FERMENTASI DENGAN KOMBINASI BAKTERI *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* DAN *Pseudomonas putida* TERHADAP LIMBAH CAIR PEMBEKUAN IKAN KACA PIRING (*Sillago sihama*) SECARA AEROB

SKRIPSI

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

OLEH :

URWAH ALBIRUNI QEZWIN

NIM. 115080301111011

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

FERMENTASI DENGAN KOMBINASI BAKTERI *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* DAN *Pseudomonas putida* TERHADAP LIMBAH CAIR PEMBEKUAN IKAN KACA PIRING (*Sillago sihama*) SECARA AEROB

SKRIPSI

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan

di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Oleh:

URWAH ALBIRUNI QEZWIN

NIM. 115080301111011

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

SKRIPSI

FERMENTASI DENGAN KOMBINASI BAKTERI *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* DAN *Pseudomonas putida* TERHADAP LIMBAH CAIR PEMBEKUAN IKAN KACA PIRING (*Sillago sihama*) SECARA AEROB

Oleh:
URWAH ALBIRUNI QEZWIN
115080301111011

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 13 Agustus 2015
dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. : _____
Tanggal : _____

	Menyetujui,
Dosen Penguji I	**Dosen Pembimbing I**
(Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes)	**(Dr. Ir. Yahya, MP)**
NIP. 19611022 198802 2 001	**NIP. 19630706 199003 1 003**
Tanggal :	**Tanggal :**
Dosen Penguji II	**Dosen Pembimbing II**
(Dr. Ir. Titik Sulistiyati, MP)	**(Dr.Ir. Happy Nursyam, MS)**
NIP. 19581231 198601 2 002	**NIP. 19600322 198601 1 001**
Tanggal :	**Tanggal :**

Mengetahui
Ketua Jurusan MSP

Dr.Ir. Arning Wilujeng E., MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Agustus 2015

Mahasiswa

Urwah Albiruni Qezwin

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillahirabbil 'alamin, segala pujia dan syukur senantiasa bagi Allah SWT, yang telah memberikan kenikmatan iman serta sehat sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi dengan lancar. Sholawat serta salam kepada Rosulullah SAW, kepada keluarganya, kepada para sahabatnya, dan sampai pada kita selaku umatnya di akhir zaman. Tentunya dalam penyusunan skripsi ini banyak sekali pengalaman berharga yang penulis dapatkan, baik itu dari kemudahan, hambatan dan tantangan yang penulis alami.

Keberhasilan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, motivasi, bimbingan dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Kepada orang tua tesayang Bapak Suyitno dan Ibu Sri Mulyani yang tanpa berhenti mendoakan, mendukung, memberi motivasi serta dukungan moril yang tak akan pernah terbalas. Semoga Allah SWT memberikan kesehatan, keberkahan serta memuliakan keduanya, Amin.
2. Kepada adik tersayang, Anjahu Firroyyan yang selalu memberikan dukungan dan semangat dari mulai masuk kuliah sampai dengan selesainya skripsi ini.
3. Kepada Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes, selaku ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan.
4. Kepada Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiati, MP, selaku dosen pembimbing akademik.
5. Kepada Dr. Ir. Yahya, MP, selaku dosen pembimbing I yang selalu bersedia meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan arahan, saran dan dorongan untuk menyelesaikan skripsi.

6. Kepada Dr. Ir. Happy Nursyam, MS, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran dan motivasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
7. Kepada seluruh dosen Program Studi Teknologi Hasil Perikanan yang telah banyak memberikan ilmu dan pengalaman yang sangat berharga selama 4 tahun.
8. Kepada seluruh keluarga besar yang telah ikut memberikan dukungan moral maupun materi selama ini, semoga Allah memberikan balasan yang berlipat ganda, Amin.
9. Kepada Irvan Wahyudi, terimakasih banyak atas segala dukungan selama penulis menyusun skripsi ini, terimakasih selalu memberikan motivasi, doa dan semangat yang sangat berarti.
10. Kepada sahabat tersayang Nissa Hardini, Reny Permata Sari, Alifiany Asyifa, Vina Asfia dan Ryanti Dyah Ayu, terimakasih telah memberikan dukungan, bantuan, doa, dan semangat yang sangat berarti, terimakasih telah menemani dalam susah, sedih dan senang selama 4 tahun ini. Selamat sukses untuk kalian semua.
11. Kepada tim skripsi Dian Maleva, Eka Agustina, Ita Anggraini, Nicho Sumardiyanto, Aryandi, Pandu Agung, Nadya, Bangkit, Magfirotin, Beta Ditry dan Widyawati, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Kepada seluruh keluarga Program Studi Teknologi Hasil Perikana, terimakasih banyak atas kebersamaannya selama 4 tahun. Semoga kita semua bias menjadi orang sukses dan berhasil. Amin.

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

URWAH ALBIRUNI QEZWIN. Skripsi tentang Pengolahan Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring (*Sillago sihama*) Dengan Penambahan Bakteri (*Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida*) Secara Aerob (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Yahya, MP** dan **Dr. Ir. Happy Nursyam, MS).**

Limbah adalah buangan yang dihasilkan dari kegiatan-kegiatan jasa serta proses-proses produksi, salah satunya produksi dalam industri perikanan yaitu proses pembekuan ikan. Limbah hasil perikanan dapat berupa cairan, padatan, dan gas. Limbah cair pembekuan ikan antara lain darah, lendir, serta air cucian ikan. Limbah padat pembekuan ikan berupa potongan daging ikan, kepala, sisik, duri, saluran pencernaan atau insang. Sedangkan limbah dalam bentuk gas adalah bau yang ditimbulkan karena adanya senyawa ammonia, hidrogen sulfida, atau keton. Limbah cair yang dihasilkan dari industri pembekuan ikan, kandungan bahan organik limbah cairnya sangat tinggi sehingga dapat merusak lingkungan dan mengganggu aktivitas masyarakat. Oleh karena itu, dengan adanya penelitian mengenai penambahan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dalam limbah cair pembekuan ikan diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kualitas air akibat pencemaran limbah sehingga dampak negatif akibat pencemaran limbah dapat berkurang.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan peranan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dalam menurunkan kadar histamin, TSS, COD, BOD, pH, minyak dan lemak, dan ammonia dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif. Metode deskriptif adalah suatu metode yang digunakan untuk menganalisa data dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul sebagaimana adanya tanpa bermaksud membuat kesimpulan yang luas. Selain itu dilakukan beberapa analisa parameter kualitas air yang dibutuhkan agar limbah cair yang dihasilkan dapat memenuhi standar baku mutu limbah cair.

Limbah cair yang berasal dari industri pembekuan ikan diambil dan dimasukan ke dalam *cool box* yang telah diberi es batu. Bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dikultur dengan menambahkan media cair *Trypticase Soy Broth* (TSB) dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu dimasukan ke dalam 2 liter limbah cair pembekuan ikan, masing-masing kombinasi bakteri sebanyak 2 ml dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Kemudian diuji parameternya pada hari ke 0 hari, 5 hari, dan 10 hari. Parameter yang diujikan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

adalah kadar histamin, kadar ammonia, pH, minyak dan lemak, serta kadar TSS (*Total Suspended Solid*).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa penambahan kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair pembekuan ikan rata-rata telah menunjukan perubahan penurunan nilai pH, ammonia, kadar histamin, kadar TSS, COD, BOD dan minyak dan lemak pada hari ke 5 dan hari ke 10. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dalam limbah cair dapat menurunkan kadar bahan organik, namun tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri yang berbeda-beda.

KATA PENGANTAR

Puji bagi Allah SWT, yang telah memberikan segalanya, hingga akhirnya peneliti mampu menyelesaikanskripsi yang berjudul, "**Pengolahan Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring (*Silago sihama*) dengan Penambahan Bakteri (*Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida*) Secara Aerob**"

Skripsi ini ditulis sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Skripsi ini terdiri dari atas lima bab yang masing-masing membahas hal yang berbeda, yang terdiri dari Pendahuluan, Tinjauan Pustaka, Metode Penelitian, Hasil Penelitian dan Pembahasan, serta Kesimpulan dan Saran.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kriteria sempurna. Oleh karena itu, masukan serta kriteria akan sangat membantu untuk perbaikan selanjutnya. Akhir kata penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi khalayak umum, dan dunia perikanan khususnya.

Malang, Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
HALAMAN PENGESAHAN ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS iii
HALAMAN UCAPAN TERIMAKASIH iv
RINGKASAN vi
KATA PENGANTAR viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv

1. PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan 5
1.4 Hipotesa 5
1.5 Kegunaan 6

2. TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Ikan Kaca Piring 7
2.2 Limbah Cair 8
2.3 Karakteristik Limbah Cair 9
2.4 Limbah Cair Pembekuan Ikan 10
2.5 Pengolahan Limbah Cair 11
2.6 Aerob 12
2.7 Parameter Pengolahan Limbah Cair 13
2.7.1 TSS (*Total Suspended Solid*) 13
2.7.2 Amonia 14
2.7.3 Minyak dan Lemak 15
2.7.4 Histamin 16
2.7.5 pH 17

2.7.6 BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) 18
2.7.7 COD (*Chemical Oxygen Demand*) 19
2.8 Bakteri 20
2.8.1 *Acinetobacter baumannii* 20
2.8.2 *Bacillus subtilis* 21
2.8.3 *Enterobacter gergoviae* 21
2.8.4 *Bacillus meganterium* 23
2.8.5 *Nitrococcus sp.* 23
2.8.6 *Pseudomonas putida* 24

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat 26
3.1.1 Bahan 26
3.1.2 Alat 27
3.2 Metode Penelitian 27
3.3 Rancangan Penelitian 28
3.4 Prosedur Penelitian 29
3.4.1 Pengambilan Sampel Limbah 29
3.4.2 Pembiakan Bakteri 30
3.4.3 Pengenceran Bakteri 32
3.4.4 Aerasi Limbah 33
3.4.5 Analisa Histamin 35
3.4.6 Analisa TSS (*Total Suspended Solid)* 36
3.4.7 Analisa Minyak dan Lemak 37
3.4.8 Analisa pH 38
3.4.9 Analisa Amonia 38
3.4.10 Analisa COD (*Chemical Oxygen Demand*) 40
3.4.11 Analisa BOD (*Biochemical Oxygen Deman*) 41

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembahasan 43
4.1.1 Analisa Kadar Histamin 43
4.1.2 pH 45
4.1.3 Kadar TSS (*Total Suspended Solid)* 46
4.1.4 Kadar Amonia 51

4.1.5 Kadar Minyak dan Lemak..... 54
4.1.6 BOD (*Biochemical Oxygen Deman*)..... 56
4.1.7 COD (*Chemical Oxygen Demand*) 59

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan..... 62
5.2 Saran..... 63

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Beban Limbah Cair dari Berbagai Jenis Industri Hasil Perikanan..... 9
2. Rancangan Percobaan Bentuk RAK..... 29
3. Hasil Analisa Histamin..... 43
4. Hasil Analisa pH 45
5. Hasil Analisa Kadar TSS (*Total Suspended Solid*)..... 48
6. Hasil Analisa Kadar Amonia 51
7. Hasil Analisa Kadar Minyak dan Lemak..... 54
8. Hasil Analisa BOD (*Biochemical Oxygen Deman*) 57
9. Hasil Analisa COD (*Chemical Oxygen Demand*) 59

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Ikan Kaca Piring (*Sillago sihama*) 7
2. *Enterobacter gergoviae* 22
3. Prosedur Kerja Aerasi Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring 34
4. Grafik Nilai pH dari Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring 46
5. Grafik Kadar TSS dalam Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring 49
6. Grafik Kadar Amonia dalam Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring ... 52
7. Grafik Kadar Minyak dan Lemak Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring 55
8. Grafik Nilai BOD dalam Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring 57
9. Grafik Nilai COD dalam Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring 60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Proses Pengambilan Limbah 69
2. Penanaman Bakteri 70
3. Aerasi Hari ke-1 Sampai ke-10 72
4. Prosedur Kerja Analisa Kualitas Air Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring 75
5. Hasil Analisa Parameter Penunjang Kualitas Air 82
6. Baku Mutu Air Limbah Pembekuan Ikan 88
7. Hasil Analisa Parameter Kualitas Air Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring 89

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan sektor industri pembekuan ikan yang sangat pesat di Indoneisa saat ini tentunya dapat memberikan dampak positif maupun dampak negatif. Dampak positif dari sektor industri pembekuan ikan dapat meningkatkan devisa Negara, sedangkan dampak negatif yang ditimbulkan berupa limbah hasil produksi. Menurut Ishartanto (2009), limbah adalah buangan yang dihasilkan dari kegiatan-kegiatan jasa serta proses-proses produksi (misalnya industri pertanian, tekstil, kertas, dan sebagainya) maupun berbagai kegiatan rumah tangga/domestik yang kehadirannya pada suatu tempat tertentu tidak dikehendaki atau mencemari lingkungan. Limbah hasil dari kegiatan tersebut dapat berupa limbah padat dan limbah cair. Limbah padat yang dihasilkan dari proses pembekuan ikan yaitu berupa kepala, tulang, duri, dan sisik, sedangkan limbah cair yang dihasilkan berupa air sisa pencucian ikan tersebut.

Limbah cair yang dihasilkan dari industri pembekuan ikan yang kandungan bahan organik limbah cairnya cukup tinggi dapat merusak lingkungan dan mengganggu aktivitas masyarakat sekitar. Menurut Mulyanto (2003), limbah cair dari industri bahan makanan pada umumnya terdiri dari senyawa-senyawa organik yang relatif mudah terdegradasi oleh mikroorganisme. Senyawa organik tersebut harus dikurangi atau dihilangkan terlebih dahulu sebelum diterima oleh badan air. Hal ini disebabkan karena lingkungan penerima limbah cair organik ini pada umumnya sudah tidak mempunyai daya dukung yang memadai untuk menerima beban pencemaran tersebut.

Karakteristik limbah cair industri pembekuan ikan tinggi kandungan cemaran bahan organiknya berupa karbohidrat, protein, serta lemak dan minyak.

Menurut Sjafei (2002) kandungan bahan organik yang terdapat dalam limbah cair yaitu protein sebesar 65%, karbohidrat 27%, dan lemak 10%. Bahan organik tersebut merupakan bahan pencemar berbahaya karena sulit terdegradai secara alami di lingkungan. Kandungan bahan organik tersebut dapat menimbulkan efek buruk terhadap lingkungan melalui berbagai cara. Bahan organik yang terlarut dalam air limbah dapat menghabiskan oksigen dalam air dan menimbutkan rasa dan bau yang tidak sedap. Selain itu, bahan organik akan menjadi lebih berbahaya jika bahan tersebut merupakan bahan yang beracun.

Air limbah pembekuan ikan mengandung banyak protein dan lemak sehingga dapat meningkatkan konsentrasi pH, amonia, kadar histamin, TSS, COD, BOD, serta minyak dan lemak yang cukup tinggi. Apabila keseluruhan parameter tersebut dibuang langsung ke badan air, maka akan mengakibatkan pencemaran air. Menurut Oktavia *et al.,* (2012) bahan organik terlarut dan tersuspensi dapat menjadi sangat tinggi pada limbah cair dari industri perikanan karena akan meningkatkan kadar BOD dan COD. Selain itu, minyak dan lemak yang terdapat pada limbah juga meningkat, bau busuk yang disebabkan oleh dekomposisi protein, yang kaya akan asam amino sulfur menghasilkan asam sulfida dan ammonia. Ditambahkan oleh Suyasa (2011), minyak dan lemak dipermukaan air akan menghambat proses biologis dalam air dan menghasilkan gas yang menimbulkan bau. Selain itu, dalam limbah cair perikanan terutama pembekuan ikan dapat mengandung zat-zat yang berbahaya lainnya. Zat-zat yang dapat menimbulkan bahaya yang terkadung dalam limbah pembekuan ikan salah satunya adalah histamin. Menurut Indriati *et al,.* (2006) histamin merupakan salah satu senyawa biogenik amin yang dianggap sebagai penyebab utama keracunan makanan yang berasal dari ikan. Oleh sebab itu, sebelum dialirkan ke badan air (sungai, danau dan sebagainya), senyawa-senyawa organik tersebut harus

dikurangi atau dihilangkan terlebih dahulu dengan penanganan limbah air secara tepat.

Pengolahan limbah cair yang saat ini sering dilakukan yaitu pengolahan secara biologi, karena proses pengolahan ini dapat menurutkan kadar zat organik terlarut dengan memanfaatkan mikroorganisme. Menurut Ritman (2001), cara biologi adalah pemutusan molekul kompleks menjadi molekul sederhana oleh mikroorganisme. Proses ini sangat peka terhadap faktor suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan zat-zat inhibitor terutama zat-zat beracun. Mikroorganisme yang sering digunakan untuk pengolahan limbah adalah bakteri, algae, atau protozoa. Pengolahan limbah secara biologi dikelompokkan menjadi dua yaitu aerob dan anaerob. Namun, dalam penelitian ini metode pengolahan limbah cair secara biologi yang digunakan adalah proses aerob.

Pengolahan limbah cair dengan proses aerob adalah memanfaatkan aktivitas mikroorganisme atau metabolism sel untuk menurunkan atau menghilangkan substrat tertentu terutama senyawa-senyawa organik biodegradable yang terdapat dalam limbah. Sistem aerob membutuhkan pemakaian oksigen dari atmosfer atau sumber oksigen murni (Pohan, 2008). Pengolahan limbah cair dengan cara aerobik digunakan untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik yang terlarut di dalam limbah cair. Untuk mendegradasi bahan organik dalam limbah cair, maka proses pengolahannya menggunakan mikroba yang memerlukan oksigen bebas. Menurut Sugiarto (1987), pengolahan limbah secara aerob harus dimasukkan oksigen dari udara secara kontinyu.

Pengolahan limbah untuk memperbaiki kualitas air dengan menggunakan peranan mikroba saat ini telah banyak dipelajari. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sasongko (2001), menyatakan bahwa adanya bakteri indigen pendegradasi bahan organik akan membuat lingkungan menjadi lebih baik. Hal ini disebabkan

bakteri memanfaatkan bahan organik yang ada . aktivitas bakteri pendegradasi bahan organik akan menurunkan akumulasi bahan organik.

Penelitian tentang pengolahan limbah cair ini berusaha mengembangkan penelitian sebelumnya, yaitu dengan ditemukannya spesies bakteri yang dapat merombak bahan cemaran organik diantaranya yaitu bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis,* dan *Enterobacter gergoviae* yang merupakan bakteri indigenous lingkungan. Dalam penelitian Affandi (2006), tentang bioremediasi limbah menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis,* dan *Enterobacter gergoviae* dapat menurunkan kandungan bahan organik hingga batas aman yang telah ditetapkan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian pengolahan limbah dengan penambahan kombinasi bakteri indigenous (*Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae*) dengan bakteri mangrove *Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* yang diharapkan dapat mendegradasi senyawa senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam limbah limbah tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada pengaruh kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobactergergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* terhadap limbah cair pembekuan ikan kaca piring?
2. Apakah bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* mampu dalam menurunkan kadar TSS, pH, minyak dan lemak, ammonia, COD, BOD dan histamin dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* terhadap limbah cair pembekuan ikan kaca piring.
2. Untuk mengetahui peranan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dalam menurunkan kadar histamin, TSS, pH, minyak dan lemak, COD, BOD dan ammonia dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

1.4 Hipotesa

Adapun hipotesa dalam penelitian ini adalah :

1. Diduga terdapat pengaruh terhadap kandungan bahan organik dalam limbah cair dengan adanya penambahan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida*.
2. Diduga kemampuan bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* mampu dalam mengubah kualitas limbah cair pembekuan ikan kaca piring berdasarkan indikator histamin, pH, TSS, COD, BOD, amonia, dan minyak dan lemak.

1.5 Kegunaan Penelitian

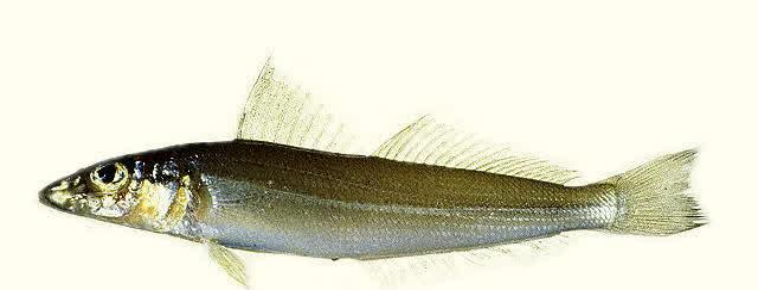
Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi terhadap pihak-pihak yang berkepentingan tentang manfaat dari bakteri *Acinetobacter baumannii, Bacillus subtilis, Enterobacter gergoviae, Bacillus meganterium, Nitroccocus sp.,* dan *Pseudomonas putida* dalam meremediasi limbah cair pembekuan ikan kaca piring sehingga tidak mencemari lingkungan atau dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kaca Piring

Klasifikasi ikan kaca piring menurut Widiyaningsih (2004) adalah sebagai berikut :

Filum : Chordata
Kelas : Pisces
Sub klas : Teleostei
Ordo : Percomorphi
Sub ordo : Percoidea
Family : Sillaginidae
Genus : Sillago
Spesies : *Sillago sihama*



Gambar 1. Ikan Kaca Piring
Sumber : *googleimage* (2015)

Ikan kaca piring mempunyai bentuk memanjang, agak bulat dan sedikit kompres. Moncong runcing mulutnya kecil dan terdapat dibagian ujung serta dapat disembulkan. Celah insangnya lebar dengan tutup insang bagian depan bergerigi dibelakang. Pada tutup insang ditemukan sisik sikloid, linea lateralnya sejajar dengan punggung (Widyaningsih, 2004).

Hampir semua sillaginid (family *Sillaginidae*) termasuk jenis ikan berkelompok yang tempat hidupnya berada di pesisir laut, biasanya di sepanjang pantai dengan gelombang yang keras. Beberapa jenis ikan kaca piring *S. sihama*, memasuki daerah estuari dan bahkan terdapat di air tawar pada waktu tertentu.

Hanya sedikit ikan kaca piring ini ditemukan di perairan laut dalam. Ikan sillaginid ini mempunyai banyak kelebihan sebagai ikan konsumsi yaitu warnanya putih, dagingnya lembut dan rasanya cukup enak. Ikan ini mempunyai potensi cukup besar untuk budidaya ikan terutama dalam perairan estuari seperti pada perairan kolam payau, yang dapat memberikan keuntungan ekonomi terutama di Asia (Sulistiono, 2011).

2.2 Limbah Cair

Limbah cair dapat didefinisikan sebagai suatu buangan cair hasil kegiatan manusia yang berbentuk cairan. Kandungan limbah cair dapat didominasikan oleh air beserta bahan-bahan kontaminan lainnya atau didominasi oleh bahan-bahan cair lainnya tidak harus air seperti minyak, oli bekas, residu senyawa-senyawa kimia dan lain sebgaianya. Air limbah sebagai limbah yang berbentuk cair, dimana didalamnya mengandung proporsi air limbah dalam jumlah yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan kontaminan yang terdapat didalamnya (Sjafei, 2002).

Limbah cair dari industri makanan pada umumnya terdiri dari senyawa-senyawa organik yang relatif mudah terdegradasi oleh mikroorganisme. Senyawa organik tersebut harus dikurangi atau dihilangkan terlebih dahulu sebelum diterima oleh badan air. Hal ini disebabkan karena lingkungan penerima limbah cair organik ini pada umumnya sudah tidak mempunyai daya dukung yang memadai untuk menerima beban pencemaran tersebut (Mulyanto, 2003).

Limbah cair industri pangan memiliki karakteristik yang berbeda tergantung pada jenis komoditi yang digunakan dan jenis produk yang dihasilkan serta jenis proses produksi yang dilakukan. Namun secara umum memiliki kandungan bahan organik yang tinggi. Pada limbah industri pangan jarang ditemukan bahan beracun

ataupun logam berat. Sehingga analisis lebih banyak dipusatkan pada unsur pH, BOD, COD, TSS, kadar minyak dan bakteri koliform (Dian, 2001).

2.3 Karakteristik Limbah Cair Perikanan

Air limbah dari industri perikanan terutama pembekuan ikan ikut mempengaruhi tingkat cemaran lingkungan sehingga perlu adanya solusi untuk masalah tersebut. Limbah yang tidak tertangani akan menyebar ke lingkungan dan lambat laun akan merugikan manusia. Limbah cair yang berasal dari proses pembekuan ikan memiliki kandungan gizi antara lain protein sebesar 65%, karbohidrat 27%, dan lemak 10% (Sjafei, 2002).

Limbah cair industri perikanan memiliki karakteristik yang berbeda-beda tergantung pada jenis proses produksi yang dilakukan dan jenis produk yang dihasilkan. Namun pada limbah industri perikanan jarang ditemukan bahan beracun ataupun logam berat. Sehingga kebanyakan analisis dipusatkan pada unsur-unsur alam pH, BOD, COD, TSS, kadar minyak dan ammonia. Limbah cair perikanan mengandung banyak protein dan lemak, sehingga mengakibatkan nilai BOD dan TSS cukup tinggi (Dian, 2001). Karakteristik limbah cair dari berbagai jenis industri hasil perikanan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beban Limbah Cair dari Berbagai Jenis Industri Hasil Perikanan

Beban Limbah Cair	BOD	COD	Minyak/ Lemak	Padatan Tersuspensi
Pengolahan ikan (manual)	332 kg/t	-	0,248 kg/t	1,42 kg/t
Pengolahan Ikan (Mekanik)	11,9 kg/t	-	2,28 kg/t	8,92 kg/t
Fillet ikan	3482-10000 mg/l	-	857-6000 mg/l	-
Pengalengan tuna	6,2-20 kg/t	114-64 kg/t	1,7-13 kg/t	3,8-17 kg/t
Pabrik sardine	9,22 kg/t	-	1,74 kg/t	5,41 kg/t
Pengolahan kepiting	4,8-5,5 kg/t	7,2-7,8 kg/t	0,21-0,3 kg/t	0,7-0,78 kg/t

Pengolahan kerang	18,7 kg/t	-	0,461 kg/t	6,35 kg/t
Cairan darah dari pabrik makanan ikan	23500-34000 mg/l	93000 mg/l	0-1,92%	-
Air dari pengerasan daging	13000-76000 mg/l	-	60-1560 mg/l	-
Udang beku	160 mg/l	1780 mg/l	-	-
Pengalengan ikan	941,69 mg/l	1401,78 mg/l	-	-
Makanan ikan	245,23 mg/l	949,05 mg/l	6976 mg/l	-

Sumber : Sjafei (2002)

2.4 Limbah Cair Pembekuan Ikan

Limbah industri bersumber dari kegiatan industri baik karena proses secara langsung maupun proses secara tidak langsung. Limbah yang bersumber langsung dari kegiatan industri yaitu limbah yang terproduksi bersamaan dengan proses produksi sedang berlangsung, di mana produk dan limbah hadir pada saat yang sama, sedangkan limbah tidak langsung terproduksi sebelum proses maupun sesudah proses produksi. Contohnya proses pencucian bahan mentah suatu produk (Suligundi, 2013).

Limbah industri pembekuan ikan terdiri dari dua jenis, yaitu limbah padat dan limbah cair. Dari kedua jenis limbah tersebut, limbah cair merupakan bagian yang terbesar dan berpotensi mencemari lingkungan. Sumber limbah cair yang dihasilkan berasal dari proses pembersihan dan pencucian ikan tersebut. Menurut Ibrahim (2005), jumlah debit air limbah pada efluen umumnya berasal dari proses pengolahan dan pencucian. Setiap operasi pengolahan ikan akan menghasilkan cairan dari pemotongan, pencucian, dan pengolahan produk. Cairan ini mengandung darah dan potongan-potongan kecil ikan dan kulit, isi perut, kondensat dari operasi pemasakan, dan air pendinginan dari kondensor.

Limbah cair yang dihasilkan dari industri pembekuan ikan umumnya mengandung bahan-bahan organik yang tinggi terutama protein dan lemak. Adanya senyawa-senyawa organik dalam limbah akan menyebabkan limbah cair mengandung pH, minyak dan lemak, BOD, COD, dan TSS yang tinggi, yang apabila dibuang ke perairan tanpa pengolahan terlebih dahulu dapat menyebabkan pencemaran (Husin, 2008). Menurut Natalia (2010), kandungan bahan organik yang tinggi ini dapat menyebabkan eutrofikasi pada perairan, yang akan menyebabkan kematian organisme yang hidup dalam air tersebut, pendangkalan, penyuburan ganggang dan bau busuk.

2.5 Pengolahan Limbah Cair

Limbah membutuhkan pengolahan apabila ternyata mengandung senyawa pencemaran yang berakibat menciptakan kerusakan terhadap lingkungan atau paling tidak potensial menciptakan pencemaran. Suatu perkiraan harus dibuat lebih dahulu dengan mengidentifikasikan sumber pencemaran, sistem pengolahan, banyaknya buangan dan jenisnya, serta kegunaan bahan beracun dan berbahaya yang terdapat dalam pabrik (Ginting, 2007).

Secara umum, sistem pengolahan limbah cair hanya didasarkan pada proses pengolahan primer dan skunder. Proses pengolahan primer dan skunder pada umumnya dilakukan pada limbah cair yang tidak beracun (*non-toxic*). Sebelum limbah cair organik diproses secara biologi, maka diperlukan proses pengolahan primer untuk menghilangkan sebagian besar padatan. Pada proses pengolahan skunder, dilakukan proses secara biologi untuk memproses senyawa-senyawa organik yang terlarut di dalam limbah cair (Mulyanto, 2003).

Pengolahan 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. Adapun tujuan dari pengolahan air limbah secara biologi adalah untuk menyisihkan atau menurunkan konsentrasi senyawa-senyawa organik maupun anorganik dengan memanfaatkan berbagai mikroorganisme, terutama bakteri (Edahwati dan Suprihatin, 2008).

Proses secara biologi ini dibagi menjadi 2 yaitu proses pengolahan aerobik dan proses pengolahan anaerobik. Proses pengolahan aerobik mampu mengolah limbah cair yang mempunyai konsentrasi bahan organik yang diukur dengan besaran BOD antara 50 sampai 1000 mg/l, dan keluarannya mempunyai besaran BOD dibawah 15 mg/l. Sedangkan proses pengolahan anaerobik mampu mengolah limbah cair yang mempunyai konsentrasi bahan organik BOD lebih besar dari 1000 mg/l (Mulyanto, 2003).

2.6 Aerob

Pengolahan biologis ini sangat dipengaruhi oleh lingkungan biokimianya. Lingkungan biokimia ini dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok utama yaitu lingkungan aerob dan anaerob. Lingkungan aerob adalah lingkungan dimana oksigen terlarut terdapat dalam jumlah yang cukup sehingga tidak merupakan faktor pembatas didalam prosesnya. Pada lingkungan ini oksigen tidak dapat bertindak sebagai akseptor elektron pada metabolism mikroba. Proses aerob sering digunakan dalam pengolahan air buangan domestik dan non domestik khususnya perumahan dan pabrik.

Pengolahan limbah secara aerob berarti yang dipergunakan adalah bakteri aerob yang memerlukan oksigen bebas. Bakteri ini akan bekerja dengan baik pada pH sekitar 7 dengan suhu yang semakin tinggi sampai pada 40 ^{O}C. Oleh karena

itu dalam pengolahan limbah secara aerob harus dimasukkan oksigen dari udara secara kontinyu. (Darsono,2007).

Pengolahan limbah cair dengan proses aerobik adalah memanfaatkan aktivitas mikroorganisme atau metabolisme sel untuk menurunkan atau menghilangkan substrat tertentu terutama senyawa-senyawa organik biodegradable yang terdapat dalam air limbah (Pohan, 2008). Pengolahan limbah secara aerobik dilakukan dengan cara aerasi limbah cair. Proses aerasi bertujuan untuk memindahkan oksigen, baik oksigen murni maupun udara ke dalam proses pengolahan biologis. Aerasi dapat juga digunakan untuk mengusir senyawa yang mudah menguap dari sejumlah limbah cair. Aerasi merupakan proses perpindahan massa atara gas dan cairan (Mulyanto, 2003).

Keuntungan yang dapat diperoleh dari pengolahan limbah yang dilakukan secara aerob adalah kebutuhan akan waktu proses penyisihan yang relatif lebih singkat yaitu 7 sampai 12 hari dibandingkan dengan proses anaerob. Hal ini terjadi karena proses aerob tidak terdapat bakteri metan yang pertumbuhannya berjalan lambat sehingga tidak membutuhkan waktu yang lama terutama dalam pengoperasian awal. Pertumbuhan bakteri metan membutuhkan waktu pengoperasian awal sekitar 8 – 12 minggu (Suligundi, 2013).

2.7 Parameter Pengolahan Limbah Cair

2.7.1 TSS (*Total Suspended Solid*)

Pada limbah cair, padatan bisa terdapat dalam bentuk terlarut maupun tersuspensi. Padatan menjadi perhatian utama karena merupakan materi yang tidak diinginkan dengan beberapa pertimbangan, padatan yang mengendap dapat mempengaruhi pipa-pipa pembuangan limbah cair sehingga mengurangi kapasitas pipa, atau jika padatan tersebut dibuang ke suatu perairan, dapat menimbulkan pengaruh bagi flora dan fauna air baik yang hidup di dasar maupun

terhadap rantai makanan. Bila mengapung, padatan akan menhalangi cahaya yang masuk dari permukaan. Hal ini akan menimbulkan pengaruh yang kurang baik bagi kelangsungan hidup flora dan fauna di perairan tersebut (Sjafei, 2002).

TSS (*Total Suspended Solid*) atau total padatan tersuspensi adalah padatan yang tersuspensi di dalam air berupa bahan-bahan organik dan anorganik yang dapat disaring dengan kertas millipore berporipori 0,45 µm. Materi yang tersuspensi mempunyai dampak buruk terhadap kualitas air karena mengurangi penetrasi matahari ke dalam badan air, kekeruhan air meningkat yang menyebabkan gangguan pertumbuhan bagi organisme produser (Agustria *et al.*, 2013).

Kekeruhan air erat sekali hubungannya dengan nilai TSS karena kekeruhan pada air salah satunya memang disebabkan oleh adanya kandungan zat padat tersuspensi. Zat tersuspensi yang ada dalam air terdiri dari berbagai macam zat, misalnya pasir halus, tanah liat dan lumpur alami yang merupakan bahan-bahan anorganik atau dapat pula berupa bahan-bahan organik yang melayang-layang dalam air. Bahan-bahan organik yang merupakan zat tersuspensi terdiri dari berbagai jenis senyawa seperti selulosa, lemak, protein yang melayang-layang dalam air atau dapat juga berupa mikroorganisme, seperti bakteri, alga, dan sebagainya (Widyaningsih, 2011).

2.7.2 Amonia (NH3)

Amonia (NH3) dan garam-garamnya bersifat mudah larut dalam air. Ion ammonium adalah bentuk transisi dari ammonia, ammonia banyak digunakan dalam produksi urea, industri bahan kimia, serta industri bubur kertas. Kadar amonia pada perairan biasanya kurang dari 0,1 mg/l. Kadar ammonia bebas yang tidak terionisasi (NH3) pada perairan tawar sebaiknya tidak lebih dari 0,02 mg/l. Jika kadar ammonia bebas lebih dari 0,2 mg/l, perairan bersifat toksik bagi beberapa jenis ikan. Kadar ammonia yang tinggi dapat merupakan indikasi adanya

pencemaran bahan organik yang berasal dari limbah domestik, industri, dan limpasan pupuk pertanian (Sihaloho, 2009).

Dalam bentuk tak-terion, amonia lebih beracun terhadap ikan daripada dalam bentuk amonium. Presentase total amonia dalam bentuk tak-terion (NH3) akan meningkat dengan adanya peningkatan pH dan suhu. Daya racun ammonia meningkat bila pH meningkat atau bila oksigen terlarut rendah. Apabila terjadi peningkatan konsentrasi ammonia di dalam air, maka ekskresi ammonia oleh ikan akan berkurang dan terjadi peningkatan konsentrasi ammonia dalam darah dan jaringan lainnya (Sjafei, 2002).

Amonia dalam jumlah besar mempunyai sifat yang toksik dan dapat menghasilkan bau yang menusuk dan terjadinya eutrofikasi di daerah sekitarnya. Usaha-usaha yang dilakukan untuk menyisihkan amonia adalah dilakukan proses pengolahan amonia menjadi senyawa lain yang lebih aman bagi lingkungan perairan. Pengolahan limbah secara biologis merupakan salah satu alternatif pengolahan limbah saat ini dengan melibatkan aktivitas mikroorganisme sehingga mengakibatkan terjadinya transformasi senyawa-senyawa kimia menjadi senyawa lain yang mempunyai sifat dan karakter yang berbeda dengan senyawa asalnya (Titiresmi dan Nida, 2006).

2.7.3 Minyak dan Lemak

Lemak dan minyak merupakan salah satu kelompok yang termasuk golongan lipida. Satu sifat yang khusus dan mencirikan golongan lipida (termasuk) minyak dan lemak adalah adanya larutan dalam pelarut organik (misalnya ether, benzene, chloroform) atau sebaliknya ketidak larutannya dalam pelarut air (Sudarmaji *et al.,* 2003).

Lemak merupakan bahan padat pada suhu ruang disebabkan kandungannya yang tinggi akan asam lemak jenuh yang tidak memiliki ikatan rangkap, sehingga mempunyai titik lebur yang lebih tinggi, sedangkan minyak

merupakan bahan cair pada suhu ruang disebabkan tingginya kandungan asam lemak yang tidak jenuh, yang memiliki satu atau lebih ikatan rangkap diantara atom-atom karbonnya, sehingga mempunyai titik lebur yang rendah (Winarno, 1992).

Minyak dan lemak merupakan komponen utama bahan makanan yang juga banyak di dapat di dalam air limbah. Kandungan zat minyak dan lemak dapat ditentukan melalui contoh air limbah dengan heksana. Minyak dan lemak membentuk ester dan alkohol. Lemak tergolong pada bahan organik yang tetap dan tidak mudah untuk diuraikan oleh bakteri. Terbentuknya emulsi air dalam minyak akan membuat lapisan yang menutupi permukaan air dan dapat merugikan, karena penetrasi sinar matahari ke dalam air berkurang serta lapisan minyak menghambat pengambilan oksigen dari udara menurun. Untuk air sungai kadar maksimum minyak dan lemak 1 mg/l. Minyak dapat sampai ke saluran air limbah, sebagian besar minyak ini mengapung di dalam air limbah, akan tetapi ada juga yang mengendap terbawa oleh lumpur. Sebagai petunjuk dalam mengolah air limbah, maka efek buruk yang dapat menimbulkan permasalahan pada dua hal yaitu pada saluran air limbah dan pada bangunan pengolahan (Sugiharto, 1987).

2.7.4 Histamin

Histamin merupakan salah satu grup dari komponen amina biogenik. Amina biogenik adalah komponen biologi aktif yang secara normal diproduksi melalui proses dekarboksilasi dari asam amino bebas dan ada dalam berbagai makanan seperti ikan, produk dari ikan, daging merah, keju, dan makanan fermentasi. Keberadaan amina biogenik dalam makanan ini merupakan indikator makanan itu sudah busuk (Keer *et al.* 2002 dalam Wicaksono, 2009).

Histamin merupakan senyawa amin yang dihasilkan dari proses dekarboksilasi histidin bebas (α-amina-β-inidosal asam propionat). Proses pembentukan histamin pada ikan sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim *L*-

Histidine Decarboxylase (HDC). Berbagai jenis bakteri yang mampu menghasilkan enzim HDC, termasuk kelompok Enterobacteriaceae, misalnya: *Enterobacter agglomerans, Enterobacter cloacae, Enterobacter intermedium, Hafnia alvei*, *Klebsiella pneumoniae,* dan *Morganella morganii* (Mangunwardoyo *et al.,* 2007).

Amina biogenik diproduksi pada jaringan ikan oleh bakteri dari family *Enterobacteriaceae*, seperti *Morganella, Klebsiella,* dan *Hafnia* yang menghasilkan enzim histidin *decarboxylase*. Apabila telah diproduksi enzim *decarboxylase*, maka akan terus menerus dihasilkan histamin meskipun pertumbuhan bakteri telah dihambat dengan suhu dingin hingga 4 ^{o}C. Produksi histamin akan semakin meningkat meskipun telah disimpan pada ruangan pendingin (Sumner *et al.* 2004).

2.7.5 pH

Derajat keasaman (pH) merupakan tingkat keasaman sesuatu larutan atau kandungan ion-ion hidrogen dalam suatu larutan (cairan), nilai pH suatu perairan menunjukkan keseimbangan antara asam dan basa. Derajat keasaman mempunyai pengaruh terhadap kehidupan organisme akualik sehingga pH dari suatu perairan itu dipakai sebagai indikator untuk menyatakan baik buruknya perairan sebagai lingkungan hidup. Hal ini dapat dijelaskan karena pH tersebut berperan aktif baik dalam proses secara kimia maupun secara biologis (kesuburan, pertumbuhan dan lain-lain) (Azan, 2003).

Nilai pH air yang normal adalah sekitar netral yaitu 6 - 8, sedangkan pH air yang tercemar misalnya air buangan, berbeda-beda tergantung dari jenis buangannya. Sebagai contoh air buangan dari pabrik pengalengan mempunyai pH 6,2 – 7,6; air buangan pabrik bir mempunyai pH 5,5 – 7,4 sedangkan air buangan pabrik pulp dan kertas biasanya mempunyai pH 7,6 – 9,5. Pada industri-industri makanan, peningkatan keasaman air buangan umumnya disebaBbkan oleh kandungan asam-asam organik (Fardiaz, 1992).

2.7.6 BOD (*Biochemical Oxygen Demand*)

BOD atau *Biochemical Oxygen Demand* adalah suatu karakteristik yang menunjukkan jumlah oksigen terlarut yang diperlukan oleh mikroorganisme (biasanya bakteri) untuk mengurai atau mendekomposisi bahan organik dalam kondisi aerobik. Bahan organik yang terdekomposisi dalam BOD adalah bahan organik yang siap terdekomposisi (*readily decomposable organicmatter*) (Agustria *et al.,* 2013). Prinsip pengukuran BOD pada dasarnya cukup sederhana, yaitu mengukur kandungan oksigen terlarut awal (DOi) dari sampel segera setelah pengambilan contoh, kemudian mengukur kandungan oksigen terlarut pada sampel yang telah diinkubasi selama 5 hari pada kondisi gelap dan suhu tetap (20oC) yang sering disebut dengan DO5. Selisih DOi dan DO5 (DOi- DO5) merupakan nilai BOD yang dinyatakan dalam miligram oksigen per liter (mg/L) (Haryadi, 2004).

Menurut Fardiaz (1992), nilai BOD menunjukkan jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh mikroorganisme aerob untuk memecah atau mengoksidasi bahan-bahan buangan di dalam air. Jadi nilai BOD tidak menunjukkan jumlah bahan organik yang sebenarnya, tetapi hanya mengukur secara relatif jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan-bahan buangan tersebut. Jika konsumsi oksigen terlarut, maka berarti kandungan bahan-bahan buangan membutuhkan oksigen relatif tinggi.

Konsumsi oksigen terlarut dapat diketahui dengan mengoksidasi air pada suhu 20 ^{o}C selama 5 hari (BOD_5) dan BOD yang menunjukkan jumlah oksigen yang dikonsumsi dapat diketahui dengan menghitung selisih konsentrasi oksigen terlarut sebelum dan setelah diinkubasi. Pengukuran selama 5 hari pada suhu 20^{o}C ini hanya menghitung sebanyak 68% bahan organik yang teroksidasi, tetapi suhu dan waktu yang digunakan tersebut merupakan standar uji karena untuk

mengoksidasi bahan organik seluruhnya diperlukan waktu yang lebih lama yaitu mungkin sampai 20 hari, sehingga dianggap tidak efisien (Fardiaz, 1992).

2.7.7 COD (*Chemical Oxygen Demand*)

COD atau *Chemical Oxygen Demand* adalah jumlah oksigen yang diperlukan untuk mengurai seluruh bahan organik yang terkandung dalam air. Pada prinsipnya pengukuran COD adalah penambahan sejumlah tertentu kalium bikromat (K2Cr2O7) sebagai oksidator pada sampel (dengan volume diketahui) yang telah ditambahkan asam pekat dan katalis perak sulfat, kemudian dipanaskan selama beberapa waktu. Selanjutnya, kelebihan kalium bikromat ditera dengan cara titrasi. Dengan demikian kalium bikromat yang terpakai untuk oksidasi bahan organik dalam sampel dapat dihitung dan nilai COD dapat ditentukan (Agustria *et al.,* 2013).

COD yaitu uji yang menentukan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh bahan oksidan untuk mengoksidasi bahan-bahan organik yang terdapat di dalam air. uji COD biasanya menghasilkan nilai kebutuhan oksigen yang telah tinggi daripada uji BOD karna bahan-bahan yang stabil terhadap reaksi biologi dan mikroorganisme dapat ikut teroksidasi dalam uji COD 96% hasil uji COD dilakukan selama 10 menit akan sama dengan hasil uji BOD selama 10 hari (Azan, 2003).

Uji COD biasanya menghasilkan nilai kebutuhan oksigen yang lebih tinggi dari pada uji BOD karena bahan-bahan yang stabil terhadap reaksi biologi dan mikroorganisme dapat ikut teroksidasi dalam uji COD. Sebagai contoh, selulosa sering tidak terukur melalui uji BOD karena sukar dioksidasi melalui reaksi biokimia, tetapi dapat terukur melalui uji COD. Sembilan puluh enam persen hasil uji COD yang dilakukan selama 10 menit kira-kira akan setara dengan hasil uji BOD selama 5 hari. Adanya senyawa khlor selain mengganggu uji BOD juga dapat mengganggu uji COD karena khlor dapat bereaksi dengan kalium dikhromat. Cara

pencegahannya adalah dengan menambahkan merkuri sulfat yang akan membentuk senyawa kompleks dengan khlor (Fardiaz, 1992).

2.8 Bakteri

2.8.1 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii adalah bakteri gram-negatif yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial pada manusia. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 44 ^{o}C, menggunakan berbagai jenis karbohidrat sebagai sumber nutrisi dan mampu melekat pada sel epitel manusia. Karakteristik dari bakteri ini adalah aerobik, berbentuk koko-basil, dan dapat dengan cepat tahan (resisten) terhadap berbagai antibiotik. Bakteri ini diketahui dapat melakukan kolonisasi di unit operasi, medis, persalinan dan perawatan luka bakar dalam suatu rumah sakit serta berperan dalam infeksi penyakit akut seperti meningitis, pneumonia, dan bakteremia. *Acinetobacter baumannii* juga diketahui tahan (resisten) terhadap sabun dan antiseptik konveksional sehingga kontaminasi koloni baktetri ini pada tangan petugas kesehatan mudah terjadi (Wikipedia, 2015).

Acinetobacter pendek, gemuk, gram negatif, batang, biasanya 1,0-1,5 dengan 1,5 sampai 2,5 mm fase pertumbuhan logaritmik tetapi sering menjadi lebih coccoid dalam fase stasioner. Memasangkan atau *clustering* sel sering terjadi. Pewarnaan Gram variabilitas, serta variasi ukuran sel dan pengaturan, yang sering dapat diamati dalam budaya murni tunggal. *Acinetobacter sp*,biasanya bentuk halus, kadang-kadang berlendir, kuning pucat keabu-abuan putih koloni pada media padat, meskipun beberapa strain lingkungan yang menghasilkan pigmen coklat *diffusible* telah diuraikan (Nugroho, 2012).

Acinetobacter merupakan salah satu bakteri patogen utama yang mewabah diseluruh dunia. *Acinetobacter baumannii* banyak ditemukan sebagai bakteri penyebab infeksi nosokomial pada saluran kemih, infeksi luka operasi,

infeksi pembuluh darah, *ventilator-associated pneumonia* (VAP) dan meningitis khususnya pasien dengan sistem imun rendah. Penelitian di Indonesia didapatkan *Acinetobacter* sebagai salah satu bakteri gram negatif yang paling sering menginfeksi yaitu sebesar 25,8% (Silma, 2011).

2.8.2 *Bacillus subtilis*

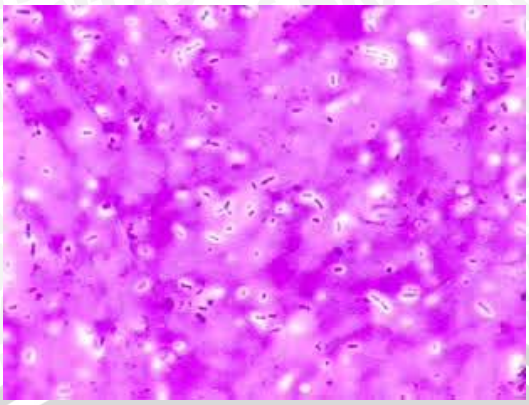
Bacillus sp. bersifat aerob dan fakultatif anaerob serta merupakan salah satu bakteri yang bermanfaat dalam proses pengolahan air limbah. *Bacillus sp* merupakan bakteri gram positif dengan sel berbentuk batang. Ujung sel persegi, bundar, meruncing, atau lancip seperti ujung cerutu. Ujung sel terpisah dan adakalanya tetap saling melekat dengan yang lain. *Bacillus sp.* sangat resisten terhadap kondisi yang kurang baik seperti suhu, pH, dan salinitas sehingga distribusinya di alam sangat luas (Ishartanto, 2009).

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram-positif yang berbentuk batang dan secara alami sering ditemukan di tanah dan vegetasi. *Bacillus subtilis* timbuh di berbagai *mesophilic* suhu berkisar 25-35 ^{o}C. *Bacillus subtilis* juga telah berevolusi sehinggaa dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras dan lebih cepat mendapatkan perlindungan terhadap stres situasi seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat alkali, osmosa, atau oxidative kondisi (Wikipedia, 2015).

2.8.3 *Enterobacter gergoviae*

Klasifikasi bakteri *Enterobacter gergoviae* menurut Zipcodezoo (2015), adalah sebagai berikut :

Filum : Proteobacteria
Kelas : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : Enterobacter
Spesies : *Enterobacter sp*



Gambar 2. *Enterobacter gergoviae*
Sumber : *googleimage* (2015)

Anggota dari famili *Enterobacteriaceae* adalah bakteri Gram negatif fakultatif anaerobik berbentuk batang yang dapat bersifat motil atau non motil; strain bakteri motil mempunyai flagella peritrik. Semua spesies berkembang biak pada media buatan dan mengubah glukosa, dimana mereka membentuk asam atau asam dan gas. Bakteri-bakteri tersebut juga memproduksi enzim katalase. Dengan beberapa pengecualian pada genus *Erwinia*, anggota dari *Enterobacteriaceae* mereduksi nitrat menjadi nitrit. Komposisi antigeniknya tendiri dari sebuah mozaik hubungan serologik yang saling mengisi diantara beberapa genus. Famili ini termasuk saprofit, parasit hewan dan beberapa parasit tanaman (Grimont, 2006).

Enterobacter sp merupakan jenis bakteri fakultatif anaerobik, bakteri gram negatif, motil dengan bantuan flagellum peritrikus. Satu-satunya sumber karbon yang dapat digunakan oleh bakteri ini adalah sitrat dan asetat. Suhu optimum pertumbuhannya 37 ^{o}C. Bakteri ini biasanya dijumpai dalam limbah, tanah dan beberapa perairan alamiah. *Enterobacter sp* berbentuk bulat, dengan diameter 0,6 – 1 µm (Periame *et al.,* 2013).

2.8.4 *Bacillus meganterium*

Bacillus megaterium merupakan bakteri aerob yang, gram positif, berbentuk bar dengan ukuran diameter 1,2 mikrometer 1,5 dan panjang 2,0 2,4 mikrometer, bentuk sel-sel silinder sampai bentuk oval atau pear, serta motil endospora sebagian besar terbentuk pada periode dari 48 jam dengan suhu optimum untuk pertumbuhannya antara 28 ^{o}C - 35 ^{o}C dan suhu maksimum antara 40 ^{o}C - 45 ^{o}C. Dalam media glukosa, bentuk batangnya kadang-kadang lebih panjang dan diameter besar sampai 3 pm (Yahya *et al.*, 2012).

Bacillus meganterium memerlukan aerasi untuk memacu pertumbuhan, spora bervariasi dari oval pendek hingga memanjang pada beberapa strain, tudung spora terwarnai dengan fuchsin. Pada Nutrient Agar tampak tumbuh bertumpuk-tumpuk, non spreading, mengkilap, kadang-kadang rugose samping. Pada media agar biasanya berwarna kuning pada inkubasi lama pertumbuhan dan medium menjadi coklat atau hitam. *Bacillus meganterium* ini mampu bertahan dalam beberapa kondisi lingkungan yang ekstrim seperti gurun karena membentuk spora. Dimana terdapat kondisi yang menguntungkan spora dapat bertahan (Hidayat, 2012).

2.8.5 *Nitroccocus sp*

Nitrococcus merupakan bakteri yang berguna pada pengolahan limbah dengan proses bioremediasi. Bakteri ini penting pada siklus nitrogen dengan menungkatkan *availability* dan nitrogen. Jenis bakteri ini ditemukan ditanah, limbah air tawar, dan permukaan bangunan, terutama pada aera kotor yang mengandung senyawa nitrpgen dalam jumlah besar. Nitrococcus mampu bertahan pH dari 6,0 – 9,0 dan pada suhu antara 20 ^{O}C – 30 ^{O}C (Fidiawati, 2010).

Bakteri nitrifikasi yang dikenal paling penting untuk proses nitrifikasi adalah *Nitrosomonas* atau *Nitrococcus* yang mengoksidasi ammonia menjadi nitrit dan *Nitrobacter* yang mengoksidasi nitrit menjadi nitrat. Faktor utama yang

mempengaruhi kecepatan proses nitrifikasi adalah konsentrasi mikroba nitrifikasi. Jumlah mikroba nitrifikasi tersebut dapat mencerminkan dengan waktu generasi mikroba yang akan berhubungan dengan jumlah energi yang dibutuhkan selama proses oksidasi (Jenie dan Rahayu, 1993).

2.8.6 *Pseudomonas putida*

Pseudomonas putida bersel tunggal, batang lurus atau melengkung namun tidak berbentuk heliks. Pada umumnya berukuran 0,5 – 1,0 µm x 4,0 µm, motil dengan flagellum polar, monotrikus atau multitrikus, tidak menghasilkan selongsong prosteka, tidak dikenal adanya stadium istirahat, gram negatif, metabolism dengan respirasi tidak pernah fermentatif. Beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif dapat menggunakan H_2 atau CO sebagai sumber energi. Oksigen molekuler merupakan penerima elektron universal aerobik sejati katalase positif (Placzar and Chan, 2009).

Bakteri *Pseudomonas putida* dimasukkan dalam famili Pseudomonadaceae dan mudah ditemukan di tanah, air dan pada permukaan yang bersentuhan dengan tanah atau air. *Pseudomonas putida* diketahui mampu memanfaatkan senyawa hidrokarbon aromatik sepert toluen, xilen dan metil benzoat sebagai satu-satunya sumber karbon. Ciri-ciri penting *P. putida* antara lain adalah berbentuk batang, gram negatif, tidak berspora, sebagian besar bergerak aktif, dan aerob. Motilitas bakteri ini menggunakan satu atau beberapa flagela yang polar. Temperatur pertumbuhan optimumnya adalah 25-30 ^oC (termasuk kelompok mesofilik) (Chasanah, 2007).

Tipe bakteri *Pseudomonas* di alam dapat sebagai biofilm yang menempel pada beberapa permukaan atau substrat, atau dalam bentuk planktonik sebagai organisme uniseluler, aktif berenang/melayang-layang dengan flagela. Metabolismenya dengan respirasi tidak pernah dengan fermentasi, tetapi dapat

tumbuh tanpa adanya oksigen bila tersedia NO_3 sebagai akseptor elektron (Hasan, 2014).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bahan utama yang digunakan adalah limbah air pembekuan ikan kaca piring yang diperoleh dari PT Inti Luhur Fuja Abadi Kabupaten Pasuruhan, Jawa Timur. Sedangkan bahan lain yang digunakan untuk meremediasi limbah tersebut yaitu isolat murni bakteri indegeonus lingkungan limbah dan bakteri mangrove yang telah diisolasi dan diidentifikasi di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, bakteri yang diperoleh yaitu : *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida.* Selain itu, juga terdapat bahan-bahan yang digunakan untuk mengambil limbah antara lain: es batu dan kertas label.

Bahan-bahan yang digunakan untuk pembiakan bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* yaitu: larutan NaCl, aquades, kertas saring, media TSB (*Tryptone Soya Broth*), air ledeng, sarung tangan, masker, tissue, kertas label, kapas, korek api, tali, koran, sabun cair, dan waring. Sedangkan bahan untuk pengujian histamin, TSS, COD, BOD, pH, ammonia dan minyak dan lemak adalah sebagai berikut: methanol, *glasswool*, NaOH 1 N, HCl 0,1 N, aquades, OPT (*Orto-ptalatdikarbosildehid*) 0,1 %, resin penukar ion *Dowex* 1-X8 50-10 *mesh,* larutan standart histamin, asam phospat (H_3PO_4) 3,57 N, larutan kerja, $K_2C_2O_7$, $HgSO_4$, KHP (Kalium Hidrogen Ptalat), H_2SO_4, $MgSO_4$, $CaCl_2$, Hidrofosfat, $FeCl_3$, Bakteri, kertas saring, H_2SO_4 0,04 N, NaOH 6 N, buffer borat,

reagen fenol, sodium nitroprusida, sodium nitroklorit, alkali sitrat, larutan oksida, DPD (*Dhiponil Pospat*), dan buffer.

3.1.2 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan pengambilan sampel, peralatan pembiakan bakteri, peralatan analisa, dan peralatan aerasi limbah cair. Peralatan yang digunakan dalam pengambilan sampel yaitu jerigen dan *coolbox*. Peralatan yang digunakan saat pembiakan dan pengenceran bakteri antara lain: tabung reaksi, rak tabung reaksi, erlemeyer, pipet volume, beaker glass, timbangan digital, gelas ukur, spatula, laminaran flow, bunsen, sprayer, nampan, lemari es, laminaran, autoklaf, inkubator, osse, dan gelas arloji. Peralatan yang digunakan saat aerasi limbah antara lain: aerator, selang, toples, dan beaker glass. Sedangkan peralatan untuk pengujian kadar histamin, TSS, pH, ammonia, dan minyak dan lemak antara lain: kertas saring kasar, plastik, karet, pengikat, corong dan botol *filtrat* contoh, kolom resin 20 cm x 0,8 cm, *reservoar* 2 cm x 5cm; labu ukur 25 ml, 50 ml, 100 ml, dan 1000 ml; pipet *volumetric*, spektrofluorometer, *stirrer-plate*, tabung reaksi 5 ml bertutup, timbangan analitis, waterbath, spektrofotometer Uv-Vis, hot plate, magnetic stirrer, gelas ukur, wadah air pengencer, inkubator, oven, desikator, vacum pam penyaring solid, cawan porselin, pH meter, labu didih, labu pisah, dan destilator horizontal.

3.2 Metode Penelitian

Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Menurut Singarimbun dan Effendi (1995) metode penelitian eksperimen sesuai untuk pengujian hipotesis tertentu dan dimaksudkan untuk mengetahui hubungan sebab akibat variabel penelitian. Metode eksperimen bertujuan untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat

tersebut dengan cara membandingkan suatu kelompok atau kesatuan eksperimen dengan kelompok atau kesatuan kontrol. Adapun variabel- variabel dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas meliputi : limbah cair pembekuan ikan
2. Variabel terikat meliputi: Bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida*

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan RAK (rancangan acak kelompok) dengan membandingkan antara kelompok perlakuan dengan kontrol. Adapun bakteri yang dikombinasikan meliputi : P1234 = Penambahan kombinasi bakteri (*Acinetobacter baumanii + Bacillus subtilis + Enterobacter gergoviae + Bacilus meganterium*), P1235 = Penambahan kombinasi bakteri (*Acinetobacter baumanii + Bacillus subtilis + Enterobacter gergoviae + Nitrococcus sp*), dan P1236 = Penambahan kombinasi bakteri (*Acinetobacter baumanii + Bacillus subtilis + Enterobacter gergoviae + Pseudomonas putida*). Pengamatan dan pengujian dilakukan selama 10 hari dengan selang waktu 5 hari, yaitu Q1 = hari ke 0, Q2 = hari ke 5, dan Q3 = hari ke 10. Berikut adalah rancangan penelitian tentang pengolahan limbah cair pembekuan ikan kaca piring dengan penambahan kombinasi bakteri (*Acinetobacter baumanii, Enterobacter gergoviae, Bacillus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida*) secara aerob (Tabel 2).

Tabel 2. Rancangan percobaan bentuk RAK

Perlakuan Kombianasi Bakteri	Blok		
	Q1	Q2	Q3
P1234	P1234 Q1	P1234 Q2	P1234 Q3
P1235	P1235 Q1	P1235 Q2	P1235 Q3
P1236	P1236 Q1	P1236 Q2	P1236 Q3

Keterangan :

- P (1,2,3,4; 1,2,3,5; dan 1,2,3,6) = Jenis kombinasi bakteri yang digunakan (ml)
- Q (1, 2, dan 3) = Lama aerasi pada 0 hari, 5 hari, dan 10 hari

$$Yij(t) = \mu + Kj + P(t) + \varepsilon i(t)$$

dimana :

i = 1, 2, ...n; dan t = 1, 2, ...n

Yi(t) = nilai pengamatan pada baris ke-i, kolom ke-j yang mendapat perlakuan ke-t.

μ = nilai rata-rata umum

Kj = pengaruh kelompok ke-i

P(t) = pengaruh perlakuan ke-t

εi(t) = pengaruh galat pada kelompok ke-i, yang memperoleh perlakuan ke-t

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel Limbah

Limbah cair yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari limbah cair pembekuan ikan kaca piring di PT Inti Luhur Fuja Abadi Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur. Sampel tersebut diambil setelah ikan selesai dicuci, sisa air pencucian ikan ditampung sendiri dalam bak penampungan limbah pencucian ikan kaca piring. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam jerigen berukuran 30 L sebanyak 2 jerigen. Setelah itu, sampel yang sudah dimasukkan ke dalam jerigen dibawa ke laboratorium dengan menggunakan *coolbox* yang telah diberi es batu. Fungsi pemberian es batu dalam *coolbox* yaitu untuk menjaga suhu sampel agar

tetap konstan dan tidak terjadi perubahan kimia selama perjalanan. Setelah sampai laboratorium, sampel tetap diletakkan dalam *coolbox* dan diberi tambahan es batu agar komponen sampel tidak yang akan diuji tidak berubah. Proses pengambilan sampel dapat dilihat pada lampiran 1.

3.4.2 Pembiakan Bakteri

Pembiakan bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Proses pertama yang harus dilakukan dalam pembiakan bakteri adalah sterilisasi alat yang akan digunakan. Menurut Larashanty (2007), sterilisasi merupakan proses yang menghancurkan semua bentuk kehidupan. Suatu benda yang steril dipandang dari sudut mikrobiologi, artinya bebas dari mikroorganisme hidup. Sterilisasi yang banyak dilakukan saat ini yaitu sterilisasi yang menggunakan uap panas dengan suhu dan tekanan yang tinggi dalam autoklaf. Autoklaf mampu membunuh mikroba dengan suhu 121 ^{o}C (Nick, 1999). Dalam penelitian ini alat-alat yang perlu disterilisasi antara lain : cawan petri, tabung reaksi, dan pipet volume. Tujuan dari sterilisasi pada alat tersebut adalah untuk menghindari kontaminasi silang oleh mikroorganisme selama proses pembiakan bakteri.

Tahap selanjutanya yaitu dilakukan reisolasi dari stok kultur bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida.* Tujuan dari reisolasi ini adalah untuk memastikan ada atau tidaknya kontaminasi sehingga didapatkan koloni murni. Metode yang digunakan untuk reisolasi ini adalah metode striking kuadran. Setelah itu, dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ^{O}C, lalu dilakukan pewarnaan gram secara mikroskopis untuk melihat gambaran sel apakah terdapat kontaminasi atau tidak. Setelah diketahui bahawa koloni yang tumbuh adalah biakan murni, lalu dari kuadran IV diambil satu sampai dua koloni dengan menggunakan jarum osse dan dimasukkan ke dalam media cair TSB yang

terdapat dalam tabung reaksi dengan volume 10 ml. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 ^{O}C. Indikator tumbuhnya koloni bakteri pada media cair TSB adalah pada media yang digunakan untuk pembiakan bakteri akan berwarna keruh jika dibandingkan dengan media cair TSB yang tidak diberi koloni bakteri. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk memastikan ada atau tidaknya kontaminasi pada koloni yang dibiakkan. Tahapan dalam pewarnaan gram hal yang pertama dilakukan yaitu pembuatan preparat untuk pewarnaan, diambil gelas objek steril dan dipanaskan di atas nyala api spirtus untuk membebaskan dari lemak, lalu diambil satu koloni bakteri dengan jarum osse steril dan ratakan pada gelas objek tersebut. Kemudian, keringkan diangin-anginkan hingga kering. Selanjutnya dilakukan tahap pewarnaan, pada preparat yang telah kering ditetesi dengan Kristal violet, alkohol 96%, dan ammonium oksalat, didiamkan selama 1 menit lalu buang larutan pewarna tersebut kemudian tetesi dengan iodium, kalium iodide, dan akuades didiamkan selama 1 menit, lalu dibuang larutan tersebut dan dicuci. Setelah itu, preparat ditetsi dengan aseton alkohol hingga warna tepat dihilangkan kurang lebih 30 detik. Lalu, ditetesi dengan safranin, alkohol 96%, dan akuades, didamkan selama 1 menit kemudian cuci dan keringkan pada suhu ruang. Selanjutnya, diamati preparat tersebut dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 objek. Jika hasil yang didapatkan tidak terdapat kontaminasi, maka didapatkan koloni murni. Lalu dilakukan pengujian dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm untuk mendapatkan nilai OD 0,1 atau 10^8. Setelah didapatkan nilai OD, dihitung V_1 atau volume biakan yang dibutuhkan dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$
$$V_1 \times 0{,}642 = 0{,}1 \times 10 \text{ mL}$$
$$V_1 = 1{,}56 \text{ ml}$$

Setelah didapatkan V_1 = 1,56 ml kemudian dimasukkan ke dalam larutann NaCl 0,9% steril dengan volume 8,44 ml yang berada pada tabung reaksi sehingga didapatkan koloni bakteri dengan kepadatan 10^8 CFU/mg.

3.4.3 Pengenceran Bakteri

Proses selanjutnya yaitu dilakukan pengenceran bakteri untuk mengurangi kepadatan mikroba yang akan ditanamkan. Menurut Pastra *et al.,* (2012) tujuan pengenceran adalah supaya diperoleh isolat yang tidak begitu padat dan mewakili semua jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Pada penelitian ini pengenceran dilakukan dari kepadatan 10^8 diencerkan menjadi kepadatan 10^6. Sebelum dilakukan proses pengenceran, dihitung terlebih dahulu volume biakan murni bakteri yang dibutuhkan dengan menggunakan rumus :

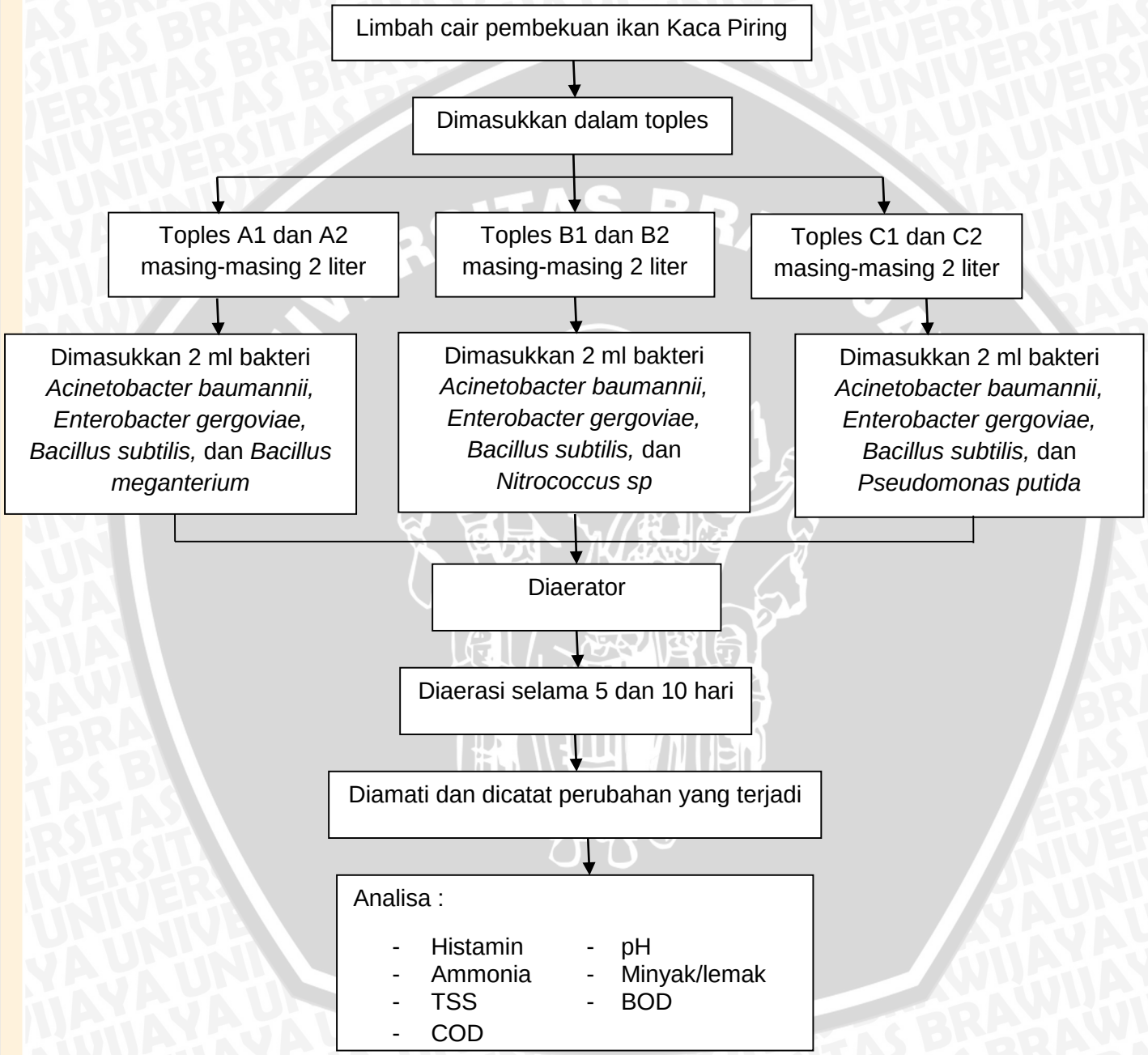
$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$
$$10^8 \times V_1 = 10^6 \times 10 \text{ ml}$$
$$V_1 = 0{,}1 \text{ ml}$$

Dari hasil perhitungan tersebut dapat diketahui jumlah volume biakan bakteri dengan kepadatan 10^8 yang dibutuhkan untuk pengenceran menjadi kepadatan 10^6 adalah 0,1 ml, sehingga volume larutan NaCl steril yang dibutuhkan adalah sebanyak 9,9 ml. pada penelitian ini digunakan 6 jenis bakteri yaitu *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* sehingga disiapkan 6 buah tabung reaksi yang digunakan untuk pengnceran masing-masing bakteri dengan larutan NaCl sebanyak 9,9 ml tiap tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 0,1 ml biakan bakteri ke dalam tabung reaksi masing-masing 1 spesies, sehingga didapatkan biakan bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/mg.

3.4.4 Aerasi Limbah

Sampel limbah cair diambil sebanyak 2 liter digunakan untuk uji histamin sebanyak 450 ml dan sisanya digunakan untuk uji kadar TSS, pH, ammonia, dan minyak dan lemak sebelum sampel limbah dibioaugmentasi dengan bakteri. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kadar histamin, TSS, pH, COD, BOD, ammonia, minyak dan lemak sebelum sampel limbah diberi perlakuan bakteri. Setelah itu, sampel limbah yang tersisa dimasukkan ke dalam 6 toples, dengan masing-masing toples berisi sebanyak 2 liter sampel limbah. Masing-masing sampel limbah tersebut diaerasi dengan menggunakan aerator untuk pengkondisian oksigen dalam toples agar bakteri dapat hidup. Kemudian, dimasukkan 6 jenis bakteri yang telah dibiakkan ke dalam masing-masing toples sebanyak 1 ml/ 1 liter limbah. Ditambahkan 1 ml bakteri karena menurut Ishartanto (2009), dengan dosism*Bacillus* sp. sebesar 1 ml/l telah memenuhi baku mutu, meskipun dosis 2 ml/l dan 3 ml/l juga menghasilkan reduksi bahan organik yang lebih tinggi, namun dalam penelitiannya dosis 1 ml/l mampu menurunkan bahan organik. Enam bakteri yang telah dibiakkan antara lain: *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida.* Pada toples A1 dan A2 berisi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* masing-masing sebanyak 0,5 ml dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Pada toples B1 dan B2 berisi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Nitrococcus sp* masing-masing sebanyak 0,5 ml dengan kepadatan 10^{-6} CFU/ml. Pada toples C1 dan C2 berisi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Pseudomonas putida* masing-masing sebanyak 0,5 ml dengan kepadatan 10^{-6} CFU/ml. Sampel limbah yang telah berisi bakteri tersebut kemudian diaerasi selama 5 hari dan 10 hari. Selama waktu aerasi tersebut, sampel limbah diamati dan dicatat jika terjadi perubahan. Selain itu, juga

dilakukan pengujian kadar histamin, kadar TSS, COD, BOD, kadar ammonia, minyak dan lemak, serta nilai pH. Prosedur kerja aerasi limbah cair pembekuan ikan kaca piring dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Prosedur Penelitian Aerasi Limbah Cair Pembekuan Ikan Kaca Piring

3.4.5 Analisis Histamin

Pengujian histamin dilakukan sebelum sampel limbah diberi perlakuan bakteri dan sesudah diberi perlakuan bakteri. Setelah sampel limbah yang diberi perlakuan bakteri diaerasi selama 5 hari dan 10 hari, maka dilakukan pengujian kadar histamin menggunakan metode spkektrofluorometri. Prosedur kerja analisis kadar histamin berdasarkan SNI 2345. 10:2009 terdiri atas tiga tahap, yaitu sebagai berikut :

- Tahap ekstraksi

Sepuluh ml sampel ditimbang lalu ditambahkan dengan metanol sebanyak 50 ml kemudian dihomogenkan dengan *homogenizer* (blender) kurang lebih selama 1-2 menit. Sampel yang sudah dipanaskan dalam *water bath* pada suhu 60 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan methanol sampai tanda tera lalu dikocok agar homogen. Setelah itu, larutan sampel disaring menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Filtrat dari hasil penyaringan akan digunakan pada proses *clean up*.

- Tahap *clean up* atau tahap elusi

Pertama-tama disiapkan kolom kromatografi (panjang 20 cm dan diameter 7 mm) kemudian ke dalam kolom tersebut dimasukkan *glass wool* secukupnya (tingginya 1 cm). Selanjutnya resin penukar ion (*dowex 1-x800-100-mesh*) dimasukkan ke dalam kolom sampai tingginya kurang lebih 8 cm (diusahakan resin tidak sampai kering dengan cara dibilas dengan akuades karena akan mempengaruhi daya kerja penukar ion tersebut). Selanjutnya sampel filtrat hasil penyaringan pada tahap ekstraksi dilewatkan ke dalam kolom sebanyak 1 ml dan ditampung hasilnya dalam labu ukur yang telah diberi 5 ml HCl 1 N.

- Tahap pembentukan

Sebanyak 10 ml HCl 0,1 N dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 5 ml sampel hasil tahap *celan* up/elusi, 5 ml standar histamin (sebagai larutan standar), dan 5 ml HCl 0,1 N (sebagai blanko). Setelah itu, ditambahkan 3 ml NaOH 1 N ke dalam tabung reaksi lalu dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan lagi *ortoptalatdikarboksilaldehide* (OPT) 1% sebanyak 1 ml lalu dihomgenkan dan didiamkan selama 4 menit. Selanjutnya ditambahkan 3 ml H_3PO_4 3,57 N dan dihomogenkan. Setelah selesai, sampel yang telah melalui tahap pembentukan siap untuk dibaca menggunakan spektrofluorometer pada panjang gelombang eksitasi 350 nm dan panjang gelombang emisi 444 nm. Rumus perhitungan kadar histamin (ppm) adalah sebagai berikut :

$$\text{Histamin (ppm)} = \frac{\left(\frac{\text{IU sampel} - A}{B}\right) \text{X Fp}}{\text{bobot sampel}}$$

Keterangan :
IU = Absorban sampel
A = Intersep
B = Slope
Fp= Faktor pengencer

3.4.6 Analisis TSS (*Total Suspended Solid*)

Analisa TSS (*Total Suspended Solid*) ini dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang, pengujian ini dilakukan setelah sampel limbah diberi perlakuan bakteri dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari. Prosedur uji kadar TSS berdasarkan SNI 06-6989.3-2004 adalah sebagai berikut:

- Persiapan pengukuran TSS

a) Kertas saring diletakkan pada peralatan filtrasi. Vakum dan wadah pencuci dipasang dengan air suling berlebih 20 mL. Vakum dinyalakan untuk

menyedot dengan tujuan menghilangkan semua sisa air, selanjutnya vakum dimatikan, dan menghentikan pencucian.

b) Kertas saring dipindahkan dari peralatan filtrasi ke cawan *Gooch* agar dapat langsung dikeringkan.

c) Kertas saring dikeringkan dalam oven pada suhu 105 ^{O}C selama 1 jam dan selanjutnya kertas saring didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang.

- Prosedur pengukuran TSS

a) Kertas saring diletakkan pada peralatan filtrasi. Selanjutnya, dilakukan penyaringan dengan peralatan vakum. Kertas saring dibasahi dengan sedikit air suling sebelum sampel dituang.

b) Sampel uji diaduk dengan pengaduk magnetik agar sampel uji lebih homogen.

c) Setelah homogen, sampel dipipet dengan volume tertentu pada waktu sampel diaduk dengan pengaduk magnetik.

d) Cuci kertas saring atau saringan dengan 3 x 10 mL air suling, biarkan kering sempurna, dan lanjutkan penyaringan dengan vakum selama 3 menit agar diperoleh penyaringan sempurna. Sampel uji dengan padatan terlarut yang tinggi memerlukan pencucian tambahan.

e) Pindahkan kertas saring secara hati-hati dari peralatan penyaring dan pindahkan ke wadah timbang aluminium sebagai penyangga. Jika digunakan cawan *Gooch* pindahkan cawan dari rangkaian alatnya.

f) Keringkan kertas saring dalam oven setidaknya selama 1 jam pada suhu 103ºC sampai dengan 105ºC, dinginkan dalam desikator untuk menyeimbangkan suhu dan timbang.

3.4.7 Analisis Minyak dan Lemak

Analisa minyak dan lemak sampel limbah cair dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang. Sampel yang dianalisa ini terlebih dahulu diaerasi selama 5 hari dan 10 hari, kemudian dianalisa untuk mengetahui kadar minyak dan lemak dalam limbah setelah diaerasi. Prosedur analisa minyak dan lemak berdasarkan SNI 06-6989.10-2004 adalah sebagai berikut:

- Dimasukkan sampel limbah ke corong pisah dan ditentukan volumenya (ditandai botol sampel pada meniscus air atau timbangan berat sampel)
- Dibilas botol sampel dengan 30 ml pelarut organik dan tambahkan pelarut pencuci ke dalam corong pisah
- Dikocok dengan kuat selama 2 menit, lalu dibiarkan lapisan memisah
- Dikeluarkan lapisan pelarut melalui corong yang telah dipasang kertas saring dan 10 g Na_2SO_4 anhidrat yang keduanya telah dicuci dengan pelarut, ke dalam labu bersih yang telah ditimbang
- Jika tidak terdapat lapisan pelarut yang jernih dan terdapat emulsi lebih dari 5 ml, dilakukan sentrifugasi selama 5 menit pada putaran 2400 rpm. Dipindahkan bahan yang disentrifugasi ke corong pisah dan dikeringkan lapisan pelarut melalui corong dengan kertas saring dan 10 g Na_2SO_4 yang keduanya telah dicuci sebelumnya, ke dalam labu bersih yang telah ditimbang
- Digabungkan lapisan air dan emulsi sisa atau padatan dalam corong pisah. Ekstraksi 2 kali lagi dengan pelarut 30 ml tiap kalinya.
- Digabungkan ekstrak dalam labu destilasi yang telah ditimbang, termasuk cucian terakhir dari saringan dan Na_2SO_4 anhidrat dengan tambahan 10 ml sampai dengan 20 ml pelarut
- Destilasi pelarut dalam pemanas air pada suhu 85^{O}C.

- Saat terlihat kondensasi pelarut berhenti, pindahkan labu dari penangas air. didinginkan salam desikator selama 30 menit pastikan labu kering dan timbang sampai diperoleh berat tetap.

3.4.8 Analisis pH

Sampel limbah yang telah diberi perlakuan bakteri dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari diuji pH dengan menggunakan pH meter, pengujian ini dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang . Menurut SNI 06-6989.11-2004 prinsip cara uji derajat keasaman (pH) dengan menggunakan alat pH meter adalah sebuah metode pengukuran pH berdasarkan pengukuran aktifitas ion hodrogen secara potensiometri/elektrometri dengan menggunakan pH meter.

Berikut ini merupakan prosedur pengukuran pH dengan menggunakan pH meter berdasarkan SNI 06-6989.11-2004 adalah sebagai berikut :

- pH meter dikalibrasi menggunakan buffer standar pH 4 dan 7
- Dituangkan limbah ke dalam piala gelas 250 ml
- Dicelupkan elektroda pH meter ke dalam larutan limbah
- Ditunggu sampai pembacaan nilai pH stabil yang terlihat pada layar pH meter *Fisher Scientific* terdapat tulisan “STABLE”
- Dicatat pH dan suhu limbah

3.4.9 Analisis Amonia

Analisis ammonia dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang, sampel limbah diuji setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan menggunakan metode fenat atau spektrofotometri. Prinsip analisa ammonia berdasarkan SNI 06-6989.30-2005 adalah ammonia bereaksi dengan hipoklorit dan fenol yang dikatalisis oleh natrium nitroprusida membentuk senyawa biru indofenol. Prosedur kerja analisa ammonia berdasarkan 06-6989.30-2005 adalah sebagai berikut:

a. Dipipet 25 ml sampel uji masukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL;

b. Ditambahkan 1 mL larutan fenol, dihomogenkan;

c. Ditambahkan 1 mL natrium nitroprusid, dihomogenkan;

d. Ditambahkan 2,5 mL larutan pengoksidasi, dihomogenkan;

e. Ditutup erlenmeyer tersebut dengan plastik atau parafin film;

f. Dibiarkan selama 1 jam untuk pembentukan warna;

g. Dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer, dibaca dan dicatat hasil panjang gelombang 640 nm.

3.4.10 Analisis COD (*Chemical Oxygen Demand*)

Analisa COD dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang, pengujian ini dilakukan setelah sampel limbah diaerasi pada hari ke 5 dan hri ke 10 dengan menggunakan metode spektrofotometri. Prosedur kerja analisa kadar COD berdasarkan SNI 06-6989.2-2009 adalah sebagai berikut:

- Pembuatan kurva deret standar penetapan COD

Digerus perlahan *kalium hydrogen phtalat*, lalu keringkan sampai berat konstan pada suhu 110 ^{O}C. Larutkan 425 mg KHP ke dalam air bebas organik dan tepatkan sampai 1000 mL. Buat deret standar sesuai dengan kebutuhan dengan konsentrasi yang berbeda. Dipipet maing-masing deret standar 2,5 mL, *digestion solution* 1,5 mL, dan 3,5 mL pereaksi asam sulfat ke dalam *digestion vessel*. Ditutup tabung tersebut dan dikocok kuat perlahan sampai homogen. Diletakkan tabung pada pemanas pada suhu 150 ^{O}C selama 2 jam. Didinginkan perlahan-lahan contoh uji yang sudah direfluks sampai suhu ruang. Saat pendinginan tutup contoh uji dibuka untuk mencegah adanya tekanan gas. Diukur absorbansi standar dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 600 nm. Dibuat kurva standar hubungan konsentrasi dan absorbansi standar.

- Pemeriksaan nilai COD sampel

Dipipet limbah 2,5 mL, *digestion solution* 1,5 mL, dan 3,5 mL pereaksi asam sulfat ke dalam *digestion vessel*. Ditutup tabung tersebut dan dikocok kuat

perlahan sampai homogen. Diletakkan tabung pada pemanas pada suhu 150 ^{O}C selama 2 jam. Didinginkan perlahan-lahan contoh uji yang sudah direfluks sampai suhu ruang. Saat pendinginan tutup contoh uji dibuka untuk mencegah adanya tekanan gas. Diukur absorbansi contoh dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS panjang gelombang 600 nm. Dilakukan hal yang sama pada air bebas organik sebagai blanko.

COD (mg O_2/L) = $Fp\ x\ \frac{Abs\ Contoh}{Slope}$

Keterangan :
Fp = faktor pengenceran
A contoh = absorbansi contoH

3.4.11 Analisis BOD (*Biochemical Oxygen Deman*)

Analisa kadar BOD (*Biochemical Oxygen Deman*) dilakukan di laboratorium Kualitas Air Jasa Tirta Malang, analisa BOD dilakukan setelah sampel diaerasi selama 5 hari dan 10 hari. Prosedur analisa BOD berdaraskan SNI 6989-72-2009 adalah sebagai berikut:

- Disiapkan 2 buah botol DO dan masing-masing botol diberi tanda A1 dan A2.
- Dimasukan larutan sampel uji ke dalam masing-masing botol yang telah diberi tanda secara hati-hati untuk menghindari terbentuknya gelembung udara.
- Dikocok beberapa kali hingga homogeny, kemudian ditambahkan air bebas mineral pada sekitar mulut botol DO yang telah tertutup.
- Disimpan botol A2 dalam lemari inkubator dengan suhu 20^{O}C selama 5 hari
- Dilakukan pengukuran oksigen terlarut terhadap larutan sampel dalam botol A1 dengan alat DO meter , pengukuran oeksigen terlarut dilakukan 30 menit setelah pengenceran. Hasil pengukuran merupakan nilai oksigen terlarut 0 hari (A1)

- Dilakukan hal sama pada botol sampel A2 yang telah diinkubasi selama 5 hari, hasil pengukuran merupakan nilai oksigen terlarut 5 hari (A2).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembahasan

4.1.1 Analisa Kadar Histamin

Hasil analisa kadar histamin dengan menggunakan metode spektrofluorometri berdasarkan SNI 2345. 10:2009 dengan panjang gelombang eksitasi 350 nm dan panjang gelombang emisi 444 nm pada limbah cair pembekuan ikan kaca piring yang telah diberi kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisa Kadar Histamin

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	ND	ND	ND
P1235	ND	ND	ND
P1236	ND	ND	ND

Keterangan :
ND : *No detected*
P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*
P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*
P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*

Berdasarkan tabel di atas, dapat dilihat bahwa limbah cair pembekuan ikan kaca piring yang dihasilkan dari pabrik pembekuan ikan tidak terdeteksi mengandung histamin. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari juga tidak terdapat kadar histamin pada limbah pembekuan ikan kaca piring. Hal ini

disebabkan oleh limbah cair pembekuan ikan yang dihasilkan bukan berasal dari ikan jenis *scombroid,* sehingga limbah pembekuan ikan kaca piring ini tidak menyebabkan bahaya keracunan akibat adanya kadar histamin yang tinggi. Menurut Mangunwardoyo *et al.,* (2007) beberapa jenis ikan terutama dari famili scombroidae mempunyai kandungan histidin bebas yang tinggi, sebagai contoh ikan tuna mata besar mencapai 491mg/100mg daging, mahi-mahi 344mg/100g daging, cakalang 1192mg/100g daging, tuna ekor kuning 740mg/100g daging dan albakor yang tertinggi mencapai 2g/100g daging dan menyatakan bahwa hanya yang mengandung histidin bebas diatas 100mg/100g daging yang mampu menghasilkan histamin.

Histidin bebas yang terdapat dalam daging ikan sangat erat hubungannya dengan terbentuknya histamin dalam daging. Daging yang berwarna gelap umumnya mengandung histidin bebas yang tinggi. Kandungan histidin bebas yang terdapat dalam daging ikan tuna segar berkisar 745 sampai 1460 mg. Sedangkan ikan yang berdaging putih kandungan histidin bebasnya rendah dan ketika busuk tidak menghasilkan histamin sampai 10 mg setelah dibiarkan 48 jam pada suhu 25^{O}C (Keer *et al.,* 2002).

Indriati *et al,.* (2006) menyatakan bahwa histamin merupakan salah satu senyawa biogenik amin yang dianggap sebagai penyebab utama keracunan makanan yang berasal dari ikan, terutama dari kelompok *scombroid*. Histamin merupakan senyawa amin yang dihasilkan dari proses dekarboksilasi histidin bebas (α-amina-β-inidosal asam propionat). Proses pembentukan histamin pada ikan sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim *L-Histidine Decarboxylase* (HDC) (Mangunwardoyo *et al.,* 2007).

Amina biogenik diproduksi pada jaringan ikan oleh bakteri dari family *Enterobacteriaceae*, seperti *Morganella, Klebsiella,* dan *Hafnia* yang menghasilkan enzim histidin *decarboxylase* (Wicaknono, 2009). Menurut Affiano

(2011) setelah ikan mati, sistem pertahanan tubuhnya tidak bisa lagi melindungi dari serangan bakteri, dan bakteri pembentuk histamin mulai tumbuh dan memproduksi enzim dekarboksilase yang akan menyerang histidin dan asam amino bebas lainnya menjadi histamin.

4.1.2 pH

Salah satu faktor yang mempengaruhi mikroorganisme dalam penguraian bahan organik adalah pH. pH memiliki peranan penting dalam proses kimiawi maupun biologi dan menentukan kualitas perairan alami. Menurut Sutanto (2008) menyatakan bahwa pH optimum untuk proses penguraian bahan organik adalah antara 5-8. Pada penilitian ini, hasil pengamatan sebelum dilakukan pengolahan limbah cair menunjukkan karakteristik nilai pH limbah sebesar 6,8 (Tabel 4). Nilai pH tersebut masih memenuhi kisaran baku mutu air yang telah ditetapkan yaitu 6 – 9. Hasil analisis pH limbah cair pembekuan ikan setelah diberi perlakuan pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisa pH

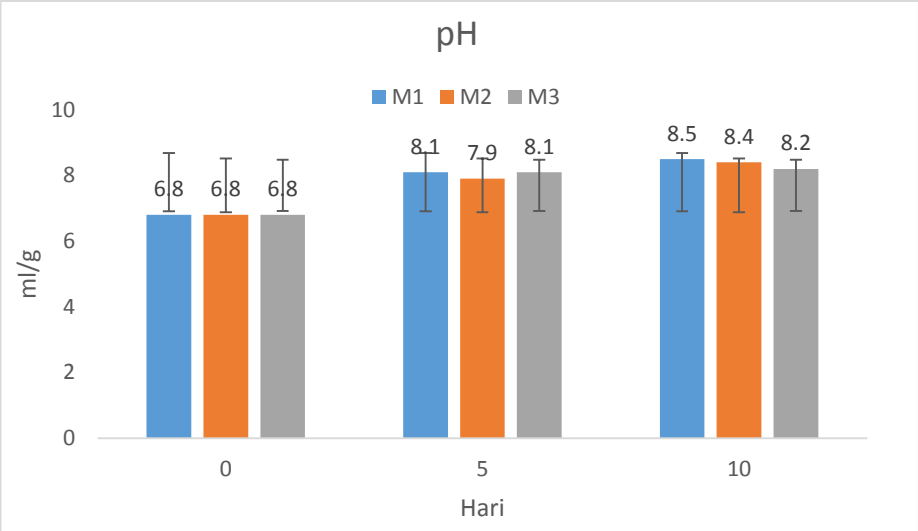
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	6,8	8,1	8,5
P1235	6,8	7,9	8,4
P1236	6,8	8,1	8,2

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P12346 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 4. Grafik Nilai pH dari Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 4. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai pH setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan kenaikan nilai pH dari 8,1 menjadi 8,5. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan kenaikan nilai pH dari 7,9 menjadi 8,4. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan kenaikan nilai pH dari 8,1 dan 8,2. Pada umumnya dalam penelitian ini terjadi kenaikan pH setelah limbah diberikan perlakuan, namun kenaikan pH ini masih dalam kisaran baku mutu air yang telah ditetapkan oleh Peraturan Pemerintah No.6 tahun 2007 yaitu berkisar 6–9. Kenaikan pH yang terjadi pada limbah cair pembekuan ikan kaca piring ini terjadi akibat adanya pemecahan bahan organik menjadi asam-asam organik, lalu asam-

asam organik tersebut terdekomposisi menjadi CO_2, H_2O, dan NH_3, karena ammonia bersifat basa maka pHnya menjadi naik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sajidan (2006), kenaikan pH dapat terjadi karena proses penguraian bahan organik yang terkandung dalam limbah oleh bakteri menghasilkan gas karbondioksida, air dan amonia, akan tetapi kenaikan pH limbah masih dapat dikendalikan oleh aktivitas bakteri. Ditambahkan oleh Doraja *et al.,* (2012) degradasi protein dan nitrogen organik yang menjadi ammonium dapat menaikan pH.

Menurut Ibad (2013), menyatakan bahwa terdapat beberapa bakteri yang dapat mendegradasi dan menggunakan asam organik dalam proses metabolisme yaitu *Pseudomonas* dan *Bacillus* yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim tunggal maupun beberapa enzim untuk mendegradasi asam organik. Hasil penelitiannya memperoleh bakteri yang dapat mendegradasi protein. Enzim protease (*poli-peptidase, ologopeptidase, di-peptidase*) merombak protein menjadi peptida yang lebih sederhana atau asam amino. Asam amino kemudian mengalami transaminasi, deaminasi, dekarboksilasi, atau dehidrogensi menjadi zat lain yang lebih sederhana.

Hasil analisa statistik dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan nilai pH yang tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat meningkatnya nilai pH, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi menunjukkan hasil yang berbeda nyata, hal ini menunjukkan semakin lama waktu aerasi makan semakin tinggi peningkatan nilai pH dalam limbah cair tersebut. Hal ini disebabkan, semakin lama waktu aerasinya maka bahan organik yang diuraikan oleh bakteri semakin banyak, sehingga hasil dekomposisi asam organik juga semakin meningkat.

4.1.3 Kadar TSS

TSS (*Total Suspended Solid*) atau total padatan tersuspensi adalah padatan yang tersuspensi di dalam air berupa bahan-bahan organik dan anorganik yang dapat disaring dengan kertas millipore berporipori 0,45 µm (Agustria *et al.,* 2013). Kadar TSS yang terdapat dalam limbah cair pembekuan ikan pada pengamatan sebelum proses pengolahan menunjukkan karakteristik padatan tersuspensi sebesar 105,1 mg/l, kadar TSS tersebut masih melebihi baku mutu air yang telah ditetapkan, yaitu 100 mg/l. Nilai TSS yang tinggi pada suatu perairan dapat menyebabkan kekeruhan air yang dapat menghambat masuknya intensitas cahaya dalam air dan dapat menyebabkan pendangkalan pada perairan. Hasil analisa kadar TSS limbah cair pembekuan ikan setelah diberi perlakuan pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Analisa Kadar TSS

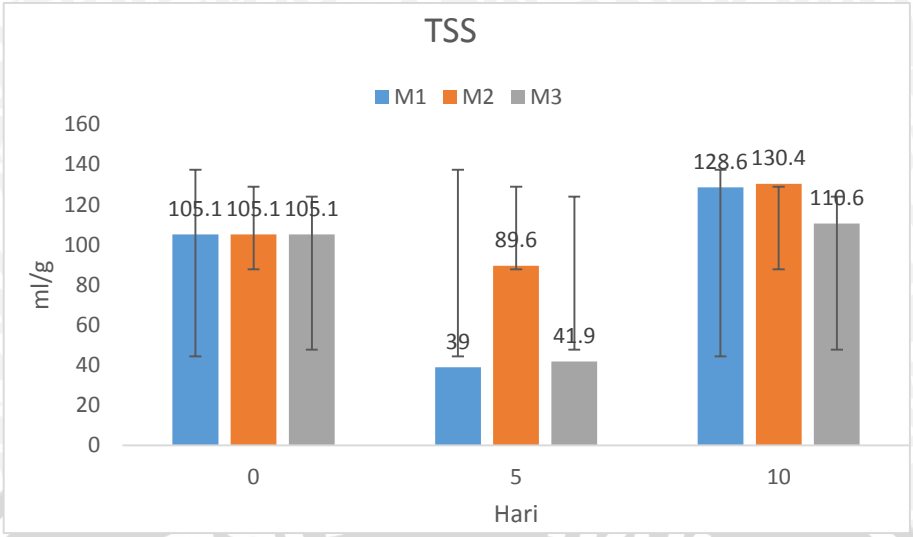
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	105,1 mg/l	39 mg/l	128,6 mg/l
P1235	105,1 mg/l	89,6 mg/l	130,4 mg/l
P1236	105,1 mg/l	41,9 mg/l	110,6 mg/l

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 5. Grafik Kadar TSS dalam Limbah Cair Pembekeuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 5. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai TSS setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* yang diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai TSS dari 39 mg/l menjadi 128,6 mg/l. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Nitrococcus sp* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai TSS dari 89,6 mg/l menjadi 130,4 mg/l. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai TSS dari 41,9 mg/l menjadi 110,6 mg/l. Pada umumnya limbah cair pembekuan ikan setelah diaerasi pada hari ke 5 menunjukkan penurunan nilai TSS, hal ini diduga akibat pemberian kombinasi bakteri tersebut yang dapat mempercepat proses dekomposisi bahan organik. Penelitian yang dilakukan Wigyanto (2009), menyatakan penurunakan kadar TSS

disebabkan oleh aktivitas pendegradasi senyawa organik oleh bakteri pendegradasi. Hal ini karena selama proses degradasi berlangsung, molekul kompleks bahan cemaran organik dipecah oleh enzim-enzim bakteri pendegradasi melalui proses hidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana. Senyawa yang lebih sederhana tersebut digunakan untuk metabolisme bakteri sehingga dihasilkan energi, CO_2, H_2O dan sisa metabolisme yang berupa lumpur yang mudah mengendap, sehingga dengan mekanisme tersebut bahan cemaran organik yang keberadaannya di dalam limbah merupakan padatan tersuspensi semakin lama semakin berkurang sehingga nilai TSSnya juga semakin menurun. Namun, setelah dilakukan aerasi selama 10 hari nilai TSS mengalami kenaikan yang cukup tinggi. Hal ini diduga akibat semakin lama waktu aerasi maka sisa metabolisme yang dihasilkan oleh bakteri yang berupa lumpur endapannya semakin banyak, sehingga pada saat pengujian endapan tersebut terangkat dan terukur sebagai nilai kadar TSS. Menurut Munawaroh *et al.,* (2013), akibat berkurangnya volume air limbah, maka jarak air limbah dengan endapan di dasar bak semakin dekat sehingga terjadi pengadukan saat pengambilan sampel akibatnya endapan yang terangkat akan terukur sebagai kadar TSS yang dapat meningkatkan konsentrasi TSS.

Hasil analisa statistik dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan kadar TSS tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat menurunkan kadar TSS, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi menunjukkan hasil yang berbeda nyata, hal ini menunjukkan semakin lama waktu aerasi makan semakin tinggi penurunan kadar TSS dalam limbah cair tersebut.

TSS adalah padatan yang menyebabkan kekeruhan air, tidak terlarut dan tidak dapat mengendap langsung. Padatan ini terdiri dari partikel-partikel yang ukuran maupun beratnya lebih kecil dari sedimen, seperti bahan organik yang terkandung dalam air limbah. Semakin banyak bahan organik yang terurai oleh aktivitas bakteri maka kualitas limbah domestik semakin baik (Sajidan *et al.,* 2006).

4.1.4 Kadar Amonia

Amonia merupakan bentuk nitrogen dalam air limbah yang berasal dari pembusukan senyawa nitrogen organik seperti protein dan sebagainya. Kandungan amonia dalam perairan akan menyebabkan keadaan kekurangan oksigen pada air. Hal ini disebabkan konversi amonia menjadi nitrat membutuhkan 4,5 bagian oksigen untuk setiap bagian amonia (Sjafei, 2002). Pada penilitian ini, hasil pengamatan sebelum dilakukan pengolahan limbah cair menunjukkan karakteristik kadar ammonia awal sebesar 16,4 mg/l. Kadar amonia yang terdapat dalam limbah cair pembekuan ikan ini telah melebihi standar baku mutu air yang telah ditetapkan yaitu sebesar 10 mg/l. Hasil analisa kadar amonia limbah cair pembekuan ikan setelah diberi perlakuan pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisa Kadar Amonia

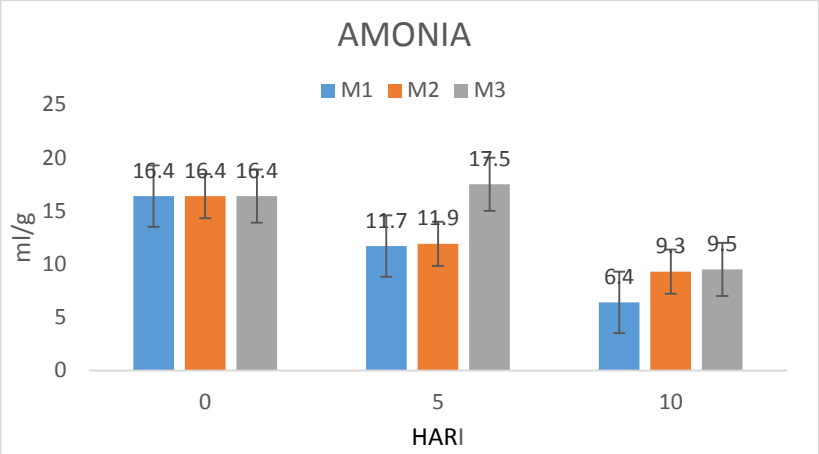
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	16,4 mg/l	11,7 mg/l	6,4 mg/l
P1235	16,4 mg/l	11,9 mg/l	9,3 mg/l
P1236	16,4 mg/l	17,5 mg/l	9,5 mg/l

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 6. Grafik Kadar Amonia dalam Limbah Cir Pembekeuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 6. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai kadar amonia setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar amonia dari 11,7 mg/l menjadi 6,4 mg/l. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar amonia dari 11,9 mg/l menjadi 9,3 mg/l. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar amonia dari 17,5 mg/l menjadi 9,5 mg/l. Pada umumnya dalam penelitian ini terjadi penurunan kadar amonia setelah limbah diberikan perlakuan, penurunan kadar amonia ini telah

memenuhi standar baku mutu air pada hari ke 10. Penurunan kadar amonia yang signifikan diduga akibat pemecahan protein yang terkandung dalam limbah oleh bakteri menghasilkan senyawa C, H, P dan energi, senyawa-senyawa tersebut digunakan untuk metabolisme bakteri. Pemecahan protein itu juga menghasilkan senyawa sampingan yang tidak dipakai bakteri yaitu berupa NH_3 (ammonia). Ammonia tersebut mengalami proses nitrifikasi menjadi nitrit dan selanjutnya nitrit dioksidasi menjadi nitrat. Menurut Titiresmi dan Nida (2006), proses nitrifikasi merupakan tahapan oksidasi ion ammonium menjadi ion nitrit yang melibatkan bakteri *Nitrosomonas*. Selain itu, ammonia yang dikelurkan oleh ikan dalam air akan membentuk kesetimbangan dengan ion ammonium. Ion ammonium dalam dalam bahan organik akan lebih mudah diserap oleh bakteri untuk pertumbuhannya sehingga kadar ammonia menjadi turun. Rosmaniar (2011) mengatakan bahwa penurunan kadar ammonia disebabkan oleh penggunaan ammonia sebagai sumber energi oleh bakteri heterotrofik untuk sintesis biomassa sel.

Bakteri heterotrofik merupakan bakteri yang mampu mendegradasi dan memanfaatkan senyawa organik kompleks yang mengandung unsur C, N, dan H. Kelompok bakteri ini mengawali tahap degradasi senyawa organik dengan serangkaian tahapan enzimatis dan menghasilkan senyawa yang lebih sederhana atau senyawa anorganik. Senyawa tersebut digunakan sebagai sumber energi untuk pembentukan sel-sel baru dan untuk reproduksi yang menyebabkan pertambahan populasi. Pemecahan senyawa organik dapat berlangsung lebih cepat apabila tersedia oksigen yang mencukupi (Rosmaniar, 2011).

Hasil analisis ANOVA dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan kadar amonia yang tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dan lama waktu aerasi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat

menurunkan kadar amonia, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi juga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kadar amonia dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

4.1.5 Kadar Minyak & Lemak

Kandungan minyak dan lemak yang terdapat dalam air limbah industry pengolahan ikan berasal dari pencucian, pembersihan isi perut ikan, dan pengolahan ikan khususnya pada proses perebusan ikan pada industry pengalengan ikan. Pada proses ini, minyak dan lemak yang terdapat dalam ikan akan keluar dan menjadi limbah (Rizqon *et al,.* 2013). Pada penilitian ini, hasil pengamatan sebelum dilakukan pengolahan limbah cair menunjukkan karakteristik kadar minyak dan lemak awal sebesar 2,5 mg/l. Kadar minyak dan lemak yang terdapat dalam limbah cair pembekuan ikan masih memenuhi standar baku mutu air yang telah ditetapkan yaitu 15 mg/l. Hasil analisa kadar minyak dan lemak limbah cair pembekuan ikan setelah diberi perlakuan pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Analisa Kadar Minyak dan Lemak

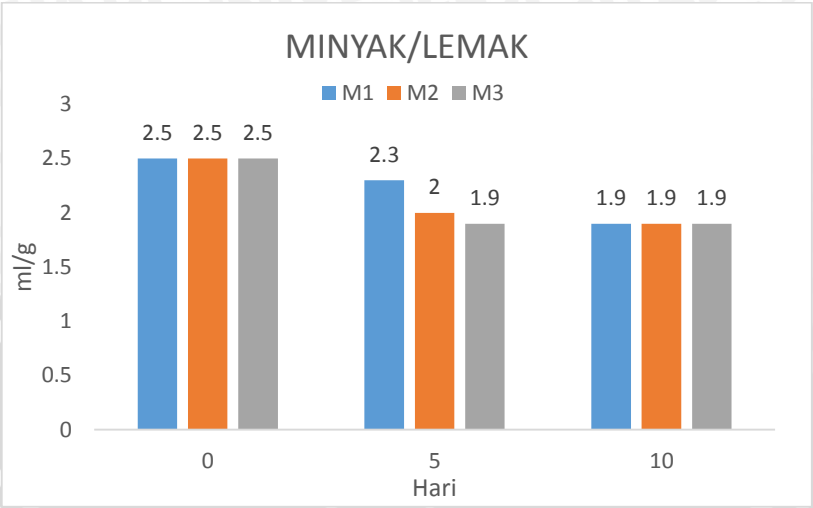
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	2,5 mg/l	2,3 mg/l	1,9 mg/l
P1235	2,5 mg/l	2 mg/l	1,9 mg/l
P1236	2,5 mg/l	1,9 mg/l	1,9 mg/l

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 7. Grafik Kadar Minyak dan Lemak dalam Limbah Cir Pembekeuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 7. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai kadar minyak dan lemak setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar minyak dan lemak dari 2,3 mg/l menjadi 1,9 mg/l. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar minyak dan lemak dari 2 mg/l menjadi 1,9 mg/l. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai minyak dan lemak sebesar 1,9 mg/l.

Penurunan kadar minyak dan lemak dalam limbah cair pembekuan ikan, hal ini disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam mendegradasi senyawa lipid. Menurunnya kadar lipid adalah indikasi berperannya bakteri dalam merombak senyawa organik yang terdapat dalam limbah. Aktivitas perombakan yang terjadi pada limbah disebabkan oleh enzim *membrane-bound oxygenase* yang dikeluarkan oleh bakteri untuk meningkatkan kontak secara langsung antara minyak dan bakteri sehingga bakteri dapat memanfaatkan minyak tersebut sebagai sumber karbon (Januar *et al.,* 2013).

Hasil analisa statistik dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan kadar minyak dan lemak yang tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dan lama waktu aerasi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat menurunkan kadar minyak dan lemak, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi juga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kadar minyak dan lemak dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

4.1.6 BOD (*Biochemical Oxygen Deman*)

Nilai BOD merupakan kandungan bahan organik yang mudah didegradasi si suatu perairan. Indikasi tingginya kandungan bahan organik dan tingkat pencemaran perairan tersebut dipengaruhi oleh tingginya nilai BOD pada suatu perairan. Nilai BOD yang diperoleh pada pengamatan sebelum limbah cair pembekuan ikan diberi perlakuan penambahan kombinasi bakteri adalah 93,4 mg/l. nilai BOD tersebut masih berada pada kisaran baku mutu air limbah yang telah ditetapkan yaitu 100 mg/l. Hasil pengamatan menunjukkan adanya penurunan nilai BOD setelah diberi perlakuan penambahan kombinasi bakteri (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil Analisis Nilai BOD

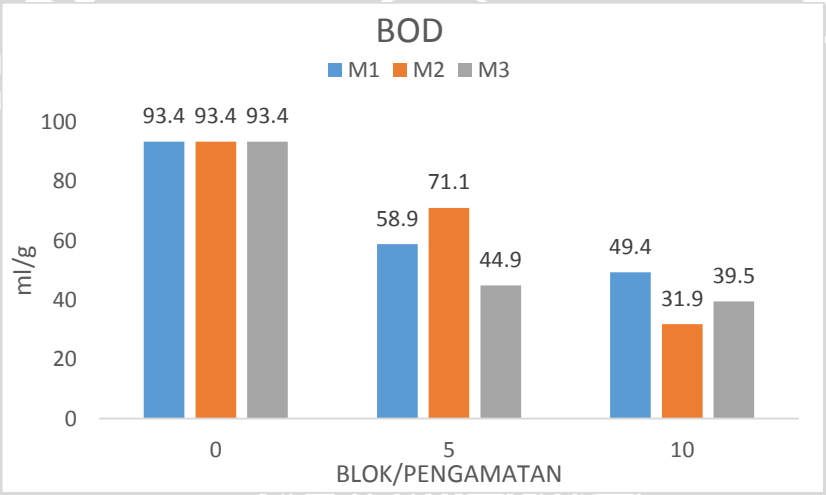
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	93,4 mg/l	58,9 mg/l	49,4 mg/l
P1235	93,4 mg/l	71,1 mg/l	31,9 mg/l
P1236	93,4 mg/l	44,9 mg/l	39,5 mg/l

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 8. Grafik Nilai BOD dalam Limbah Cir Pembekeuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 8. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai BOD setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar amonia dari 58,9 mg/l menjadi 49,4 mg/l. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan

Nitrococcus sp setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai BOD dari 71,1 mg/l menjadi 31,9 mg/l. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai BOD dari 44, 9 mg/l menjadi 39,5 mg/l. Dengan demikian, hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan adanya penurunan nilai BOD pada limbah cair pembekuan ikan yang telah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dan diberi penambahan kombinasi bakteri. Hal ini diduga akibat adanya penurunan jumlah bahan organik dan menurunnya jumlah bakteri yang menguraikan bahan organik menjadi CO2 dan ammonia karena berkurangnya bahan organik yang digunakkan sebagai substrat pertumbuhan bakteri. Menurunnya populasi bakteri akibat penurunan oksigen terlarut dalam air limbah menyebabkan penurunan proses penguraian bahan organik yang ditunjukkan dengan menurunnya nilai BOD. Menurut Razif (2001), pengolahan limbah cair dengan cara diaerasi dan menggunakan bakteri aerob bertujuan untuk menurunkan karbon organik dan nitrogen organik. Bakteri yang berperan dalam menurunkan karbon organik dalah bakteri heterotrof. Bahan organik yang terdapat dalam air limbah diuraikan oleh mikroorganisme menjadi karbondioksida, ammonia dan untuk pembentukan sel baru.

Hasil analisis ANOVA dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan nilai BOD tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat menurunkan nilai BOD, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi juga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan nilai BOD dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

4.1.7 Analisa Kadar COD (*Chemical Oxygen Demand*)

COD sama halnya dengan BOD yang merupakan kandungan bahan organik dalam suatu perairan. Hasil pengamatan sebelum dilakukan proses pengolahan menunjukkan karakteristik nilai COD sebesar 257,1 mg/l. Hasil tersebut menunjukkan nilai COD yang masih berada diatas baku mutu air limbah yang telah ditetapkan yaitu sebear 200 mg/l. Tingginya nilai COD dalam limbah cair diduga akibat kandungan bahan organik dalam limbah cair tidak dapat didegradasi oleh mikroorganisme. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sjafei (2002), bahwa dalam kandungan limbah cair apabila memiliki kandungan COD yang tinggi, tetapi nilai BODnya rendah maka menunjukkan bahwa dalam limbah tersebut mengandung senyawa-senyawa yang tidak terurai secara biologis. Hasil pengamatan yang diperoleh setelah dilakukan aerasi dan diberi kombinasi bakteri ke dalam limbah menunjukkan penurunan nilai COD (Tabel 9).

Tabel 9. Hasil Analisa COD

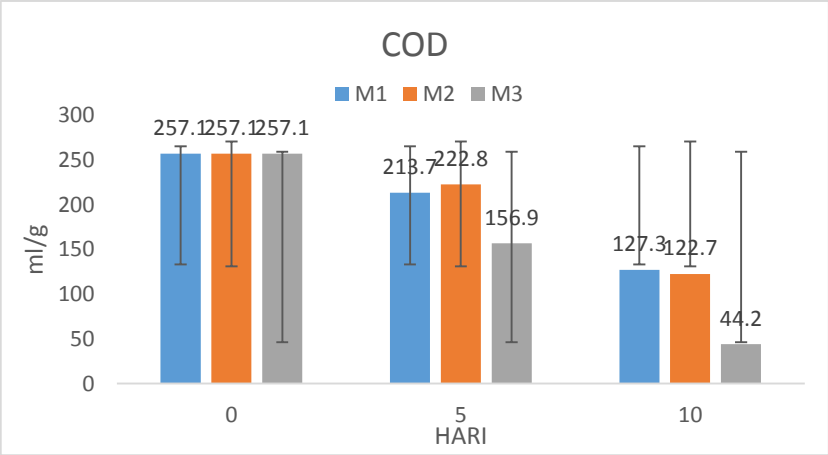
Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	257,1 mg/l	213,7 mg/l	127,3 mg/l
P1235	257,1 mg/l	222,8 mg/l	122,7 mg/l
P1236	257,1 mg/l	156,9 mg/l	44,2 mg/l

Keterangan :

P1234 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Bacilus meganterium*

P1235 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp*

P1236 : kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida*



Gambar 9. Grafik Nilai COD dalam Limbah Cir Pembekeuan Ikan Kaca Piring

Berdasarkan Gambar 9. Hasil pengamatan menunjukkan perubahan nilai COD setelah dilakukan aerasi selama 5 hari dan 10 hari dengan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Setelah pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,* dan *Bacilus meganterium* dan diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai COD dari 213,7 mg/l menjadi 127,3 mg/l. Pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Nitrococcus sp* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai kadar amonia dari 222,8 mg/l menjadi 122,7 mg/l. Sedangkan pada pemberian kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis,*dan *Pseudomonas putida* setelah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari menunjukkan perubahan nilai COD dari 156,9 mg/l menjadi 44,2 mg/l. Dengan demikian, hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan adanya penurunan nilai COD pada limbah cair pembekuan ikan yang telah diaerasi selama 5 hari dan 10 hari dan diberi penambahan kombinasi bakteri. Penurunan nilai COD pada limbah cair pembekuan ikan diduga akibat adanya bakteri yang mendegradasi bahan organik. Mikroba yang tumbuh dan berkembangbiak menggunakan bahan organik

yang terdapat dalam limbah cair tersebut untuk memenuhi kebutuhan nutriennya. Adanya bahan organik dan suplai oksigen yang cukup dari aerasi mendukung kondisi bakteri dalam pertumbuhannya.

Menurut Ishartanto (2009), mekanisme penguraian bahan organik dalam limbah cair yaitu yang pertama bakteri mengubahan bahan organik karbon di air limbah menjadi karbondioksida, air, ammonia, dan energi (katabolisme). Bahan organic terlarut (dari jenis *biodegradable*) akan langsung terserap ke dalam sel bakteri melalui dinding sel atau membran bakteri (proses absorbsi). Jika nahan organik di perairan dalam bentuk partikulat atau tersuspensi koloid maka pengambilan bahan organik oleh bakteri berlangsung secara adsorbsi, yaitu lewat proses penempelan bahan organik di permukaan dinding sel bakteri. Kemudian energi yang dihasilkan oleh bakteri dari proses transfer akan digunakan untuk membentuk sel-sel baru (anabolisme). Setelah itu, jika kebutuhan nutrisi bakteri telah terpenuhi dan aktivitasnya telah menurun maka bakteri tersebut akan tenggelam pada kondisi air yang tenang.

Hasil analisis ANOVA dengan selang kepercayaan 95% menunjukkan nilai COD tidak berbeda nyata pada perlakuan pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi bakteri yang berbeda-beda dalam limbah cair dapat menurunkan nilai COD, namum tidak ada yang membedakan antara kombinasi bakteri satu dengan yang lainnya. Lama waktu aerasi juga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan nilai COD dalam limbah cair pembekuan ikan kaca piring.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data penelitian tentang pengolahan limbah cair pembekuan ikan kaca piring dengan menggunakan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis, Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* secara aerob diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- Limbah cair yang telah mengalami pengolahan dengan penambahan kombinasi bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis*, *Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* sebanyak 0,1% dengan kepadatan 10^6 CFU/ml setelah diaerasi 5 hari dan 10 hari rata-rata telah menunjukkan perubahan penurunan nilai ph, COD, BOD, kadar histamin, kadar amonia, kadar minyak dan lemak, dan kadar TSS pada hari ke 5, kemudian terjadi kenaikan kadar bahan organik tersebut pada hari ke 10.
- Berdasarkan sidik ragam ANOVA pengolahan limbah cair pembekuan ikan kaca piring dengan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis*, *Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* dapat menurunkan kadar bahan organik, namun pemberian kombinasi bakteri tidak memberikan hasil yang signifikan. Sedangkan lama waktu aerasi meberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan kadar bahan organik tersebut.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari peneliti yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kadar nitrogen total yang terdapat dalam limbah cair pembekuan ikan setelah pemberian kombinasi *Acinetobacter baumannii, Enterobacter gergoviae, Bacilus subtilis*, *Bacilus meganterium, Nitrococcus sp,* dan *Pseudomonas putida* sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu bahan baku pembuatan pakan ternak atau pupuk cair yang memiliki nilai kualitas tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Affandi, Ganis Herlina. 2006. Bioaugmentasi Limbah Cair Pemindangan Menggunakan Bakteri *Endogenous* Limbah Secara Aerob. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang

Affiano, I. 2011.Analisis Perkembangan Histamin Tuna (*Thunnus* sp.) dan Bakteri Pembentuknya Pada Beberapa *Setting* Standar Suhu Penyimpanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor.

Agustira R, Kemala S.L, Jamilah. 2013. Kajian Karakteristik Kimia Air, Fisika Air dan Debit Sungai pada Kawasan Das Padang Akibat Pembuangan Limbah Tapioka. Jurnal Online Agroekoteknologi Vol.1, No.3

Azan, A. 2003. Sistem Pengolahan Air Limbah dalam Menurunkan Konsentrasi BOD, COD, *Total Suspended Solid*, pH di Rumah Sakit Umum Daerah dan Rumah Sakit Islam Ibnu Sina Pekanbaru. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara. Medan.

Chasanah, A.N. 2007. Efektivitas Biofilm *Pseudomonas putida* dengan Medium Pendukung Pipa PVC dan Tempurung Kelapa Untuk Menurunkan Kadar Kromium (Cr) Limbah Cair Industri Penyamakan Kulit. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Surakarta

Darsono, V. 2007. Pengolahan Limbah Cair Tahu Secara Anaerob dan Aerob. Jurnal Teknologi Industri Vol. XI No. 1 Januari 2007: 9-2010

Dian, V. 2001. Studi Mengenai Karakteristik Limbah Cair di PT Indomaguro Tunas Unggul. Teknologi Hasil Perikanan, IPB. Bogor

Doraja, P.H., S Maya, N.D Kuswytasari. 2012. Biodegradasi Limbah Domestik dengan Menggunakan Inokulum Alami Dari Tangki Septik. Jurnal Sains dan Seni ITS Vol. 1 No.1

Edahwati, L dan Suprihatin. 2008. Kombinasi Proses Aerasi, Adsorpsi, Dan Filtrasi Pada Pengolahan Air Limbah Industri Perikanan. Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan Vol.1 No. 2.

Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Gramedia. Jakarta

Fidiawati, E. 2010. Pengaruh Penambahan Bakteri *Acinetobacter sp.* Secara Aerob Terhadap Karakteristik Limbah Cir Pembekuan Ikan. Teknologi Hasil Perikanan, Universitas Brawijaya. Malang.

Ginting, P. 2007. Sistem Pengelolaan Lingkungan dan Limbah Industri. Irama Widya. Bandung.

Grimont, F dan A.D Patrick. 2006. The Genus *Enterobacter.* Prokaryotes (2006) 6:197–214

Husin, A. 2008. Pengolahan Limbah Cair Industry Tahu dengan Biofiltrasi Anaerob dalam Reactor *Fixed-Bed*. Universitas Sumatera Utara. Medan

Ibad, M.M. 2013. Bioremediasi Limbah Cair PT Petrokimia Gresik dengan Bakteri *Indigenus.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.

Ibrahim, B. 2005. Kaji Ulang Sistem Pengolahan Limbah Cair Industri Hasil Perikanan Secara Biologis dengan Lumpur Aktif. Jurnal Buletin Teknologi Hasil Perikanan Vol VIII Nomor 1.

Indriati N, Rispayeni, Heruwati ES. 2006. Studi Bakteri Pembentuk Histamin pada Ikan Kembung Peda Selama Proses Pengolahan. Jurnal Pascpanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 2(1) : 88-99.

Ishartanto, W.A. 2009. Pengaruh Aerasi dan Penambahan Bakteri *Bacillus* Sp. dalam Mereduksi Bahan Pencemar Organik Air Limbah Domestik. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor

Januar, W., S. Khotimah dan A. Mulyadi. 2013.Kemampuan Isolat Bakteri Pendegradasi Lipid dari Instalasi Pengolahan Limbah Cair PPKS PTPN-XIII Ngabang Kabupaten Landak. Jurnal Protobiont Vol 2 (3): 136-140

Jenie BSL dan Rahayu. 1993. Penanganan Limbah Industri Pangan. Kanasius. Yogyakarta

Keer M, L Paul, A Sylvia .2002. *Effect of Storage Condition on Histamin Formation in Fresh and Canned Tuna. Commision by Food Safety Unit*. Dalam www.foodsafety.vic.gov.au (3 Juni 2015)

Mangunwardoyo, W., R.A Sophia, E.S Heruwati. 2007. Seleksi dan Pengujian Aktivitas Enzim *L-Histidine Decarboxylase* Dari Bakteri Pembentuk Histamin. Jurnal Makara, Sains, Vol. 11, No. 2.

Mulyanto. 2003. Teknologi Pengolahan Limbah Cir Industri Makanan dengan Bahan Baku Ikan, Udang, dan Daging. Teknologi Hasil Perikanan, IPB. Bogor.

Munawaroh. U., M Sutisna dan K Pharmawati. 2013. Penyisihan Parameter Pencemaran Lingkungan Pada Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Efektif Mikroorganisme 4 (EM4) serta Pemanfaatanya. Jurnal Institut Teknologi Nasional Teknik Lingkungan Vol.1 No 2

Natalia, D. 2010. Pengolahan Limbah Cair Pabrik Pembekuan *Fillet* Ikan Kakap Merah. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Surabaya

Nugroho, R.B. 2012. Hubungan Faktor Risiko Terjadinya *Acinetobacter Sp* Mdro Terhadap Kematian Penderita Sepsis Di Picu Rumah Sakit Dr Kariadi Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang

Oktavia D.A, M Djumali, W Singgih. 2012 Pengolahan Limbah Cir Perikanan Menggunakan Konsorsium Mikroba Indigenous Proteolitik dan Lipolitik. Jurnal Agrointek Volume 6, No.2

Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Diterjemahkan oleh: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjirosomo, dan S. L. Angka. UI Press. Jakarta.

Periame,M. 2013. *Enterobacter Gergoviae* Adaptation To Preservatives Commonly Used In Cosmetic Industry. Aix-Marseille Universite. France

Pohan, N. 2008. Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dengan Proses Biofilter Aerobik. Universitas Sumatera Utara. Medan.

Rizqon, M., D. Hari dan D.Taryana. 2013. Pengaruh Pencemaran Limbah Cair Industri Pengolahan Ikan Terhadap Kualitas Air Tanah Di Kecamatan Muncar Kabupaten Banyuwangi. Jurusan Geografi Fakultas Ilmu Sosial Universitas Negeri Malang. Malang

Rosmaniar. 2011. Dinamika Biomassa Bakteri dan Kadar Limbah Nitrogen pada Budidaya Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Intensif Sistem Heterotrofik. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta

Sajidan, Romayanto MKW, Wiryanto. 2006. Pengolahan limbah domestik dengan aerasi dan penambahan bakteri *Pseudomonas putida*. Jurnal Bioteknologi 3 (2): 42-49, ISSN: 0216-6887.

Sasongko, L.A. 2006. Kontribusi Air Limbah Penduduk di Sekitar Sungai Tuk Terhadap Kualitas Air Sungai Kali Garang Serta Upaya Penangananya. Universitas Diponegoro. Semarang.

Sihaloho, W.S. 2009. Analisa Kandungan Amonia dari Limbah Cair Inlet dan Outlet Dari Beberapa Industri Kelapa Sawit. Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan.

Silma, B. 2011. Faktor Risiko dan Pengaruh Klinis Infeksi *Carbapenem-Resistant Acinetobacter Sp.* Di Rsup Dr. Kariadi Semarang. Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro. Semarang.

Singarimbun dan Effendi. 1995. Metode Penelitian Survei Edisi Revisi. LP3S. Jakarta

Sjafei, A. 2002. Studi Mengenai Karakteristik dan Proses Pengolahan Limbah Cair Indutri Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor

SNI. 2009. Metode Cara Uji Kebutuhan Oksigen Kimia (*Biochemical Oxygen Deman*/BOD). Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 6989-72-2009. Jakarta

SNI. 2009. Metode Cara Uji COD (*Chemical Oxygen Deman)*. Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 06-6989.2-2009. Jakarta

SNI. 2004. Metode Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dalam Air dan Air Limbah dengan Menggunakan Alat pH Meter. Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 06-6989.11-2004. Jakarta

SNI. 2004. Metode Cara Uji Minyak dan Lemak dalam Air dan Air Limbah secara Gravimetri. Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 06-6989.10-2004. Jakarta

SNI. 2004. Metode Cara Uji Padatan Tersuspensi Total (*Total Suspended Solid*, TSS) dalam Air dan Air Limbah secara Gravimetri. Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 06-6989.3-2004. Jakarta

SNI. 2005. Metode Cara Uji Kadar Amonia dalam Air dan Air Limbah dengan Spektrofotometer Secara Fenat. Badan Standarisasi Nasional Indonesia Nomor 06-6989.30-2005. Jakarta

Sugiharto. 1987. Dasar-Dasar Pengolahan Air Limbah. UI Press. Jakarta.

Suligundi, B.T. 2013. Penurunan Kadar Cod (Chemical Oxygen Demand) Pada Limbah Cair Karet dengan Menggunakan Reaktor Biosand Filter Yang Dilanjutkan dengan Reaktor Activated Carbon. Jurnal Teknik Sipil Untan, Volume 13 Nomor 1.

Sulistiono. 2011. Reproduksi Ikan Rejung (*Sillago Sihama* Forsskal) Di Perairan Mayangan, Subang, Jawa Barat. Jurnal Iktiologi Indonesia, 11(1):55-65

Sumner J, Ross T, Ababouch L. 2004. *Application of Risk Assessment in the Fish Industry*. Roma: FAO.

Suyasa. 2011. Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/Lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampung Limbah.

Titiresmi dan Nida. 2006. Teknologi Biofilter Untuk Pengolahan Limbah Amonia. Jurnal Teknik Lingkungan, Vol. 7 No. 2

Umar, U. 2013. Metode Riset Bisnis. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Wicaksono, D. 2008. Asesmen Risiko Histamin Selama Proses Pengolahan Pada Industri Tuna Loin. Teknologi Hasil Perikanan, IPB. Bogor.

Widyaningsih, L. 2004. Reproduksi Ikan Rejung (*Sillago sihama*) di Perairan Pantai Mayang, Subang, Jawa Barat. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor.

Wignyanto, Hidayat N, Ariningrum A. 2009. Bioremediasi Limbah Cair Sentra Industri Tempe Sanan Serta Perencanaan Unit Pengolahannya (Kajian Pengaturan Kecepatan Aerasi dan Waktu Inkubasi). Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 10 No. 2.

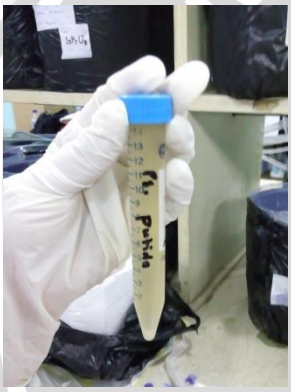
Winarno, F.G. 1992. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Yahya, Soemarno, Risjani Y, Nursyam H. 2012. *Effectiveness Of Bacteria Decarboxylase That Is Isolated From Mangrove Waters For Decompose Histidine To Histamine*. *Advances in Environmental Biology*, 6(10): 2590-2596, ISSN 1995-0756

LAMPIRAN

Lampiran 1. Proses Pengambilan Limbah

Lampiran 2. Penanaman Bakteri



Lampiran 3. Aerasi limbah Hari ke-1 sampai ke-10

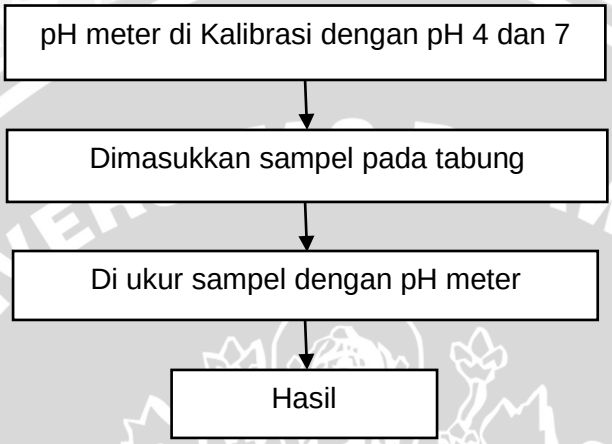
Hari	Gambar Aerasi Limbah Cair	Keterangan
1		1. Bau limbah menyengat 2. Tidak terdapat busa 3. Warna keruh
2		1. Bau limbah sedikit 2. Tidak terdapat busa 3. Warna masih keruh
3		1. Bau tidak menyengat 2. Tidak terdpat busa 3. Warna agak keruh

4		1. Tidak berbau 2. Warna agak bening
5		1. Tidak berbau 2. Warna bening air
6		1. Tidak berbau 2. Warna bening jernih
7		1. Tidak berbau 2. Warna bening jernih

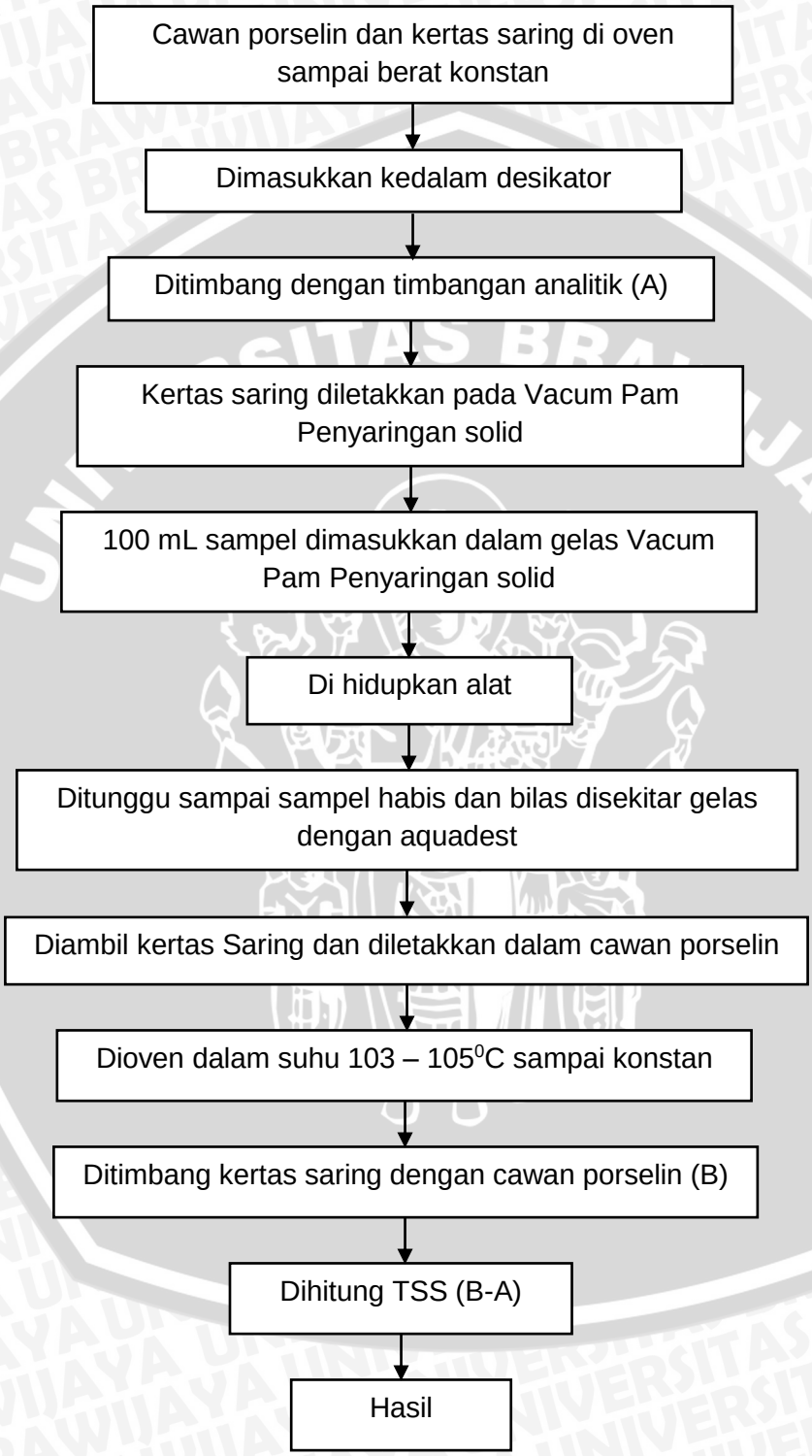
8		1. Tidak berbau 2. Warna bening jernih
9		1. Tidak berbau 2. Warna bening jernih
10		1. Tidak berbau 2. Warna bening jernih

Lampiran 4. Prosedur Kerja Analisa Kualitas Air Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring

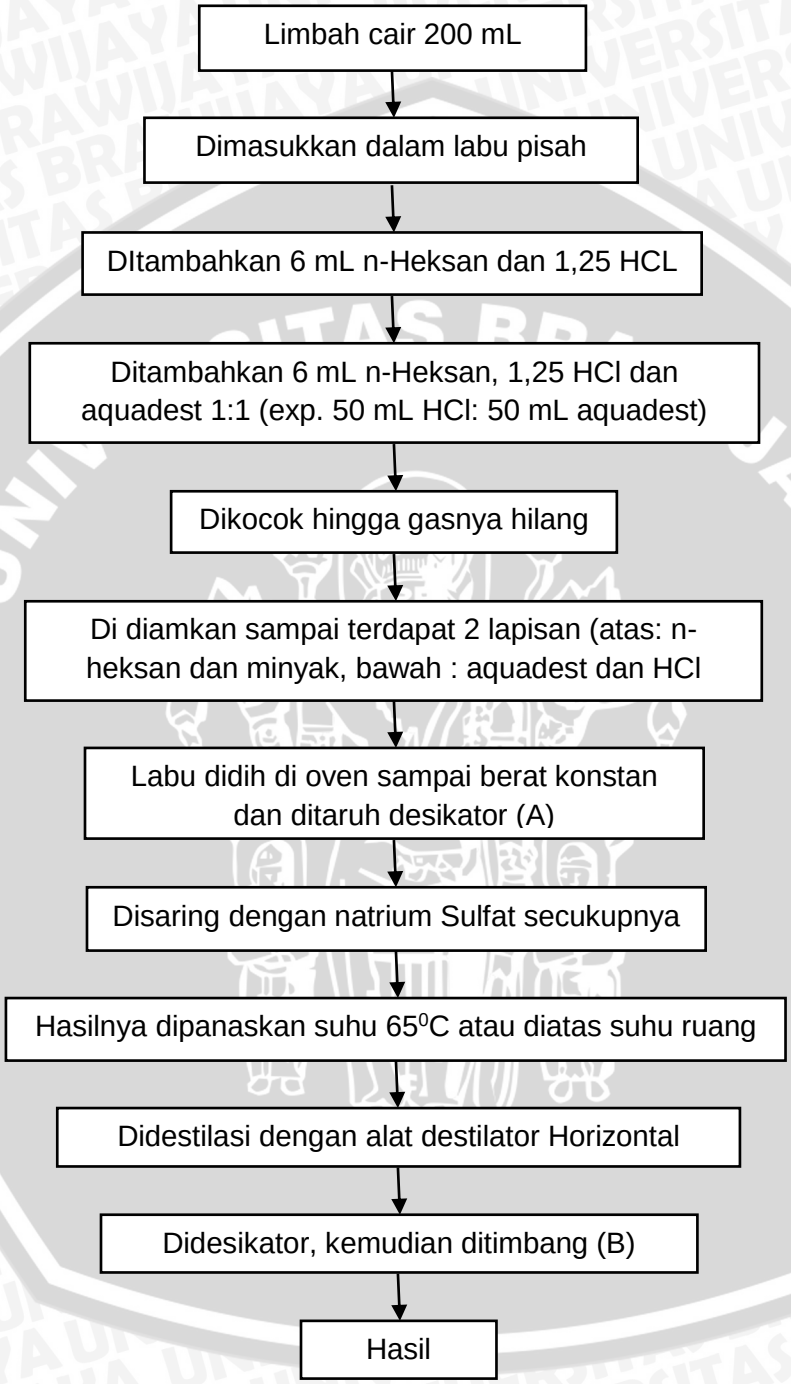
- Prosedur kerja pengujian pH



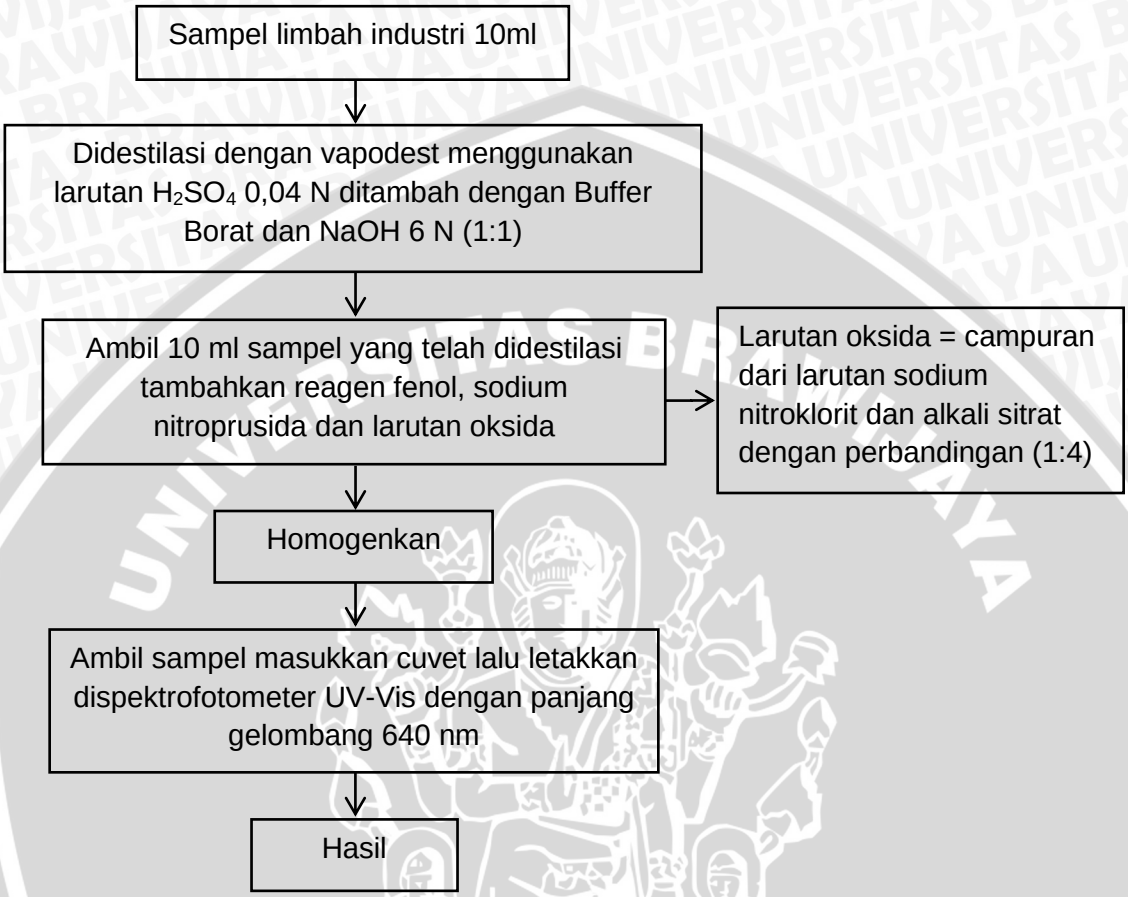
- Prosedur kerja pengujian kadar TSS (*Total Suspended Solid*)



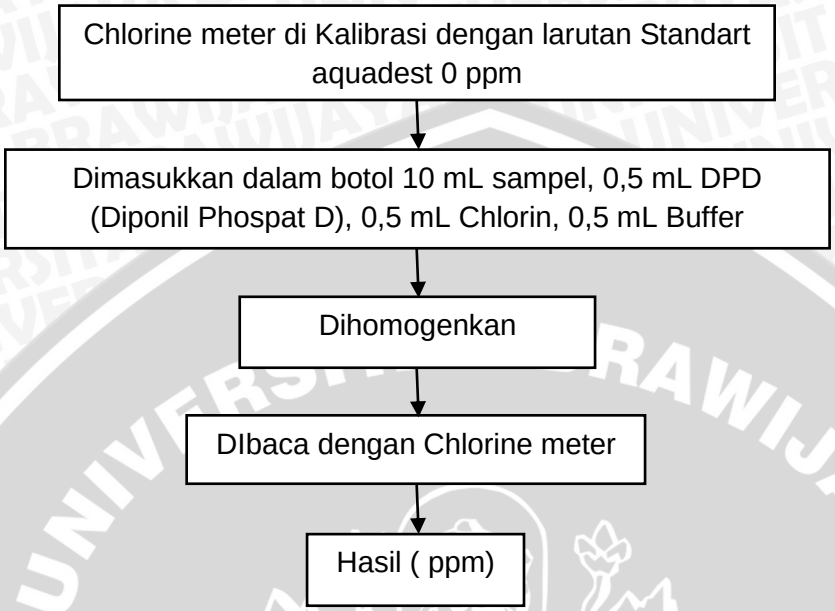
- Prosedur kerja pengujian kadar minyak dan lemak



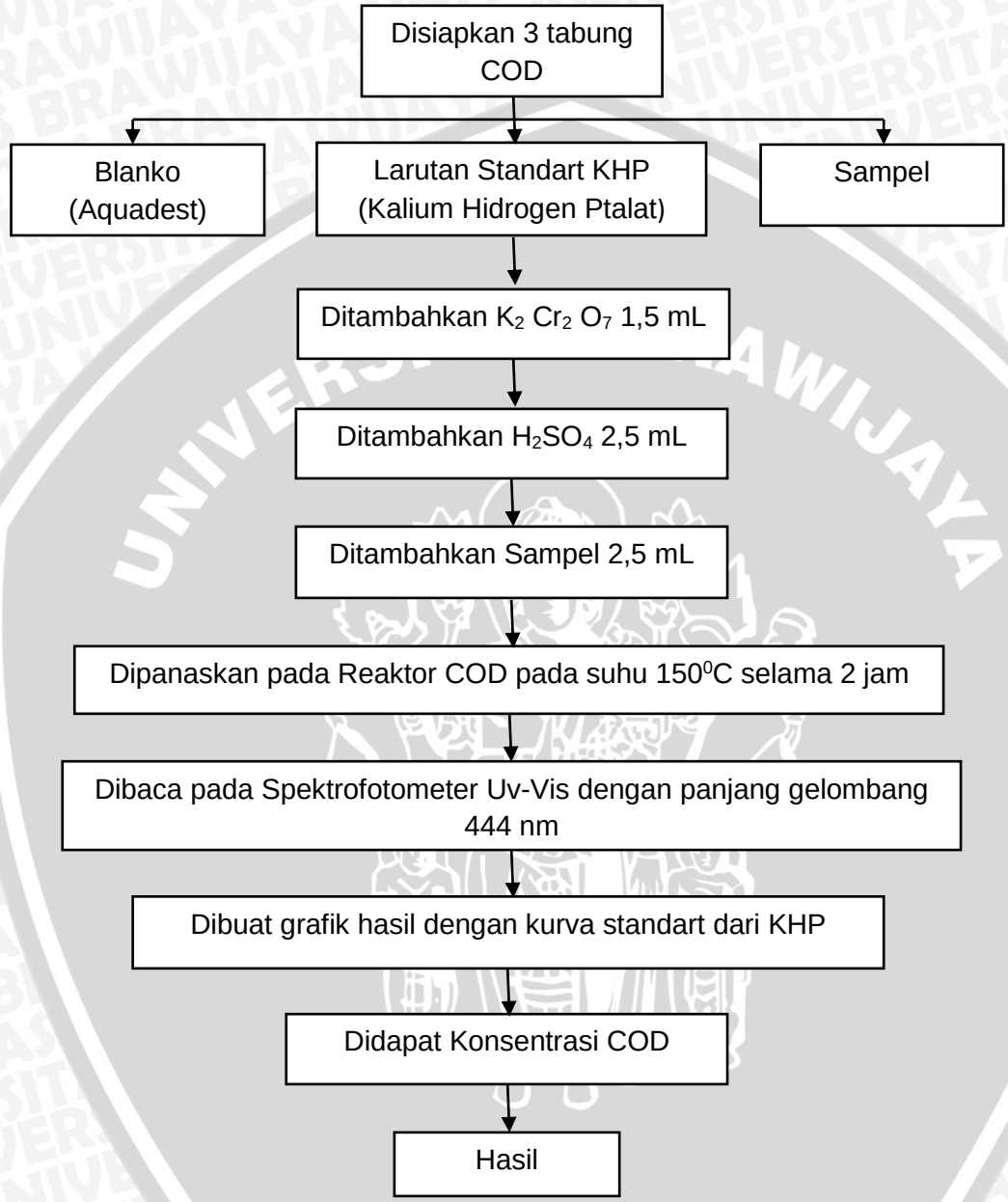
- Prosedur kerja pengujian kadar amonia



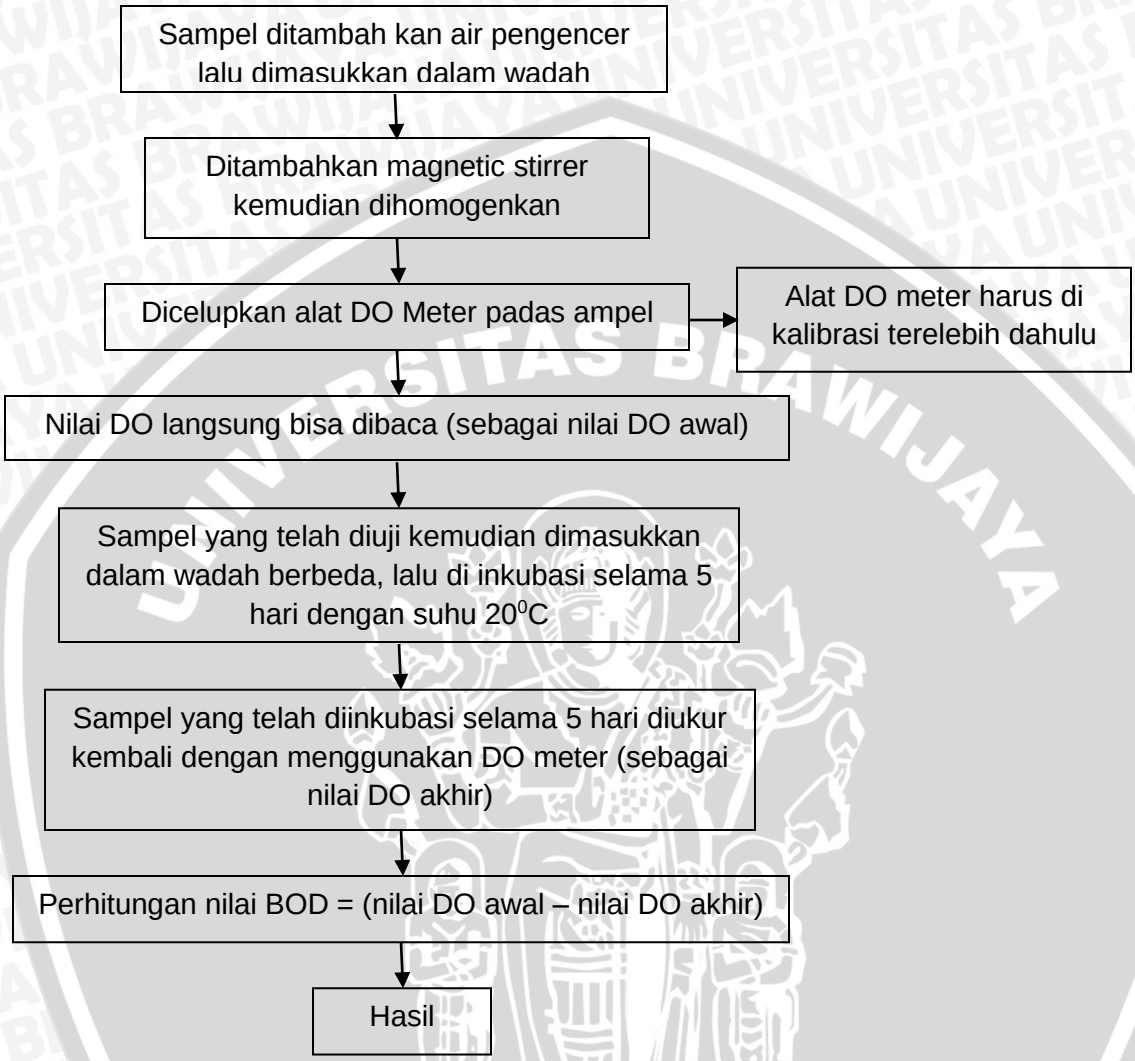
- Prosedur kerja pengujian klor bebas



- Prosedur kerja pengujian COD



- Prosedur kerja pengujian BOD



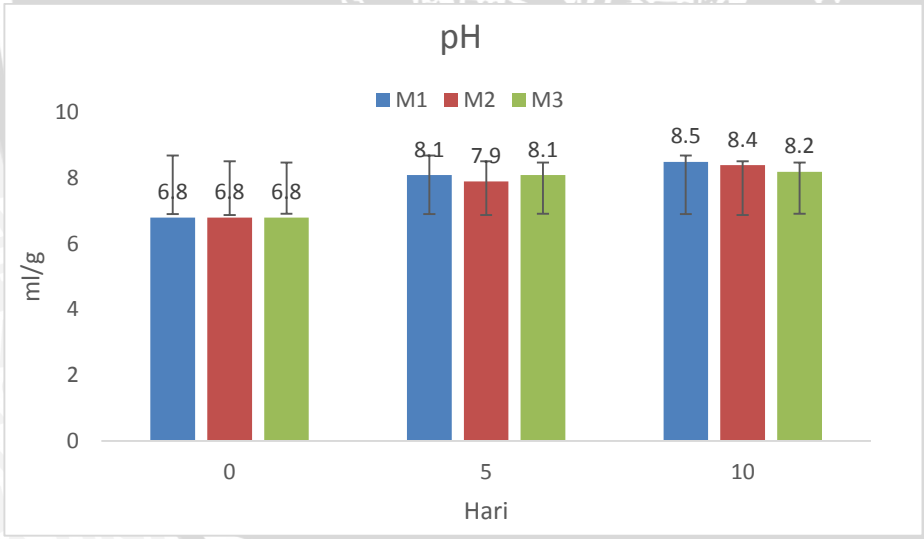
Lampiran 5. Hasil Analisa Parameter Kualitas Air

- pH

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	6,8	8,1	8,5
P1235	6,8	7,9	8,4
P1236	6,8	8,1	8,2

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	4.09	2.045	163.6	6.59	16.69
perlakuan	2	0.02	0.01	0.8	6.59	16.69
Galat	4	0.05	0.0125			
Jumlah	8	4.16				

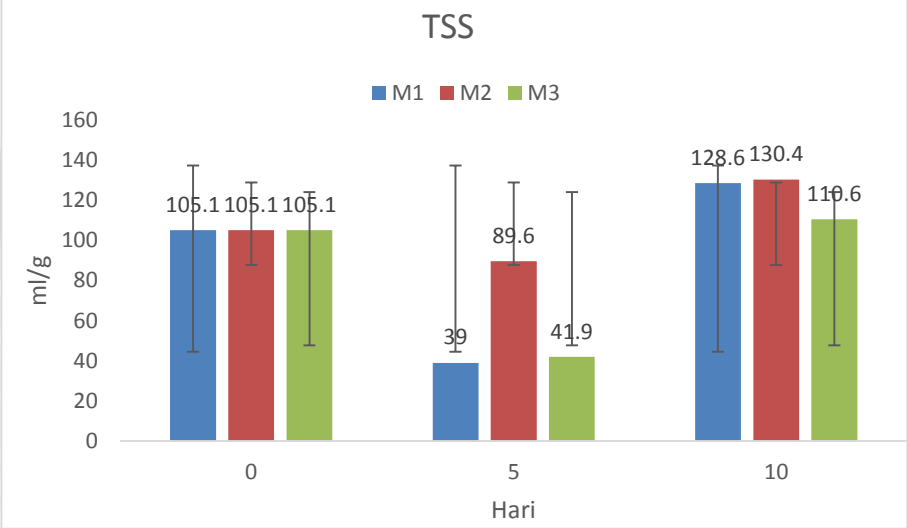


- TSS (*Total Suspended Solid*)

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	105,1 mg/l	39 mg/l	128,6 mg/l
P1235	105,1 mg/l	89,6 mg/l	130,4 mg/l
P1236	105,1 mg/l	41,9 mg/l	110,6 mg/l

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	7061.81	3530.905	13.87675	6.59	16.69
perlakuan	2	836.66	418.33	1.644072	6.59	16.69
galat	4	1017.79	254.4475			
total	8	8916.26				

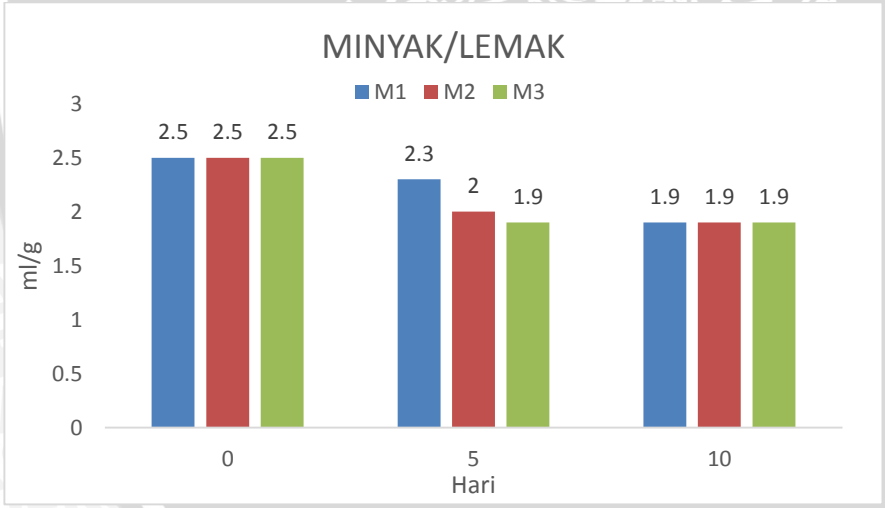


- Minyak dan Lemak

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	2,5 mg/l	2,3 mg/l	1,9 mg/l
P1235	2,5 mg/l	2 mg/l	1,9 mg/l
P1236	2,5 mg/l	1,9 mg/l	1,9 mg/l

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	1.26	0.63	2.818792	6.59	16.69
perlakuan	2	0.446	0.223	0.997763	6.59	16.69
galat	4	0.894	0.2235			
total	8	2.6				

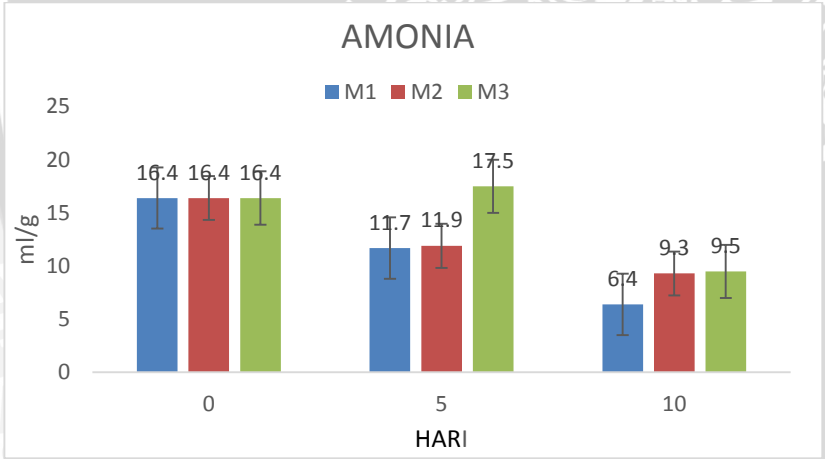


- Amonia

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	16,4 mg/l	11,7 mg/l	6,4 mg/l
P1235	16,4 mg/l	11,9 mg/l	9,3 mg/l
P1236	16,4 mg/l	17,5 mg/l	9,5 mg/l

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	61.7	30.85	2.408275	6.59	16.69
perlakuan	2	14.18	7.09	0.553474	6.59	16.69
galat	4	51.24	12.81			
total	8	127.12				

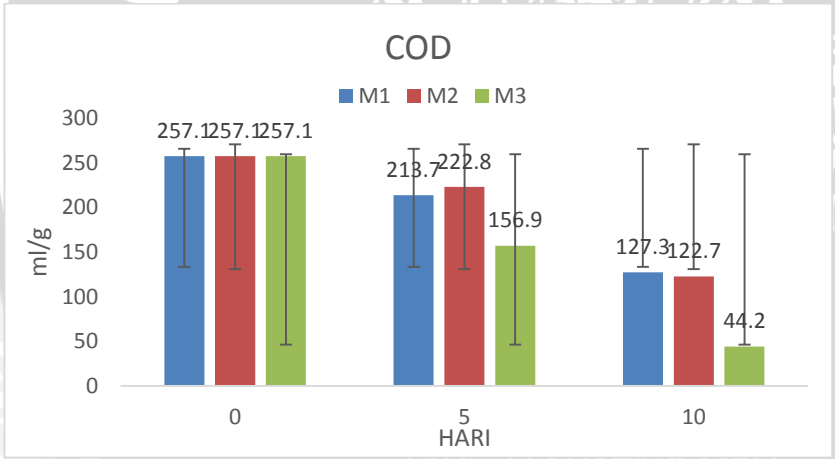


- COD

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	257,1 mg/l	213,7 mg/l	127,3 mg/l
P1235	257,1 mg/l	222,8 mg/l	122,7 mg/l
P1236	257,1 mg/l	156,9 mg/l	44,2 mg/l

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	24742.46	12371.23	3.011449	6.59	16.69
perlakuan	2	4493.74	2246.87	0.546941	6.59	16.69
galat	4	16432.26	4108.065			
total	8	45668.46				



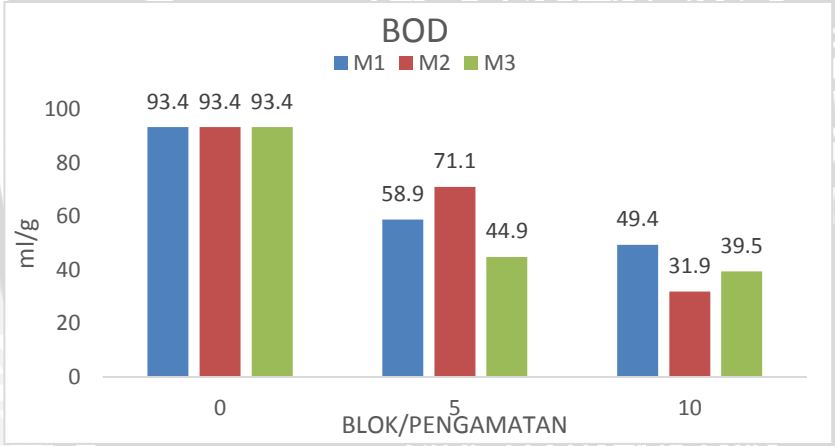
repository.ub.ac

➢ BOD

Perlakuan	Ulangan		
	Hari		
	0	5	10
P1234	93,4 mg/l	58,9 mg/l	49,4 mg/l
P1235	93,4 mg/l	71,1 mg/l	31,9 mg/l
P1236	93,4 mg/l	44,9 mg/l	39,5 mg/l

ANOVA

SK	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
ulangan	2	1265.24	632.62	1.126325	6.59	16.69
perlakuan	2	660.67	330.335	0.588133	6.59	16.69
Galat	4	2246.67	561.6675			
Total	8	4172.58				



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Lampiran 6. Baku Mutu Air Limbah Pembekuan Ikan

Parameter	Kegiatan Pembekuan			
	Kadar (mg/L)	Beban Pencemaran (kg/ton)		
		Ikan	Udang	Lain-lain
pH	6 – 9			
TSS	100	1	3	1,5
Sulfida	-	-	-	-
Ammonia	10	0,1	0,3	0,15
Klor bebas	1	0,01	0,03	0,015
BOD	100	1	3	1,5
COD	200	2	6	3
Minyak-lemak	15	0,15	0,45	0,225
Kualitas Air Limbah (m^3/ton)	-	10	30	15

Lampiran 7. Hasil Analisa Parameter Kualitas Air Limbah Pembekuan Ikan Kaca Piring

LABORATORIUM KUALITAS AIR

Jl. Surabaya 2A Malang 65115, Indonesia. Telp. (0341) 551971, Fax. (0341) 551976
Desa Lengkong Kec. Mojoanyar-Mojokerto, Indonesia Telp. (0321) 331860, Fax. (0321) 333370
E-mail : laboratoriumjasatirta1@yahoo.co.id

JASA TIRTA I

KAN Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Penguji
LP - 227 - IDN

No : 1752 S/LKA MLG/IV/2015

Kode Contoh Uji / *Sample Code* : Ext. 254 - 256 /PC/IV/2015/ 291 - 293

Metode Pengambilan Contoh Uji / *Sampling Method* : -

Tempat Analisa / *Place of Analysis* : Laboratorium Kualitas Air PJT I Malang

Tanggal Analisa / *Testing Date(s)* : 06 April - 19 April 2015

HASIL ANALISA
Result of Analysis

No	Parameter	Satuan	Hasil	Metode Analisa	Keterangan
Kerapu Kontrol (K2P1U1)					
1	pH	-	7,4	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	401,6	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	907,6	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	206,2	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	83,70	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	5,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,01	QI/LKA/50	-
Cakalang Kontrol (K3P1U1)					
1	pH	-	7,4	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	100,6	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	323,1	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	132,2	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	54,80	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	3,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,03	QI/LKA/50	-
Kaca Piring Kontrol (K1P1U1)					
1	pH	-	6,8	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	71,10	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	257,1	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	105,1	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	16,40	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	2,5	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,03	QI/LKA/50	-

Sertifikat atau laporan ini hanya berlaku pada contoh uji di atas dan dilarang memperbanyak dan atau mempublikasikan isi sertifikat ini tanpa izin dari Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta 1

Sertifikat atau laporan ini sah bila dibubuhi cap oleh Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

This Certificate or report is valid just for sample mentioned above and shall not be reproduced and or publicated without any approval from Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

This Certificate or report is valid after being stamped by Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

JASA TIRTA I

LABORATORIUM KUALITAS AIR

Jl. Surabaya 2A Malang 65115, Indonesia. Telp. (0341) 551971, Fax. (0341) 551976
Desa Lengkong Kec. Mojoanyar - Mojokerto, Indonesia Telp. (0321) 331860, Fax. (0321) 333370
E-mail : laboratoriumjasatirta1@yahoo.co.id

KAN
Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Penguji
LP - 227 - IDN

No : 1809 S/LKA MLG/IV/2015

Kode Contoh Uji
Sample Code : Ext. 356 - 394 /PC/IV/2015/ 414 - 452

Metode Pengambilan Contoh Uji
Sampling Method : -

Tempat Analisa
Place of Analysis : Laboratorium Kualitas Air PJT I Malang

Tanggal Analisa
Testing Date(s) : 15 April - 28 April 2015

HASIL ANALISA
Result of Analysis

No	Parameter	Satuan	Hasil	Metode Analisa	Keterangan
S1P13U2					
1	pH	-	8,1	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	19,40	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	44,20	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	41,9	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	9,545	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	<1,9	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,11	QI/LKA/50	-
B	**Kerapu Control**				
S2P1U2					
1	pH	-	7,7	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	228,9	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	821,1	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	234,5	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	78,20	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	3,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,01	QI/LKA/50	-
S2P2U2					
1	pH	-	7,8	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	306,4	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	1041,4	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	195,3	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	160,6	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	<1,9	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,04	QI/LKA/50	-
S2P3U2					
1	pH	-	8,1	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	141,4	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	501,6	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	265,5	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	178,4	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	<1,9	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,63	QI/LKA/50	-

Sertifikat atau laporan ini hanya berlaku pada contoh uji diatas dan dilarang memperbanyak dan atau mempublikasikan isi sertifikat ini tanpa izin dari Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

Sertifikat atau laporan ini sah bila dibubuhi cap oleh Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

This Certificate or report is valid just for sample mentioned above and shall not be reproduced and or publicated without any approval from Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

This Certificate or report is valid after being stamped by Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

JASA TIRTA I

LABORATORIUM KUALITAS AIR

Jl. Surabaya 2A Malang 65115, Indonesia. Telp. (0341) 551971, Fax. (0341) 551976
Desa Lengkong Kec. Mojoanyar - Mojokerto, Indonesia Telp. (0321) 331860, Fax. (0321) 333370
E-mail : laboratoriumjasatirta1@yahoo.co.id

KAN
Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Penguji
LP - 227 - IDN

No : 1918 S/LKA MLG/V/2015

Kode Contoh Uji *Sample Code* : Ext. 450 - 483 /PC/IV/2015/ 512 - 545

Metode Pengambilan Contoh Uji *Sampling Method* : -

Tempat Analisa *Place of Analysis* : Laboratorium Kualitas Air PJT I Malang

Tanggal Analisa *Testing Date(s)* : 20 April - 04 Mei 2015

HASIL ANALISA
Result of Analysis

No	Parameter	Satuan	Hasil	Metode Analisa	Keterangan
S3P10U3 Cakalang					
1	pH	-	8,4	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	39,40	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	85,57	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	52,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	0,437	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	3,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	1,30	QI/LKA/50	-
Perlakuan A+B+C+M1					
S1P11U3 Kaca Piring					
1	pH	-	8,5	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	49,40	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	127,3	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	128,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	6,369	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	3,5	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,30	QI/LKA/50	-
S2P11U3 Kerapu					
1	pH	-	8,2	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	181,4	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	642,3	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	130,4	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	144,4	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	2,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,56	QI/LKA/50	-
S3P11U3 Cakalang					
1	pH	-	8,2	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	46,90	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	122,7	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	53,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	0,546	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	2,5	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	1,70	QI/LKA/50	-

Sertifikat atau laporan ini hanya berlaku pada contoh uji diatas dan dilarang memperbanyak dan atau mempublikasikan isi sertifikat ini tanpa izin dari Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

Sertifikat atau laporan ini sah bila dibubuhi cap oleh Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

This Certificate or report is valid just for sample mentioned above and shall not be reproduced and or publicated without any approval from Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

This Certificate or report is valid after being stamped by Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

JASA TIRTA I

LABORATORIUM KUALITAS AIR

Jl. Surabaya 2A Malang 65115, Indonesia. Telp. (0341) 551971, Fax. (0341) 551976
Desa Lengkong Kec. Mojoanyar - Mojokerto, Indonesia Telp. (0321) 331860, Fax. (0321) 333370
E-mail : laboratoriumjasatirta1@yahoo.co.id

KAN
Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Penguji
LP - 227 - IDN

No : 1918 S/LKA MLG/V/2015

Kode Contoh Uji *Sample Code* : Ext. 450 - 483 /PC/IV/2015/ 512 - 545

Metode Pengambilan Contoh Uji *Sampling Method* : -

Tempat Analisa *Place of Analysis* : Laboratorium Kualitas Air PJT I Malang

Tanggal Analisa *Testing Date(s)* : 20 April - 04 Mei 2015

HASIL ANALISA
Result of Analysis

No	Parameter	Satuan	Hasil	Metode Analisa	Keterangan
Perlakuan A+B+C+M2					
S1P12U3 Kaca Piring					
1	pH	-	8,4	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	31,90	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	122,7	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	130,4	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	11,95	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	3,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,76	QI/LKA/50	-
S2P12U3 Kerapu					
1	pH	-	7,9	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	408,9	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	1550,2	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	211,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	110,9	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	4,8	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	1,09	QI/LKA/50	-
S3P12U3 Cakalang					
1	pH	-	8,1	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	37,90	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	85,3	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	46,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	0,231	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	4,0	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,71	QI/LKA/50	-
Perlakuan A+B+C+M3					
S1P13U3 Kaca Piring					
1	pH	-	8,2	QI/LKA/08 (Elektrometri)	Analisa di laboratorium
2	BOD	mg/L	44,90	APHA. 5210 B-1998	-
3	COD	mg/L	156,9	QI/LKA/19 (Spektrofotometri)	-
4	TSS	mg/L	110,6	APHA. 2540 D-2005	-
5	Ammonia (NH3_N)	mg/L	17,49	APHA. 4500-NH3 F-2005	-
6	Minyak & Lemak	mg/L	<1,9	APHA. 5220 B-1998	-
7	Klorin bebas	mg/L	0,75	QI/LKA/50	-

Halaman 9
Page 9

Sertifikat atau laporan ini hanya berlaku pada contoh uji diatas dan dilarang memperbanyak dan atau mempublikasikan isi sertifikat ini tanpa izin dari Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

Sertifikat atau laporan ini sah bila dibubuhi cap oleh Laboratorium Kualitas Air Perum Jasa Tirta I

This Certificate or report is valid just for sample mentioned above and shall not be reproduced and or publicated without any approval from Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation

This Certificate or report is valid after being stamped by Water Quality Laboratory of Jasa Tirta I Public Corporation