu sebelum dibuang ke badan penerima air, terlebih dahulu harus diolah sehingga dapat memenuhi standar air yang baik.

3.3.1 Komposisi Air Limbah

Sugiharto (1987) menerangkan bahwa komposisi air limbah sangat bervariasi bergantung pada asal dari limbah itu dihasilkan. Namun secara garis besar zat-zat yang terkandung di dalam air limbah dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2. Diagram Pengelompokkan Bahan yang Terkandung di Dalam Limbah Cair (Sugiharto, 1987).

Limbah cair domestik maupun non domestik oleh Metcalf dan Eddy (2003), dijelaskan memiliki karakteristik sesuai dengan sumbernya, karakteristik limbah cair digolongkan pada karakteristik fisik, kimia dan biologi, yaitu sebagai berikut :

3.3.2 Karakteristik Fisika

Karakteristik fisika ini terdiri daribeberapa parameter, diantaranya :

a. Total Suspended Solid (TSS)

Total Suspended Solid (TSS) adalah residu dari padatan total yang tertahan oleh saringan dengan ukuran partikel maksimal atau lebih besar dari ukuran pertikel koloid. Bagian yang termasuk TSS adalah lumpur, tanah liat, logam oksida, sulfida, ganggang, bakteri dan jamur. TSS umumnya dihilangkan dengan cara flokulasi dan penyaringan (Muhajir, 2013).

b. Warna.

Pada dasarnya air bersih tidak berwarna, tetapi seiring dengan waktu dan meningkatnya kondisi anaerob, warna limbah berubah dari yang abu–abu menjadi kehitaman. Hal ini bergantung sangat bergantung pada kandungan bahan organik di dalam air limbah (Metcalf dan Eddy, 2003).

c. Kekeruhan

Kekeruhan disebabkan oleh zat padat tersuspensi, baik yang bersifat organik maupun anorganik, serta menunjukkan sifat optis air yang akan membatasi pencahayaan kedalam air (Metcalf dan Eddy, 2003).

d. Temperatur

Merupakan parameter yang sangat penting dikarenakan efeknya terhadap reaksi kimia, laju reaksi, kehidupan organisme air dan penggunaan air untuk berbagai aktivitas sehari-hari (Metcalf dan Eddy, 2003)

e. Bau

Disebabkan oleh udara yang dihasilkan pada proses dekomposisi materi (terjadi fermentasi) atau penambahan substansi pada limbah (Metcalf dan Eddy, 2003).

2.3.2 Karateristik Kimia

Kaswinarni (2007) menjelaskan karakteristik kimia limbah meliputi kandungan beberapa hal di bawah ini :

a. Biological Oxygen Demand *(BOD)*

Biological oxygen demand atau kebutuhan oksigen biologis adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme di dalam air lingkungan untuk memecah atau mendegradasi atau mengoksidasi limbah organik yang terdapat di dalam air. Menurut Muhajir (2013), pemecahan bahan orgnaik ini diartikan bahwa bahan organik tersebut digunakan oleh organisme sebagai bahan untuk melakukan oksidasi yang akan menghasilkan energi. Pengukuran BOD dilakukan untuk menentukan beban pencemar akibat air buangan (limbah) rumah tangga maupun industri.

b. *Chemical Oxygen Demand (COD)*

Merupakan jumlah kebutuhan oksigen dalam air untuk proses reaksi secara kimia guna menguraikan unsur pencemar yang ada, COD dinyatakan dalam ppm (*part per milion*). Menurut Muhajir (2013) angka COD merupakan ukuran bagi pencemaran air oleh zat-zat organik yang secara alamiah dapat dioksidasi melalui proses mikrobilogis sehingga mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut di dalam air.

c. Protein

Protein merupakan bagian yang penting dari makhluk hidup, termasuk di dalamnya tanaman, dan hewan bersel satu. Di dalam limbah cair, protein merupakan unsur penyabab bau, karena adanya proses pembusukan dan peruraian oleh bakteri (Kaswinarni, 2007).

d. Karbohidrat

Karbohidrat antara lain : gula, pati, sellulosa dan benang-benang kayu terdiri dari unsur C, H, dan O. Gula dalam limbah cair cenderung terdekomposisi oleh enzim dari bakteri-bakteri tertentu dan ragi menghasilkan alkohol dan gas CO2 melalui proses fermentasi (Kaswinarni, 2007)

e. Minyak dan Lemak

Minyak dan lemak merupakan bahan pencemar yang banyak ditemukan di berbagai perairan, salah satu sumber pencemarnya adalah dari agroindustri (Kaswinarni, 2007).

f. Detergen

Deterjen termasuk bahan organik yang sangat banyak digunakan untuk keperluan rumah tangga, hotel, dan rumah sakit. Fungsi utama deterjen adalah sebagai pembersih dalam pencucian, sehingga tanah, lemak dan lainnya dapat dipisahkan (Kaswinarni, 2007).

g. Derajat keasaman (pH)

Air normal yang memenuhi syarat untuk suatu kehidupan mempunyai pH sekitar 6,5 – 7,5. Air akan bersifat asam atau basa tergantung besar kecilnya pH. Bila pH di bawah pH normal, maka air tersebut bersifat asam, sedangkan air yang mempunyai pH di atas pH normal bersifat basa (Kaswinarni, 2007).

2.3.3 Karakteristik Biologi

Karakteristik biologi digunakan untuk mengukur kualitas air terutama air yang dikonsumsi sebagai air minum dan air bersih. Parameter yang biasa digunakan adalah banyaknya mikroorganisme yang terkandung dalam air limbah. Pengolahan air limbah secara biologis dapat didefinisikan sebagai suatu proses yang melibatkan kegiatan mikroorganisme dalam air untuk melakukan transformasi senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam air menjadi bentuk atau senyawa lain. Mikroorganisme mengkonsumsi bahan-bahan organik membuat biomassa sel baru serta zat-zat organik dan memanfaatkan energi yang dihasilkan dari reaksi oksidasi untuk metabolismenya (Metcalf *dan* Eddy, 2003).

3.4 Pengolahan Limbah Cair Industri Gula

Pengolahan limbah cair dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, dapat melalui pengolahan secara fisika, kimia dan biologi. Pengolahan fisika dan kimia yaitu pengolahan limbah menggunakan aplikasi alat dan cara fisik atau menggunakan bahan-bahan kimia dalam mereduksi senyawa berbahaya dalam limbah (Anggraeni, 2012). Sedangkan pengolahan limbah secara biologi yaitu dengan menggunakan jasa makhluk hidup baik makhluk hidup tingkat tinggi maupun makhluk hidup mikroskopis, yang bermanfaat dalam meremidiasi senyawa-senyawa berbaya dalam limbah. Hal ini biasa disebut dengan pengolahan limbah menggunakan tekhnologi bioremidiasi.

3.4.1 Bioremidiasi

Buangan limbah industri terkadang tidak melalui tahapan yang lengkap sebelum dilakukan pembuangan ke badan penerima. Industri gula merupakan

salah satu industri yang buangan limbahnya dapat memberi sumbangan pencemar bagi badan penerima.

Handayani *et al*. (2012), menerangkan bahwa berdasarkan pada peraturan pemerintah setempat air limbah industri gula digolongkan ke dalam dua jenis yaitu air limbah proses dan air limbah buangan kondensor yang diikuti dengan beberapaparameter kualitas air limbah yaitu dengan pengukuran suhu, BOD, COD, TSS, sulfida, minyak, lemak serta pH. Selain itu debit air buangan limbah menjadi permasalahan yang harus diperhatikan pula.

Permasalah utama terhadap limbah cair industri gula adalah proses pengolahan untuk menurunkan suhu limbah cair yang terbilang tinggi, dan dapat mencapai suhu sekitar 40^{o}C. Penurunan suhu limbah cair industri gula tersebut dilakukan dengan berbagai macam cara, seperti yang dilakukan oleh PT.Gula Tlogo Kelang, Kabupaten Malang adalah dengan memberi kincir air pada bak penampung limbah cair yang baru keluar dari pabrik. Namun setelah dilakukan pendinginan, limbah cair tersebut akan langsung dialirkan menuju sungai terdekat, tanpa melalui tahapan pengolahan lebih lanjut.

Hal ini sering kali dilakukan mengingat pendapat yang mengatakan bahwa limbah cair industri gula tidak berbahaya karena bukan merupakan limbah utama dari bahan baku industri. Namun tidak menutup kemungkinan bahwa dalam limbah cair tersebut mengandung senyawa organik yang tidak dapat dibuang secara langsung karena akan mengganggu kondisi badan air penerima limbah seperti sungai. Menurut Rahmawati (2011), sungai merupakan salah satu sumberdaya alam yang multifungsi terhadap kehidupan dan penghidupan manusia serta makhluk hidup lainnya. Fungsi sungai antara lain sebagai sumber air minum, sumber irigasi, sarana transportasi, sebagai media usaha perikanan dan lain sebagainya.

Limbah cair industri gula selain berwarna juga memiliki bau yang menyengat. Bau tersebut seringkali diketahui berasal dari hasil fermentasi bakteri terhadap kandungan bahan organik yang terkandung di dalam limbah tersebut. Untuk itu pengolahn lebih lanjut terhadap limbah cair industri gula perlu dilakukan. Salah satu cara yang berbasis ekologi yang aman dan mudah adalah dengan bioremidiasi.

Menurut Widiyanto (2008) bioremidiasi merupakan salah satu alternatif dalam mengendalikan kualitas air, dengan melakukan pendekatan secara biologis dan memanfaatkan aktivitas baketri dalam merombak bahan organik yang berlebihan yang terkandung di dalam suatu perairan termasuk limbah.

Menurut Megasari *et al.* (2012) proses pengolahan limbah dengan metode biologi adalah metode yang memanfaatkan mikroorganisme sebagai katalis untuk menguraikan material yang terkandung di dalam air limbah. Mikroorganisme sendiri selain menguraikan dan menghilangkan kandungan material, juga menjadikan material yang terurai tadi sebagai tempat berkembang biak.

Metode bioremidiasi berdasarkan pemanfaatan mikroba terdiri atas bioaugmentasi dan biostimulasi. Bioaugmentasi merupakan metode yang dilakukan dengan menginokulasikan mikroba pendegradasi bahan organik ke daerah tercemar limbah seperti limbah industri pangan dengan tujuan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada, sedangkan biostimulasi merupakan metode yang dilakukan dengan memodifikassi lingkungannya seperti mengubah habitat atau penambahan nutrien untuk menstimulasi mikroba indigenos agar dapat mendegradasi senyawa pencemar (Zhu *et al.* 2001). Pada penelitian ini akan digunakan bioremidiasi dengan menggunakan metode biostimulasi.

Sedangkan berdasar pada pemanfaatan oksigen dalam proses metabolisme sel, pengolahan limbah cair secara biologis dapat dikelompokkan

menjadi dua, yaitu proses aerob dan anaerob. Pada proses aerob katabolisme senyawa organik berlangsung dengan memanfaatkan oksigen bebas yang terdapat dalam lingkungan sebagai penerima elektron terakhir. Pada proses anaerob atau respirasi anaerob, katabolisme senyawa organik berlangsung tanpa oksigen bebas dalam lingkungan dan penguraian terjadi dengan memanfaatkan senyawa organik sebagai penerima elektron terakhir (Metcalf and Eddy, 2003).

Proses pengolahan limbah secara biologi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam makhluk hidup, dapat berupa tanaman tingkat tinggi, plankton maupun bakteri. Namun pada penelitian ini menggunakan jasa mikroba, yaitu bakteri yang kemungkinan hidup dominan pada limbah cair industri gula. Dengan memanfaatkan mikroorganisme yang hidup pada limbah, dan juga akan melakukan remidiasi secara otomatis terhadap bahan pencemar yang terkandung sebelum dilakukan pembuangan.

Hal ini berdasar pada peran bakteri yang merupakan kelompok mikroorganisme, yang mampu melaksanakan proses metabolisme terhadap bahan-bahan organik, sehingga merupakan bagian yang terpenting dalam rantai makanan dan pengolahan air limbah. Bakteri akan mensintesis unsur-unsur organik yang terlarut dalam air tetapi tidak semua unsur organik dapat digunakan oleh bakteri, oleh sebab itu partikel-partikel organik berukuran lebih besar disintesa oleh protozoa (Megasari *et al.* 2012).

Beberapa jenis atau kelompok bakteri yang diketahui mampu melakukan proses perombakan (dekomposisi) senyawa-senyawa metabolit toksik, dan dapat dikembangkan sebagai bakteri agen bioremidiasi untuk pengendalian kualitas air adalah jenis bakteri nitrifikasi, bakteri sulfur (pereduksi sulfit), dan baketri pengoksidasi amonia, yang mana bakteri-bakteri tersebut dapat dikondisikan berdasarkan kebutuhan, dalam melakukan remidiasi dan disesuaikan dengan

karakteristik perairan atau limbah yang akan dilakukan remidiasi. Penyesuaian tersebut dilakukan agar bakteri dapat lebih aktif dalam membantu proses perombakan, sehingga dapat mengeliminasi senyawa-senyawa toksik atau bahan organik yang berlebihan dalam suatu perairan (Badjoeri dan Widiyanto, 2008).

Oleh (Carawan, 1979 *dalam* Megasari *et al.* 2012), dengan keberagaman jenis bakteri dan mikroba tersebut disebabkan oleh perkembangan secara alami jenis mikroba dari air limbah, udara dan partikel-partikel lumpur. Bakteri dan mikroba tersebut akan teraklimatisasi terhadap cairan limbah tersebut dan memudahkan proses pengurangan bahan pencemar.

3.4.2 Mekanisme Remidiasi Senyawa Organik oleh Bakteri

Bioremidiasi merupakan sebuah langkah yang diterapkan melalui transformasi mikroorganisme atau degradasi terhadap bahan pencemar, dengan menggunakan berbagai macam organisme seperti bakteri, jamur, alga, dan tumbuhan untuk proses remidiasi yang telah dianggap efektif dalam penerapannya.

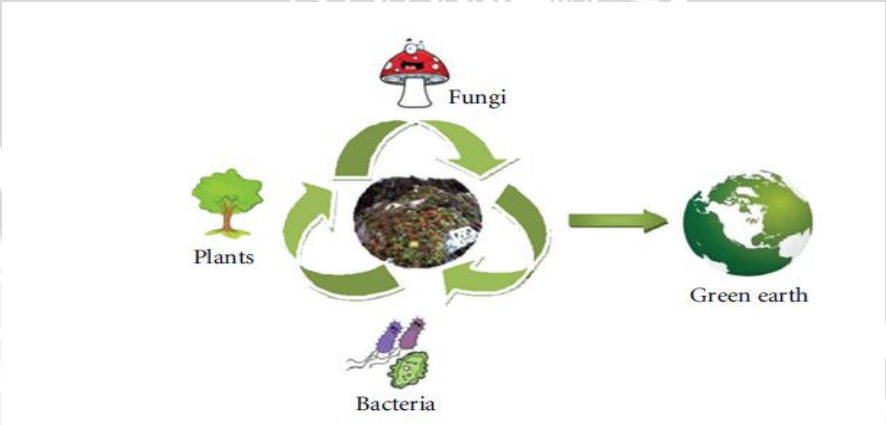
Namun saat ini penggunaan bakteri sebagai pelaku utama dalam bioremidiasi sangat marak dilakukan, yang mana bakteri mengandung enzym pereduksi polusi dan merubahnya menjadi produk yang lebih ramah lingkungan sehingga tidak berbahaya.

Bioremidiasi hanya dapat berjalan dengan efektif pada kondisi lingkungan yang memang mendukung untuk pelaku bioremidiasi yaitu mikroba untuk tumbuh dan aktif. Biorediasi biasanya dilakukan pada lingkungan yang disesuaikan atau yang telah dimanipulasi berdasarkan kebutuhan tumbuh dari mikroba yang digunakan sehingga diperoleh proses remidiasi yang cepat dan efektif (Aparna, 2010).

Menurut Karigar dan Rao (2011) proses bioremidiasi merupakan proses yang sangat lambat, hanya oleh jenis bakteri yang tepat yang dapat meningkatkan kemampuannya sebagai pelaku degaradasi polutan. Mikroba lain diketahui dapat melakukan hal yang sama dan efektif sebagai agen bioremidiasi namun hanya dapat berlangsung pada kondisi yang telah disesuaikan yaitu kondisi laboraturium.

Keterbatasan pertumbuhan bakteri tersebut sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, oksigen, struktur dari substrat, kelembaban, dan ketersediaan nutrisi yang sesuai, rendah akan dukungan pertumbuhan organisme dari polutan, dan keberadaan dari senyawa toksik lainnya. Meskipun mikroorganisme diketahui mampu bertahan hidup pada kondisi yang ekstrim sekalipun, namun kebanyakan dari mereka lebih menyukai kondisi yang memang optimal untuk mereka hidup, dan hal ini sangat sulit didapatkan dilapangan, terkecuali pada kondisi laboraturium yang telah disesuaikan.

Adapun contoh siklus degradasi oleh agen bioremidiasi disajikan pada siklus di bawah ini :



Gambar 3. Proses Bioremidiasi dan Pelaku Bioremidiasi (Karigar dan Rao, 2011)

Pada gambar di atas dijelaskan bahwa bioremidiasi tidak hanya dapat dilakukan oleh bakteri melainkan organisme lain juga dapat menjadi agen bioremidiasi seperti tumbuhan serta jamur. Namun pada penellitian ini yang digunakan adalah jasa dari bakteri sebagai agen bioremidiasi. Penggunaan bakteri cukup efektif dalam melakukan degradasi mengingat bakteri menghasilkan enzym yang membantu dalam proses remidiasi. Karigar dan Rao (2011), membagi enzym yang dihasilkan oleh baketri ke dalam enam macam enzym yaitu 1. Oxidoreductases, 2. Transferases, 3. Hydrolases, 4. Lyases, 5. Isomerases, dan 6. Lygases.

Menurut Husin (2008) proses pengolahan limbah oleh bakteri dapat berlangsung dengan dua kategori yaitu aerob maupun anaerob. Dalam penelitian ini akan digunakan cara yang pertama yaitu remidiasi limbah dengan cara aerob. Pengolahan limbah cair dengan proses aerob pada dasarnya sama dengan proses anaerob yang mana sama-sama menggunakan jasa mikroorganisme atau memanfaatkan aktifitas metabolisme sel dari mikroba untuk menurunkan bahkan menghilangkan substrat tertentu terutama senyawa-senyawa organik yang ada dalam limbah buangan. Dan tentunya senyawa yang dapat diolah tersebut adalah senyawa yang bersifat biodegradable (dapat diurai).

Proses metabolisme sel dapat dibagi menjadi dua proses yaitu proses katabolisme dan anabolisme. Katabolisme merupakan semua proses biokimia yang terlibat dalam degradasi atau oksidasi substrat menjadi produk akhir yang disertai dengan pelepasan energi. Energi yang dilepas dalam proses oksidasi tersebut ditransfer ke energy carrier yang kemudian menyimpannya, dan selanjutnya akan digunakan oleh bakteri tersebut untuk pergerakan sel, maintenance sel, serta kebutuhan energi proses lainnya (Metcalf and Eddy, 2003).

Sedangkan anabolisme adalah semua proses biokimia yang dilakukan bakteri untuk mensintesa sel baru atau komponen seluler dari sumber karbon yang diperoleh, dimana proses sintesa ini digerakkan oleh energi yang telah tersimpan atau tersedia dalam energy carrier tersebut. Jadi organisme tersebut menggunakan proses metabolismenya untuk keperluan mengahsilkan energi yang akan digunakan oleh keberlangsungan hidupnya dan juga digunakan untuk memodifikasi senyawa-senyawa biomolekuler (Husin, 2008).

2.4.3 Faktor-faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Proses Bioremidiasi

Proses remidiasi secara anaerob bahan organik menjadi gas metan dan CO2 di dalam limbah cair, selain ditentukan oleh jenis mikroba yang hidup atau yang ditumbuhkan, juga bergantung pada faktor-faktor eksternal yang mempengaruhi proses internal metabolisme mikroorganisme dalam mendegradasi limbah.

Dalam Husin (2008) dijelaskan faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi, antara lain :

a. pH dan Alkalinitas

Pada proses remidiasi secara aerobik terhadap senyawa organik dapat menghasilkan amoniak dan karbondioksida yang secara langsung dapat meningkatkan nilai derajat keasaman. Bahan-bahan organik tersebut akan mengalami penguraian menjadi gass CO2 dan NH4 dengan penambahan oksigen, perubahan tersebut terjadi jika kemasaman bergerak ke arah basa, sehingga reaksi tersebut dapat mengurangi kadar bahan organik di dalam limbah (Fardiaz, 1992). Pada penelitian ini dilakukan secara aerobik dengan pH yang diharapkan baik pada hasil uji remidiasi.

b. Senyawa Inhibitor

Menurut Parkin dan Owen (1986), keberadaan beberapa senyawa baik organik maupun anorganik dapat menjadi inhibitor bahkan bersifat toksik dalam keberlangsungan proses anaerobik. Garam-garam seperti Na^{+}, K^{+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}, Cr(4), Zn^{2+}, Ni^{2+}, bahan organik seperti fenol, formaldehid, propanol, etil asetat, dan bahan anorganik seperti NH_4^{+}, H_2S, dan lainnya. Hal tersebut diketahui dapat menghambat laju reaksi metanogenik bila dalam konsentrasi yang cukup tinggi.

Keracunan sulfida merupakan masalah yang sering dijumpai dalam pengolahan limbah cair yang mengandung konsentrasi sulfat tinggi, karena di dalam proses anaerob sulfat merupakan senyawa yang lebih disukai oleh akseptor elektron dan akan dikonversikan menjadi sulfida.

c. Temperatur

Proses anaerob, temperatur merupakan salah satu faktor penting untuk menentukan laju degradasi oleh mikroba, terutama terhadap laju hidrolisis dan pembentukan metana. Proses aerob pun membutuhkan suhu yang ideal agar proses berjalan dengan baik, dalam Suriawiria (2003) menjelaskan dengan bertambahnya kenaikan suhu pada perairan akan dibarengai oleh kecepatan proses respirasi yang menyebabkan berkurangnya kelarutan oksigen dalam perairan, oleh karena hal tersebut suhu harus diperhatikan.

d. Bahan Nutrisi

Sukma (2010) menjelaskan bahwa di dalam limbah cair terdapat zat-zat pencemar yang jika dialirkan ke badan air penerima limbah, dengan konsentrasi tertentu akan mengganggu dan mengubah kualitas perairan penerima limbah. Kualitas air merupakan gambaran atas konsentrasi senyawa yang terkandung di

dalam perairan, baik berupa makhluk hidup, energi, zat-zat atau pun komponen lainnya. Limbah cair mengandung bahan organik yang merupakan sumber nutrisi bagi mikroorganisme di dalamnya, bahan nutri tersebut dapat berupa protein, karbohidrat, minyak dan lemak, COD, BOD, deterjen maupun fenol.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini adalah jenis bakteri hasil kultur air limbah industri gula, dan kemampuannya dalam melakukan remidiasi, terhadap senyawa organik yang terkandung di dalam limbah industri gula, serta parameter lingkungan yang mendukung kehidupan bakteri dan sebagai indikator keberhasilan dari proses remidiasi yaitu BOD, COD, TSS, pH, dan suhu.

3.1.1 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan alat dan bahan skala laboraturium dan lapang. Penggunaan dan macam alat dan bahan yang digunakan dapat dilihat secara jelas pada **Lampiran 2.**

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Diketahui bahwa metode eksperimen merupakan metode yang digunakan untuk mencari pengaruh dengan memberikan perlakuan tertentu sehingga diperoleh hasil yang diinginkan. Dalam Jaenudin (2011) dijelaskan bahwa metode eksperimen secara umum digunakan dalam penelitian yang berfisat laboratoris, namun metode ini dapat pula digunakan dalam penelitian bidang sosial atau pendidikan.

Penelitian dengan menggunakan metode eksperimen merupakan metode yang cukup akurat dalam memberi informasi, karena apabila penelitian tersebut dilakukan dengan baik maka dapat menjawab hipotesis yang utamanya berkaitan dengan hubungan sebab akibat. Metode ini pun membutuhkan ketelitian sehingga diperoleh hasil penelitian yang sesuai. Hal ini sesuai dengan maksud

peneliti untuk mendapat hasil yang akurat terhadap apa yang menjadi hipotesa yang kemudian akan dibuktikan melalui metode eksperimen ini, dengan memperhatikan berbagai variabel penelitian dengan ketat (Soendari, 2013).

3.3 Desain Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3-4 minggu, dilakukan di dalam laboraturium dengan kondisi yang disesuaikan. Penelitian yang diawali dengan melakukan pengukuran kualitas air limbah, meliputi pengukuran pH, suhu, BOD, COD, dan TSS. Perlakuan awal ini diketahui sebagai hasil pengamatan kualitas air limbah awal, sebelum dilakukan pengamatan kualitas air kontrol yaitu uji kualitas air sebagai pembanding hasil bioremidiasi dan pembanding hasil awal kualitas air limbah sebelum dilakukan uji remidiasi.

Penanaman bakteri dilakukan setelah uji kualitas air limbah awal. Penanaman bakteri dilakukan menggunakan sampel air limbah industri gula, sehingga diperoleh jenis bakteri dominan melalui proses identifikasi bakteri melalui uji bakteri secara makroskopis, uji bakteri secara mikroskopis, dan uji biokimia bakteri. Bakteri dominan ini, adalah bakteri yang diduga sebagai agen utama dalam proses remdiasi pada uji remidiasi air limbah industri gula yang sama dengan bakteri yang ditanam.

Uji remidiasi dilakukan selama 4-5 hari uji (Mambang *et al.* 2015). Hal ini dianggap merupakan waktu yang cukup untuk mengamati pertumbuhan dan perkembangan bakteri yang diujikan. Selama 5 hari uji secara aerobik, hal ini berdasar pada kondisi awal air limbah pada lokasi telah diberi aerator, sehingga perlakuan selanjutnya adalah menyesuaikan, agar tidak merubah komposisi bakteri asli dari air limbah tersebut.

Hasil uji bioremidiasi diketahui dengan cara melakukan perbandingan anatar nilai kualitas air limbah awal, kontrol dan akhir. Penelitian hanya dilakukan

sebanyak satu kali tanpa ulangan, dengan satu sampel untuk mengukur berbagai parameter. Hal ini berdasar pada penelitian Kosim dan Putra (2010), menggunakan satu sampel dengan berbagai perlakuan pembeda dan satu kali penelitian.

3.4 Metode Pengambilan Sampel

3.4.1 Sampel Limbah Cair Industri Gula

Pengambilan sampel dilakukan di PT.Tlogo Kelang, Kabupaten Malang. Air limbah buangan industri yang terletak tepat berhadapan dengan pabrik diperoleh secara cuma-cuma. Pengambilan air limbah industri gula sebagai sampel penelitian, dilakukan sebanyak satu kali dalam jumlah yang cukup. Hal tersebut dilakukan pada awal kualitas air limbah diuji, dan penanaman bakteri serta pada uji remidiasi dan kontrol yang dilakukan dua hari setelahnya dengan menggunakan sampel air limbah yang sama.

Sebelum sampel diambil dilakukan pengukuran pH dan temperatur terlebih dahulu, untuk mengetahui temperatur dan pH limbah yang sesungguhnya sebelum dibawa ke dalam laboratorium. Pengukuran temperatur menggunakan thermometer Hg, sedangkan pengukuran pH menggunakan pH paper yang kemudian dicocokkan warna yang diperoleh dengan kotak standart pH. Sampel limbah cair industri gula diambil menggunakan botol yang tertutup rapat dan gelap. Dimaksudkan agar tidak terjadi kontaminasi saat sampel dibawa hingga ke laboraturium. Sampel tersebut di bawa ke Laboraturium Keamanan Hasil Perikanan Universitas Brawijaya untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.

3.5 Perlakuan Sampel

3.5.1 Pembuatan Media Biakan Bakteri (Burdass *et al.* 2006)

Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual pembuatan media biakan dengan menggunakan NA (Nutrien Agar) dengan melarutkan NA dengan aquadest sebanyak yang dibutuhkan, dengan cara :

1. NA ditimbang sebanyak yang dibutuhkan dengan menggunakan timbangan digital
2. NA dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi aquadest
3. NA dihomogenkan dengan aquadest menggunakan spatula
4. Media yang telah dibuat dipanaskan di atas hot plate dengan suhu 250^{o}C
5. Media diaduk sampai mendidih
6. Media yang telah mendidih diangkat dari hot plate kemudian ditutup dengan kapas, dibungkus koran dan diikat tali
7. Media dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121^{o}C dengan tekanan 1 atm
8. Kemudian media dituang pada cawan petri
9. Media ditunggu hingga memadat

3.5.2 Isolasi Bakteri (Megasari *et al.* 2012)

Tahap isolasi bakteri dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut :

1. Sampel air limbah diambil sebanyak 10 ml
2. Masukkan sampel air limbah ke dalam cuvet
3. Lakukan pengenceran secara bertingkat menjadi 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} dan 10^{-6}
4. Hasil pengenceran diambil sebanyak 10 ml
5. Pindahkan ke media agar steril

6. Ratakan dengan menggunakan stik L
7. Bakteri di inkubasi secara aerob selama 24-48 jam
8. Koloni bakteri yang nampak dipindahkan ke media agar yang steril

3.5.2.1 Pembuatan Larutan Pengencer (Burdass *et al.* 2006)

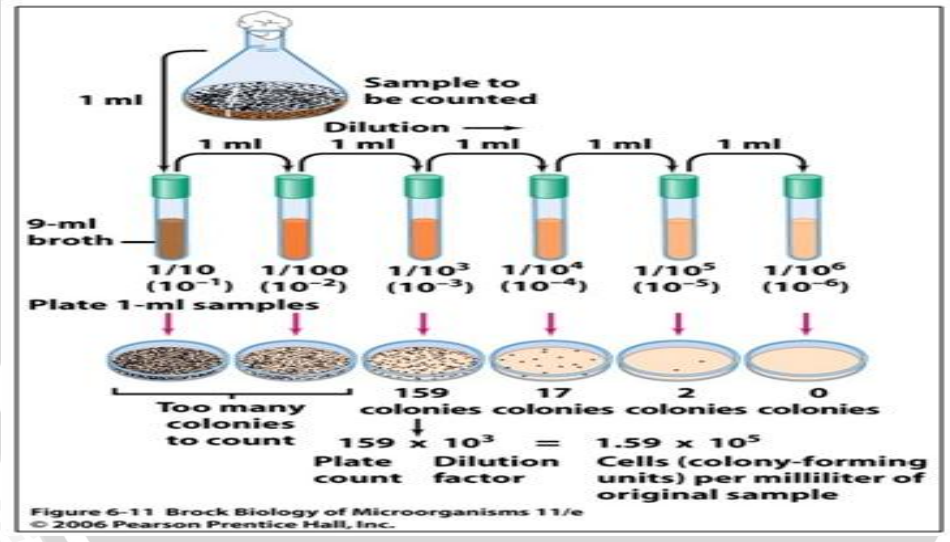
Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual, tahap isolasi dilakukan dengan pembuatan pengenceran sampel terlebih dahulu dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. NaCl ditimbang sebanyak 0,45 gram menggunakan timbangan digital untuk pengenceran sampai 10^{-5}
2. NaCl yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditambahkan aquadest sebanyak 50 ml
3. Larutan dihomogenkan dengan menggunakan spatula
4. Larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan bantuan pipet volume masing-masing 10 ml
5. Tabung reaksi ditutup dengan kapas, dan bungkus tabung reaksi dengan koran dan diikat dengan tali
6. Larutan yang telah siap, dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilisasi selama 15 menit pada suhu 121^{o}C dengan tekanan 1 atm.

3.5.2.2 Pengenceran Bertingkat (Burdass *et al.* 2006)

Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual, pengenceran dilakukan untuk menghindari pertumbuhan koloni bakteri yang terlalu banyak, yang pada akhirnya akan mempersulit identifikasi bakteri yang tumbuh. Adapun langkah-langkah dalam melakukan pengenceran bertingkat yaitu sebagai berikut :

1. Sampel air limbah diambil sebanyak 1 ml menggunakan pipet serologis yang telah disterilisasi
2. Sampel dimasukkan sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan pengencer
3. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex mixer, dan dicatat sebagai 10^{-1}
4. Larutan diambil 1 ml dari tabung 10^{-1}
5. Larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lainnya yang berisi 9 ml larutan pengencer, dan dicatat sebagai 10^{-2}
6. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex mixer
7. Langkah-langkah di atas diulangi secara terus menerus hingga diperoleh hasil pengenceran bertingkat sampai 10^{-5}



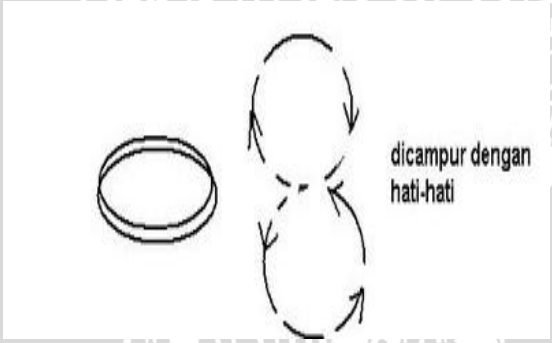
Gambar 4. Pengenceran Bertingkat (Ahahermanto, 2012)

3.5.3 Penanaman Bakteri (Burdass *et al.* 2006)

Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual, penanaman bakteri dapat dilakukan menggunakan dua metode penanaman yaitu

metode tuang dan metode sebar. Namun pada penlitian ini hanya menggunakan metode tuang, dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Sampel yang telah diencerkan disiapkan terlebih dahulu
2. Lakukan pengambilan sampel dari tabung reaksi 10^{-2} sampai 10^{-5} sebanyak 1 ml
3. Sampel dituang pada cawan petri secara duplo
4. Media NA yang telah disediakan, dituang sebanyak 20 ml pada masing-masing cawan, lalu diputar membentuk angka 8 (**Gambar 5**) dan ditunggu hingga memadat
5. Cawan dibalik dan dibungkus menggunakan koran, kemudian cawan diikat dengan tali kasur
6. Cawan yang telah berisi media tanam, diinkubasi selama 2 x 24 jam



Gambar 5. Cara Memutar Cawan Membentuk Angka 8 (Lilik, 2014).

3.5.4 Pemurnian Bakteri (Burdass *et al.* 2006)

Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual, pemurnian atau purifikasi dilakukan untuk memperoleh satu koloni murni dari koloni-koloni yang tumbuh dari hasil penanaman bakteri, sehingga dapat mempermudah dalam melakukan identifikasi bakteri yang kita inginkan. Adapun langkah-langkah dalam pemurnian bakteri yaitu sebagai berikut :

1. Lakukan persiapan cawan yang telah ditanami bakteri dan yang telah diinokulasi selama 2x24 jam
2. Jarum ose diambil dan dilakukan sterilisasi di atas bunsen
3. Satu koloni bakteri diinokulasi dari cawan penanaman menggunakan jarum ose yang telah steril
4. Jarum ose berisi inokulan digoreskan secara zig-zag pada cawan yang berisi media NA baru, yang telah memadat (**Gambar 6**)
5. Cawan petri dibungkus menggunakan plastik, dan ditandai dengan kertas label
6. Inkubasi terhadap media NA berisi inokulan baru, dilakukan kembali selama 2 x 24 jam

Gambar 6. Cara Menggores Cawan Secara Zig-zag (Lia, 2013).

3.5.5 Identifikasi

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu sebagai berikut :

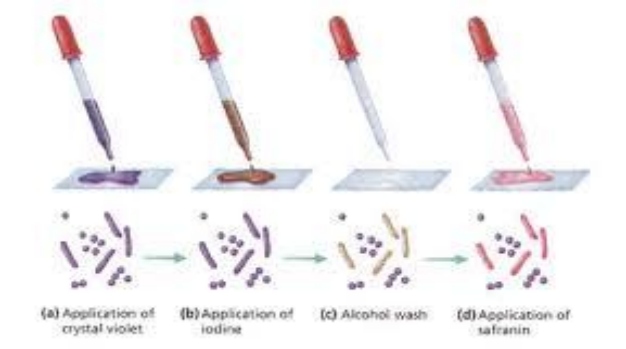
a. Identifikasi Secara Makroskopis

Identifikasi secara makroskopis dilakukan pada koloni bakteri yang tumbuh dalam media isolasi bakteri. Identifikasi ini meliputi bentuk, ukuran, tekstur dan warna. Berdasarkan pada perbedaan penampilan koloni tersebut maka dilakukan pemurnian bakteri sehingga diperoleh sejumlah isolat yang dibutuhkan (Darmayasa, 2008).

b. Identifikasi Secara Mikroskopis

Pada identifikasi secara mikroskopis didahulukan dengan melakukan pewarnaan gram, sehingga diketahui bagaimana bentuk bakteri dan kelompok bakteri apakah termasuk bakteri gram positif atau negative (Darmayasa, 2008). Dalam Pratita dan Putra (2012), untuk mengidentifikasi bakteri dalam isolat, perlu dilakukan pewarnaan gram, melalui tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Isolat bakteri yang telah dimurnikan diambil 1 ose
2. Isolat digores-gores pada permukaan preparat steril dan difiksasi
3. Kristal violet diberi sebanyak 1 tetes pada permukaan preparat yang terdapat lapisan bakteri dan didiamkan selama 1 menit
4. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air sampai zat warna luntur
5. Preparat dikeringkan di atas api spiritus
6. Setelah kering diberi larutan iod sebanyak 1 tetes ditambahkan ke permukaan preparat dan didiamkan selama 1 menit
7. Setelah 1 menit preparat dibilas dengan air
8. Preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dicuci dengan air kembali
9. Preparat dikeringkan di atas api spiritus
10. Safranin diberikan sebanyak 1 tetes pada permukaan preparat dan didiamkan selama 45 detik
11. Preparat dibilas dengan air dan dikeringkan
12. Preparat yang telah dibuat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x
13. Identifikasi bakteri dengan menggunakan buku panduan identifikasi bakteri (Bergey's manual bacteriology), sehingga diperoleh hasilnya.



Gambar 7. Pewarnaan Gram (Bayu, 2009).

c. Uji Biokimia Bakteri

Uji biokimia bakteri dilakukan untuk mengamati fisiologis bakteri dengan dua cara yaitu untuk mengetahui karakteristik bakteri gram positif uji biokimia dilakukan dengan metode *Bergeys Manual of Bacteriology* yaitu identifikasi bakteri gram positif menggunakan buku *Bergeys Manual of Bacteriology eight Edition and Cowan and Steel's Manual For The Identification of Medical Bacteria Third Edition*.

Pada bakteri gram negative dilakukan dengan metode *Microbat Identification Kits*, dalam Ekawati *et al.* (2012) langkah-langkah dalam melakukan uji ini adalah sebagai berikut :

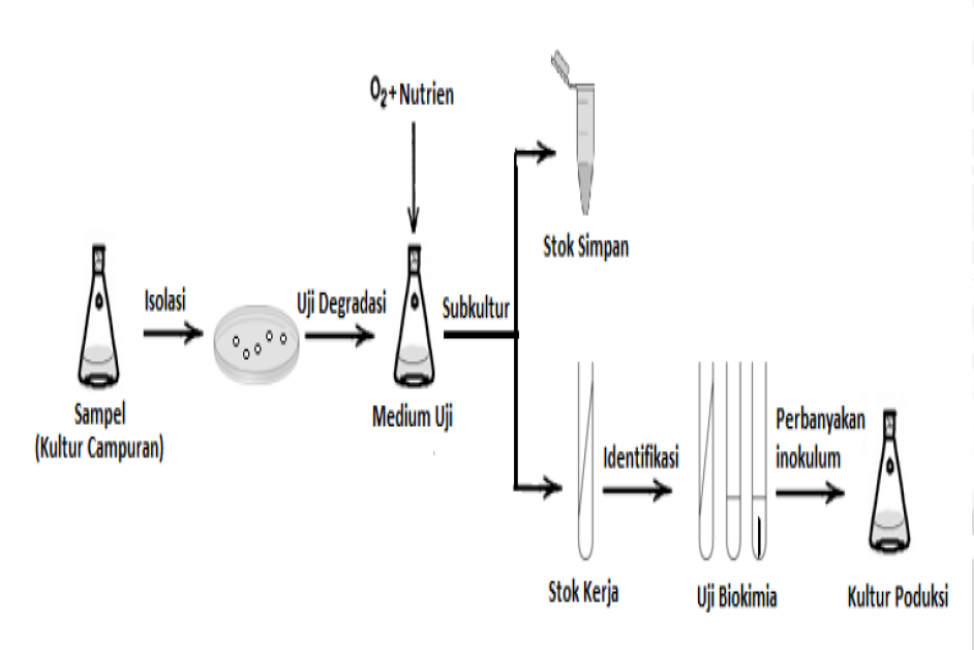
1. Masing-masing isolat bakteri yang terpilih dimurnikan dalam NAS (Natrium Agar Slant)
2. Dilakukan pengaambilan 1-3 koloni bakteri
3. Sampel bakteri disuspensikan dengan 10 ml air fisiologis
4. Suspensi bateri diambil sebanyak 100 µl
5. Suspensi bakteri dimasukkan pada masing-masing sumuran Microbat Identification Kits
6. Suspensi bakteri diinkubasi pada suhu optimum pertumbuhan bakteri objek penelitian selama 24 jam

7. Amati perubahan warna dan bentuk dari bakteri
8. Hasil uji fisiologis dicocokkan dengan karakteristik fisiologi bakteri yang terdapat pada buku panduan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Nine Edition.

3.5.6 Uji Efektivitas Bakteri sebagai Bioremidiasi

Uji efektivitas bakteri yang ditemukan dalam identifikasi bakteri sebagai agen bioremidiasi pada limbah industri gula sebagai tempat bakteri berasal, digunakan untuk mengetahui seberapa efektif bakteri tersebut dalam melakukan remidiasi pada limbah industri gula atau pada limbah yang mengandung unsur gula di dalamnya. Uji efektivitas bakteri lokal dari limbah yang sama telah diatur pula dalam Kementerian Lingkungan Hidup No. 128 tahun 2003 yang menjelaskan mengenai cara dan persyaratan teknis dalam mengolah limbah secara biologis. Limbah yang dikhususkan adalah limbah minyak bumi dan limbah yang mengontaminasi tanah oleh minyak bumi dengan mnggunakan mikroba lokal sebagai agen bioremidiasi. Namun dalam penelitian dilakukan uji remidiasi bakteri lokal dari limbah cair industri gula, karena menurut Gerardi (2006) daya remidiasi mikroba terhadap pengolahan air limbah tidak diragukan lagi, seperti jamur, bakteri, serta protozoa yang terkandung di dalam air limbah.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Priadie (2012), menerapkan prosedur kerja dalam menguji kemampuan remidiasi bakteri terhadap limbah yang diberi dengan metode yang dijelaskan dalam gambar berikut :



Gambar 8. Proses Isolasi, uji remidiasi, identifkasi, dan kultur bakteri (Priadie, 2012).

Namun pada penelitian ini dilakukan sedikit perbedaan langkah-langkah yang dilakukan. Pada penelitian ini isolat murni dari bakteri yang telah ditumbuhkan diambil untuk dikultur dan diidentifikasi. Kultur bakteri sehingga diperoleh hasil pertumbuhan bakteri yang lebih banyak untuk dilakukan uji remidiasi secara aerobik, dan limbah cair industri gula yang tidak diberi bakteri dijadikan sebagai kontrol efektivitas bakteri yang dikultur sebagai bioremidiasi. Berdasar pada buku panduan Basic Practical Microbiology A Manual (Burdass *et al.* 2006), kultur bakteri dapat dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

1. Menimbang media NB (Nutrium Broth) yang dibutuhkan dengan timbangan digital
2. Larutkan NB yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer yang berisi aquades dan dihomogenkan dengan spatula
3. Larutan NB direbus di atas hot plate hingga mendidih

4. Larutan NB yang telah direbus disterilkan selama 15 menit pada suhu 121^{o}C dalam autoclave pada tekanan 1 atm
5. Media NB dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml
6. Media ditunggu hingga dingin
7. Isolat murni disiapkan dan jarum ose disterilkan terlebih dahulu di atas bunsen
8. Isolat murni diinokulasi ke dalam media NB dan dihomogenkan dengan vortex mixer
9. Kekeruhan yang diperoleh dibandingkan dengan larutan McFarlan
10. Sampel diinkubasi kembali selama 2 x 24 jam dengan suhu 27^{o}C.

Setelah dilakukan kultur bakteri dan diperoleh bakteri yang tumbuh paling banyak, kemudian dilakukan uji efektivitas bakteri sebagai bioremidiasi pada air limbah industri gula yang telah disediakan. Hasil kultur bakteri dimasukkan ke dalam limbah cair industri gula dan ditunggu hingga 2-4 hari untuk diketahui hasilnya. Uji eektivitas bakteri dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut :

1. Alat dan bahan yang diperlukan disediakan terlebih dahulu
2. Alat dirancang menjadi empat bagian, yaitu tiga botol winkler sebagai wadah uji remidiasi yang diberi bakteri, sedangkan tiga botol winkler lainnya tanpa diberi bakteri sebagai kontrol, dan satu botol winkler digunaka sebagai pengisi aquadest sebagai penyangga uji. Rancangan alat, didesain secara aerobik sehingga menggunakan aerator.
3. Bakteri yang telah dikultur dan diinkubasi selama 2 hari, diambil dan dimasukkan ke dalam sampel

4. dilakukan test aerator terlebih dahulu, apakah dapat mengeluarkan gelembung yang banyak, atau sedikit dan bahkan tidakmengeluarkan gelembung sama sekali. Hel tersebut menandakan terjadi kelonggaran pada penutup botol dan selang aerasi.
5. Sampel dibiarkan selama 4-5 hari dalam kondisi teraerasi
6. Pada hari ke 5, sampel diambil dan mulai dilakukan uji kualitas air limbah, yang akan menjawab apakah bakteri yang diberikan, mampu menjadi agen remidiasi bagi limbah cair industri gula
7. Efektivitas bakteri diketahui setelah dibandingkan nilai kualitas air limbah awal, kontrol dan akhir.

3.6 Kualitas Air Limbah

3.6.1 Derajat Keasaman (pH) (Teledo, 2007)

Berdasar pada Buku pH Theory Guide, pengukuran pH dapat dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut :

a. Persiapan Sampel

Persiapan terhadap sampel yang akan digunakan ini adalah salah satu hal yang penting yang menjadi pertimbangan. Hal ini sangat penting untuk pengukuran parameter lainnya seperti pengukuran suhu atau untuk menjaga nilai suhu yang dibutuhkan. Adapun alasan dilakukannya hal ini disebabkan karena nilai pH akan mempengaruhi nilai suhu pada sampel.

b. Kalibrasi

pH meter yang digunakan perlu dilakukan kalibrasi terlebih dahulu, hal ini sangat direkomendasikan untuk dilakukan setidaknya dilakukan sekali dalam sehari sebelum pengukuran dilakukan. Kalibrasi diperlukan untuk menyetel slope dan offset pH meter untuk mendapatkan nilai yang sebenarnya pada sistem pengukuran terhadap sampel.

c. pH meter (Elektroda)

pH meter (elektroda) memiliki peran yang sangat penting dalam penyampaian ketetapan nilai pH. Keawetan elektroda adalah yang paling penting untuk kkeberlangsungan penggunaan elektroda dalam jangka waktu yang lama untuk memperoleh hasil pengukuran nilai pH yang terbaik. Jika elektroda tidak dibersihkan setelah penggunaan maka alat tersebut tidak dapat memberi nilai yang akurat pada pengukuran pH selanjutnya.

Adapun pengukuran pH dapat dilakukan melalui tahap-tahap sebagai berikut :

1. Tuang sampel secukupnya pada gelas pengukuran sampai level sampel yang dituang berada di atas penyambung elektroda.
2. Pastikan bahwa suhuu pada sampel telah diketahui dan dipastikan atau suhu tersebut terukur selama ketetapan nilai pH melalui internal atau eksternal sesor suhu pada alat tersebut.
3. Aduk sampel dan celupkan elektroda ke dalam air sampel.
4. Jika suhu pada sampel yang telah diketahui sbeelumnya berbeda dengan yang tertera pada elektroda, dapat dipastikan bahwa penyimpangan tersebut terjadi karena gradien suhu telah berhenti sebelum memulai pembacaan pH.
5. Tekan tombol pengukuran pada pH meterdan tunggu hingga diperoleh nilai akhir yang stabil.
6. Keluarkan elektroda dari air sampel dan basuh elektroda dengan air sulingan atau aquadest.
7. Dan pengukuran selanjutnya dapat dilakukan kembali.

3.6.2 Temperatur

Ehinger *et al.* (2013) di dalam bukunya dan berdasar pada KMK No.1335 menjelaskan cara pengukuran suhu apabila menggunakan thermometer yang menggunakan air raksa (Hg) dapat dilakukan melalui tahapan kerja sebagai berikut :

1. Sebelum menggunakan Thermometer Hg dianjurkan untuk dikalibrasi terlebih dahulu
2. Uji fungsi thermometer terlebih dahulu sebelum digunakan
3. Memasukkan Thermometer Hg ke dalam sampel limbah cair dengan cara membelakangi sinar matahari (usahakan tidak terkena sinar matahari langsung) didiamkan selama 1-2 menit sampai air raksa thermometer bergerak dan berhenti pada skala tertentu
4. Catat nilai skala yang ditunjukkan oleh air raksa pada thermometer sebagai nilai suhu perairan dalam ^{0}C tanpa harus diangkat thermometernya.

3.6.3 BOD (Biological Oxygen Demand) (Haryadi, 2004)

Pengukuran BOD pada prinsipnya cukup sederhana, yaitu dapat dilakukan dengan cara mengukur kandungan oksigen terlarut awal (DO_0) dilakukan dengan segera dari sampel air limbah yang baru saja diambil, kemudian air sampel diinkubasi selama 5 hari dalam kondisi tanpa cahaya dan dengan suhu yang konstan yaitu 20^{o}C, setelah itu dilakukan pengukuran kandungan oksigen terlarutnya sebagai DO_5. Selisih DO_0 dan DO_5 merupakan nilai dari BOD yang dinyatakan dalam mg/L. Pengukuran nnilai BOD dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut :

1. Volume botol DO yang digunakan, diukur dan dicatat terlebih dahulu

2. Air limbah sebagai sampel, diambil menggunakan botol DO yang telah diukur, diupayakan agar tidak terdapat gelembung udara yang masuk bersama air sampel
3. MnSO4 dan NaoH+KI masing-masing sebanyak 2 ml, ditambahkan ke dalam sampel
4. Larutan dihomogenkan dengan cara dibolak-balik
5. Larutan dibiarkan mengenndap
6. Setelah mengendap, air bening bagian atas endapan dibuang secara perlahan, sehingga hanya endapan saja yang diperoleh
7. H2SO4 sebanyak 2 ml ditambahkan ke dalam endapan, dan dikocok hingga endapan larut
8. Larutan amilum sebanyak 4 tetes ditambahkan ke dalam sampel, kemudian sampel dititrasi menggunakan Na2S2O3 0,0025 N, hingga terjadi perubahan warna sampel menjadi bening pertama kali
9. Mili titran dicatat, dan hitung nilai DO_0 menggunakan rumus berikut :

$$\text{Oksigen Terlarut} = \frac{\text{Volume (titran)} x\ N\ (titran) x\ 8\ x\ 1000}{Volume\ (sampel) - 4}$$

10. Sampel air limbah yang lain, di simpan selama 5 hari pada suhu 20^{o}C, untuk diukur nilai DO pada hari kelima sebagai DO_5 dengan mengulangi poin 1-9 di atas
11. Nilai BOD diperoleh dengan menggunakan rumus berikut :

$$BOD = DO_1 - DO_5$$

3.6.4 COD (Chemical Oxygen Demand) (Haryadi, 2004)

Pada prinsipnya pengukuran COD adalah penambahan sejumlah kalium bikarbonat ($K_2Cr_2O_7$) yang digunakan sebagai oksidator pada sampel dengan volume tertentu yang telah ditambahkan asam pekat dan katalis perak sulfat, yang kemudian dipanaskan selama beberapa menit. Kemudian, kelebihan dari kalium bikarbonat dilakukan titrasi.

Pengukuran nilai COD, dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut :

1. Air limbah sebagai sampel disiapkan terlebih dahulu sebanyak 2,5 ml
2. Sampel dimasukkan ke dalam cuvet, dan diberi larutan DS (Digesive Solution) sebanyak 1,5 ml, dan larutan SA (Sulfuride Acid) sebanyak 3,5 ml
3. Pada saat pemberian larutan SA, peneliti dilarang untuk memegang bagian badan cuvet, karena larutan SA bersifat sangat panas dan berbahaya
4. Cuvet ditutup dengan penutup dalam kondisi sangat rapat, hal ini untuk menghindari terjadinya ledakan pada saat sampel di masukkan ke dalam COD reactor
5. Setelah ditutup dengan rapat, sampel dibolak balik untuk menghomogenkan larutan
6. Sampel dimasukkan ke dalam COD reactor
7. Sampel ditunggu, hingga skala maksimum pada COD reactor menuju skala minimun
8. Setalah itu, sampel dikeluarkan dari COD reactor dan ditunggu hingga dingin
9. Sampel dipindahkan pada cuvet refraktometer, untuk diketahui nilainya, sebelum dikonversikan ke nilai sesungguhnya, dan diperoleh hasilnya.

3.6.5 TSS (Total Suspended Solid)(Rahmawati dan Azizah, 2005)

Pengukuran Total Suspended Solid dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut :

1. Air limbah disiapkan sebanyak 50 ml
2. Inkubator dipanaskan terlebih dahulu sampai menunjukkan nilai suhu 98^{o}C
3. Setelah inkubator menunjukkan shu 98 ^{o}C, kertas saring dioven di dalam inkubator selama 1 jam
4. Kertas saring yang telah dioven, dikeluarkan dari inkubator dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit
5. Kertas saring yang telah didesikator, diambil dan di timbang sebagai nilai awal
6. Kertas saring diletakkan pada vacum pump
7. Air limbah dituang pada vacum pump dan dilakukan vacum
8. Setelah air limbah divacum, kertas saring diangkat dan dimasukkan kembali ke dalam desikator selama 15 menit
9. Ulangi poin 3 hingga poin 5 untuk mendapatkan nilai akhir
10. Nilai TSS dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\textbf{TSS} = \frac{(\mathrm{A}-\mathrm{B})\ \mathrm{x}\ 1000}{ml\ contoh}$$

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kualitas air limbah PT.Tlogo Kelang, yang meliputi uji nilai BOD, COD, dan TSS menunjukkan bahwa limbah cair PT. Tlogo Kelang masih dalam kisaran baik. Hal tersebut dibuktikan melalui nilai parameter kualitas air limbah uji, yang masih berada di bawah angka wajar peraturan pemerintah. Hasil dan pembahasan penelitian, secara jelas akan diuraikan sebagai berikut.

4.1 Deskripsi Lokasi Pengambilan Sampel

4.1.1 PT. Tlogo Kelang, Kabupaten Malang, Jawa Timur

PT.Tlogo Kelang merupakan salah satu industri gula yang terletak di daerah Malang, selain PT.Kebon Agung, dan PG.Krebet. Perusahaan yang dibangun di atas lahan seluas 9.800 m2 terletak pada jalur yang strategis, berada tepat pada lingkungan lahan tebu sebagai bahan baku utama pembuatan gula, yaitu pada Desa Krebet Senggrong, Kecamatan Bululawang, Kabupaten Malang, terletak pada koordinat 112o17’10,90” – 112o57’00” BT dan 7o44’55,11” – 8o26’35,45” LS (Google Earth, 2015). Peta lokasi PT.Tlogo Kelang dapat di lihat pada **Lampiran 3.**

Terdapat perbedaan antara PT.Tlogo Kelang dengan industri gula lainnya, PT.Tlogo Kelang tidak memproduksi gula pasir putih, melainkan memproduksi gula merah dalam bentuk butiran. IndNetwork PT.Tlogo Kelang (2014), menjelaskan bahwa PT.Tlogo kelang memproduksi gula merah tebu tidak dalam bentuk cetakan melainkan dalam bentuk butiran, seperti halnya gula pasir lainnya. Gula merah tebu yang dihasilkan digunakan sebagai bahan baku pembuatan makanan, minuman dan bahan makanan lainnya baik bagi perusahaan besar maupun perusahan kecil.

Perusahaan yang sebelumnya merupakan perusahaan tradisional dengan kapasitas produksi yang masih sangat minim yaitu sekitar 50 TCD kini telah berubah menjadi perusahaan modern yang dibangun melalui proses study kelayakan yang cukup ketat, yang mana dalam pembangunannya PT.Tlogo Kelang dirancang dan melibatkan para ahli dalam bidangnya seperti halnya Duta Engineering sebagai designer dan dibantu oleh PT.Indocode Surya sebagai narasumber (Tlogokelang, 2011).

Gambar 9. PT.Tlogo Kelang

Dalam blog resmi PT.Tlogo Kelang (2011) dijelaskan bahwa saat ini PT.Tlogo Kelang telah menjadi pabrik gula modern dengan kapasitas 1000 TCD. Perusahan ini merupakan pioner dalam penggunaan sistem penguapan Close pan pada industri gula merah. Penggunaan sistem close pan vacum dan tidak menggunakan bahan kimia, sehingga dapat dipastikan produk yang dihasilkan merupakan produk dengan kualitas yang baik, alami serta hiegenis.

4.2 Hasil Identifikasi Bakteri

Hasil identifikasi bakteri sebagai kandidat uji bio remidiasi limbah cair industri gula PT.Tlogo Kelang, sajikan melalui tiga tahap identifikasi yaitu

identifikasi bakteri secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Adapun hasil identifikasi bakteri dapat dijelaskan sebagai berikut :

a. Hasil Identifikasi Bakteri Secara Makroskopis

Identifikasi bakteri secara makroskopis pada isolat yang telah ditumbuhkan, diperoleh dua strain dengan karakteristik masing-masing, yaitu S1 diketahui berbentuk bulat, memiliki tepian yang rata dengan elevansi cembung, dan konsitensi basah serta strain ini berwarna kuning. Sedangkan pada S2 diketahui memiliki bentuk yang sama dengan S1 yaitu bulat, namun memiliki tepian yang tidak rata, elevansi datar dan konsitensi kering serta berwarna krem. Lebih jelasnya, hasil dari pengamatan makroskopis koloni bakteri yang dikultur dapat dilihat pada **Tabel 1.**

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni

No	Isolat	Karakteristik Morfologi Koloni				
		Bentuk	Tepi	Elevansi	Warna	konsistensi
1.	Strain 1	Bulat	Rata	Cembung	Kuning	Basah
2.	Strain 2	Bulat	Tidak rata	Datar	Krem	Kering

Karakteritik morfologi dari setiap koloni yang terbentuk menunjukkan ciri khas dari bakteri yang membentuknya. Dengan melakukan pengamatan secara morfologi untuk mengetahui bentuk serta jenis dan warna dari koloni membantu pemahaman akan jenis bakteri yang membentuk koloni tersebut. Dari data di atas strain 1 diperoleh dari koloni dengan bentuk bulat, tepian rata, dengan elevansi cembung, warna kuning dengan konsistensi yang basah. Strain 2

diperoleh dari koloni yang berbentuk bulat, tepian tidak rata, elevansi datar, dengan warna krem dan konsistensi yang kering.

Perbedaan karakteristik koloni bakteri tersebut disebabkan oleh jenis bakteri yang berbeda-beda namun bakteri yang berbeda pun dapat membentuk morfologi yang serupa sehingga uji morfologi saja pada identifikasi bakteri tidak cukup dan diperlukan tingkatan uji lebih lanjut yaitu uji mikroskopis dan uji biokimia bakteri (Lehninger, 1992).

Menurut Kaiser (2006) perbedaan morfologi bakteri ini dipengaruhi oleh lingkungan, medium pertumbuhan bakteri serta usia bakteri. Oleh karena itu diketahui bahwa morfologi bakteri merupakan pemberi informasi pertama terhadap bakteri yang diteliti.

b. **Hasil Identifikasi Bakteri Secara Mikroskopis**

Melalui hasil identifikasi bakteri secara mikroskopis, diperoleh parameter yang lebih spesifik jika dibandingkan dengan indentifikasi bakteri secara makroskopis. Adapun hasil dari indentifikasi mikroskopis yaitu pada S1 diketahui memiliki warna kuning, diameter koloni yaitu 1,25 mm, merupakan gram positif dengan bentuk sel yang bulat, memiliki sifat nonmotil, reaksi terhadap uji oksidase dan citrate adalah positif, namun bereaksi negatif pada uji katalase serta produksi indol dan uji VP.

Pada strain 2 menunjukkan hasil identifikasi mikroskopis dengan warna krem, koloni berdiameter 3,19 mm, berbentuk batang dan merupakan gram positif. Pada uji motil, strain ini memiliki sifat motil, dan memberi rekasi negatif pada uji oksidase, indol, dan citrate. Pada uji katalase dan VP strain 2 memberi reaksi yang positif. Lebih jelasnya, hasil identifikasi bakteri secara mikroskopis disajikan dalam **Tabel 2.**

Tabel 2. Karakteristik Strain Bakteri Secara Mikroskopis

Parameter	Strain 1	Strain 2
Warna koloni	Kuning	Krem
Diameter koloni (mm)	1,25	3, 19
Reaksi gram	Positif	Positif
Bentuk sel	Bulat	Batang
Motilitas	NonMotil	Motil
Oksidase	Positif	Negatif
Katalase	Negatif	Positif
Produksi indol	Negatif	Negatif
Penggunaan karbon dari citrate	Positif	Negatif
Uji TSIA	Tidak Diuji	Tidak Diuji
Voges Proskauer	Negatif	Positif

Dari hasil pengamatan karakteristik strain bakteri secara mikroskopis diperoleh hasil dengan masing-masing uji yang dilakukan yaitu warna koloni, diameter koloni, reaksi gram dan bentuk sel yang merupakan refleksi dari jenis bakteri masing-masing, sehingga hasil yang diperoleh sesuai dengan karakteristik bakteri yang ditemukan yang akan dijelaskan selanjutnya.

Uji motilitas yang merupakan kemampuan untuk bergerak yang bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri apakah bersifat motil (bergerak) yang diperoleh pada strain 2 atau non motil (tidak bergerak) yang diperoleh pada strain 1 dan uji ini digunakan pula untuk mengetahui produksi indol dari Tryptophane (Kismiyati *et al.* 2009).

Pada strain 1 dan strain 2 diperoleh hasil negatif dalam produksi indol, yang mana produksi indol itu sendiri merupakan hormon tumbuh yang jika bakteri yang menghasilkan hormon ini diaplikasikan pada tumbuhan maka dapat membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman yang dimaksud.

Namun pada kedua strain yang diteliti ini tidak mampu menghasilkan hormon indol tersebut, sehingga tidak dapat diaplikasikan pada peningkatan kesuburan pertumbuhan tanaman atau organisme lainnya. Hormon ini biasanya banyak dihasilkan oleh bakteri Diazotrof endofitik yang merupakan bakteri yang hidup pada jaringan tanaman yang mampu mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui hormon indole yang dihasilkannya (Ishwari dan Patricia, 2006).

Terdapat pula uji katalase dan uji oksidasi yang dilakukan yang bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri yang bersangkutan dalam menghasilkan enzim katalase. Uji oksidasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri yang diujikan. Uji ini dapat dilakukan dengan menggunakan paper oksidase yang dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi pada paper oksidasi tersebut (Kismiyati *et al.,* 2009).

Hasil uji menunjukkan bahwa strain 1 pada uji katalase adalah postif yaitu strain 1 mampu menghasilkan enzim katalase, sedangkan strain 2 diperoleh hasil negatif yang berarti bahwa strain 2 tidak mampu menghasilkan enzim katalase yang merupakan enzim yang berperan dalam mengkonversi H2O2 menjadi H2O dan O2 (Zainuri dan Wanandi, 2012).

Pada uji oksidase, strain 1 diperoleh hasil yang negatif yang berarti bahwa strain 1 tidak bersifat oksidasi atau tidak memiliki kemampuan fermentasi terhadap glukosa, sedangkan strain 2 memiliki kemampuan tersebut karena hasil yang diperoleh adalah positif. Sedangkan hasil uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) bertujuan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuannya dalam memecah laktosa, sukrosa, dextore serta pembebasan sulfida. Uji ini pula

digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji mampu menghassilkan gas, H_2S atau tidak (Kismiyati, 2009).

Uji citrate yang dilakukan diperoleh hasil pada strain 1 yaitu positif sedangkan pada strain 2 diperoleh hasil negatif. Prescott (2002) menjelaskan bahwa uji ini dilakukan untuk mengetahui penggunaan sitrat oleh bakteri sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi dalam proses metabolismenya. Jika diketahui bahwa mikroba tersebut mampu menggunakan sitrat, maka untuk keperluan penelitian asam akan dihilangkan dari medium biakan, yang dapat menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Hasil di atas menjelaskan bahwa bakteri pada strain 1 mampu menggunakan sitrat sedangkan pada strain 2 tidak mampu.

Uji VP (Voges Proskauer) secara umum bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji mampu mengubah glukosa menjadi pyrufat (Kismiyati, 2009). Pada hasil penelitian di atas menunjukkan bahwa strain 1 negatif dan strain 2 positif dalam merubah glukosa menjadi pyrufat. Uji ini biasanya dilakukan untuk membantu dalam proses penanganan bakteri untuk keperluan penelitian dan perumusan bahan kimia lainnya.

c. Hasil Uji Biokimia Bakteri

Uji biokimia dapat pula disebut sebagai uji fisiologi pada objek yang dlakukan dan dalam hal ini adalah bakteri. Uji biokimia merupakan suatu cara untuk mendeterminasi hasil biakan murni bakteri melalui sifat fisiologinya dan proses biokimia ini sangat erat kaitannya dengan proses metabolisme sel yaitu reaksi kimiawi yang dilakukan oleh sel untuk menghasilkan energi ataupun menggunakan energi untuk pembentukan sel untuk kegiatan seluler (Petczar dan Chan, 2010). Hasil uji Biokimia bakteri yang ditemukan pada limbah cair industri gula PT. Tlogo Kelang, lebih jelasnya disajikan pada **Tabel 3.**

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri

NO	Uji Biokimia	Strain 1	Strain 2
1	Spora	–	+
2	Oksidase	–	+
3	Motilitas	–	+
4	Nitrat	–	–
5	Lysin	–	–
6	Ornithin	–	–
7	H_2S	–	–
8	Glukosa	+	+
9	Manitol	+	+
10	Xylosa	–	+
11	ONPG	–	–
12	Indole	–	–
13	Urease	–	–
14	V-P	–	–
15	Sitrat	–	+
16	TDA	–	–
17	Gelatin	–	–
18	Malonat	–	–
19	Inositol	–	–
20	Rhamnosa	–	–
21	Sukrosa	–	–
22	Lactosa	–	–
23	Arabinosa	–	+
24	Adonitol	–	–
25	Raffinosa	–	–
26	Salicin	–	–
27	Arginin	–	–
28	Katalase	+	+
29	Koagulase	+	–

Uji biokimia bakteri pada kedua strain yaitu pada S2 siperoleh hasil uji negatif pada parameter uji spora, oksidase, motilitas, nitrat, lysin, ornithin, H_2S, glukosa, xylosa, ONPG, indole, urease, VP, sitrat, TDA, gelatin, malonat, inositol, rhamnosa, sukrosa, lactosa, arabinosa, adonitol, raffinosa, salicin, serta arginin. Sedangkan S1 memberi respon positif pada uji glukosa, manitol, katalase, dan

koagulase yang mana hampir dari seluruh parameter uji biokimia ini adalah berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam merombak dan memanfaatkan zat gula.

Ciri fisiologis yang diperoleh dari hasil uji biokimia sangat penting untuk menentukan dan mengetahui jenis bakteri yang tidak dikenal, karena tanpa hasil pengamatan fisiologis yang memadai terhadap kandungan organiknya maka penentuan jenis bakteri tersebut tidak dapat dilakukan. Pentingnya uji ini dikarenakan hanya dengan melakukan uji morfologi saja tidak akan mampu menjawab dasar-dasar penentuan jenis bakteri yang ditemukan karena pada sifat morfologi pada dua jenis bakteri yang berbeda dapat saja terlihat serupa (Lehninger, 1992).

Uji biokimia sel bakteri dengan berbagai komponen uji, dilakukan untuk menentukan secara jelas jenis bakteri apa yang ditemukan. Komopenen uji biokimia yang telah dilakukan dapat diuuraikan sebagai berikut :

a. Uji Spora, pada uji spora hanya ditemukan pada bakteri S1, sedangkan bakteri S2 adalah negatif. Spora pada bakteri biasa tumbuh pada bakteri terrmofilik yaitu bakteri yang mampu hidup pada suhu 40 ^{o}C – 60 ^{o}C atau lebih. Bakteri yang menghasilkan spora seringkali menyebabkan kerusakan makanan, bakteri ini biasa tumbuh pada media yang mengandung gula atau karbohidrat, bakteri ini pada umumnya tergolong jenis bakteri *Bacillus* dan *Clostirisium*. Kontaminasi bakteri ini pada produk berkarbohidrat akan menimbulkan masalah, terlebih lagi jika bahan tersebut digunakan sebagai bahan dasar makanan atau pada produk pengkalengan (Ramadhina, 2013).
b. Uji Nitrat, uji ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna merah atau merah muda setlah penambahan reagen reagen uji yang menjelaskan bahwa nitrat yang terkandung telah tereduksi menjadi nitrit (Ferdiaz, 1992).

c. Uji Lysin, dilakukan menggunakan Lysine Iron Aga (LIA) dan Triple Sugar Iron Agar (TSIA). Uji dengan media ini bertujuan untuk mengetahui mikroorganisme dengan kemampuannya dalam memecah karbohidrat spesifik dengan atau tanpa menghasilkan gas. Berdasar pada uji tersebut akan diketahui mikroba non fermenter, fermenter glukosa, atau merupakan mikroba fermenter glukosa dan laktosa. Uji lysin ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri yang uji mampu menghasilkan asam amino lisin atau tidak (Haryani *et al.* 2012).

d. Uji Gula, bertujuan untk menentukan apakah bakteri/mikroba yang diuji mampu mendegradasi gula serta menghasilkan asam organik yang dapat dijadikan sebagai sumber energy maupun karbon bagi mikroba berasal dari tiap - tiap jenis gula yang meliputi glukosa (merupakan monosakarida heksosa), sukrosa, maltosa, lactosa, xylosa (merupakan monosakarida pentosa), arabinosa (merupakan monosakarida pentosa), manitol dan inositol (Kismiyati *et al.* 2009).

e. Uji Ornithin, uji ini perlukan untuk mengatahui apakah bakteri uji mampu mneghasilkan ornithin yang mana ornithin sendiri merupakan asam amino yang dapat digunakan oleh beberapa bakteri untuk kebutuhan karbon dan energinya (Wilson, 2012).

f. Uji H_2S, dalam Wright (2012) uji H_2S secara sederhana digunakan untuk mengetahui keberadaan dari bakteri uji yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hitam atau menjadi ungu. Melalui uji ini pula dikathui mikroba yang mampu menghasilkan gas H_2S (Haryani *et al.,* 2012).

g. Uji Manitol, uji ini dilakukan menggunakan mannitol salt yang merupakan media selektif dan medium pembeda yang digunakan sebagai pembeda terhadap bakteri *Staphylococi. Staphylococ*cus *aureus* yang teridentifkkasi akan merubah warna media menjadi berwarna kuning, dan jenis

*Staphylococ*cus *epidermidis* tidak akan merubah warna media (Fester, 2007).

h. Uji ONPG, uji ini merupakan keberlanjutan dari uji lactosa. The Ortho-nitrophenol test for beta-Galactosidase Production (ONPG test), pada bakteri fermentasi lactosa yang memecah lactosa menjadi glukosa dan galaktosa yang melibatkan enzim beta-galactosa, terkadang memberi tanggapan positif terhadap uji ONPG, yang sebelumnya gagal dalam memproduksi asam yang cukup dari laktosa untuk merubah indikator pada kondisi tes yang dilakukan (Lapage, 1973).

i. Uji Urease, uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis organisme yang mampu dalam hidrolisis urea untuk memproduksi ammonia dan karbonioksida dengan mengekspresikan enzim yang dapat menghidrolasi senyawa tersebut (American Society Microbiology, 2013).

j. Uji TDA (Tryptophan Deaminase), uji ini menunjukkan bakteri yang mampu melakukan deaminasi asam amino L-Tryptophan untuk memproduksi asam Indolepiruvat. L-Tryptophan yang terdeaminase (perpindahan residu amino dari asam amino) menjadi alpha keto acid (Asam Indolepiruvat) dan ammonia (Microbiology International, 2002).

k. Uji Gelatin, digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam melakukan hidrolisis gelatin menjadi asam amino yang akan digunakan sebagai sumber nutrien atau yang biasa disebut gelatinase (Fester, 2007).

l. Uji Malonat, sama halnya dengan uji yang lain bahwa uji malonat menggunakan media malonat broth, yang bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji mampu menggunakan malonat sebagai sumber karbon dan energy, yang mana aktifitas ini ditandai dengan perubahan nilai pH dan warna dari indikator pH (Wilson, 2012).

m. Uji Inositol, uji ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah bakteri uji bersifat patogen atau tidak. Jika perlakuan terhadap uji inositol positif menandakan bahwa bakteri tersebut merupakan patogen sedangkan bakteri yang tidak bersifat patogen menunjukkan keterangan negatif (Wilson, 2012)..

n. Uji Rhamnosa, uji ini digunakan untuk membedakan jenis bakteri yang mampu atau bakteri dengan kebiasaannya melakukan fermentasi karbohidrat dengan yang tidak melakukan fermentasi karbohidrat. Media rhamnosa basa yang digunakan untuk mengidentifikasi organisme yang memiliki kemampuan dalam melakukan fermentasi terhadap karbohidrat yang spesifik yang mana pada akhirnya akan menghasilkan asam atau asam dan gas (Wilson, 2012).

o. Uji Adonitol, tujuan dilakukannya uji ini adalh untuk mengetahui kemampuan mikroba, apakah mampu melakukan fermentasi terhadap karbohidrat (gula) adonitol sebagai sumber karbon bagi mikroba tersebut. Jika adonitol tersebut terfermentasi untuk menghasilkan produk akhir dari asam, maka pH pada media akan turun dengan drastis, dan akan terjadi perubahan warna media sebagai indikasi terbentuknya asam (Wilson, 2012).

p. Uji Raffinosa, yang merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan jenis bakteri yang mampu melakukan perombakan terhadap gula raffinosa. Gula raffinosa dapat digunakan oleh beberapa bakteri untuk digunakan sebagai sumber energi dan karbon melalui peran enzim (Wilson, 2005).

q. Uji Salicin, dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri yang mampu melakukan fermentasi terhadap gula salicin yang disediakan dalam media tumbuh bakteri. Salicin merupakan gula yang dapat digunakan oleh beberapa bakteri sebagai sumber karbonnya (Farmer, 1992).

r. Uji Arginin, dilakukan untuk menentukan jenis bakteri yang mampu melakukan perombakan terhadap arginin. Arginin merupakan senyawa asam amino esensial, dan merupakan komponen utama penyusun protein (Farmer, 1992).

s. Uji Koagulase, uji ini digunakan untuk menjelaskan kemampuan bakteri yang diuji apakah mampu mempebntuk kuagulasi atau gumpalan plasma untuk menghindari serangan pertahanan diri dari objek yang diserang oleh bakteri tersebut. Dalam hal ini bakteri *Staphylococ*cus *aureus* memiliki kemampuan tersebut (Fester, 2007).

Hasil uji biokimia di atas merupakan gambaran jelas terhadap spesifikasi bakteri yang diuji, sehingga bakteri tersebut dapat disimpulkan jenisnya. Melalui hasil uji di atas diketahui bahwa strain 1 merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* sedangkan strain 2 merupakan bakteri *Bacillus subtilis.* Kedua bakteri yang ditemukan ini merupakan bakteri kultur dan yang diidentifikasi adalah bakteri yang paling dominan. Dua jenis bakteri ini merupakan jenis bakteri yang dominan terkultur dari limbah cair industri gula.

Limbah cair industri gula yang menjadi objek penelitian adalah jenis limbah air kondensor yang memiliki karakteristik yaitu mampu hidup pada suhu tinggi. Namun bakteri yang ditemukan merupakan bakteri mesofilik dan termofilik yang tahan pada suhu tinggi dan sangat tinggi, yang mana suhu bakteri mesofilik yaitu bakteri yang mampu hidup pada kisaran suhu 20 ^{o}C – 45 ^{o}C namun suhu optimum bakteri mesofilik berkisar antara 30 ^{o}C – 37 ^{o}C. Sedangkan bakteri termofilik merupakan bakteri yang mampu hidup pada kondisi lingkungan dengan suhu berkisar antara 50-55^{o}C dengan kisaran pertumbuhan pada suhu 45 ^{o}C – 75 ^{o}C (Arisman, 2012).

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan jenis bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter berkisar antara 0,7 – 1,2 µm, hidupnya berkoloni atau berkelompok dengan formasi yang tidak teratur, bakteri ini merupakan bakteri fakultatif aerob. Bakteri yang dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37 ^{o}C ini mampu membentuk pigmen dengan sempurna pada keadaan suhu kamar yaitu sekitar 20 ^{o}C – 25 ^{o}C (Kusuma, 2009).

Staphylococcus aureus mampu membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas tua. Warna kuning dari koloni bakteri ini disebabkan oleh adanya pigmen lopichrom, biasanya warna kuning oleh pigmen ini adalah kuning keemasan juga berwarna seperti kuning jeruk dan warna kuning yang dimiliki oleh bakteri ini membedakannya dengan bakteri *Staphylococcus sp* jenis lainnya (Todar, 2002).

Adapun taksonomi *Staphylococcus aureus* dalam ZipCodezoo (2009) adalah sebagai berikut

Phylum : Firmicutes

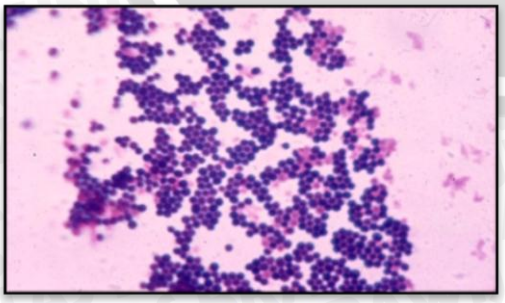
Class : Bacilli

Order : Bacillales

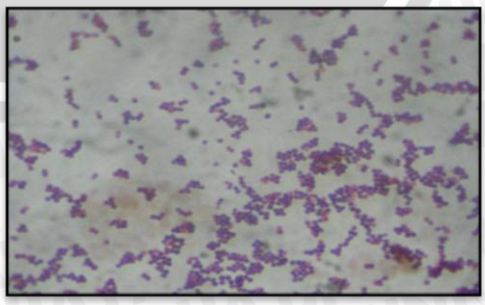
Family : Staphylococaceae

Genus : Staphylococcus

Species : *Staphylococcus aureus*



(Mikrobeworld, 2011)



(Hasil identifikasi)

Bakteri yang bersifat aerob fakultatif ini merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit bagi makhluk hidup, tidak hanya manusia akan tetapi hewan juga akan menjadi korban jika terinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri yang berkoloni tidak teratur ini mampu tumbuh pada berbagai media pertumbuhan bakteri, dan koloni mampu tumbuh dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada pembenihan yang padat, dapat berbentuk bundar, halus, menonjol, serta berkilauan (Dewi, 2013).

Staphylococcus aureus yang ditemukan dari indentifikasi kultur bakteri limbah cair industri gula ini, diketahui akan menggangu kesehatan manusia dan hewan jika terinfeksi. Limbah cair industri gula yang ternyata mengandung jenis bakteri ini, harus diolah dengan baik dan benar terlebih dahulu sebelum dialirkan menuju aliran sungai atau badan air penerima limbah lainnya. Dalam Kusuma (2009) dijelaskan bahwa bakteri ini merupakan bakteri yang dapat hidup sebagai flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan pada manusia.

Dalam ilmu kedokteran dijelaskan bahwa jika terkena infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* akan terjadi kerusakan jaringan disertai dengan abses bernanah. Dan dijelaskan pula beberapa infeksi yang terjadi pada manusia oleh bakteri *Staphylococcus aureus* seperti jerawat, bisul, impetigo dan infeksi pada luka terbuka (Warsa, 1994). *Staphylococcus aureus* di dalam Harris *et al.,* (2002) dijelaskan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri pathogen yang utama, dan bakteri ini dapat meningkatkan kemampunnya dalam melemahkan ketahanan tubuh pada makhluk hidup khususnya manusia dan hewan.

Mengingat beberapa bahaya yang akan terjadi pada manusia juga hewan jika terinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus,* harus dipastikan bahwa bakteri ini tidak boleh ada dilingkungan sekitar dalam jumlah yang berlebihan, dalam artian

bahwa segala sesuatu yang akan memacu pertumbuhan bakteri berbahaya bagi kesehatan manusia harus terus dipantau dan diantisipasi dengan berbagai upaya kesehatan lingkungan, seperti halnya upaya bioremidiasi bagi limbah industri.

Berdasar pada hasil identifikasi kultur bakteri, ditemukan bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel kultur bakteri limbah cair indusri gula jenis air limbah kondensor, sehingga upaya dalam pengolahan limbah cair industri gula harus terus dilakukan, karena limbah cair industri gula yang pada awalnya dianggap tidak berbahaya, dan pengolahan limbah melaluo aerator saja dianggap cukup, namun kenyataannya air limbah industri gula juga berbahaya jika tidak diolah lebih serius.

b. *Bacillus subtilis*

Mikroorganisme ini dapat hidup di semua tempat yang mendukung pertumbuhannya. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme bisa terjadi dimana saja, mengingat mikroorganisme dapat tersuspensikan melalui udara dan mengendap bersama tanah dan debu. Aryadi dan Dewi (2009) menjelaskan bahwa mikroorganisme yang tersuspensi dengan udara dapat mengendap bersama debu pada berbagai tempat seperti pada pakaian, meja dan juga lantai serta tempat-tempat lainnya yang bisa dengan mudah terkontaminasi oleh debu, air maupun tanah terkecuali tempat-tempat yang memang dijaga agar tetap steril seperti ruang operasi dan laboratorium.

Bacillus subtilis dikenal juga sebagai bakteri bacillus berambut dan merupakan bakteri gram positif yang bisa ditemukan di tanah dan pada saluran pencernaan rumansia serta manusia. Bakteri ini berbentuk batang dan kokoh serta memiliki endospora sebagai pelindung sel, yang membantu bakteri dapat bertahan pada kondisi yang ektrem sekalipun. *Bacillus subtilis* merupakan bakteri aerob obligat meskipun pada beberapa referensi lain menyatakan bahwa bakteri

ini merupakan bakteri aerob fakultatif. Bakteri ini dapat menghasilkan enzim yang bermanfaat baik dalam bidang kedokteran maupun pada skala industri oleh perusahaan biotekhnologi (Wikipedia, 2014).

Adapun taksonomi *Bacillus subtilis* dalam ZipCodezoo (2009) adalah sebagai berikut :

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Species : *Bacillus subtillis*

(Trade.indiamart, 2014) (Hasil identifikasi)

Bacillus subtilis merupakan salah satu jenis bakteri kontaminan yang sangat mudah dikembangkan. Bakteri gram postif ini bersifat kontaminan dan memiliki ketahanan yang kuat sama halnya dengan *Staphylococcus aureus* yang keduanya merupakan bakteri gram positif. Menurut Pratiwi (2008) bakteri jenis gram positif merupakan bakteri yang mengandung peptidoglikan yang tinggi dengan lipid yang lebih tebal jika dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Oleh karena itu, kedua bakteri ini lebih sulit untuk diberi antibakteri karena struktur selnya yang berlapis-lapis.

Brodgen (2005) menyatakan bahwa kedua bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur sel yang berlapis-lapis, sedangkan bakteri gram negatif berstruktur tebal namun tidak berlapis, dan mekanisme antibiotik itu sendiri adalah dengan merusak membran plasma yang dimaksudkan, agar kemampuan membran plasma bakteri yang berfungsi sebagai penghalang osmosis akan menurun, sehingga dapat menganggu proses biosentetis dalam membran sel bakteri, namun terhadap kedua bakteri ini sedikit sulit untuk dilakukan.

Di dunia, bakteri *Bacillus subtilis* telah mendapat perhatian lebih sejak dahulu kala bahkan sebelum adanya antibiotik sebagai agen immunostimulan, yang digunakan sebagai obat penyakit saluran pencernaan. Budidaya *Bacillus subtilis* pun mulai berkembang bahkan sangat pesat, hal ini berdasar pada sifat stabilitas dari bakteri yang sangat baik sehingga sering kali bakteri ini digunakan sebagai probiotik. Tingkat stabilitas bakteri yang tinggi pada kondisi lingkungan yang ekstrim sekalipun membuat bakteri ini banyak diperhatikan sebagai kandidat probiotik yang dapat diaplikasikan pada pembuatan roti/makanan, dan pasteurisasi makanan atau pada bidang kedokteran seperti pembuatan obat-obatan dalam bentuk tablet, cair ataupun bubuk (Shylakhovenko, 2003).

Namun bakteri *Bacillus subtilis* juga memberi beberapa kerugian bagi tubuh manusia dan hewan, dalam Oggioni *et al.,* (1998) *Bacillus subtilis* diketahui dapat menyebabkan penyakit immunocompromis berat pada pasien, dan sebaliknya juga dapat digunakan sebagai probiotik bagi pasien yang sehat. Bakteri *Bacillus subtilis* dapat berkembang dengan sangat baik pada makanan, hal ini disebabkan makanan mengandung nutirisi yang cukup tinggi yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri ini dengan baik.

Sangat diperlukan ketelitian dalam mengolah makanan, agar tidak terkontaminasi oleh bakteri yang pada akhirnya akan menyebabkan penyakit

khusunya pada saluran pencernaan. Selain itu, bakteri ini juga mampu hidup dengan baik pada limbah domestik maupun industri yang memproduksi bahan makanan. Pepe (2003) meyatakan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang mampu hidup dan bertahan pada kondisi yang sangat panas. Hal ini berdasar pada sifat *Bacillus subtilis* yang merupakan bakteri termofilik yang mampu hidup bahkan pada suhu 70^{o}C.

Hal ini benar adanya, ketika melihat kondisi di lapang bahwa sampel limbah cair industri gula jenis limbah kondensor memiliki suhu yang sangat tinggi, sehingga pada proses pengolahannya harus dilakukan aerasi guna untuk menurunkan suhu agar ketika limbah dialirkan menuju badan air penerima limbah, tidak akan mengganggu keseimbangan kehidupan biota air lainnya.

4.3 Kualitas Air Limbah

4.3.1 Derajat Keasaman (pH)

Menurut Jenie dan Rahayu (1993) derajat keasaman (pH) merupakan aktivitas ion hidrogen di dalam perairan yang mana nilai pH itu sendiri akan menunjukkan tingkat keseimbanngan antara sifat asam dan basa dalam limbah tersebut. Hasil pengukuran nilai pH air limbah industri gula yaitu diperoleh nilai pH 4,8 untuk pH awal, pH kontrol adalah 6 dan pH akhir adalah 7.

Menurut Rachmawan (2001) pentingnya pengukuran pH pada limbah yang akan diuji, adalah untuk mengetahui batas nilai pH yang sesuai terhadap media hidup bakteri yang akan dikultur, selain itu pH juga mempengaruhi proses penjernihan air limbah, pada air limbah dengan nilai pH yang kurang atau lebih dari angka netral maka akan mempersulit proses penjernihan air limbah tersebut, sedangkan untuk menumbuhkan bakteri pada dasarnya membutuhkan pH dengan kisaran 6,5 – 7,5. Nilai pH berdasarkan Peraturan Menteri Negara

Lingkungan Hidup No.03 Th.2010 dapat dilihat pada **Lampiran 5**, sedangkan nilai pH selama penelitian disajikan dalam **Tabel 4.**

Tabel 4. Nilai Derajat Keasaman (pH)

No.	Nama UJi	Nilai pH	Keterangan	Sumber
1.	$pH_{(awal)}$	4,8	Kurang dari batas minimum yang diharuskan terhadap baku mutu air limbah bagi kawasan industri, yaitu 6 -9.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.
2.	$pH_{(kontrol)}$	6	Berada pada batas minimum yang diharuskan terhadap baku mutu air limbah bagi kawasan industri, yaitu 6 – 9.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.
3.	$pH_{(hasil)}$	7	Berada pada batas yang sewajarnya yang diharuskan terhadap baku mutu air limbah bagi kawasan industri, yaitu 6 – 9.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.

Perubahan nilai pH menunjukkan bahwa telah terjadi reaksi perombakan bahan organik di dalam air limbah oleh mikroorganisme. Nilai pH awal diperoleh sebesar 4,8 dan pada pH hasil diperoleh nilai pH yang mendekati netral yaitu 7. Nilai pH yang menuju ke arah basa menandakan bahwa bahan organik telah terdekomposisi, hal ini sesuai dengan pernyataan Polpraset (1989), bahwa

degradasi protein dan nitrogen organik menjadi ammonium dapat menyebabkan kenaikan pH menjadi basa. Menurut Garnisah (2011) proses katalase asam piruvat secara sempurna terjadi pada proses respirasi aerobik. Proses ini menghasilkan CO2, H2O dan energi yang lebih banyak yaitu 38 ATP. Sedangkan proses anaerob hanya menghasilkan 2 ATP dengan 21 Kal.

Namun pada kondisi pH yang terlalu tinggi akan melarutkan nitrogen yang kemudian akan menjadi amoniak (Rizaldi, 2008). Pada dasarnya amoniak merupakan senyawa berbahaya jika terkandung di dalam badan air penerima, yang dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup secara langsung baik manusia dan hewan, untuk mecegah terbentuknya amoniak di dalam peraian, maka nilai pH harus disesuaikan dengan kapasitas badan air penerima.

Nilai pH yang diperoleh sesuai dengan baku mutu pH air limbah yaitu berkisar antara 6 – 9. Pada kisaran pH tersebut masih mendukung pertumbuhan biota perairan dengan baik, oleh karena itu penambahan bakteri pada uji bioremidiasi terhadap limbah cair industri gula dinyatakan berhasil.

4.3.2 Temperatur

Sastrawijaya (2009) menyatakan bahwa suhu memiliki pengaruh yang besar terhadap tingkat kelarutan oksigen di dalam perairan, yang mana kenaikan suhu pada perairan berbanding terbalik dengan kadar oksigen dalam perairan. Keberadaan oksigen di dalam perairan berpengaruh pada proses respirasi organisme perairan, semakin tinggi suhu maka daya respirasi akan semakin meningkat. Pada penelitian ini, suhu air limbah sebesar 29^{o}C. Pentingnya mengetahui suhu air limbah industri gula, adalah untuk mempermudah pembuatan media hidup bakteri yang akan dikultur, yang sesuai dengan habitat aslinya (Rachmawan, 2001).

Hasil indentifikasi terhadap kultur murni bakteri limbah cair industri gula, ditemukan dua jenis bakteri yang dominan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis.* Kedua bakteri tersebut dapat tumbuh pada kondisi mesoterm, pada bakteri suhu ini berkisar antara 20-45^{o}C dan optimum pada suhu 30-37^{o}C (Arisman, 2012). Bakteri *Bacillus subtillis* merupakan bakteri termofilik yang mampu bertahan hidup pada suhu tinggi, yaitu berkisar antara yaitu 45 - 70^{o}C. Oleh karena itu bakteri ini dapat ditemukan pada daerah bersuhu tinggi seperti pada sumber air panas, tempat pengomposan juga pada kawah gunung merapi (Kosim dan Putra, 2010). Hal ini sesuai dengan sampel bakteri yang diambil dari air limbah industri gula khususnya jenis limbah kondensor yang bersuhu sangat tinggi (Handayani *et al.,* 2012).

Novick *et al.,* (2000) menyatakan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* mampu tumbuh optimum pada suhu 37^{o}C, namun bakteri ini mampu membentuk pigmen yang sempurna pada suhu kamar yaitu berkisar 20-25^{o}C. Oleh karena itu pada suhu 29^{o}C kedua bakteri ini mampu tumbuh dan berkembang meskipun tidak mencapai optimum, sehingga pada pembuatan media kultur dengan suhu 29^{o}C dapat diperoleh hasil kultur yang baik dari kedua bakteri tersebut.

4.3.3 Biological Oxygen Demand (BOD)

Nilai BOD diperoleh bervariasi yaitu nilai BOD awal sebesar 5,52 mg/L, BOD kontrol diperoleh nilai 4,73 mg/L, serta pada BOD akhir diperoleh nilai sebesar 2,89 mg/L. Nilai BOD yang semakin menurun, menunjukkan bahwa uji bioremdiasi secara in vitro dengan menggunakan bakteri kultur dari limbah yang sama adalah berhasil, karena mampu menurunkan kadar BOD dari 5,52 mg/L hingga 2,89 mg/L, nilai tersebut sudah dinyatakan aman untuk dilepas ke badan perairan sesuai dengan PP. No.28 Th.2001 bahwa nilai BOD maksimal yang dapat dilepas di perairan tipe B adalah sebesar 3 mg/L.

Menurut Al fikri (2014) yang dapat dikatakan air bersih jika nilai BOD kurang dari 1 mg/L atau 1 ppm, dan jika nilai BOD melebihi 4 maka air tersebut dikatakan tercemar. Nilai BOD berdasarkan Peraturan Pemerintah Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air No.82 Th.2001 dapat dilihat pada **Lampiran 6.** Pada ketiga uji tersebut diperoleh hasil BOD berturut-turut yang dapat dijelaskan melalui **Tabel 5.**

Tabel 5. Nilai Biologycal Oxygen Demand (BOD)

No.	Nama UJi	Nilai BOD (mg/L)	Keterangan	Sumber
1.	BOD $_{(awal)}$	5,52	Melebihi batas maksimal BOD di perairan tipe B yaitu 3 mg/L.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air
2.	BOD $_{(kontrol)}$	4,73	Melebihi batas maksimal BOD di perairan tipe B yaitu 3 mg/L.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air
3.	BOD $_{(hasil)}$	2,89	Aman untuk perairan tipe B, karena kurang dari batas maksimal BOD yang diperbolehkan untuk perairan tipe B.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air

Menurut Sofyan (2011) menurunnya nilai BOD disebabkan oleh hasil degradasi dari sebagian bahan organik yang terkandung di dalam air limbah, yang belum mengalami penguraian menjadi sel-sel baru. Sel-sel baru yang tersuspensi akibat penguraian akan dipisahkan melalui proses pengendapan dalam pengukuran DO_5. Aktifitas degradasi oleh bakteri berlangsung dengan baik dalam kondisi terang atau masih mendapat masukan cahaya, karena bakteri yang diperoleh dari limbah cair industri gula merupakan bakteri aerobik yang membutuhkan oksigen dan cahaya. Rahayu (2007) menyatakan bahwa BOD merupakan jumlah kebutuhan oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk mengoksidasi senyawa organik yang terkandung di dalam limbah, dan hasil BOD menunjukkan besarnya kadar senyawa organik yang terbiodegradasi.

Jenie dan Rahayu (1993) menyatakan bahwa bakteri yang berasal dari limbah bahan organik, mampu melakukan degradasi bahan organik dengan baik, karena kebanyakan dari mikroorganisme yang terkandung dalam limbah organik adalah bakteri kemoheterotrof yang menggunakan bahan organik sebagai sumber energi dan bahan makanannya. Oleh karena hal tersebut, bakteri ini sangat mampu dijadikan sebagai agen bioremidiasi karena mampu berperan aktif dalam merombak bahan-bahan organik di dalam limbah cair organik.

4.3.4 Chemical Oxygen Demand (COD)

Uji COD diperoleh hasil yang berbeda-beda, yaitu nilai COD awal sebesar 56 mg/L, nilai COD kontrol yaitu 53,6 mg/L dan diperoleh nilai COD akhir hasil remidiasi sebesar 50 mg/L. Hasil uji remidiasi diketahui bahwa nilai COD mengalami penurunan yang dapat dilihat pada nilai COD $_{(hasil)}$ yang merupakan nilai COD setelah dilakukan uji bioremidiasi. Nilai COD berdasarkan Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010 dapat dilihat pada **Lampiran**

4. Adapun hasil dari uji laboratorium terhadap COD limbah cair industri gula dapat dijelaskan melalui **Tabel 6.**

Tabel 6. Nilai Chemycal Oxygen Demand (COD)

No.	Nama Uji	Nilai COD (mg/L)	Keterangan	Sumber
1.	COD $_{(awal)}$	56	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum COD di perairan bagi kawasan industri adalah 100 mg/L.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.
2.	COD $_{(kontrol)}$	53,6	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum COD di perairan bagi kawasan industri adalah 100 mg/L.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.
3.	COD $_{(hasil)}$	50	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum COD di perairan bagi kawasan industri adalah 100 mg/L.	Permen Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010, Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Industri.

Pada dasarnya nilai COD harus mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu penelitian yang dilakukan hingga 2 minggu penelitian. Karena

COD merupakan banyaknya oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk melakukan proses kimia di dalam perairan, dalam hal ini adalah air limbah industri gula. Hal tersebut sesuai dengan hasil yang diperoleh nilai COD mengalami penurunan yaitu dari 56 mg/L menjadi 50 mg/L.

Nilai COD tidak mengalami penurunan tajam, meskipun demikian hasil yang diperoleh masih dalam toleransi yang baik bagi perairan, hal tersebut dapat terjadi karena banyaknya massa mikroorganisme yang terkandung di dalam limbah cair, sehingga akan semakin banyak oksigen yang dibutuhkan untuk kebutuhan oksidasi mikroorganisme dan perombakan bahan organik (Caroline, 2012). Banyaknya mikroorganisme yang tumbuh menyebabkan nilai COD mengalami penurunan atau bahkan meningkat.

Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Carolina (2012) bahwa nilai COD naik seiring dengan pertambahan jumlah sel mikroorganisme. Dengan penambahan kultur bakteri pada uji bioremidiasi maka akan menambah pula jumlah sel mikroorganisme yang hidup di dalam air limbah tersebut, yang akan melakukan remidiasi terhadap bahan organik dan melakukan oksidasi sehingga kadar oksigen menurun dan kadar karbondioksida meningkat.

Pada dasarnya nilai COD yang tinggi tidak baik bagi perairan karena akan mengganggu proses oksidasi bagi organisme akuatik lainnya yang juga membutuhkan oksigen. Karena nilai COD yang semakin meningkat, mengindikasikan bahwa mikroorganisme tumbuh semakin banyak dan semakin banyak pula kebutuhan akan oksigen. Pada penelitian ini diperoleh nilai COD yang masih berada pada ambang batas bahkan masih aman bagi perairan.

4.3.5 Total Suspended Solid (TSS)

Uji TSS pada air limbah industri gula diperoleh nilai TSS awal yaitu sebesar 20,5 mg/L, uji TSS kontrol sebesar 22,7 mg/L, dan diperoleh nilai yang lebih

besar pada uji TSS hasil yaitu sebesar 23,4 mg/L. Nilai TSS berdasarkan Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.03 Th.2010 dapat dilihat pada **Lampiran 4.** Adapun hasil dari uji TSS disajikan melalui **Tabel 7**.

Tabel 7. Nilai Total Suspended Solid (TSS)

No.	Nama Uji	Nilai TSS (mg/L)	Keterangan	Sumber
1.	TSS $_{(awal)}$	20,5	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum TSS di perairan bagi kawasan industri adalah 150 mg/L.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air
2.	TSS $_{(kontrol)}$	22,7	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum COD di perairan bagi kawasan industri adalah 150 mg/L.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air
3.	TSS $_{(hasil)}$	23,4	Berada pada nilai aman bagi badan air penerima limbah kawasan industri. Kadar maksimum COD di perairan bagi kawasan industri adalah 150 mg/L.	PP.No.82 Th.2001, Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air

Data yang diperoleh menunjukkan nilai TSS yang semakin meningkat seiring pertambahan hari yang memacu pertumbuhan mikroorganisme yang telah dikultur lebih banyak. Hal ini tidak sesuai dengan yang diharapkan agar dapat menurunkan nilai TSS, mengingat air limbah yang berubah warna menjadi bening dari warna semula yaitu berwarna hijau gelap.

Menurut Carolina (2012), terjadi kenaikan pada nilai TSS dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu adanya pengadukan air limbah yang dilakukan terus menerus, sehingga endapan limbah tercampur ke dalam air limbah, selain itu kenaikan nilai TSS juga dipengaruhhi oleh meningkatnya biomassa mikroorganisme dalam air limbah sehingga bahan organik pun semakin bertambah yang akan tersuspensi pada kertas saring sehingga nilai TSS meningkat.

Rachmawan (2001) menegaskan bahwa dalam air limbah bisa saja mengandung senyawa organik lainnya seperti halnya fungi. Fungi memiliki ukuran berkisar dari 1 sampai 5 µm yang tersuspensi pada kertas saring. Hal ini juga menguatkan hasil penelitian, pada saat media kultur bakteri dibuat tidak hanya bakteri yang tumbuh namun organisme lain pun tumbuh dengan baik, seperti halnya jamur, yang tumbuh begitu subur seperti halnya bakteri yang terkultur. Oleh karena itu, nilai TSS meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan mikroorganisme dan bergantung pada banyaknya sel mikroorganisme yang terkandung di dalam air limbah tersebut, dalam hal ini adalah limbah cair industri gula.

4.4 Analisis Hasil Uji Remidiasi

Pentingnya mengolah limbah cair dengan cara yang tepat dan cepat dengan alasan bahwa limbah cair pada umumnya mengandung padatan tersuspensi maupun terlarut, yang akan mengalami perubahan fisik, kimia dan

biologi yang dapat menjadi media tumbuh bagi kuman dan pada akhirnya dapat menghasilkan senyawa beracun oleh aktifitas bakteri. Limbah berubah menjadi berwarna hijau ataupun coklat kehitaman dan berbau busuk yang disebabkan oleh aktifitas fermentasi yang dilakukan oleh bakteri pada limbah, apabila limbah tersebut langsung dialirkan ke sungai, maka akan mencemari sungai dan menyebabkan sungai menjadi kehilangan fungsi yang sesungguhnya, jika sungai yang telah tercemar masih digunakan maka akan menimbulkan berbagai penyakit seperti gatal-gatal, diare, dan mual (Muhajir, 2013).

Uji bioremdiasi yang dilakukan selama 5 hari secara aerob dianggap mampu menurunkan nilai BOD limbah secara drastis yaitu 5,52 mg/L menjadi 2,89 mg/L. Namun hal ini tidak sejalan dengan penurunan COD yang akan mempengaruhi nilai TSS. Nilai COD mengalami penurunan yaitu dari 56 mg/L menjadi 50 mg/L, hal ini menunjukkan hasil yang baik terhadap upaya remidiasi. Namun nilai TSS mengalami peningkatan yaitu dari 20,5 mg/L mengalami menjadi 23,4 mg/L.

Terlebih dahulu telah dijelaskan oleh Carolina (2012) dan Rachmawan (2001) bahwa hal tersebut bisa saja terjadi karena adanya mikroorganisme lain yang tumbuh di dalam air limbah seperti jamur, dan banyaknya sel-sel mikroorganisme yang terkandung di dalam limbah. Namun semua nilai parameter di atas masih berada pada ambang kewajaran kualitas air dari limbah industri yang berdasar pada berbagai peraturan pemerintah yang telah dijelaskan di atas.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ditemukan dua jenis bakteri dominan yang tumbuh pada limbah cair Industri Gula PT. Tlogo Kelang yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis.*
2. Uji remidiasi menurunkan kadar BOD dan COD, namun nilai TSS semakin meningkat. Nilai BOD awal sebesar 4,73 mg/L hingga diperoleh nilai BOD akhir hasil remidiasi yaitu 2,89 mg/L. Nilai COD awal yaitu sebesar 56 mg/L, dan pada COH hasil remidiasi diperoleh nilai COD sebesar 50 mg/L. Sedangkan nilai TSS awal yaitu 20,5 mg/L dan mengalami kenaikan pada uji TSS hasil remidiasi yaitu 23,4 mg/L. Uji pH yang dilakukan pada uji awal diperoleh nilai pH yaitu 4,8 hingga pada uji hasil remidiasi diperoleh nilai pH menjadi 7.

5.2 Saran

Perlu dilakukan uji bioremidiasi lebih lanjut dengan memperhatikan komponen-komponen uji yang lebih detail, seperti menambahkan parameter uji nitrat, guna mengetahui kelarutan bahan organik dalam air limbah selama proses remidiasi, sehingga hasil penelitian diperoleh lebih jelas dan akurat.

DAFTAR PUSTAKA

Ahahermanto, 2012. **Gambar Pengenceran Bertingkat**. http://suka-suka-surya.blogspot.com/2012/10/definisi-prinsip-kelebihan-dan.html Diakses pada Maret 2015

Al fikri, A., 2014. **BOD (Biological Oxygen Demand) dan COD (Chemical Oxygen Demand).** Program Studi Analisis Kimia, Universitas Padjajaran

American Society for Microbiology, 2013. **BioChemical Identifying Microbiology**. America

Anggraeni, M. D., 2012. **Uji Disinfeksi Bakteri Eschericia coli Menggunakan Kavitasi Water Jet.** Skripsi. Program Studi Teknik Kimia, Universitas Indonesia.

Aparna C., P. Saritha, V. Himabindu, A. Bhandari, and Y. Anjaneyulu, 2010. **Evaluation of Bioremediation Effectiveness on Sediments Contaminated with Industrial Wastes.** Research Article. Institute of Science and Technology, Jawaharlal Nehru Technological University, Hyderabad. Vil.1 No.4. ISSN 0976-4402.

Ariyadi, T. dan S. S. Dewi, 2009. **Pengaruh Sinar Ultra Violet Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus* sp. Sebagai Bakteri Kontaminan.** Jurnal Kesehatan. Vol. 2 No. 2

Badjoeri M., dan T. Widiyanto., 2008. **Penggunaan Bakteri Nitrifikasi Untuk Bioremidiasi dan Pengaruhnya Terhadap Konsentrasi Amonia dan Nitrit di Tambak Udang.** Oseanologi dan Limnologi. Pusat Penelitian Limnologi – LIPI. 34 (2) : 261-276.

Bayu, F., 2009. **Pewarnaan Gram**. http://rusmaaryani.blogspot.com Diakses pada Maret 2015

Brodgen, K. A., 2005. **Antimicrobial Peptides : Pore Formers or Metabolic Inhibitors in Bacteria ?.** Microbial 3 : 238 - 250. DOI

Burdass D., J. Grainger and J. Hurst., 2006. **Basic Pratical Microbiology A Manual.** E-Book. Society for General Microbiology (SGM). UK. ISBN 0 95368 383 4.

Carolina, S. dan Neni, 2012. **Netralisasi Limbah Karet Oleh Beberapa Jenis Mikroalga.** Prosiding Seminar Perhimpunan Bioteknologi Pertanian Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Fisika Terapan LIPI Subang : 433-439.

Darmayasa, I. B. G., 2008. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar.** Jurnal Bumi Lestari. Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, F MIPA, Universitas Udayana. Vol.8 No.2 hal. 122-127.

Departemen Pertanian. 2009. **Roadmap Industri Gula.** Direktorat Jenderal Industri Agro dan Kimia, Departemen Perindustrian, Jakarta.

Dewi, A. K., 2013. **Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta.** Jurnal Sain Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. JSV 31 (2). ISSN : 0126 – 0421.

Doraja, P. H., M. Shovitri, dan N. D. Kuswytasari., 2013. **Biodegradasi Limbah Domestik dengan Menggunakan Inokulum Alami dari Tangki Septik.** Paper Undergraduate. Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya.

Ehinger, K., D. Flach, L. Gellrich, E. Horlebein, Dr. R. Huck, H. Ilgner, T. Kayser, H. Muller, H. Schadlich, A. Schussler, and U. Staab. 2013. **Industrial Temperature Measurement – Basics and Practice.** ABB Automation Products GmbH

Ekawati, E.R., Ni'matuzahroh, T. Surtiningsih dan A. Supriyanto, 2012. **Eksplorasi dan Idnetifikasi Bakteri Selulotik pada Limbah Daduk Tebu (*Saccharum Officinarum* L).** Berk. Penel. Hayati. Pascasarjana Biologi, F-Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. 18 (31-34).

Farmer III, J. J., G. P. Carter, V. L. Miller, S. Falkow, and I. K. Wachsmuth. 1992. **Pyrazinamidase, CR-MOX Agar, Salicin Fermentation-Esculin Hydrolysis, and D-Xylose Fermentation for Identifying Pathogenic Serotypes of *Yersinia enterocolitica*.** Journal of Clinical Microbiology. Stanford University, California. Vol.30 No.10

Ferdiaz, S., 1992. **Mikrobiologi Pangan.** Jakarta ; Gramedia Pustaka Utama.

Fester. 2007. **Bacterial Identification Tests**. Nevada

Gerardi, M.H., 2006. **Wastewater Bacteria.** New Jersey. John Willey

Gospodarek, E., T. Bogiel and P. Zalas-Wiecek, 2009. **Communication Between Microorganisms as a Basis for Production of Virulence Factors.** Polish Journal of Microbiology. Department of Microbiology, Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland. Vol. 58, No.3, 191-198.

Handayani N. I., S. B. Sangsoko, dan A. Hadiyarto, 2012. **Kajian Parameter Suhu dalam Baku Mutu Air Limbah Industri Gula Jenis Air Limbah Kondensor di Jawa Tengah**. Magister Ilmu Lingkungan, Universitas Diponegoro.

Harris, L. G., S. J. Foster and R. G. Richards, 2002. **An Introduction to *Staphylococcus aureus* and Techniques for Indentifying Quantifying *S. Aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials : Review.** European Cells and Materials Vol. 4,pages 39-60. ISSN 1473-2262.

Haryani, Y., Chainulfifah dan Rustiana. 2012. **Fermentasi Karbohidrat oleh Isolat *Salmonella* spp. dari Jajanan Pinggir Jalan.** FMIPA, Universitas Riau. ISSN 2085-0050

Haryadi, S., 2004. **BOD Dan COD Sebagai Paramter Pencemaran Air dan baku Mutu air limbah.** Makalah Individu Pengantar Filsafah Sains (PPS) IPB. Bogor.

Husin, A., 2008. **Pengolahan Limbah cair Industri Tahu dengan Biofiltrasi Anaerob dalam reaktor Fixed-Bed**. Tesis. Pasca Sarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan.

Ishwari dan P. Patricia, 2006. **Produksi Hormon Asam Indol-3-Asetat oleh Bakteri Diazotrof Endofitik dan Aplikasinya pada Tanaman Kentang.** Institut Pertanian Bogor.

Jaenudin A., 2011. **Metodologi Penelitian Eksperimen**. Makalah disampaikan pada kegiatan In Service I Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah oleh LPMP Yogyakarta. Fakultas Teknik UNY.

Jenie, B. S. L. dan W. P. Rahayu, 1993. **Penanganan Limbah Industri Pangan**. Penerbit Kanisus Anggota IKAPI : Yogyakarta.

Jurnal Riset Industri, 2009. **Menuju Lingkungan yang Bebas Cemaran Industri.** Jurnal Riset Industri. Vol. III No.1 Page 1-85. Jakarta. ISSN 1978 – 5852

Karigar, C. S., and S. S. Rao, 2011. **Role of Microbial Enzymes in the Bioremidiation of Pollutants: A Review**. Review Article. Department of Biochemistry, Bangalore University, India.

Kaswinarni, F., 2007. **Kajian Teknis Pengolahan Limbah Padat dan Cair Industri Gula.** Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang.

Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2003 Tentang Tata Cara dan Persyaratan Teknis dan Pengelolaan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi secara Biologis (Bioremidiasi)

Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 112 Tahun 2003 Tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik

Kismiyati, S., Subekti, R. W. N. Yusuf, dan R. Kusdarwati. 2009. **Isolasi dan Identifkasi Bakteri Gram Negatif Pada Luka Ikan Maskoki *(Carassius auratus)* Akibat Infestasi Ektoparasite *Argulus sp.*** Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Airlangga. Vol. 1 No.2

Kokare, C. R., S. Chakraborty, A. N. Khopade and K. R. Mahadik, 2008. **Biofilm: Importance and Applications.** Indian Journal of Biotechnology. Department of Pharmaceutical Biotechnology, Bharati Vidyapeeth University. Vol 8, pp 159-168.

Kosim, M., dan S. R. Putra, 2010. **Pengaruh Suhu Pada Protease Dari *Bacillus subtillis***. Prosiding Skripsi Semester Genap. Jurusan Kimia, FMIPA, ITS Surabaya.

Kusuma, S. A. F., 2009. ***Staphylococcus aureus***. Makalah. Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.

Lapage, S. P., W. A. Clark, E. F. Lessel, H. P. R. Seeliger, P. H. A. Sneath. 1973**. Proposed Revision of International Code of Nomenclature of Bacteria.** International Journal System Microbial. 23:83-108

Lehninger. 1992. **Dasar-dasar Biokimia Jilid 1**. Jakarta : Erlangga

Lia, A., 2013. **Isolasi Mikroba**. https://www.scrib.com/mobile/doc Diakses pada Maret 2015

Lilik, A. W., 2014. **Uji Potensi Antibakteri yang Diisolassi dari Air dan Sedimen pada Bakteri *Vibrio Alginolythicus* dan *Staphylococcus aureus.*** PKL. Universitas Brawijaya

Mambang, D. E. P., Rosidah, dan D. Suryanto. 2014. **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri Bacillus subtillis dan Staphylococcus aureus**. Jurnal Teknologi Lingkungan dan Industri Pangan. Program Studi Magister Farmasi Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan. Vol. 25 No.1 ISSN : 1979-7788

Metcalf and I. N. C. Eddy, 2003. **Wastewater Engineering : Treatment, Disposal dan Reuse.** McGraw-Hill, Inc, USA.

Megasari, R., D. Biyatmoko, W. Ilham, J. Hadie, 2012. **Identifikasi Keragaman Bakteri pada Proses Pengolahan Limbah Cair Industri Minuman dengan Lumpur Aktif Limbah Tahu**. EnviroScienteae. Pascasarjana Program Studi Pengelolaan Sumberdaya Alamdan Lingkungan, Universitas Lambung Mangkurat. ISSN 1978-8096.

Microbeworld, 2011. **Staphylococcus aureus**. http://www.microbeworld.org/staphylococcus_auerus/ Diakses pada Maret 2015

Microbiology International. 2002. **Microgen™ GN-ID Guide to Interpretation – Tryptophan Deaminase Reaction.** Technical Buletin

Muhajir, M. S., 2013. **Penururnan Limbah Cair BOD dan COD pada Industri Tahu Menggunakan Tanaman Cattail (*Typha Angustifolia*) dengan Sistem Constructed Wetland.** Skripsi. Jurusan Kimia, Universitas Negeri Semarang.

Muhsin, A., 2011. **Pemanfaatan Limbah Hasil Pengolahan Pabrik tebu Blotong Menjadi Pupuk Organik**. Industrial Engineering Conference. Fakultas Teknologi Industri, UPN, Yogyakarta.

Moertinah, S., 2010. **Kajian Proses Anaerobik Sebagai Alternatif Teknologi Pengolahan Air Limbah Industri Organik Tinggi. Jurnal Riset Teknologi Pencegahan dan Pencemaran Industri.** Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri. Vol.1 No.2

Nasution, D. Y., 2004. **Pengolahan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit yang Berasal dari Kolam Akhir (Final Pond) dengan Proses Koagulasi Melalui Elektrolisis.** Jurnal Sains Kimia. Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sumatera Utara. Vol.8 No.2, 38-40.

Nugroho, A. 2006. **Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos : Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremidiasi Land Treatment.** Makara Teknologi. Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan, Universitas Trisakti, Jakarta. Vol. 10 No.2 : 82-89

Parkin, G. F. and W.E. Owen, 1986. **Fundamental of Anaerobic Digestion of Wastewater Sludge.** International Ed, New York.

Pepe, O., G. Blaiotta, G. Moschetti, T. Greco, F. Villani, 2003. **Rope-producing Strains of Bacillus spp. From Wheat Bread and Strategy for Their Control by Lactic Acid Bacteria.** Appl. Envionment Microbial. 69 (4): 2321

Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 03 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Kawasan Indusri

Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 05 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Industri Gula

Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air

Petczar, M. J. dan E. C. S. Chan, 2010. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jakarta : UI press.

Polprasert, C., 1989. **Organic Waste Recycling**. Inc. Indonesia.

Pratita, M. Y. E., dan S. R. Putra, 2012**. Isolasi dan Identifikai Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi.** Jurnal Teknik Pomits. Institute Teknologi Sepuluh November, Surabaya. Vol. 1 No. 1. 1-5.

Pratiwi, S. T., 2008. **Mikrobiologi Farmasi**. Erlangga : Jakarta

Prescott, H., 2002. **Laboratory Exercise in Microbiology**. The MC-Graw Hill Companies. New York ; 126, 139.

Priadie, B., 2012. **Teknik Bioremidiasi Sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air.** Jurnal Ilmu Lingkungan. Peneliti Muda Bidang Teknik Lingkungan SDA. Pusat Litbang Sumberdaya Air. Vol. 10, Issue 1 : 38 – 48. ISSN 1829-8907.

PT.Tlogo Kelang, 2014. **Profile PT.Tlogo Kelang.** http://tlogokelang.indonetwork.co.id/profile/pt-tlogo-kelang.htm Diakses pada Maret 2015.

Rachmawan, O., 2001. **Ruang Lingkup Mikroorganisme.** Departemen Pendidikan Nasional Proyek Pengembangan Sistem dan Standar Pengolahan SMK Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan Jakarta, Jakarta.

Rahmawati D., 2011. **Pengaruh Kegiatan IndustriTerhadap Kualitas Air Sungai Diwak di Bergas Kabupaten Semarang dan Upaya Pengendalian Pencemaran Air Sungai.** Tesis. Program Studi Lingkungan Hidup, Universitas Diponegoro Semarang.

Rahmawati, A. A., dan R. Azizah, 2005. **Perbedaan kadar BOD, COD, TSS, dan MPN Coliform pada Air Limbah, Sebelum dan Sesudah Pengolahan di RSUS Nganjuk.** Jurnal Kesehatan Lingkungan. Bagian Kesehatan Lingkungan Hidup, FKM UNAIR. Vol 2 No.1. 97-110.

Retnosari, A. A., dan M. Shovitri, 2013. **Kemampuan Isolat *Bacillus sp.* dalam Mendegradasi Limbah Tangki Septik.** Jurnal Sains dan Semi Pomits. Fakultas MIPA, Institute Teknologi Sepuluh November. Vol.2, No.1, 2337-3520.

Rizaldi, R., 2008. **Pengelolaan Sampah Secara Terpadu di Perumahan Dayu Permai Yogyakarta.** Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia,Yogyakarta.

Sastrawijaya, A. T. 2009. **Pencemaran Lingkungan.** Rineka Cipta. Cetakan Ketiga. Jakarta

Shylakhovenko, V. A., 2003. **Anticancer and Immunostimulatory Effect of Nucleoprotein Fraction of Bacillus subtillis**. Experimental Oncology. 25:119-123

Soendari, T., 2013. **Metode Penelitian Deskriptif.** PPT

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

Sukma, N., 2010. **Pengolahan Limbah Cair Menggunakan Lumpur Aktif Biakan Campuran Pupuk Kandang Secara Anaerob. Skripsi**. Universitas Diponegoro.

Suriawiria, U. 2003. **Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis.** Bandung Alumni, Bandung.

Sofyan, K., dan S. Sy, 2011. **Pengaruh Waktu Tinggal dan Waktu Aerasi Terhadap Penurunan Bahan-bahan Pencemar Dalam Limbah Cair Industri Tapioka.** Tapioka Disk 31 Vol.IV

Tlogokelang, 2011. **Tlogo Kelang PT. Purchasing**. http://db-jobindo.blogspot.com/2011/04/tlogo-kelang-pt-purchasing.html Daikses pada Maret 2015.

Todar, K., 2002. ***Staphylococcus* Bacteriology at UW-Bacteriology.** 330 Homepage 1-7.

Toledo, M., 2007. **pH Theory Guide – A Guide to pH Measurement**. E-Book. MCG MarCom Greifensee. Switzerland

Trade.idiamart, 2014. **Bacillus subtillis.** http://trade.indiamart.com/bacillus-subtillis Diakses pada Maret 2015

Tya, Asteria. 2010. **Ekologi Industri Pabrik Gula.** http://www.scribd.com/doc/129430149/Makalah-Ekologi-Industri-Pabrik-Gula#scribd
Diakses pada tanggal 10 Januari 2015

Undang Undang Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 1984 Tentang Perindustrian

Warsa, U. C., 1994. ***Staphylococcus*** **dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran.** Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. Hal 103 – 110.

Wikipedia. 2014. **Bacillus subtillis.** http://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis#cite_note-45
Diakses pada tanggal 3 April 2015

Wikipedia. 2014. **Bioremidiasi**. http://id.wikipedia.org/wiki/Bioremediasi
Diakses pada tanggal 20 Maret 2015

Wilson, G. 2012. **Micro Digital Media – Vumie 2012**. Third Edition. Intultive System, Inc

Zainuri M., S. I. Wanandi, 2012. **Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik : Hubungannya Dengan Kerusakan Oksidatif.** Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler FKUI. Vol.22 No.2

Zhu, X., A. D. Venosa., M. T. Suidan and K. Lee, 2001. **Guidelines for The Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands.** Cincinnati. 45268:156.

Zipcode Zoo, 2009. **Staphylococcus aureus.** http://zipcodezoo.com/index.php/Staphylococcus_aureus
Diakses pada Maret 2015

Lampiran 1. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.5 Tahun 2010

Lampiran I
Peraturan Menteri Negara
Lingkungan Hidup
Nomor : 05 Tahun 2010
Tanggal : 18 Januari 2010

BAKU MUTU AIR LIMBAH BAGI INDUSTRI GULA DENGAN KAPASITAS KURANG DARI 2.500 TON TEBU YANG DIOLAH PER HARI

Parameter	air limbah proses		air limbah kondensor		air limbah abu ketel		air limbah gabungan	
	Kadar maksimum (mg/L)	beban pencemaran maksimum (g/ton)	Kadar maksimum (mg/L)	beban pencemaran maksimum (g/ton)	Kadar maksimum (mg/L)	beban pencemaran maksimum (g/ton)	Kadar maksimum (mg/L)	beban pencemaran maksimum (g/ton)
BOD_5	100	50	60	1500	60	120	60	1650
COD	250	125	100	2500	100	200	100	2750
TSS	100	50	50	1250	50	100	50	1375
Minyak dan Lemak	5	2,5	5	125	5	10	5	137,5
Sulfida (sebagai S)	1,0	0,5	0,5	12,5	0,5	1	0,5	13,75
pH	6,0 – 9,0		6,0 – 9,0		6,0 – 9,0		6,0 – 9,0	
kuantitas limbah maksimum	0,5 m^3 per ton tebu yang diolah		25 m^3 per ton tebu yang diolah		2 m^3 per ton tebu yang diolah		27,5 m^3 per ton tebu yang diolah	

ton tebu yang diolah per hari = *Ton Cane per Day* (TCD)

MENTERI NEGARA
LINGKUNGAN HIDUP,

ttd

PROF. DR. IR. GUSTI MUHAMMAD HATTA, MS

Salinan sesuai dengan aslinya
Deputi MENLH Bidang
Penaatan Lingkungan,

ttd

Ilyas Asaad.

Lampiran 2. Alat dan Bahan

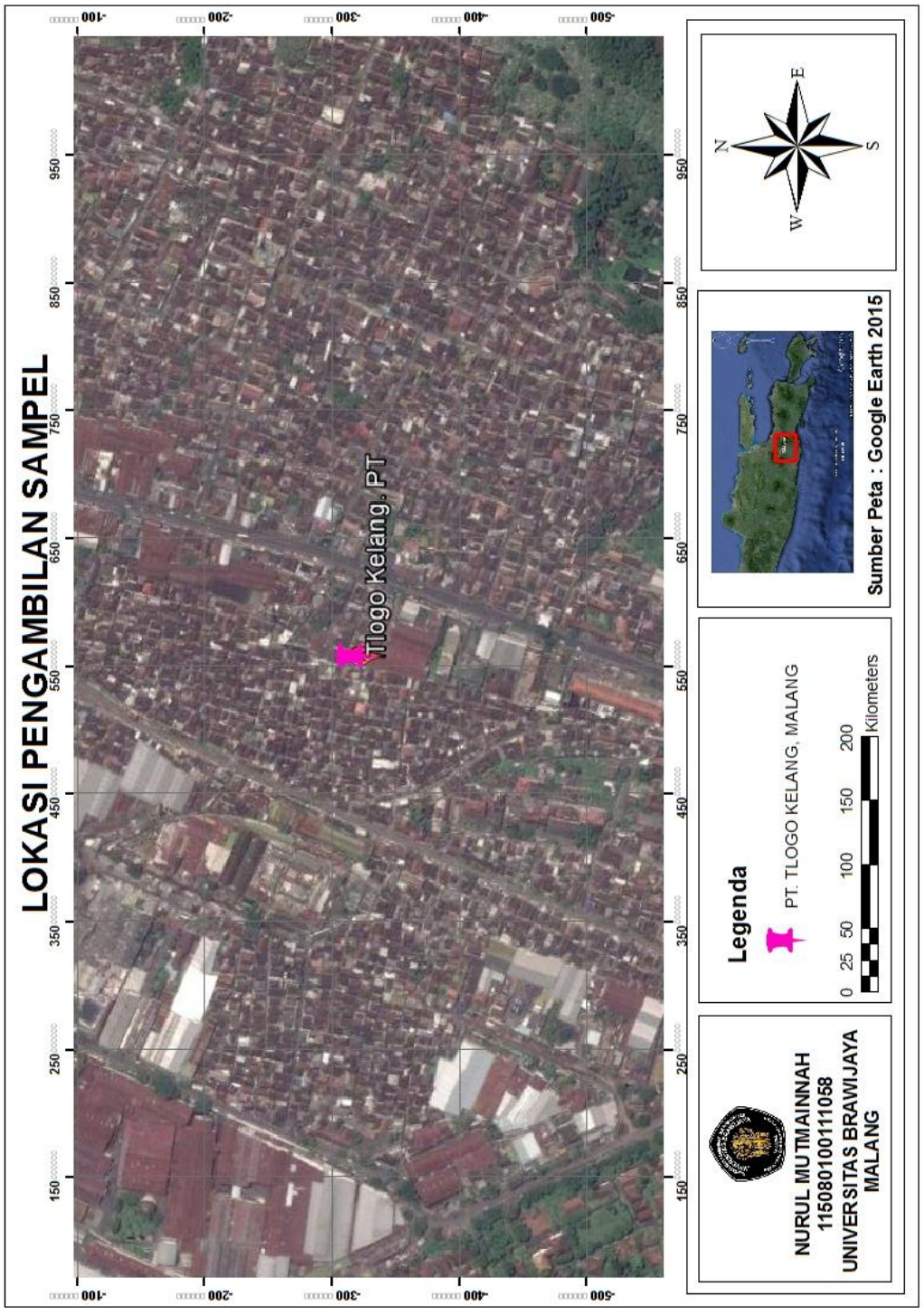
Adapun alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam kegiatan penelitian skripsi ini adalah sebagai berikut :

No.	Variabel	Alat	Bahan
1.	pH	- Kotak standar pH	t. pH paper u. Limbah cair industri
2.	Suhu	- Thermometer Hg	- Limbah cair industri
3.	BOD	- Botol Winkler - Pipet Tetes - Buret - Statis	- Limbah cair industri - H2SO4 - MnOH + KI - Amilum - Na2S2O3 - Tissue
4.	COD	- Botol Winkler - Pipet Tetes - Gelas Ukur - Cuvet - Rak Cuvet - COD Reactor - Spektrofotometer	- Limbah cair industri - Larutan SA (Sulfuride Acid) - Larutan DS (Digesive Solution) - Tissue
5.	TSS	- Botol Winkler - Vacum Pump - Pipet Tetes - Washing Bottle - Oven - Desikator - Capit - Timbangan Digital	- Limbah cair industri - Aquadest - Kertas Saring
6.	Pembuatan Media NA Bakteri	- Etalase bakteri - Cawan Petri - Erlenmayer - Beaker glass - Gelas ukur - Spatula - Bunsen - Korek Api - Sprayer - Crushable tank - Sendok bahan - Timbangan Digital - Autoclave - Hot Plate - Spatula	- NA - Aquadest - Kertas Koran - Tali Kasur - Kapas - Wrap Map - Alkohol 70 % - Spirtus
7.	Pengenceran	- Tabung reaksi - Rak tabung reaksi - Pipet serologis - Pipet Volume	- NaCl - Aquadest - Sampel Air Limbah Industri

		- Bola Hisap - Vortex Mixer - Autoclave - Crushable Tank - Spatula - Timbangan Digital - Sendok Bahan	- Kertas Label - Kertas Koran - Kapas - Tali Kasur - Wrap Map
8.	Penanaman Bakteri	- Cawan Petri berisi media NA - Bunsen - Pipet Volume - Inkubator - Korek Api - Bola Hisap	- Media NA yang telah di buat - Spirtus - Kertas Koran - Tali Kasur - Plastik - Kertas Label
9.	Pemurnian Bakteri	- Cawan Petri berisi media NA yang telah diinkubasi - Jarum Ose - Bunsen - Korek api - Inkubator	- Media NA yang telah dibuat - Spirtus - Kertas Koran - Tali Kasur - Plastik - Kertas Label
10.	Identifikasi Bakteri	- Jarum Ose - Cover Glass - Objek Glass - Stopwatch - Bunsen - Washing Bottle - Mikroskop - Baskom Pengering - Spray - Buku Panduan Identfikasi Bakteri (Baergey's Manual Bacteriology).	- Isolat Bakteri - Aquadest - Alkohol 96 % - Kristal Violet - Larutan Iod - Safranin
11.	Kultur Bakteri	- Timbangan Digital - Sendok Bahan - Erlenmeyer - Spatula - Hot Plate - Autoclave - Tabung Reaksi - Rak Tabung Reaksi - Jarum Ose - Voretx Mixer - Pipet Volume - Bola Hisap - Bunsen - Korek Api - Inkubator	- NB (Nutrient Broth) - Aquadest - Spirtus - Kapas - Kertas Koran - Alumunium Foil - Isolat Bakteri - Larutan McFarlan
12.	Uji Bioremidiasi	- Botol Winkler - Aerator - Selang Aerator	- Air Limbah Industri Gula - Kapas

		- Cabang Aerator - Pipet Volume - Bola Hisap	- Wrap Map - Bakteri yang telah dikultur

Lampiran 3. Peta Lokasi PT.Tlogo Kelang



Lampiran 4. Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.3 Tahun 2010

Lampiran
Peraturan Menteri Negara
Lingkungan Hidup
Nomor : 03 Tahun 2010
Tanggal : 18 Januari 2010

BAKU MUTU AIR LIMBAH BAGI KAWASAN INDUSTRI

No.	Parameter	Satuan	Kadar Maksimum
1	pH	-	6 – 9
2	TSS	mg/L	150
3	BOD	mg/L	50
4	COD	mg/L	100
5	Sulfida	mg/L	1
6	Amonia (NH3-N)	mg/L	20
7	Fenol	mg/L	1
8	Minyak & Lemak	mg/L	15
9	MBAS	mg/L	10
10	Kadmium	mg/L	0,1
11	Krom Heksavalen (Cr6+)	mg/L	0,5
12	Krom total (Cr)	mg/L	1
13	Tembaga (Cu)	mg/L	2
14	Timbal (Pb)	mg/L	1
15	Nikel (Ni)	mg/L	0,5
16	Seng (Zn)	mg/L	10
17	Kuantitas Air Limbah Maksimum	0,8 L perdetik per Ha Lahan Kawasan Terpakai	

MENTERI NEGARA
LINGKUNGAN HIDUP,

ttd

PROF. DR. IR. GUSTI MUHAMMAD HATTA, MS

Salinan sesuai dengan aslinya
Deputi MENLH Bidang
Penaatan Lingkungan,

ttd

Ilyas Asaad.

Lampiran 5. Peraturan Menteri Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air No.82 Tahun 2001

PRESIDEN
REPUBLIK INDONESIA

LAMPIRAN
PERATURAN PEMERINTAH
NOMOR 82 TAHUN 2001
TANGGAL 14 Desember 2001
TENTANG PENGELOLAAN KUALITAS AIR DAN
PENGENDALIAN PENCEMARAN AIR

Kriteria Mutu Air Berdasarkan Kelas

PARAMETER	SATUAN	KELAS				Keterangan
		I	II	III	IV	
FISIKA						
Temperatur	°C	deviasi 3	deviasi 3	deviasi 3	deviasi 5	Deviasi temperatur dari keadaan alamiahnya
Residu Terlarut	mg/L	1000	1000	1000	2000	
Residu Tersuspensi	mg/L	50	50	400	400	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, residu tersuspensi ≤ 5000 mg/L
KIMIA ANORGANIK						
pH		6 - 9	6 - 9	6 - 9	5 - 9	Apabila secara alamiah di luar rentang tersebut, maka ditentukan berdasarkan kondisi alamiah
BOD	mg/L	2	3	6	12	
COD	mg/L	10	25	50	100	
DO	mg/L	6	4	3	0	Angka batas minimum
Total fosfat sbg P	mg/L	0,2	0,2	1	5	
NO_3 sebagai N	mg/L	10	10	20	20	
NH_3-N	mg/L	0,5	(-)	(-)	(-)	Bagi Perikanan, kandungan amonia bebas untuk ikan yang peka ≤ 0,02 mg/L sebagai NH_3
Arsen	mg/L	0,05	1	1	1	
Kobalt	mg/L	0,2	0,2	0,2	0,2	
Barium	mg/L	1	(-)	(-)	(-)	
Boron	mg/L	1	1	1	1	
Selenium	mg/L	0,01	0,05	0,05	0,05	
Kadmium	mg/L	0,01	0,01	0,01	0,01	
Khrom (VI)	mg/L	0,05	0,05	0,05	1	
Tembaga	mg/L	0,02	0,02	0,02	0,2	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Cu ≤ 1 mg/L
Besi	mg/L	0,3	(-)	(-)	(-)	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Fe ≤ 5 mg/L
Timbal	mg/L	0,03	0,03	0,03	1	Bagi pengolahan air minum secara konvensional, Pb ≤ 0,1 mg/L

Lanjutan ...

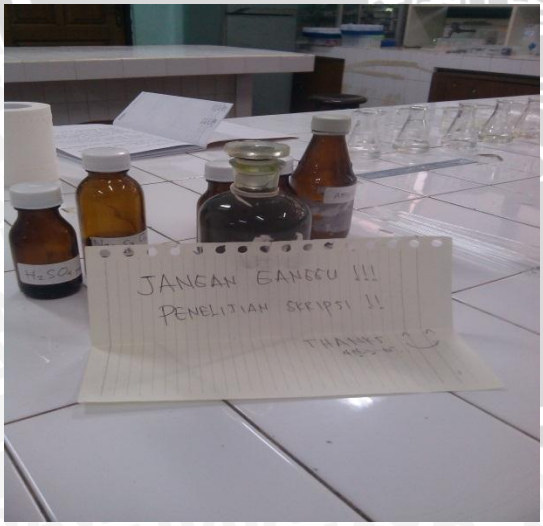
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

(Pengukuran suhu dan pH limbah)

(Pengambilan sampel limbah)

(Pengukuran BOD awal endapan)

(Limbah setelah di tetesi H_2SO_4)

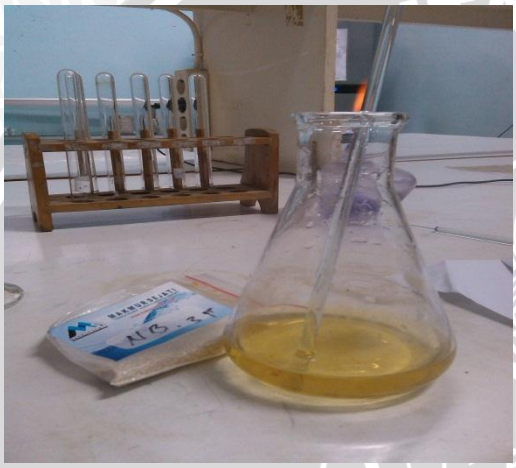


(Bahan-bahan pengukuran kualitas air)

(Perlakuan desikator untuk TSS)

(Melakukan metode tuang media NA)

(Pengenceran bertingkat)



(Pembuatan media kultur bakteri NB)

(Bakteri yang sudah di kultur)

(Rangkaian alat uji remidiasi)

(Mengambil bakteri yang akan diuji)

(Uji bioremidiasi limbah cair awal)

(Sehari setelah)

(Hari ke-4 Uji bioremidiasi)

(Pengukuran BOD akhir)

(Bakteri yang terisolasi dari limbah)

(Selfie time penghilang lelah)