

**PENGARUH PENGGUNAAN BIOSURFAKTAN ASAL
Pseudomonas sp. MEDIA TUMBUH LIMBAH
RENDAMAN KEDELAI TERHADAP KADAR
CHEMICAL OXYGEN DEMAND (COD) DAN
BIOLOGICAL OXYGEN DEMAND (BOD)
PADA LIMBAH CAIR RUMAH
POTONG AYAM (RPA)
TRADISIONAL
MALANG**

SKRIPSI

Oleh :
LUDDY ARDIAN
0911313028



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**PENGARUH PENGGUNAAN BIOSURFAKTAN ASAL
Pseudomonas sp. MEDIA TUMBUH LIMBAH RENDAMAN
KEDELAI TERHADAP KADAR CHEMICAL OXYGEN
DEMAND (COD) DAN BIOLOGICAL OXYGEN
DEMAND (BOD) PADA LIMBAH CAIR
RUMAH POTONG AYAM (RPA)
TRADISIONAL MALANG**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Kedokteran Hewan

Oleh :

LUDDY ARDIAN

0911313028



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
PROGRAM KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH PENGGUNAAN BIOSURFAKTAN ASAL *Pseudomonas sp.* MEDIA TUMBUH LIMBAH RENDAMAN KEDELAI TERHADAP KADAR CHEMICAL OXYGEN DEMAND (COD) DAN BIOLOGICAL OXYGEN DEMAND (BOD) PADA LIMBAH CAIR RUMAH POTONG AYAM (RPA) TRADISIONAL MALANG

Oleh :
LUDDY ARDIAN
0911313028

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 29 November 2013
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

drh. Masdiana C. Padaga M.App.Sc
NIP. 19560210 198403 2 001

Dr. Dra. Herawati, MP
NIP. 19580127 198503 2 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan
Program Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Luddy Ardian
NIM : 0911313028
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Penggunaan Biosurfaktan Asal *Pseudomonas sp* Media Limbah Rendaman Kedelai terhadap Kadar *Chemical Oxygen Demand (COD)* dan *Biological Oxygen Demand (BOD)* pada Limbah Cair Rumah Potong Ayam (RPA) Tradisional di Malang

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 23 Januari 2014
Yang Menyatakan,

Luddy Ardian
NIM. 0911313028

Pengaruh Penggunaan Biosurfaktan Asal *Pseudomonas sp.* Media Limbah Rendaman Kedelai Terhadap Kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) dan *Biological Oxygen Demand* (BOD) Pada Limbah Cair Rumah Potong Ayam (RPA) Tradisional Malang

ABSTRAK

Industri pemotongan ayam di Indonesia memberikan kontribusi nyata dalam segi ekonomi di Indonesia karena konsumsi masyarakat terhadap daging ayam sangat tinggi. Namun bertambahnya jumlah konsumsi masyarakat terhadap daging ayam tidak diimbangi dengan pengolahan limbah Rumah Potong Ayam (RPA) dengan baik. Kondisi ini dapat membuat lingkungan menjadi tercemar. Maka dari itu perlu dilakukan penanganan limbah RPA. Salah satu cara penanganannya adalah menggunakan surfaktan yang berasal dari mikroorganisme yang disebut dengan biosurfaktan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* yang ditumbuhkan pada media limbah rendaman kedelai terhadap kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) dan *Biological Oxygen Demand* (BOD) limbah cair rumah potong ayam (RPA). Pada penelitian ini ada 2 tahap. Tahap pertama mencari kualitas kandidat biosurfaktan pada limbah rendaman kedelai yang berdasarkan uji *drop collapse* dan uji emulsifikasi. Hasil dari penelitian tahap 1 adalah konsentrasi 20% (20% Limbah rendaman air kedelai dan 80% Aquades) dengan waktu inkubasi 48 jam menjadi yang terbaik dengan hasil uji emulsifikasi dan *drop collapse* sebesar 0.06 ± 0.07 dan 2.00 ± 1.00 . Selanjutnya hasil pengujian ini akan digunakan dalam pengujian tahap 2 yaitu produksi biosurfaktan pada media limbah rendaman air kedelai dengan variasi konsentrasi (0%, 10%, 20%, 30% dan 40%) dan variasi waktu inkubasi (24 jam, 48 jam, 72 jam). Hasil terbaik dari tahap 2 menunjukkan bahwa konsentrasi 30% (30% Biosurfaktan dan 70% Limbah cair Rumah Potong Ayam) dengan lama waktu inkubasi 48 jam mampu menurunkan kadar COD dengan nilai 353,60 mg/L dari kontrol sebesar 744,37 mg/L sedangkan kadar BOD mengalami penurunan sebesar 266,13 mg/L dibanding kontrol 542,79 mg/L. Kesimpulan dari penelitian ini adalah Biosurfaktan asal bakteri *Pseudomonas sp* media limbah rendaman kedelai dapat menurunkan kadar COD dan BOD pada limbah cair rumah potong ayam tradisional.

Kata kunci : *Pseudomonas sp.*, limbah rendaman air kedelai, biosurfaktan, *Biological oxygen demand* (BOD), *Chemical oxygen demand* (COD)

repository.ub.ac.id

Effect of Biosurfactant from *Pseudomonas sp.* Grown on Waste of Soy water Media to the Chemical Oxygen Demand (COD) and Biological Oxygen Demand (BOD) Levels in Liquid Waste of Poultry Slaughterhouse In Malang

ABSTRACT

In Indonesia poultry industry has real contribution in to economic sector, but the growing number of consumption of chicken is not followed by good technologies to overcome the waste of poultry Slaughterhouse. This condition make environmental pollution. One way to overcome this waste problem is use surfactants from microorganism, called Biosurfactant. This study was conducted to determine the effect of Biosurfactant from *Pseudomonas sp.* grown on waste of soy water to reduce the levels of chemical oxygen demand (COD) and biological oxygen demand (BOD) liquid waste poultry slaughterhouse. This study was conducted in 2 step, the first was to find the best quality of biosurfactan. The quality of Biosurfactan were tested by drop collaps test and emulsification test. The result of first step was to the concentration of 20% (20% of Soy water and 80% of Aquades) had the best result of drop collapse test and emulsification test to be 0.06 ± 0.07 and 2.00 ± 1.00 . Then this result was applied on the second step, was Biosurfactant produced by using waste of soy water with variation of concentration (0 % , 10 % , 20 % , 30 % and 40 %) and variation of the incubation time (24 h, 48 h , 72 h). The best Result of second step was concentration of 30% (30% Biosurfactan and 70% liquid Waste of poultry slaughterhouse). The results of this research showed that Biosurfactan from *Pseudomonas sp.* could reduce COD levels in the amount of 353.60 mg/L from control at 744.37 mg/ and BOD levels decreased to be 266.13 mg/L to controls at 542.79 mg/L. The conclusion of research was biosurfactan from *Pseudomonas sp.* could reduce level of the COD and BOD on liquid waste of poultry Slaughterhouse

Key word :Biosurfactan, waste of soy water, *Pseudomonas sp.*, *Biological Oxygen Demand (BOD)*, *Chemical Oxygen Demand (COD)*

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas ridho, limpahan rahmat, hidayah dan pertolongan-Nya lah sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **"Pengaruh Penggunaan Biosurfaktan Asal Bakteri *Pseudomonas sp.* Media Limbah Rendaman Kedelai Terhadap Kadar COD dan BOD Limbah Cair Rumah Potong Ayam Tradisional Malang (RPA)** dengan lancar.

Selama pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan ini penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. drh. Masdiana C. Padaga M.App.Sc dan Dr. Dra. Herawati, MP selaku dosen pembimbing atas bimbingan, saran, kesabaran, fasilitas, waktu serta seluruh motivasi yang telah diberikan selama ini.
2. Dyah Kinasih Wuragil,S.Si.,MP.,M.Sc dan drh Ani Setianingrum selaku dosen penguji yang banyak memberikan arahan dan masukan selama ini.
3. Prof. Dr. Aulanni'am selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Hewan PKHUB atas pengarahan, motivasi serta dukungan yang selalu diberikan kepada mahasiswa PKHUB..
4. Ayahanda Ipda(Purn) Hariyanto, Ibunda Ismiarti, kakak Drina Okviana, SH untuk doa, kasih sayang, dukungan serta pengorbanan baik moril maupun materi yang telah diberikan selama ini.

5. Seluruh jajaran dekanat, dosen dan staff Program Kedokteran Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya atas dorongan semangat dan fasilitas yang diberikan.
6. Tim Biosurfaktan PKH UB yaitu Roosy Margaretha Riupassa, M. Hartanto Yusufa, Reza Rusandy Putra, Ibnul Rifa'I, Nella Khairati,serta Mba Ilzamha selaku *supervisor* atas perjuangan yang penuh cerita dan kenangan selama melaksanakan penelitian ini.
7. Seluruh staf serta asisten Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH), Laboratorium Kimia Lingkungan Fakultas MIPA dan Laboratorium Kesmavet, Program Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian.
8. Keluarga Besar Angkatan 2009 PKHUB atas cinta, persahabatan, semangat, inspirasi, keceriaan dan motivasinya yang luar biasa.
9. Dwi Ayu Romadhoni atas semangat dan doa selama ini, Semoga Allah Swt membalas semua kebaikan dan kesabaran selama ini.
10. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari kata sempurna, maka saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan demi penyempurnaan selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga

Laporan Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat serta menambah pengetahuan tidak hanya bagi penulis tetapi juga bagi pembaca. Amin

Malang, 23 Januari 2014

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Limbah Cair Rumah Potong Ayam (RPA)	5
2.2 Biosurfaktan	7
2.3 <i>Pseudomonas sp.</i> Sebagai Penghasil Biosurfaktan	8
2.4 <i>Limbah Rendaman Kedelai</i>	10
2.5 <i>Biochemical Oxygen Demand (BOD)</i>	11
2.6 <i>Chemical Oxygen Demand (COD)</i>	11
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	13
3.1 Kerangka Konseptual	13
3.2 Hipotesis Penelitian	14
BAB 4. METODE PENELITIAN	15
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
4.3 Rancangan Penelitian	16
4.4 Variabel Penelitian	17
4.5 Tahapan Penelitian	18
4.5.1 Prosedur Penelitian	18
4.5.1.1. Persiapan Isolasi Bakteri	18
4.5.2 Produksi Biosurfaktan	19
4.5.2.1 Pembuatan Minimum Media Rendaman Kedelai	19
4.5.2.2 Pengukuran Kualitas Biosurfaktan	19
a. Uji Aktifitas emulsi	20
b. Uji <i>Drop Collasp</i>	20
4.5.3 Pengukuran Efektifitas Biosurfaktan Pada Bioremediasi Limbah Cair RPA	20

4.5.3.1 Uji Kadar COD	29
4.5.3.2 Uji Kadar BOD	23
4.6 Analisis Data	25
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
5.1 Isolat <i>Pseudomonas sp.</i>	26
5.2 Kualitas Biosurfaktan Asal <i>Pseudomonas sp.</i> pada Media Tumbuh Limbah Rendaman Kedelai	27
5.3 Efektifitas Biosurfaktan asal <i>Pseudomonas sp.</i> pada Bioremediasi Limbah Cair RPA Tradisional Malang	29
5.3.1 <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	29
5.3.2 <i>Biological Oxygen Demand</i> (BOD)	31
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	33
6.1 Kesimpulan	33
6.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

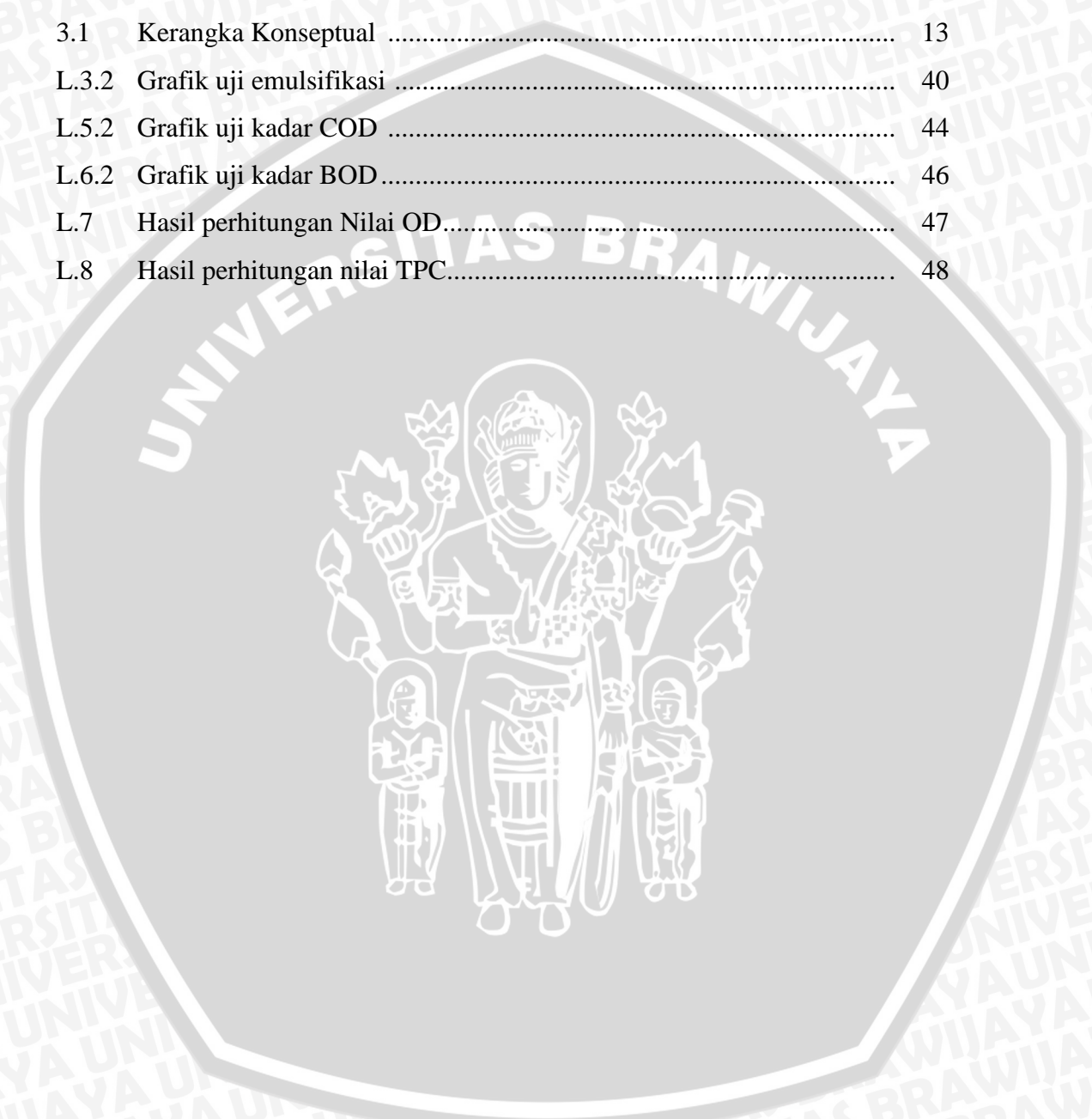


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.2 Hasil Rata–Rata uji aktifitas emulsifikasi dan drop collapse biosurfaktan pada media limbah rendaman kedelai.....	27
5.3 Hasil Rata–Rata Uji Biosurfaktan terhadap kadar COD limbah RPA.	29
5.4 Hasil Rata–Rata Uji Biosurfaktan terhadap kadar BOD limbah RPA.	31
L.1 Rancangan penelitian tahap 1.....	38
L.2 Rancangan penelitian tahap 2.....	39
L.3.1 Hasil uji emulsifikasi.....	40
L.3.3 Hasil uji lanjutan BNJ/Tukey emulsifikasi	40
L.4.1 Hasil uji <i>drop collapse</i>	41
L. 4.3 Hasil Uji lanjutan BNJ/Tukey Drop Collaps.....	42
L.5.1 Hasil uji kadar COD.....	43
L.5.3 Hasil uji lanjutan BNJ/Tukey kadar COD.....	44
L.6.1 Hasil uji kadar BOD.....	45
L.6.3 Hasil Uji lanjutan BNJ/Tukey kadar BOD.....	46

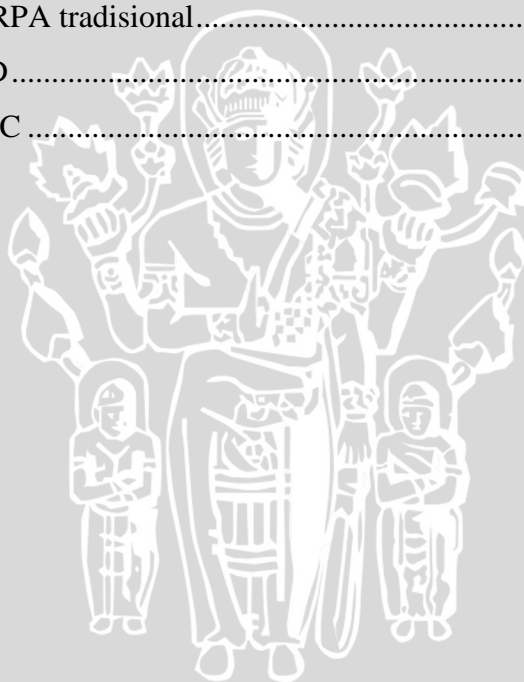
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
3.1 Kerangka Konseptual	13
L.3.2 Grafik uji emulsifikasi	40
L.5.2 Grafik uji kadar COD	44
L.6.2 Grafik uji kadar BOD	46
L.7 Hasil perhitungan Nilai OD.....	47
L.8 Hasil perhitungan nilai TPC.....	48



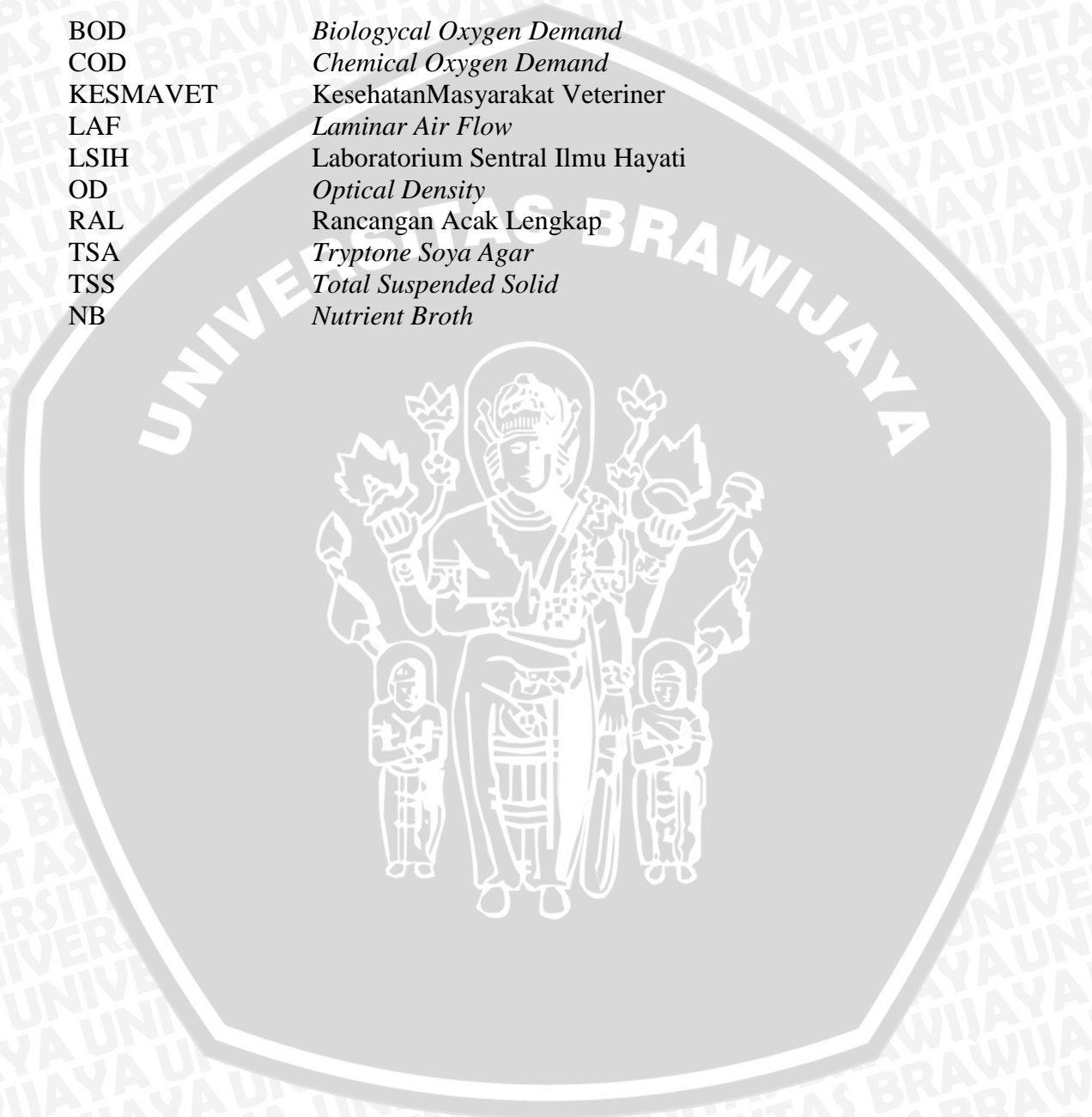
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Rancangan penelitian tahap 1.....	38
2. Rancangan penelitian tahap 2.....	39
3. Hasil Uji emulsifikasi.....	39
4. Hasil Uji Drop Collaps.....	41
5. Hasil Uji kualitas pemberian biosurfaktan asal <i>Pseudomonas sp.</i> terhadap kadar COD limbah RPA tradisional.....	43
6. Hasil Uji kualitas pemberian biosurfaktan asal <i>Pseudomonas sp.</i> terhadap kadar BOD limbah RPA tradisional.....	45
7. Grafik hasil nilai OD.....	47
8. Grafik hasil nilai TPC.....	48



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
BOD	<i>Biological Oxygen Demand</i>
COD	<i>Chemical Oxygen Demand</i>
KESMAVET	Kesehatan Masyarakat Veteriner
LAF	<i>Laminar Air Flow</i>
LSIH	Laboratorium Sentral Ilmu Hayati
OD	<i>Optical Density</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
TSA	<i>Tryptone Soya Agar</i>
TSS	<i>Total Suspended Solid</i>
NB	<i>Nutrient Broth</i>



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Usaha pemotongan ayam ini di Indonesia telah menjadi sebuah industri yang memiliki komponen lengkap dari sektor hulu sampai ke hilir. Perkembangan usaha ini memberikan kontribusi nyata dalam sektor ekonomi. Hal ini dikarenakan produk unggas, yakni daging ayam dan telur harganya relatif murah dan stabil sehingga dapat menjangkau masyarakat luas (Singih dan Kariana, 2008).

Bertambahnya jumlah konsumsi masyarakat terhadap daging ayam tidak diimbangi dengan kesadaran pengelolaan limbah rumah potong ayam (RPA) khususnya limbah cair RPA sehingga dampaknya dapat mencemari lingkungan disekitarnya. Hal ini tentunya akan menyebabkan efek samping berkelanjutan terhadap lingkungan disekitar yaitu adanya pencemaran berat lingkungan khususnya pencemaran sungai.

Limbah cair RPA dapat berupa darah ayam, proses pencelupan, pencucian ayam dan peralatan produksi. Limbah cair RPA mengandung zat-zat kimia dan biologi yang tinggi sehingga menyebabkan kadar *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) yang tinggi pada limbah cair RPA. Untuk mencegah pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh limbah cair RPA maka diperlukan cara alternatif agar kadar COD dan BOD pada limbah cair RPA dapat dikurangi. Salah satu cara adalah menggunakan surfaktan yang berasal dari

mikroorganisme yang disebut dengan Biosurfaktan. Penggunaan biosurfaktan mempunyai keuntungan dibanding penggunaan surfaktan sintetis karena biosurfaktan memiliki tingkat toksisitas lebih rendah dibandingkan surfaktan sintetis serta biosurfaktan juga mudah terurai sehingga ramah lingkungan (Matz, 2001).

Mikroba yang terkandung dalam limbah cair RPA salah satunya adalah *Pseudomonas sp.* (Riupassa, 2012). Hal ini sudah dibuktikan dalam penelitian tersebut bahwa *Pseudomonas sp.* dapat menurunkan tegangan permukaan sebanyak 10,59 dyne/cm dibanding kontrol. Penurunan nilai tegangan permukaan melebihi 10 dyne/cm merupakan indikasi bakteri tersebut berpotensi menghasilkan biosurfaktan (Tang *et al*, 2011). Selain hasil dari penelitian tersebut, potensi *Pseudomonas sp.* sebagai penghasil biosurfaktan juga dibuktikan dalam kemampuan *Pseudomonas sp.* dalam uji hemolisis tipe β yang menunjukkan ada zona terang. Hal ini merupakan indikasi awal bahwa bakteri tersebut berpotensi sebagai biosurfaktan (Fatimah, 2007).

Saat ini limbah cair industri tahu belum dimanfaatkan dengan baik. Masyarakat hanya membuang begitu saja ke sungai. Salah satu contoh limbah cair industri tahu adalah limbah rendaman kedelai. Karakteristik limbah cair pabrik tahu diketahui bahwa komposisi terbesar dari kandungan senyawa organiknya adalah protein 1,72%, lemak 0,63% dan karbohidrat 0,105% (Nurtiyani, 2000). Oleh karena itu diharapkan media limbah rendaman kedelai dapat dimanfaatkan menjadi media pertumbuhan *Pseudomonas sp.* sebagai kandidat biosurfaktan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* dapat mempengaruhi kadar *chemical oxygen demand* (COD) terhadap limbah cair rumah potong ayam (RPA)?
2. Apakah biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* dapat mempengaruhi kadar *biological oxygen demand* (BOD) terhadap limbah cair rumah potong ayam (RPA)?
3. Apakah media tumbuh limbah rendaman kedelai dapat dijadikan sebagai media tumbuh biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.*?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada :

1. Isolat *Pseudomonas sp.* yang digunakan berasal dari isolat hasil penelitian Riupassa (2012) dengan kode D42 yang dikultur pada media TSA secara *duplo*.
2. Minimum media limbah rendaman kedelai yang digunakan berasal dari Pabrik tahu Desa Karangploso Kabupaten Malang
3. Variabel yang diamati pada penelitian adalah kadar COD dan BOD limbah cair RPA tradisional.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* terhadap kadar *chemical oxygen demand* (COD) dan *biological oxygen demand* (BOD) pada limbah cair rumah potong ayam (RPA)

2. Untuk mengetahui karakteristik biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* yang ditumbuhkan pada media tumbuh limbah rendaman kedelai.

1.5 Manfaat Penelitian

Sebagai sumber informasi mengenai potensi biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* pada media air rendaman kedelai terhadap kadar *Chemical Oxygen Demand (COD)* dan *Biological Oxygen Demand (BOD)* Limbah cair rumah potong ayam (RPA). Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi bahwa media limbah rendaman kedelai dapat digunakan untuk produksi biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* yang nantinya dapat dipakai sebagai inovasi dalam pembuatan Biosurfaktan



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Rumah Potong Ayam

Pada umumnya ada dua teknik pemotongan ayam, yaitu secara langsung dan tidak langsung. Pemotongan secara langsung (tradisional) dilakukan setelah ayam dinyatakan sehat, ayam disembelih pada bagian lehernya. Sedangkan pemotongan ayam secara tidak langsung biasanya dilakukan pada industri besar. Pemotongan tersebut sebelumnya dilakukan proses pemingsanan terlebih dahulu kemudian ayam baru dipotong. Proses pemingsanan tersebut bertujuan untuk memudahkan penyembelihan sehingga ayam tidak tersiksa (Singgih dan Kariana, 2008).

Teknik pemotongan ayam yang baik adalah pemotongan secara tidak langsung atau dengan pemingsanan, karena dengan cara tersebut kualitas kulit dan karkas lebih baik dibandingkan dengan pemotongan tidak langsung. Hasil pemotongan ayam berupa isi perut, darah, afkiran daging atau lemak, bulu ayam dan air cucuannya. Saat ini sisa hasil pemotongan limbah cair rumah potong ayam tersebut masih di buang begitu saja ke perairan, hal ini tentu nya dapat menimbulkan dampak pencemaran limbah rumah potong ayam (Nurtjahya, 2003)



Limbah padat Rumah Pemotongan Ayam relatif lebih mudah ditangani dibanding dengan limbah cair. Limbah padat yang berupa bulu ayam yang dapat diolah kembali, misalnya untuk dijadikan kemoceng (Widjajanti, 2009). Dalam proses produksi Rumah Pemotongan Ayam dihasilkan limbah cair yang berasal dari darah ayam, proses pencelupan, pencucian ayam dan peralatan produksi. Limbah cair RPA memiliki kandungan kimia dan biologi yang tinggi salah satunya adalah limbah fosfat (PO_3^-). Diperkirakan limbah cair RPA memiliki kandungan fosfat mencapai 150 mg/L (Nurtjahya, 2003). Padahal kandungan maksimal fosfat di dalam suatu ekosistem adalah 100 mg/L (Permen LH Tahun 2007). Kandungan fosfat ini memiliki dampak terhadap kenaikan kadar COD dan BOD limbah cair RPA. Pembuangan air limbah yang mengandung nutrien yang tinggi ke perairan disamping menimbulkan eutrofikasi juga dapat meningkatkan kadar COD dan BOD. Untuk mencegah hal itu maka diperlukan cara agar komposisi padatan organik tersuspensi dapat dikurangi (Laksono, 2010).

Dengan adanya dampak negatif akan limbah pemotongan ayam tersebut maka perlu dilakukan pengelolaan limbah yang tepat, sehingga ketika limbah tersebut dialirkan ke sungai sudah dapat memenuhi standar batas yang ditetapkan pemerintah (Singgih dan kariana, 2008).

2.2 Biosurfaktan

Surfaktan merupakan suatu molekul yang sekaligus memiliki gugus hidrofilik dan gugus lipofilik sehingga dapat mempersatukan campuran yang terdiri dari air dan minyak. Surfaktan adalah bahan aktif permukaan, aktifitas surfaktan diperoleh karena sifat ganda dari molekulnya. Molekul surfaktan memiliki bagian polar yang suka akan air (hidrofilik) dan bagian non polar yang suka akan minyak/lemak (lipofilik). Sifat rangkap ini yang menyebabkan surfaktan dapat diadsorpsi pada antar medium dan membentuk lapisan tunggal. Umumnya bagian non polar (lipofilik) adalah merupakan rantai alkil yang panjang, sementara bagian yang polar (hidrofilik) mengandung gugus hidroksil (Anandaraj, 2010).

Surfaktan pada umumnya disintesis dari turunan minyak bumi, seperti linier alkilbensen sulfonat (LAS), alkil sulfonat (AS), alkil etoksilat (AE) dan alkil etoksilat sulfat (AES). Surfaktan dari turunan minyak bumi dan gas alam ini dapat menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan, karena surfaktan ini setelah digunakan akan menjadi limbah yang sukar terdegradasi. Disamping itu, minyak bumi yang digunakan merupakan sumber bahan baku yang tidak dapat diperbaharui. Masalah inilah yang menyebabkan banyak pihak mencari alternatif surfaktan yang mudah terdegradasi dan berasal dari bahan baku yang dapat diperbaharui (Saikia, 2011).

Penerapan bioteknologi pada sintesis surfaktan akhir-akhir ini mendapat perhatian . Bioteknologi dapat didefinisikan sebagai pemanfaatan jasad hidup dan proses biologis atau kimia dalam suatu proses metabolisme untuk menghasilkan

produk bernilai ekonomis lebih tinggi. Sejalan dengan definisi di atas maka penerapan bioteknologi pada sintesis biosurfaktan ini berpotensi besar untuk diaplikasikan. Aplikasi biosurfaktan salah satunya telah dipakai dalam proses penanganan pencemaran limbah minyak di laut lepas. Aplikasi biosurfaktan ini tidak memiliki efek negatif seperti yang ditimbulkan surfaktan sintetis (Richana *et al*, 2004). Biosurfaktan mempunyai sifat yang mirip seperti surfaktan sintetis, akan tetapi biosurfaktan lebih rendah tingkat toksisitasnya dan mudah terurai secara biologi. Di samping itu, sifat aktif permukaan yang dimilikinya berbeda dengan surfaktan yang disintesis secara kimia (Kholiq, 2012). Menurut Riupassa, 2012 Bakteri penghasil biosurfaktan asal limbah cair rumah potong ayam tradisional memiliki karakteristik fenotip mendekati *genus Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* yang diketahui mempunyai potensi yang cukup baik sebagai penghasil biosurfaktan yang ditunjukkan dengan kemampuan bakteri tersebut terhadap penurunan tegangan permukaan.

2.3 *Pseudomonas sp* .sebagai penghasil Biosurfaktan

Pseudomonas sp. merupakan bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu mendegradasi berbagai jenis hidrokarbon. Keberhasilan penggunaan bakteri *Pseudomonas sp*. dalam upaya bioremediasi lingkungan akibat pencemaran hidrokarbon membutuhkan pemahaman tentang mekanisme interaksi antara bakteri *Pseudomonas sp*. dengan senyawa hidrokarbon. Kemampuan bakteri *Pseudomonas sp*. dalam memproduksi biosurfaktan berkaitan dengan keberadaan enzim regulatori yang berperan dalam sintesis biosurfaktan (Saikia, 2011). Ada 2 macam biosurfaktan yang dihasilkan bakteri *Pseudomonas sp*. :

1. Surfaktan dengan berat molekul rendah (seperti glikolipid, soforolipid, trehalosalipid, asam lemak dan fosfolipid) yang terdiri dari molekul hidrofobik dan hidrofilik. Kelompok ini bersifat aktif permukaan, ditandai dengan adanya penurunan tegangan permukaan medium cair (Maneerat, 2005).
2. Polimer dengan berat molekul besar, yang dikenal dengan bioemulsifier polisakarida amfifatik. Dalam medium cair, bioemulsifier ini mempengaruhi pembentukan emulsi serta kestabilannya dan tidak selalu menunjukkan penurunan tegangan permukaan medium (Maneerat, 2005).

Secara umum Biosurfaktan merupakan komponen mikroorganisme yang terdiri atas molekul hidrofobik dan hidrofilik, yang mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan. Selain itu biosurfaktan secara ekstraseluler menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon sehingga mudah untuk didegradasi oleh bakteri. Biosurfaktan meningkatkan ketersediaan substrat yang tidak larut melalui beberapa mekanisme (Kosaric, 2001).

Pseudomonas sp. menggunakan hidrokarbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya. Penggunaan hidrokarbon merupakan proses aerobik (menggunakan oksigen). Tanpa adanya oksigen, hidrokarbon ini tidak dapat didegradasi. Langkah pendegradasian hidrokarbon oleh *Pseudomonas sp.* meliputi oksidasi molekuler sebagai sumber reaktan dan penggabungan satu atom oksigen ke dalam hidrokarbon teroksidasi (Fatimah, 2007).

2.4 Limbah Air Rendaman Kedelai Sebagai Media Tumbuh

Kedelai mempunyai kandungan 35 – 40% protein dan mempunyai kandungan paling tinggi dari segala jenis kacang-kacangan. Kedelai merupakan sumber protein paling baik karena mempunyai susunan asam amino esensial paling lengkap. Manfaat lain dari kedelai antara sebagai sumber lemak, vitamin, mineral dan serat (Sundarsih dan Kurniaty, 2009). Tabel dibawah merupakan komposisi kimia kedelai kering.

Table 2.3. Komposisi kimia kedelai kering per 100gr

Komposisi	Jumlah
Kalori (kkal)	331,0
Protein (gram)	34,9
Lemak (gram)	18,1
Karbohidrat (gram)	34,8
Kalsium (mg)	227,0
Besi (mg)	8,0
Fosfor (mg)	585,0
Vitamin A (SI)	110,0
Vitamin B1 (mg)	1,1

Sumber :Sundarsih dan Kurniaty (2009)

Protein seperti proteosa, prolamin dan albumin bersifat larut dalam air sehingga diperkirakan penurunan kadar protein dalam perebusan kedelai yang disebabkan terlepasnya ikatan struktur protein karena panas sehingga menyebabkan terlarutnya komponen protein dalam air (Sundarsih dan Kurniaty, 2009). Banyaknya perusahaan tahu saat ini tidak diimbangi dengan pemanfaatan dari limbah air rendaman kedelai setelah perebusan dan hanya langsung terbuang ke sungai oleh pabrik pengolahan tahu, sehingga tidak ada nilai ekonomisnya (Soeparwadi, 2004). Dilihat dari kandungan air rendaman kedelai dan

keberadaannya sebagai limbah maka air rendaman kedelai sangat berpotensi untuk kandidat minimal media yang potensial dan murah (Soeparwadi, 2004).

2.5 Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Biochemical Oxygen Demand (BOD) adalah jumlah oksigen yang diperlukan oleh bakteri untuk menguraikan zat organik terlarut dan tersuspensi dalam keadaan aerobik (Rahmawati, 2005). Penguraian limbah organik melalui proses oksidasi oleh mikroorganisme dalam air merupakan proses alamiah yang mudah terjadi apabila air limbah mengandung oksigen yang cukup. Dalam air limbah bahan pencemar organik diuraikan secara alamiah oleh bakteri yang ada. Bila oksigen cukup banyak, bakteri akan melakukan dekomposisi secara aerob. Apabila kehabisan oksigen maka dekomposisi dilakukan oleh bakteri anaerob (Munir, 2006).

Uji BOD digunakan secara luas untuk menentukan kekuatan pencemaran dari limbah domestik dan limbah industri, dalam arti oksigen yang akan dibutuhkan bila limbah tersebut dibuang ke air lingkungan dalam kondisi aerobik. Uji ini merupakan salah satu uji terpenting dalam pengawasan aktivitas pencemaran sungai. Dengan menggunakan uji ini memungkinkan untuk menentukan tingkat pencemaran air lingkungan setiap waktu (Wardhana, 2001). Kadar maksimum untuk BOD pada limbah adalah sebesar 150 mg/L (Permen LH No 10, 2007)

2.6 Chemical Oxygen Demand (COD)

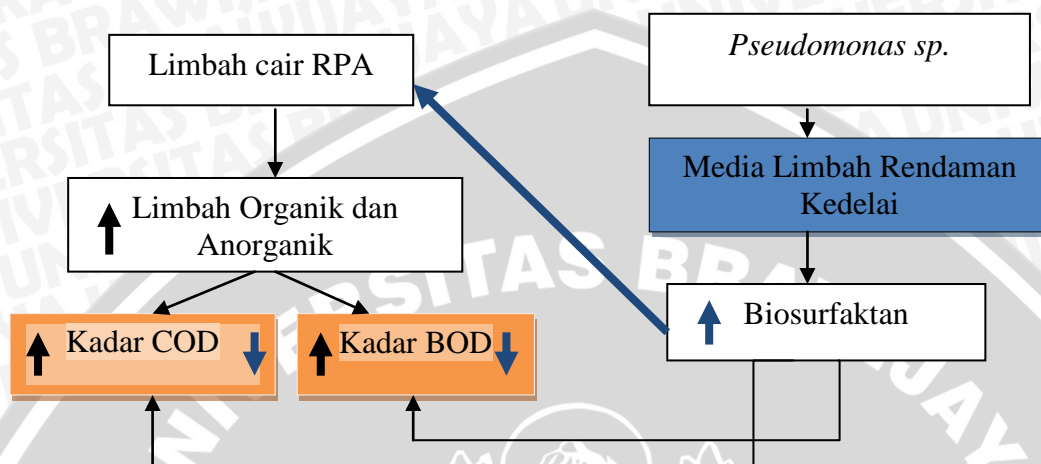
Salah satu parameter kualitas limbah domestik adalah kebutuhan oksigen kimia (KOK) atau lebih dikenal sebagai *Chemical Oxygen Demand* (COD).

Chemical Oxygen Demand (COD) termasuk dalam karakteristik kimia zat organik dalam air limbah. COD digunakan untuk mengetahui zat organik dan jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi materi organik dengan oksidasi secara kimia. Bahan organik yang belum diolah dibuang ke badan perairan, maka bakteri akan menggunakan oksigen untuk proses pembusukannya. Nilai COD biasanya lebih tinggi dari pada nilai BOD karena bahan buangan yang dapat dioksidasi melalui proses kimia lebih banyak dari pada bahan buangan yang dapat dioksidasi melalui proses biologi (Nurhasanah, 2009).

Angka COD merupakan ukuran pencemaran air oleh zat-zat organik yang secara alami dapat dioksidasi melalui proses mikrobiologi dan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut dalam air. Pengukuran COD ini diperlukan untuk mengukur kebutuhan oksigenterhadap zat organik yang sukar dihancurkan secara oksidasi. Oleh karena itu dibutuhkan bantuan pereaksi oksidator yang kuat dalam suasana asam yaitu kaliumbikromat (Nurhasanah, 2009). Kadar maksimum untuk kadar COD pada limbah adalah 300 mg/L (Permen LH no 10, 2007).

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

- : Variabel Bebas
- : Variabel Tergantung
- : Efek Pseudomonas

Limbah cair RPA memiliki kadar BOD dan COD sehingga dapat menyebabkan pencemaran. Penelitian ini menggunakan isolat *Pseudomonas sp.* dari penelitian Roosy (2012). Limbah cair RPA mempunyai kandungan mikrobiologi salah satunya *Pseudomonas sp.* yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan. *Pseudomonas sp.* ditumbuhkan pada minimal media limbah rendaman air kedelai. Minimal media air rendaman kedelai mengandung protein yang cukup untuk pertumbuhan bakteri. Biosurfaktan asal air rendaman kedelai dapat menurunkan tegangan antar muka pada uji *drop collaps* dan meningkatkan nilai emulsifikasi pada uji aktifitas emulsi. Biosurfaktan yang mampu mengemulsi cairan dan menurunkan tegangan permukaan dapat menjadi aerator bagi organisme yang terdapat pada limbah yang menyebabkan kebutuhan oksigen



kimia dan biologi pada organisme menjadi berkurang. Berkurangnya kebutuhan oksigen dan kimia dan biologi ini dapat mengurangi kadar COD dan BOD.

3.2 Hipotesis

Limbah rendaman air kedelai dapat menjadi media untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas sp.* sehingga dapat memproduksi biosurfaktan dan biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* dapat menurunkan kadar *chemical oxygen demand* (COD) dan *biological oxygen demand* (BOD) pada limbah cair RPA tradisional Malang.



BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium KESMAVET (Kesehatan Masyarakat Veteriner) Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya dan Laboratorium Mikrobiologi Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang. Pelaksanaan penelitian di laboratorium berlangsung selama 7 bulan, dari bulan Maret sampai September 2013. Sampel Penelitian ini menggunakan *starter* bakteri *Pseudomonas sp.* dari penelitian Riupassa (2012) dengan kode isolat D42. Isolat bakteri berasal dari Limbah cucian karkas Rumah Potong Ayam Tradisional Malang dan telah diverifikasi kemampuannya menghasilkan biosurfaktan.

4.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain ; Cawan petri, Tabung reaksi (*pyrex*), Mikropipet, *Blue tip*, *Yellow tip*, Mikrotube 2ml, Gelas ukur 10ml, *Beaker glass* 500ml dan 1000ml (*pyrex*), Erlenmeyer (*pyrex*) 250ml 22 buah, 500ml 2 buah dan 1000ml 4 buah, Botol kaca 150ml 60 buah, Pengaduk kaca, Pemanas bunsen, *Triangle stick*, Inkubator (MMM Medcenter), *Autoclave*, *Laminar Air Flow* (LAF) *Nuair Class II*, Vortek, Sentrifuse dingin, *Spektrofotometer* (Ganesys 20), *Water Bath*. Bahan yang digunakan dalam antara lain ; Isolat *Pseudomonas sp.*, Limbah air rendaman kedelai, *Tryptone Soya Agar* (TSA) OXOID CM0131, *Nutrient Broth* (NB) HIMEDIA REF RM 002-500G,

Gliserol, Buffer Pepton Water (BPW) HIMEDIA REF RM 001-500G, bahan-bahan untuk pewarnaan Gram, Aquades,

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) factorial. Penelitian dibagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama adalah dengan kombinasi perlakuan konsentrasi media tumbuh dan waktu inkubasi. Tahap kedua adalah dengan kombinasi perlakuan penggunaan biosurfaktan berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi.

Tahap pertama dilakukan dengan membuat isolat bakteri pada media tumbuh air rendaman kedelai menjadi lima kelompok konsentrasi, yaitu kelompok kontrol dengan konsentrasi 0% (A), perlakuan 1 konsentrasi 10% (B), perlakuan 2 konsentrasi 20% (C), perlakuan 3 konsentrasi 30% (D) dan perlakuan 4 konsentrasi 40% (E). Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan secara duplo kemudian di inkubasi menggunakan incubator *shaker* kecepatan 120rpm dengan suhu 30⁰C. Sampel diamati dengan variabel waktu 24, 48 dan 72 jam. Rancangan penelitian lebih lanjut ditunjukkan dalam Lampiran 1.

Jumlah ulangan ditentukan dengan menggunakan rumus (Steel *and* Torrie, 1980):

$$\begin{aligned} \text{Tahap 1 : } & P(n-1) \geq 20 \\ & 15(n-1) \geq 20 \\ & 15n-15 \geq 20 \\ & 15n \geq 35 \\ & n \geq 2,3 \\ & n \geq 2 \text{ (dibulatkan)} \end{aligned}$$

Keterangan

p = jumlah kelompok (terdiri daritiga macam perlakuan)
n = jumlah ulangan yang diperlukan

Penelitian tahap kedua dilakukan untuk mencari efek pemberian supernatan dari kultur bakteri *Pseudomonas sp.* pada minimum media limbah rendaman kedelai terhadap perubahan nilai Chemical Oxygen Demand (COD) dan nilai Biological Oxygen Demand (BOD) limbah cair RPA. Tahap ketiga dilakukan dengan membuat isolat bakteri pada media tumbuh air rendaman kedelai konsentrasi terbaik dari penelitian tahap pertama kemudian dibuat empat kelompok uji konsentrasi, yaitu kelompok kontrol negatif konsentrasi 0% (A), perlakuan 1 konsentrasi 10% (B), perlakuan 2 konsentrasi 20% (C), dan perlakuan 3 konsentrasi 30% (D). Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan secara duplo kemudian di inkubasi menggunakan inkubator *shaker* kecepatan 120rpm suhu 30⁰C dengan 2 variabel waktu 24 dan 48 jam. Rancangan penelitian lebih lanjut ditunjukkan dalam Lampiran2.

Jumlah ulangan ditentukan dengan menggunakan rumus (Steel and Torrie, 1980):

$$\begin{aligned} \text{Tahap 2 : } P(n-1) &\geq 20 \\ 8(n-1) &\geq 20 \\ 8n-8 &\geq 20 \\ 8n &\geq 28 \\ n &\geq 3,5 \\ n &\geq 3 \text{ (dibulatkan)} \end{aligned}$$

Keterangan

p = jumlah kelompok (terdiri dari tiga macam perlakuan)
n = jumlah ulangan yang diperlukan

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu:

Variabel bebas : Bakteri *Pseudomonas sp.*

Variabel tergantung : Nilai COD dan BOD

Variable kendali : Waktu inkubasi, minimum media limbah air rendaman kedelai dan emulsifikasi minimum media.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Persiapan Isolat Bakteri *Pseudomonas sp.*

Kultur diambil dari penyimpanan *stock* pada lemari es suhu -80°C yang kemudian dicairkan dan diinokulasikan ke media agar padat (TSA). Lama waktu inkubasi 24-48 jam dan suhu tumbuh optimal 30°C . Isolat yang sudah tumbuh di media agar TSA (*fresh culture*) dilakukan verifikasi sesuai Barrow (1993) melalui uji pewarnaan gram, katalase, oksidase, fermentatif, motilitas, spora, laktosa, sukrosa dan glukosa.

Untuk mendapatkan fase stasioner, dilakukan pengamatan pertumbuhan bakteri (kurva pertumbuhan) dengan metode *Total Plate Count* (TPC) pada kultur dengan media tumbuh *Triptone Soya Agar* (TSA) dan metode kerapatan optik (*Optical Density/OD*) pada kultur dengan media tumbuh *Nutrient Brooth* (NB). TPC dilakukan setiap jam pada 4 jam pertama tumbuh dan setiap 2 jam hingga jam ke 62. Hasil dinyatakan sebagai hasil logaritmik dari jumlah sel/ml kultur, sedangkan pengukuran OD dilakukan setiap 2 jam sekali kecuali pada 4 jam pertama (Fatimah, 2007).

4.5.2 Produksi Biosurfaktan

4.5.2.1 Pembuatan Media Tumbuh Air Rendaman Kedelai

Minimum media dibuat dalam 5 kategori konsentrasi. Kategori pertama sebagai kontrol negatif berisi aquades 100% (A). Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B) berisi aquades 90% dan air rendaman kedelai 10%, perlakuan 2 konsentrasi 20% (C) berisi aquades 80% dan air rendaman kedelai 20%, perlakuan 3 konsentrasi 30% (D) berisi aquades 70% dan air rendaman kedelai 30%, dan perlakuan 4 konsentrasi 40% (E) berisi aquades 60% dan air rendaman kedelai 40%. Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan secara duplo kemudian diinkubasi menggunakan inkubator *shaker* kecepatan 120rpm dengan suhu 30°C. Sampel diamati dengan variabel waktu 24, 48 dan 72 jam.

4.5.2.2 Pengukuran Kualitas Biosurfaktan

Pengukuran dilakukan pada supernatan hasil inkubasi minimal media. Supernatan diperoleh dengan memasukkan minimal media cair ke dalam tabung-tabung sentrifus. Proses sentrifugasi dilakukan pada suhu 4°C kecepatan putar 10000 rpm selama 15 menit. Dari proses ini akan di dapatkan tiga lapis zat dalam tabung sentrifus. Lapisan paling bawah adalah sel bakteri dan padatan dari limbah rendaman kedelai. Lapisan tengah berisi supernatan yang mengandung biosurfaktan. Lapisan paling atas adalah padatan dari limbah rendaman kedelai yang mempunyai masa lebih ringan dari supernatan.

4.5.2.3 Uji Aktifitas Emulsi

Aktifitas emulsi dilakukan dengan menambahkan 7,2ml (90%) supernatan dengan 0,8 ml (10%) hidrokarbon uji (n-hexadekan). Setelah itu

divortek selama 1 menit. Campuran tersebut diukur kestabilan emulsinya dengan mengukur nilai OD campuran sebelum dan setelah pada inkubasi suhu 30⁰ selama 2 jam dan pada panjang gelombang 610 nm. Kontrol negatif terdiri dari air mineral steril dan minimum media sebagai blanko OD. Aktivitas emulsifikasi dilaporkan sebagai hasil rata-rata dari 5 ulangan (Fatimah, 2007).

4.5.2.4 Uji *Drop Collaps*

Drop collapse dilakukan dengan meneteskan 1 tetes ($\pm 25\mu\text{l}$) supernatan kultur bakteri pada minimum media air rendaman kedelai di atas permukaan minyak murni pada wadah datar seperti cawan petri. Pengukuran dengan menghitung waktu tetesan supernatan mampu memecah lemak minyak pada satuan detik. Hasil pengujian dilaporkan sebagai hasil rata-rata dari 5 ulangan (Satpute *et al*, 2008).

4.5.3 Efektivitas Biosurfaktan pada Bioremediasi Limbah Cair Cucian Karkas RPA

Tahap ini merupakan tahap terakhir dimana biosurfaktan yang diuji diambil dari supernatan terbaik melalui pengukuran kualitas biosurfaktan. Efektivitas diuji dengan menggunakan 4 kategori konsentrasi, yaitu : perlakuan 1 kontrol negatif konsentrasi 0% yaitu limbah 100% (A), perlakuan 2 konsentrasi 10% (90% limbah cair RPA ditambahkan 10% supernatan), perlakuan 3 konsentrasi 20% (80% limbah cair RPA ditambahkan 20% supernatan), perlakuan 4 konsentrasi 30% (70% limbah ditambahkan 30% supernatan). Masing - masing perlakuan dilakukan secara duplo kemudian diinkubasi pada inkubator suhu 30⁰ dengan 2 variabel waktu: 24 dan 48 jam.

4.5.3.1 Uji Chemical Oxygen Demand (COD)

Pengujian kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) pada penelitian ini menggunakan metode Standar Nasional Indonesia (SNI) 06-6989.2-2004. SNI ini menggunakan referensi dari metode standar internasional yaitu *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st Edition. Prinsip dari pengujian COD adalah Senyawa organik dan anorganik, jika dioksidasi oleh $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ dalam refluks tertutup maka akan menghasilkan Cr^{3+} . Jumlah oksidan yang dibutuhkan dinyatakan dalam ekuivalen oksigen (O_2 mg/L) diukur secara spektrofotometri. $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ kuat mengabsorpsi pada panjang gelombang 420 nm dan Cr^{3+} kuat mengabsorpsi pada panjang gelombang 600 nm, adapun prosedurnya adalah

- 3 gelas Erlenmeyer 250 mL disiapkan untuk sampel 1 (air limbah rendaman kedelai)
- HgSO_4 dituang ke dalam gelas Erlenmeyer 250 mL
- Sampel sebanyak 20 mL dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer. Untuk blanko, 20 mL
- 10 mL larutan $\text{k}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0,1 N ditambahkan pada sampel 1 dan 5 mL pada sampel 2
- H_2SO_4 pekat ditambah sebanyak 20 mL sebagai katalisator ke masing-masing Erlenmeyer tadi

- Mengalirkan Air pendingin pada kondensor dan meletakan gelas Erlenmeyer di bawah kondensor kemudian menempatkan kondensor dengan gelas Erlenmeyer COD (gelas refluks) di atas pemanas Bunsen
- Alat pemanas dan refluks larutan dinyalakan selama 2 jam
- biarkan gelas refluks dingin terlebih dahulu kemudian melepasnya dari kondensor sampai larutan berada pada suhu ruang
- 3 tetes indicator feroin ditambahkan pada gelas refluks.
- Dikromat yang tersisa di dalam larutan sesudah direfluks, dititrasi dengan larutan standar ferro ammonium sulfat (FAS) 0,05 N sampai warna hijau biru menjadi coklat merah
- Melakukan hal yang sama terhadap blanko yang mengandung semua reagen yang ditambahkan pada larutan sampel.

4.5.3.2 Uji Biological Oxygen Demand (BOD)

Parameter BOD merupakan salah satu parameter yang dilakukan dalam pemantauan parameter air, khususnya pencemaran bahan organik yang tidak mudah terurai. BOD menunjukkan jumlah oksigen yang dikonsumsi oleh respirasi mikro aerob yang terdapat dalam botol BOD yang diinkubasi pada suhu 20°C selama lima hari, dalam keadaan tanpa cahaya (Boyd, 1998). Dalam pengujian BOD di penelitian ini menggunakan Metode Winkler. Adapun prosedur pengujian BOD sebagai berikut:

1. Pengenceran

- Sampel 1 sebanyak 25 mL dimasukkan ke labu bakar lalu mengencerkan 20x dengan Aquadest sampai 500 mL
- Kemudian dipindahkan ke botol winkler pelan pelan, dibagi 2 bagian yaitu pada botol 350 mL dan 150 mL
- Pada sampel 2 sebanyak 50 mL diencerkan 10x dengan aquadest sampai 500 mL pada labu takar
- Kemudian melakukan hal sama pada sampel 2 seperti pada sampel 1, begitu pula dengan blanko

2. DO_o

- 0,5 mL KI dimasukkan dengan pipet ke dalam botol 150 mL yang berisi sampel
- Kemudian menambahkan MnSO₄ sebanyak 0,5 mL dengan pipet yang lain. Botol ditutup kembali dengan hati-hati untuk mencegah terperangkapnya udara dari luar, kemudian dikocok dengan membolak-balikkan botol beberapa kali dan tunggu sampai terbentuk endapan
- 0,5 mL H₂SO₄ pekat ditambahkan pada botol dan digoyangkan dengan perlahan sehingga semua endapan melarut kemudian memindahkan larutannya ke dalam tabung Erlenmeyer sebanyak 100 mL. Larutan yang dihasilkan dari kegiatan tersebut kemudian dititrasikan dengan larutan thiosulfat sampai warna biru hilang
- Melakukan hal yang sama pada blanko

DO₅

- 1 mL KI dimasukkan dengan pipet ke dalam botol 350 mL yang berisi sampel kemudian memasukan MnSO₄ 1 mL dengan pipet yang lain. Botol ditutup kembali dengan hati-hati untuk mencegah terperangkapnya udara dari luar, kemudian dikocok dengan membolak-balikan botol beberapa kali hingga terbentuk endapan
- 10 mL H₂SO₄ ditambahkan ke dalam botol kemudian botol digoyangkan dengan hati-hati sehingga semua endapan melarut kemudian memindahkan larutannya ke dalam tabung Erlenmeyer sebanyak 100 mL
- Larutan yang dihasilkan dari kegiatan tersebut kemudian dititrasi dengan larutan thiosulfat sampai warna biru hilang.

4.6 Analisis Data

Data kualitatif yang diperoleh dari hasil penelitian tahap 1 dan penelitian tahap 2 ditabulasi dengan menggunakan *Microsorf Office Excel 2010* dan dianalisis menggunakan fasilitas SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) 13.0 *for windows* dengan analisis ragam *One-Way ANOVA (Analysis Of Variance)*. Apabila terdapat perbedaan nyata uji dilanjutkan dengan perbandingan berganda uji *Tukey* atau *Beda Nyata Jujur (BNJ)* dengan taraf kepercayaan sebesar 95% ($\alpha = 0,05$). Data efektifitas biosurfaktan asal bakteri *Pseudomonas sp.* pada limbah RPA ditentukan dengan pengamatan perubahan kadar *Chemical Oxygen Demand (COD)* dan *Biological oxygen Demand (BOD)*

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Isolat *Pseudomonas sp.*

Bakteri dalam penelitian ini menggunakan isolat *Pseudomonas sp.* dari hasil penelitian Riupassa (2012). *Stock* isolate disimpan pada suhu -80°C , kemudian dicairkan dalam suhu ruang dan diinokulasikan pada media agar padat *Trypton Soya Agar* (TSA). Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C . Isolat yang sudah tumbuh dilakukan verifikasi sesuai Cowan *and* Steel's (2003), dan hasilnya dijelaskan pada tabel 5.1 :

Tabel 5.1. Karakteristik *Pseudomonas sp.* yang digunakan dalam penelitian

Variabel yang diamati	Hasil
Warna	Kuning
Bentuk	Bulat
Tepi	Rata
Bentuk bakteri	Coccobasil
Gram	Negatif (-)
Spora	Negatif (-)
Motilitas	Positif (+)
Aerobik	Positif (+)
Katalase	Positif (+)
Oksidase	Positif (+)
O/F	Fermentatif
Indol	Negatif (-)
MR-VP	Positif (+)
TSIA	Positif (+)
BAP	Positif (+)

Hasil dari verifikasi karakteristik menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan adalah *Pseudomonas sp.* Bakteri *Pseudomonas sp.* mempunyai potensi menghasilkan biosurfaktan pada uji menggunakan *Blood Agar Plate* (BAP), yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di pinggir bakteri yang tumbuh. Penelitian dilanjutkan dengan perhitungan pertumbuhan bakteri pada media *Nutrient Brooth* (NB) dan *Trypton Soya Agar* (TSA) dengan tujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang akan digunakan dalam pengujian selanjutnya. Perhitungan pertumbuhan dilakukan dengan menghitung nilai absorbansi pada

panjang gelombang 530 nm dan dilakukan perhitungan *Total Plate Count* (TPC). Hasil yang didapat dari perhitungan kurva pertumbuhan adalah pada jam ke-48 dengan nilai OD 0,987 dan TPC sebanyak $1,63 \times 10^9$ CFU/ml. Data yang didapat dari kurva pertumbuhan ini akan digunakan sebagai penentuan jumlah bakteri yang digunakan untuk memproduksi biosurfaktan menggunakan media tumbuh limbah rendaman kedelai. Data mengenai nilai OD dan TPC dapat dilihat pada Lampiran 7 dan 8.

5.2 Kualitas Biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* pada media limbah rendaman kedelai

Hasil dari uji emulsifikasi dan *drop collapse* dapat dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil rata-rata uji aktifitas emulsifikasi dan *drop collapse*

Perlakuan	Rata-Rata	
	Emulsifikasi	<i>Drop collapse</i>
T 10% 24 jam	-0.15 ± 0.0772^b	28.33 ± 3.51^f
T 20% 24 jam	-0.31 ± 0.0343^b	15.33 ± 2.56^e
T 30% 24 jam	0.02 ± 0.0924^{cde}	11.00 ± 2.64^{de}
T 40% 24 jam	-0.36 ± 0.0965^a	8.00 ± 3.00^{cd}
T 10% 48 jam	0.01 ± 0.0303^{cde}	7.00 ± 2.00^{bcd}
T 20% 48 jam	0.06 ± 0.0693^e	2.00 ± 1.00^a
T 30% 48 jam	0.03 ± 0.0422^{cde}	3.33 ± 2.51^{ab}
T 40% 48 jam	0.05 ± 0.0570^e	3.66 ± 3.05^{abc}
T 10% 72 jam	-0.06 ± 0.0855^{bc}	4.66 ± 3.78^{abc}
T 20% 72 jam	-0.03 ± 0.0261^{cde}	4.33 ± 3.2^{abc}
T 30% 72 jam	-0.03 ± 0.0355^{cd}	4.66 ± 2.08^{abc}
T 40% 72 jam	-0.06 ± 0.0312^c	5.66 ± 1.52^{abc}

Keterangan :-T 10% 24 Jam menunjukkan bahwa ada 10% limbah rendaman kedelai dan 90% air aquades yang di inkubasi selama 24 jam dan seterusnya

Setelah dilakukan analisa menggunakan ANOVA menunjukkan bahwa kualitas biosurfaktan yang dihasilkan oleh *Pseudomonas sp.* pada media tumbuh air rendaman kedelai memiliki perbedaan yang signifikan antar perlakuan

konsentrasi dan waktu inkubasi. Tabel 5.2 menunjukkan bahwa biosurfaktan dengan konsentrasi 20% dan diinkubasi selama 48 jam menjadi perlakuan terbaik dalam uji potensi biosurfaktan karena memiliki waktu memecah tegangan antar muka (*drop collaps*) paling cepat dan signifikan dengan yang lain yaitu 2 detik, selain itu juga memiliki tingkat emulsifikasi yang signifikan dan paling tinggi dari yang lain yaitu 0.06 ± 0.06 . Menurut Bodour & Milller-Maier (1998) jumlah senyawa surfaktan yang terbentuk dapat dinyatakan melalui kemampuan surfaktan mengurangi tegangan pada permukaan cairan. Dengan adanya emulsi yang terbentuk antara cairan media dan n-heksan, maka volume n-heksan yang berada di atas cairan media pasti akan menurun. Menurut Satpute *et al* (2008) kemampuan biosurfaktan semakin baik apabila semakin cepat menurunkan tegangan antar muka dalam uji *drop collaps*. Pengaruh penggunaan media limbah tahu juga berpengaruh terhadap biosurfaktan yang dihasilkan. Dalam hasil didapatkan konsentrasi 20% limbah rendaman kedelai yang di inkubasi selama 48 jam menjadi yang terbaik menghasilkan biosurfaktan. Adapun yang menjadikan limbah rendaman kedelai dapat dijadikan minimum media adalah kandungan nitrogen, hidrogen, fosfor dan protein yang terkandung di dalamnya (Sundarsih dan Kurniaty, 2009). Unsur Nitrogen yang terkandung di dalam media limbah rendaman kedelai dibutuhkan untuk biosintesis asam amino yang merupakan monomer protein sedangkan unsur fosfor dibutuhkan untuk biosintesis AND (Asam diosiribo nukleat) dan ARN (Asam ribo nukleat) serta transfer energi. Protein selain pembentuk enzim juga merupakan penyusun struktur sel. Asam nukleat terutama ARN berkaitan erat dengan biosintesis protein, agar biosintesis

dapat memenuhi kebutuhan sel maka ketersediaan unsur N dan P sangat dibutuhkan dalam suatu media untuk pertumbuhan bakteri (Thomas et al, 1999).

5.3 Uji Efektivitas Biosurfaktan asal *Pseudomonas sp* terhadap Bioremediasi

Limbah cair Rumah Potong Ayam (RPA)

5.3.1 Kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD)

Hasil uji efektifitas kandidat biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* terhadap kadar COD limbah cair RPA tradisional setelah dianalisa secara statistika menunjukkan perbedaan yang signifikan dan berbeda nyata ($p < 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Hasil dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Rata-Rata Uji Biosurfaktan terhadap kadar COD limbah RPA

Perlakuan	Kadar COD Limbah (Mean \pm SD)*
Kontrol 24 jam	739.83 \pm 5.62 ^g
T 10% 24 Jam	648.20 \pm 4.01 ^f
T 20% 24 Jam	560.97 \pm 4.75 ^d
T 30% 24 Jam	412.77 \pm 8.02 ^b
Kontrol 48 Jam	744.37 \pm 9.63 ^h
T 10% 48 Jam	636.83 \pm 3.85 ^e
T 20% 48 Jam	526.43 \pm 3.20 ^c
T 30% 48 Jam	353.60 \pm 4.31 ^a

Ket -T 10 % 24 jam Menunjukkan bahwa 10% Biosurfaktan dan 90% Limbah cair RPA dan di inkubasi selama 24 jam dan seterusnya

Perbedaan konsentrasi serta lama waktu inkubasi memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar COD pada limbah cair RPA (Tabel 5.3). Berdasarkan hasil uji biosurfaktan terhadap kadar COD seperti yang terlihat pada Tabel 5.3 menunjukkan bahwa biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* dengan konsentrasi 30% yang diinkubasi selama 48 jam memiliki kemampuan menurunkan kadar COD paling baik yaitu dari kadar kontrol 48 jam yang awalnya 744.37 \pm 9.63 mg/L menjadi 353.60 mg/L. Selain konsentrasi, perbedaan lama waktu inkubasi bakteri

Pseudomonas sp. juga mempengaruhi kemampuan biosurfaktan tersebut dalam menurunkan kadar COD. Terlihat pada tabel 5.3 bahwa konsentrasi biosurfaktan 30% dengan lama waktu inkubasi 48 jam memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menurunkan kadar COD jika dibandingkan dengan yang diinkubasi selama 24 jam saja. Kadar COD hasil remediasi biosurfaktan 30% dengan lama waktu inkubasi 48 adalah 353.60 ± 4.31 mg/L sedangkan hasil saat diinkubasi selama 24 jam saja kadar COD nya sebesar 412.77 ± 8.02 mg/L. Pada tingkat konsentrasi 20%, 10% serta kontrol juga memberikan hasil yang sama, biosurfaktan yang diinkubasi 48 jam mampu menurunkan kadar COD lebih banyak dibandingkan dengan waktu inkubasi 24 jam.

Perbedaan konsentrasi dan waktu inkubasi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap penurunan kadar COD limbah cair rumah potong ayam. Biosurfaktan merupakan senyawa aktif berupa surfaktan yang dihasilkan oleh metabolisme mikroba berupa produk ekstraseluler, banyaknya biosurfaktan yang dihasilkan tergantung dari jumlah mikroba penghasil biosurfaktan tersebut (Nugroho, 2006). Adanya perbedaan jumlah konsentrasi dan waktu inkubasi terhadap hasil penurunan kadar COD disebabkan karena faktor kuantitas *Pseudomonas sp.* yang terkandung dalam biosurfaktan berpengaruh terhadap kualitas biosurfaktan yang dihasilkan (Klosowska, *et al*, 2012). Hal ini akan berpengaruh terhadap kemampuan biosurfaktan menghasilkan oksigen untuk proses bioremediasi. Secara alamiah limbah memerlukan oksigen untuk pemecahan secara kimiawi, dalam hal ini diperlukan suatu agen untuk menghasilkan oksigen sekaligus menyatukan dua zat yang berbeda. Mikroba

dalam limbah atau di sekitar limbah dapat dijadikan sebagai agen untuk menghasilkan oksigen dan menyatukan zat yang berbeda. Dalam hal ini tentunya biosurfaktan dapat dikatakan sebagai agen karena biosurfaktan dapat mendegradasi senyawa kimiawi maupun biologi sekaligus dapat menurunkan tegangan permukaan. Batasan kadar maksimum COD dalam limbah yang diperbolehkan menurut Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 10 tahun 2007 sebesar 300 mg/L. Meskipun belum mampu memenuhi persyaratan standar yang ditetapkan oleh pemerintah akan tetapi pada penelitian ini biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* dapat mengurangi dan menurunkan kebutuhan oksigen terhadap lingkungan dalam hal ini adalah kadar COD.

5.3.2 Kadar Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Hasil dari pemberian biosurfaktan asal *Pseudomonas sp* terhadap kadar Biochemical Oxygen Demand (BOD) dengan berbagai konsentrasi dan waktu inkubasi terdapat pada Tabel 5.4 dan setelah dianalisa secara statistika menunjukkan perbedaan yang signifikan dan berbeda nyata ($p < 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Hasil dapat dilihat pada Tabel 5.4

Tabel 5.4 Hasil rata-rata Uji Biosurfaktan terhadap kadar BOD limbah RPA

Perlakuan	Kadar BOD Limbah (Mean \pm SD)*
Kontrol 24 jam	562.55 \pm 2.67 ^h
T 10% 24 jam	541.69 \pm 121 ^f
T 20% 24 jam	470.37 \pm 5.42 ^e
T 30% 24 jam	361.30 \pm 2.96 ^c
Kontrol 48 Jam	542.79 \pm 2.15 ^g
T 10% 48 jam	462.01 \pm 5.33 ^d
T 20% 48 jam	343.00 \pm 3.18 ^b
T 30% 48 jam	266.13 \pm 3.45 ^a

-T 10 % 24 jam Menunjukkan bahwa 10% Biosurfaktan dan 90% Limbah cair RPA dan di inkubasi selama 24 jam dan seterusnya

Berdasarkan Tabel 5.4 menunjukkan bahwa hasil pengukuran kadar BOD menunjukkan perbedaan yang signifikan dan berbeda nyata pada setiap perlakuan. Penurunan kadar BOD paling signifikan terjadi pada pemberian biosurfaktan konsentrasi 30% dengan lama inkubasi 48 jam yaitu kadar awal kontrol sebesar 542.79 mg/L menjadi 266.13 mg/L selanjutnya pemberian biosurfaktan dengan konsentrasi 20% dengan waktu inkubasi 48 jam yang memberikan hasil signifikan yaitu 343.00 mg/L. Selanjutnya perlakuan yang memberikan hasil signifikan berturut turut adalah konsentrasi 30% waktu inkubasi 24 jam, konsentrasi 10% dengan waktu inkubasi 48 jam, konsentrasi 20% waktu inkubasi 24 jam dan konsentrasi 10% waktu inkubasi 24 jam. Seperti halnya pengujian kadar COD, hasil pengujian kadar BOD juga memperlihatkan bahwasanya semakin tinggi dan lama waktu inkubasi biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* akan semakin besar pula pengaruhnya dalam menurunkan kadar BOD. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Klosowska, *et al.* (2012), konsentrasi biosurfaktan dan jumlah bakteri yang terkandung di dalamnya adalah berbanding lurus. Biosurfaktan merupakan senyawa aktif berupa surfaktan yang dihasilkan oleh metabolisme mikroba berupa produk ekstraseluler, banyaknya biosurfaktan yang dihasilkan tergantung dari jumlah mikroba penghasil biosurfaktan tersebut (Jennings, 2000).

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Biosurfaktan asal bakteri *Pseudomonas sp* mampu menurunkan kadar COD dan BOD limbah cair RPA tradisional Malang.
2. Biosurfaktan asal bakteri *Pseudomonas sp.* dengan konsentrasi 30% dan lama inkubasi 48 jam pada limbah RPA memberikan hasil terbaik dalam menurunkan COD yaitu sebesar 353,60 mg/L dari kontrol negatif sebesar 744,37 mg/L sedangkan kadar BOD mengalami penurunan sebesar 266,13 mg/L dibanding kontrol sebesar 542,79 mg/L.
3. Media tumbuh limbah rendaman kedelai dapat dijadikan sebagai media tumbuh biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.*

6.2 Saran

Diperlukan lagi variasi konsentrasi dan lama waktu inkubasi untuk mendapatkan biosurfaktan dengan kualitas yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

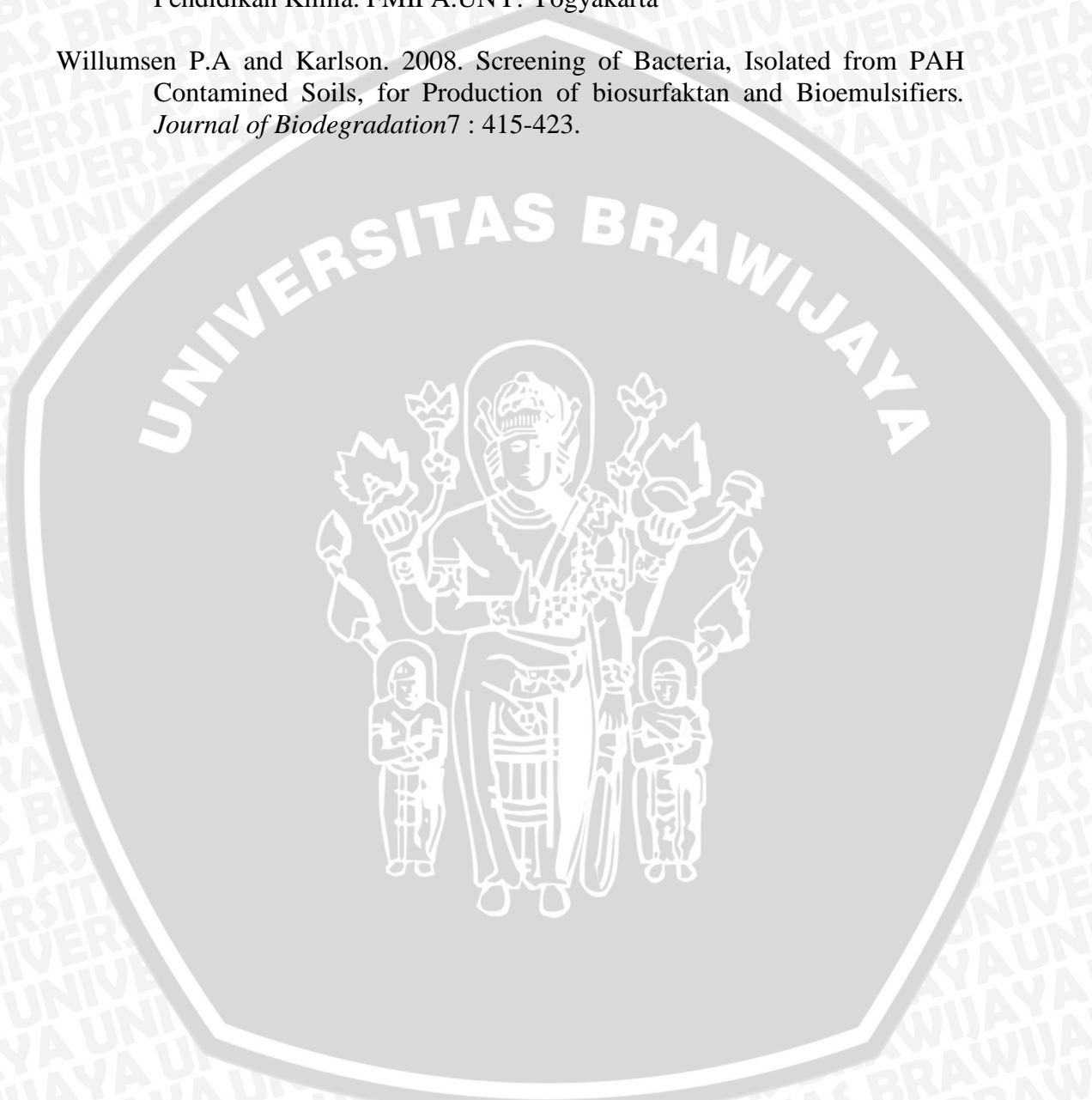
- Anandaraj, B and P.Thivakaran. 2010. Isolation and Production of Biosurfaktant producing Organism From Oil Spilled Soil. *Journal Bioscient Technology*, vol 1 (3), 2010 :120-126.
- Anonim. 2012. SNI 06-6989.2.2004 :*Cara Uji Kebutuhan Oksigen Kimiawi (Kok) Dengan Refluks Tertutup Secara Spektrofotometri*. Badan Standarisasi Nasional Indonesia.
- Anonim. 2012. SNI 6989.72:2009 :*Cara Uji Kebutuhan Oksigen Biokimia (Biochemical Oxygen Demand)*. Badan Standarisasi Nasional Indonesia.
- Cowen and Steel. 2003. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*.Cambridge University Press. Cambridge. New York.
- Fatimah. 2007. Uji Produksi Biosurfaktan Oleh *Pseudomonas sp.* pada Substrat Yang Berbeda. *Jurnal Kimia*. (3) : 145-147.
- Kholiq, Ing, M. Abdul. 2012. *Balai Teknologi BPPT mengembangkan Biosurfaktan untuk Bioremediasi Hidrokarbon*. Serpong
- Kosaric N (2001) *Biosurfaktants. Production, property, application, surfactant sciences series*, 48. Dekker, New York). "*Degradation of alkyl methyl ketones by Pseudomonas veronii*". *Journal of Bacteriology* 189 (10): 3759–3767.
- Matz. Werben and Reunald 2001. Phenotypic variation in *Pseudomonas sp.* CM10 determines microcolony formation and survival under protozoan grazing. *Journal. Department of Physiological Ecology* : 175-178.
- Munir, Erman. 2006. Pemanfaatan mikroba dalam bioremediasi suatu teknologi alternatif untuk pelesatarian lingkungan. *Jurnal Lingkungan* : 35-37.
- Maneerat, S. 2005. Production Of Biosurfaktants Using Substrates From Renewableresources Songklanakar. *Journal Science Technology* : 675-683.

- Nurhasanah. 2009. Penentuan Kadar COD (Chemical Oxygen Demand) pada limbah cair Pabrik Kelapa Sawit, Pabrik Karet dan Domestik. [Karya Ilmiah]. Departemen Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Unuversitas Sumatera Utara. Sumatera Utara
- Nugroho. 2006. Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. *Jurnal Jurusan Teknik Lingkungan*.
- Riupassa, Rossy 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan asal Limbah Rumah Potong Ayam Tradisional di Kota Malang. [Skripsi]. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang
- Rahmawati.A.A dan R. Azizah. 2005. Perbedaan kadar BOD, COD, TSS, dan MPN Coliform pada air limbah, sebelum dan sesudah pengolahan di RSUD nganjuk. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*
- Richana N, Helena YM, Ani S, Tun Tedja I, 2004. Produksi Biosurfaktan Lipopeptida oleh Isolat Bakteri Indigenous. *Prosiding seminar pertemuan Ilmiah Tahunan : Peranan Mikrobiologi Dalam Agroindustri Untuk Menunjang Ketahanan Pangan Nasional: 191-198*
- Satpute SK, Bhawsar BD, Dhakephalkar PK and Chopade BA. 2008. *Assessment of different screening methods for selecting Biosurfaktant producing marine bacteria. Department of Microbiology, Institute of Bioinformatics and Biotechnology, University of Pune 411 007, Maharashtra, India*
- Saikia and Rashmi. 2011. Isolation of Biosurfaktant-producing Pseudomonas aeruginosa RS29 from oil-contaminated soil and evaluation of different nitrogen sources in Biosurfaktant production. *Journal of Biosurfaktant : 465-469*.
- Sayekti R.W., R.Haribowo, Y. Vivit, A. Prabowo. 2011. Studi Efektifitas Penurunan Kadar BOD, COD dan NH3 Pada Limbah Cair Rumah Sakit dengan Rotating Biological Contraktor. *Jurnal Teknik Pengairan*
- Singih M.L dan M. Kariana. 2008. Peningkatan Produktifitas & Kinerja Lingkungan Dengan Pendekatan Green Productivity Pada Rumah Pemotongan Ayam XX ,Purifikasi. *Jurnal.9 (2) :1-2*.
- Tang, Muhamad dan Veinardi Suendo. 2011. *Pengaruh Penambahan Pelarut Organik Terhadap Tegangan Permukaan Larutan Sabun*. Prosiding Simposium Nasional Inovasi Pembelajaran dan Sains 2011 (SNIPS 2011), Bandung, Indonesia

Wardhana, W.A. 2001. Dampak Pencemaran Lingkungan. Penerbit Andi Yogyakarta. D I Yogyakarta.

Widjajanti, E. 2009. Penanganan Limbah Laboratorium Kimia. Jurusan Pendidikan Kimia. FMIPA.UNY. Yogyakarta

Willumsen P.A and Karlson. 2008. Screening of Bacteria, Isolated from PAH Contaminated Soils, for Production of biosurfaktan and Bioemulsifiers. *Journal of Biodegradation* 7 : 415-423.





LAMPIRAN



Lampiran 1. Rancangan Penelitian Tahap 1

	Kelompok Uji	Keterangan	Variabel yang Diamati	
			Aktifitas Emulsi	Drop Collapse
24 jam	Kontrol negatif konsentrasi 0% (A)	Aquades 100% tanpa campuran air rendaman kedelai		
	Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B)	Aquades 90% ditambahkan air rendaman kedelai 10%		
	Perlakuan 2 konsentrasi 20% (C)	Aquades 80% ditambahkan air rendaman kedelai 20%		
	Perlakuan 3 konsentrasi 30% (D)	Aquades 70% ditambahkan air rendaman kedelai 30%		
	Perlakuan 4 konsentrasi 40% (E)	Aquades 60% ditambahkan air rendaman kedelai 40%		
48 jam	Kontrol negatif konsentrasi 0% (A)	Aquades 100% tanpa campuran air rendaman kedelai		
	Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B)	Aquades 90% ditambahkan air rendaman kedelai 10%		
	Perlakuan 2 konsentrasi 20% (C)	Aquades 80% ditambahkan air rendaman kedelai 20%		
	Perlakuan 3 konsentrasi 30% (D)	Aquades 70% ditambahkan air rendaman kedelai 30%		
	Perlakuan 4 konsentrasi 40% (E)	Aquades 60% ditambahkan air rendaman kedelai 40%		
72 jam	Kontrol negatif konsentrasi 0% (A)	Aquades 100% tanpa campuran air rendaman kedelai		
	Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B)	Aquades 90% ditambahkan air rendaman kedelai 10%		
	Perlakuan 2 konsentrasi 20% (C)	Aquades 80% ditambahkan air rendaman kedelai 20%		
	Perlakuan 3 konsentrasi 30% (D)	Aquades 70% ditambahkan air rendaman kedelai 30%		
	Perlakuan 4 konsentrasi 40% (E)	Aquades 60% ditambahkan air rendaman kedelai 40%		

Lampiran 2. Rancangan Penelitian Tahap 2

	Kelompok	Keterangan	Variabel Uji	
			COD	BOD
24 jam	Kontrol negatif konsentrasi 0% (A)	Limbah cair RPA 100% tanpa campuran supernatan		
	Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B)	Limbah cair RPA 90% ditambahkan supernatan 10%		
	Perlakuan 2 konsentrasi 20% (C)	Limbah cair RPA 80% ditambahkan supernatan 20%		
	Perlakuan 3 konsentrasi 30% (D)	Limbah cair RPA 70% ditambahkan supernatan 30%		
48 jam	Kontrol negatif konsentrasi 0% (A)	Limbah cair RPA 100% tanpa campuran supernatan		
	Perlakuan 1 konsentrasi 10% (B)	Limbah cair RPA 90% ditambahkan supernatan 10%		
	Perlakuan 2 konsentrasi 20% (C)	Limbah cair RPA 80% ditambahkan supernatan 20%		
	Perlakuan 3 konsentrasi 30% (D)	Limbah cair RPA 70% ditambahkan supernatan 30%		

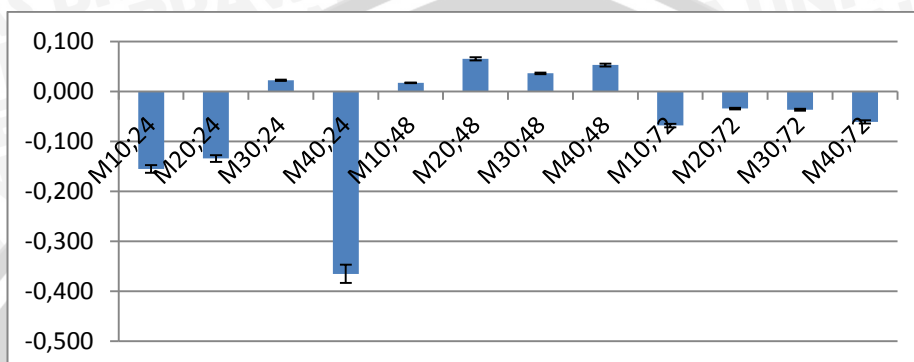
Lampiran 3. Hasil Uji Emulsifikasi

3.1 Uji Emulsifikasi

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	Stdev
	1	2	3			
T10;24	-0.091	-0.241	-0.134	-0.466	-0.155	0.0772
T20;24	-0.172	-0.126	-0.105	-0.403	-0.134	0.0343
T30;24	0.129	-0.032	-0.03	0.067	0.022	0.0924
T40;24	-0.467	-0.275	-0.354	-1.096	-0.365	0.0965
T10;48	-0.001	0	0.052	0.051	0.017	0.0303
T20;48	0.032	0.019	0.145	0.196	0.065	0.0693
T30;48	0.005	0.019	0.084	0.108	0.036	0.0422
T40;48	0.027	0.013	0.118	0.158	0.053	0.0570
T10;72	-0.015	-0.023	-0.167	-0.205	-0.068	0.0855
T20;72	-0.015	-0.024	-0.064	-0.103	-0.034	0.0261

T30;72	-0.017	-0.016	-0.078	-0.111	-0.037	0.0355
T40;72	-0.041	-0.045	-0.097	-0.183	-0.061	0.0312

3.2 Grafik Hasil Uji emulsifikasi



3.3 Analisa Data Uji Emulsifikasi

Tabel Uji Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances			
Dependent Variable: Emulsi			
F	df 1	df 2	Sig.
1.916	11	24	.089

Tabel Uji Normalitas

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Emulsi
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-.05519
	Std. Deviation	.127547
Most Extreme Differences	Absolute	.171
	Positive	.108
	Negative	-.171
Kolmogorov-Smirnov Z		1.024
Asymp. Sig. (2-tailed)		.245

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tabel Analisis ragam

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Emulsi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
M	.084	3	.028	7.292	.001
Waktu	.243	2	.121	31.672	.000
M * Waktu	.151	6	.025	6.569	.000
Error	.092	24	.004		
Total	.569	35			

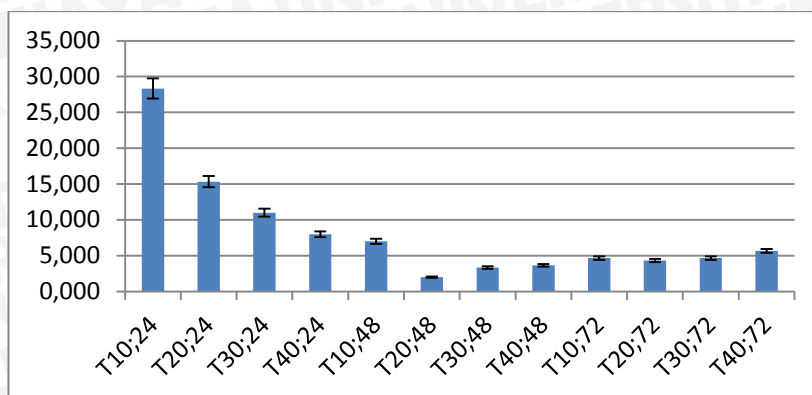
Lampiran 4. Hasil Uji Drop Collaps

4.1 Hasil Uji Drop Collaps

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	Stdev
	1	2	3			
T10;24	32	25	28	85.000	28.333	3.5119
T20;24	13	15	18	46.000	15.333	2.5166
T30;24	10	9	14	33.000	11.000	2.6458
T40;24	8	5	11	24.000	8.000	3.0000
T10;48	7	5	9	21.000	7.000	2.0000
T20;48	2	1	3	6.000	2.000	1.0000
T30;48	3	1	6	10.000	3.333	2.5166
T40;48	1	3	7	11.000	3.667	3.0551
T10;72	3	2	9	14.000	4.667	3.7859
T20;72	2	3	8	13.000	4.333	3.2146
T30;72	3	4	7	14.000	4.667	2.0817
T40;72	4	6	7	17.000	5.667	1.5275



4.2 Grafik Hasil Uji Drop Collaps



4.3 Analisa Data uji Drop collaps

Tabel Uji Homogenitas

Dependent Variable: Collapse Media Tahu			
F	df 1	df 2	Sig.
.756	11	24	.677

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		Collapse Media Tahu
N		36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.1667
	Std. Deviation	7.47759
Most Extreme Differences	Absolute	.206
	Positive	.206
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		1.234
Asymp. Sig. (2-tailed)		.095

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tabel Analisis ragam

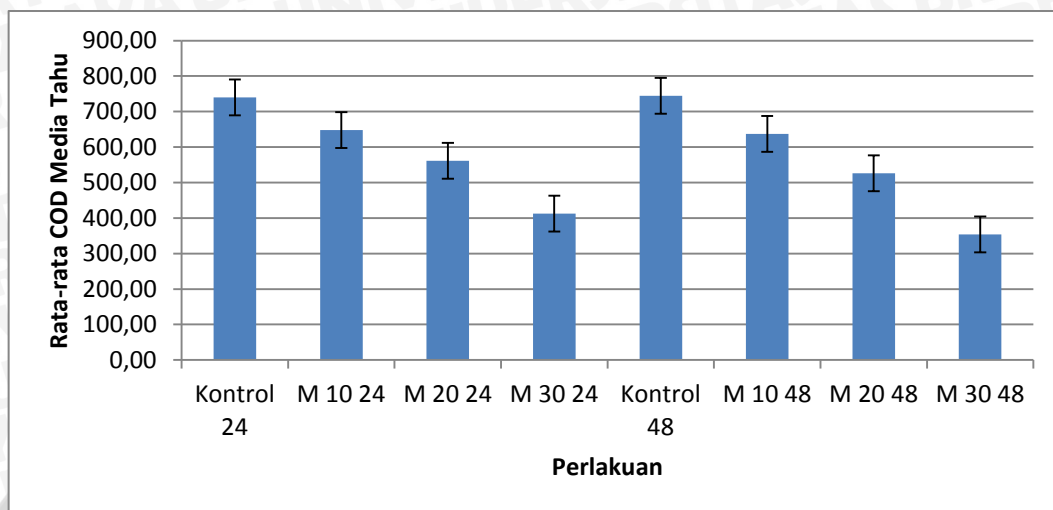
ANOVA					
Dependent Variable: Collapse Media Tahu					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
M	329.889	3	109.963	15.226	.000
Waktu	1016.667	2	508.333	70.385	.000
M * Waktu	437.111	6	72.852	10.087	.000
Error	173.333	24	7.222		
Total	1957.000	35			

Lampiran 5. Hasil Uji kualitas pemberian Biosurfaktan asal *Pseudomonas sp.* terhadap kadar COD limbah rumah potong ayam (RPA) Tradisional

5.1 Data Hasil Uji COD

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	Stdev
	1	2	3			
Kontrol 24	746	735	738.5	2219.50	739.83	5.62
T 10 24	646.4	645.4	652.8	1944.60	648.20	4.01
T 20 24	566.4	557.6	558.9	1682.90	560.97	4.75
T 30 24	414	404.2	420.1	1238.30	412.77	8.02
Kontrol 48	736.8	755.2	741.1	2233.10	744.37	9.63
T 10 48	632.4	639.3	638.8	1910.50	636.83	3.85
T 20 48	529.6	526.5	523.2	1579.30	526.43	3.20
T 30 48	356.8	355.3	348.7	1060.80	353.60	4.31

5.2 Grafik Uji COD



5.3 Analisa Data Uji COD

Uji Homogenitas

Dependent Variable: COD Media Tahu

F	df 1	df 2	Sig.
1.369	7	16	.283

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		COD Media Tahu
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	577.8750
	Std. Deviation	136.59417
Most Extreme Differences	Absolute	.155
	Positive	.126
	Negative	-.155
Kolmogorov-Smirnov Z		.760
Asymp. Sig. (2-tailed)		.610

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tabel Analisis ragam

ANOVA

Dependent Variable: COD Media Tahu

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Media	421327.028	3	140442.343	4147.889	.000
Waktu	3790.107	1	3790.107	111.939	.000
Media * Waktu	3474.390	3	1158.130	34.205	.000
Error	541.740	16	33.859		
Total	429133.265	23			

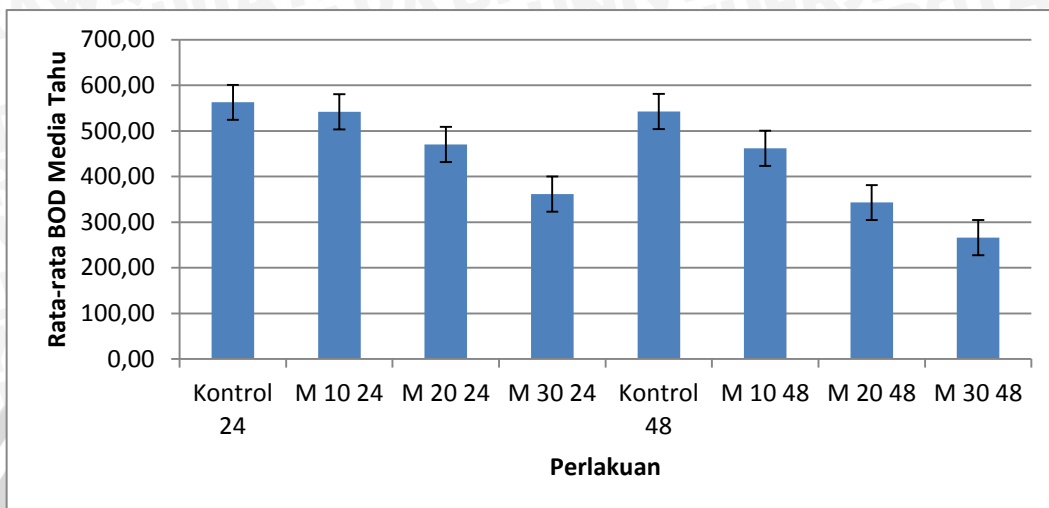
Lampiran 6. Hasil Uji kualitas pemberian Biosurfaktan asal Pseudomonas sp terhadap kadar BOD limbah rumah potong ayam (RPA) Tradisional

6.1 Hasil Uji BOD

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	Stdev
	1	2	3			
Kontrol 24	561.84	560.3	565.5	1687.64	562.55	2.67
T 10 24	541.87	540.4	542.8	1625.07	541.69	1.21
T 20 24	476.62	467.6	466.9	1411.12	470.37	5.42
T 30 24	358.29	364.2	361.4	1083.89	361.30	2.96
Kontrol 48	541.06	545.2	542.1	1628.36	542.79	2.15
T 10 48	460.94	457.3	467.8	1386.04	462.01	5.33
T 20 48	342.19	346.5	340.3	1028.99	343.00	3.18
T 30 48	267.08	262.3	269	798.38	266.13	3.45



6.2 Grafik Uji BOD



6.3 Analisa data Uji BOD

Tabel Uji Homogenitas

Dependent Variable: BOD Media Tahu

F	df 1	df 2	Sig.
1.579	7	16	.212

Tabel Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		BOD Media Tahu
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	443.7288
	Std. Deviation	104.12568
Most Extreme Differences	Absolute	.198
	Positive	.152
	Negative	-.198
Kolmogorov-Smirnov Z		.972
Asymp. Sig. (2-tailed)		.301

a. Test distribution is Normal.

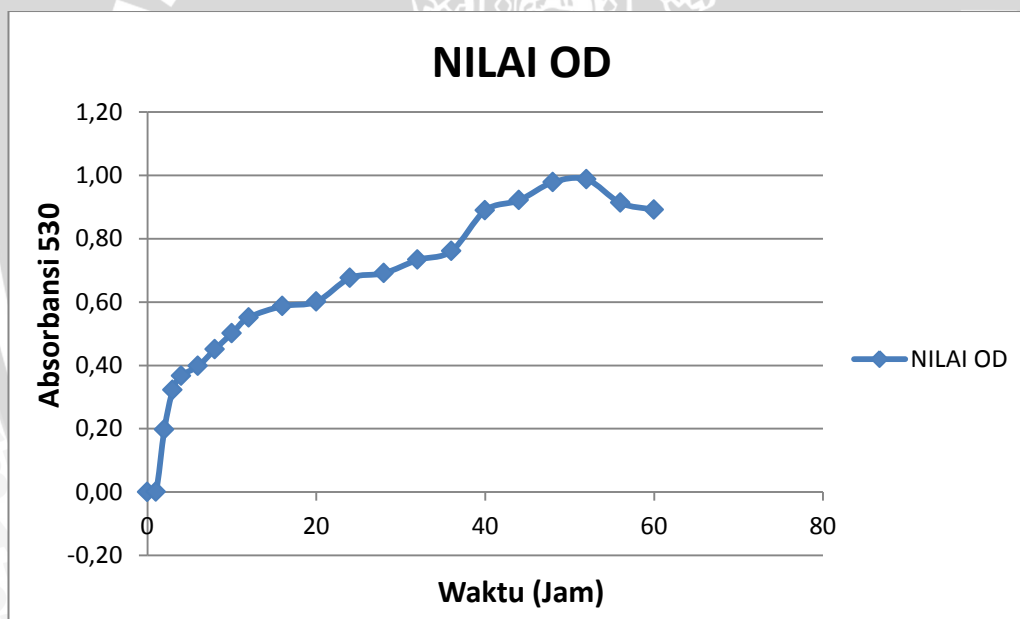
b. Calculated from data.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: BOD Media Tahu

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Media	201134.547	3	67044.849	5269.049	.000
Waktu	38877.475	1	38877.475	3055.377	.000
Media * Waktu	9153.984	3	3051.328	239.804	.000
Error	203.588	16	12.724		
Total	249369.595	23			

Lampiran 7. Grafik Hasil OD Kurva Pertumbuhan *Pseudomonas sp.*



Lampiran 8. Grafik Hasil TPC Kurva Pertumbuhan Pseudomonas Sp.

