

**BIOREMEDIASI BAHAN ORGANIK PADA AIR LIMBAH BUDIDAYA IKAN
LELE (*Clarias gariepinus*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DENGAN
KOMBINASI DOSIS YANG BERBEDA**

TESIS

Oleh:

**SRI INTAN ANGGRAINI
NIM. 166080100111008**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT LINGKUNGAN**

**MAGISTER BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2019



**BIOREMEDIASI BAHAN ORGANIK PADA AIR LIMBAH BUDIDAYA IKAN
LELE (*Clarias gariepinus*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DENGAN
KOMBINASI DOSIS YANG BERBEDA**

TESIS

**Untuk memenuhi persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



Oleh:

**SRI INTAN ANGGRAINI
NIM. 166080100111008**

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT LINGKUNGAN**

**MAGISTER BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

2019



TESIS

BIOREMEDIASI BAHAN ORGANIK PADA AIR LIMBAH BUDIDAYA IKAN LELE (*Clarias gariepinus*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DENGAN KOMBINASI DOSIS YANG BERBEDA

Oleh:

SRI INTAN ANGGRAINI
NIM.166080100111007

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 11 Juni 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Pembimbing

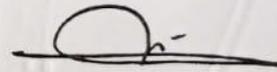
Ketua

Anggota



Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS
NIP. 19591230 198503 2 002

Tanggal: 19 JUN 2019



Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal: 19 JUN 2019

Mengetahui,
Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya



Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001

Tanggal: 19 JUN 2019

JUDUL TESIS:

**BIOREMEDIASI BAHAN ORGANIK PADA AIR LIMBAH BUDIDAYA IKAN
LELE (*Clarias gariepinus*) MENGGUNAKAN *Bacillus subtilis* DENGAN
KOMBINASI DOSIS YANG BERBEDA**

Nama Mahasiswa : Sri Intan Anggraini

NIM : 166080100111008

Program Studi : S-2 Budidaya Perairan

Minat : Lingkungan

Komisi Pembimbing

Ketua : Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS

Anggota : Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

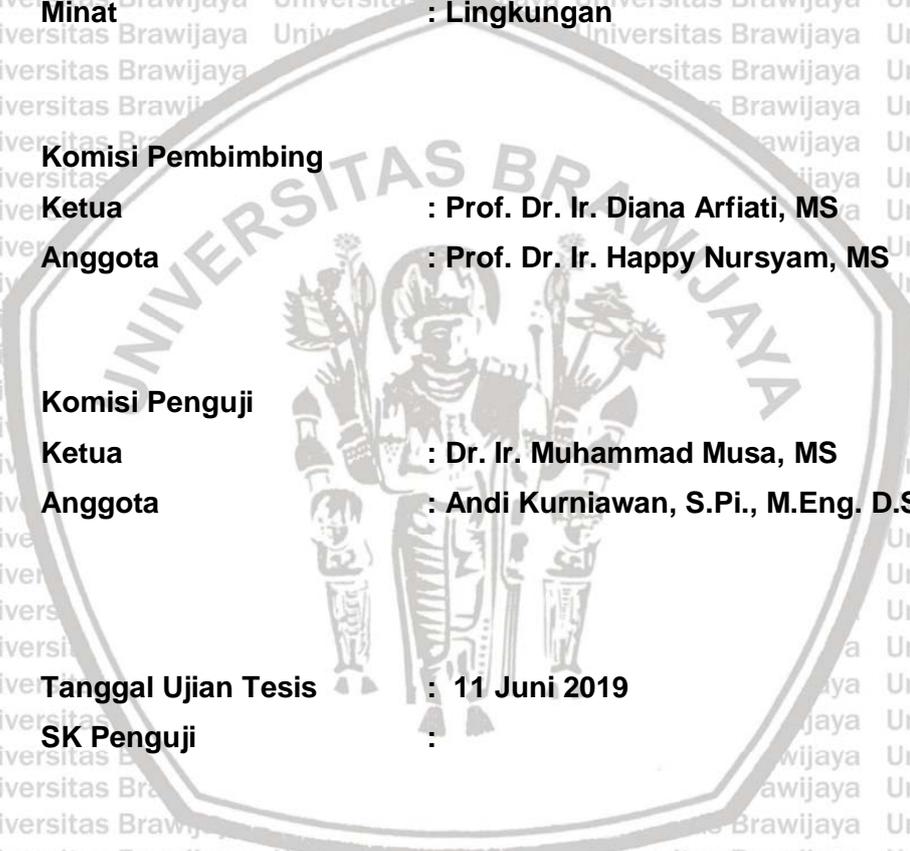
Komisi Penguji

Ketua : Dr. Ir. Muhammad Musa, MS

Anggota : Andi Kurniawan, S.Pi., M.Eng. D.Sc

Tanggal Ujian Tesis : 11 Juni 2019

SK Penguji :



PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, dalam naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik pada suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia Tesis (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 11 Juni 2019

Mahasiswa/i,



Sri Intan Anggraini
NIM.166080100111008



RIWAYAT HIDUP PENULIS



SRI INTAN ANGGRAINI, lahir di Bogor pada tanggal 30 September 1987. Anak ke-empat dari empat bersaudara pasangan Bapak Misbah Adi dan Ibu Is Fatimah Handayani.

Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan di SD Pasir Muncang 1 Kecamatan Caringin Kabupaten Bogor pada tahun 1994-

2000. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SLTP Negeri 2

Kota Bogor pada tahun 2000-2003. Pendidikan Sekolah Menengah Atas

diselesaikan di SMA 4 Kota Bogor pada tahun 2003-2006. Pendidikan Strata 1

(D4/ Sarjana) diselesaikan pada Program Studi Teknologi Pengolahan Hasil,

Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil di Sekolah Tinggi Perikanan (STP) Jakarta

pada tahun 2006-2010. Saat ini penulis menempuh Pendidikan Strata 2 (S2/

Magister) Program Magister Budidaya Perairan di Fakultas Perikanan dan Ilmu

Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya Malang pada tahun 2016-2019. Penulis

menyusun Tesis yang berjudul "Bioremediasi Bahan Organik Pada Air Limbah

Budidaya Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Menggunakan *Bacillus Subtilis* Dengan

Kombinasi Dosis yang Berbeda".

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, dengan kerendahan hati penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Bapak dan Ibu tercinta, atas motivasi, kebijaksanaan, nasihat dan Doa, sehingga Tesis ini dapat terselesaikan.
2. Prof. Dr. Ir. Diana Ariati, MS., selaku dosen pembimbing pertama yang dengan sabar memberikan arahan, bimbingan, masukan, saran dan kesempatan sehingga terselesaikannya Tesis ini,
3. Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS., selaku dosen pembimbing kedua yang dengan sabar memberikan bimbingan, masukan, saran, arahan, dan kesempatan sehingga terselesaikannya Tesis ini,
4. Dr. Ir. Muhammad Musa, MS., dan Andi Kurniawan, S.Pi., M.Eng. D.Sc selaku dosen penguji atas arahan dan masukannya baik dalam penyusunan Proposal maupun Laporan Tesis,
5. Sri Intan Anggraini yang menemani hingga akhir, Tiara Kumala, Diana Putri Renitasari, Kak Rika Putri, Ocha, Ningsih, dan Yatris yang ikut membantu, dan memberikan support dalam pembuatan Tesis ini,
6. Kakak tersayang M. Idham Silman, M. Ade Erik Feriku dan Sri Ratu Utami yang selalu memberikan motivasi selama proses pembuatan Tesis.

Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu mulai dari pelaksanaan penelitian hingga penulisan Tesis ini dapat terselesaikan.

Malang, 11 Juni 2019

Penulis

RINGKASAN

Sri Intan Anggraini. Program Magister Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Bioremediasi Bahan Organik Pada Air Limbah Budidaya Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Menggunakan *Bacillus Subtilis* Dengan Kombinasi Dosis yang Berbeda. Komisi Pembimbing: **Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS** dan **Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS**

Bahan organik adalah kumpulan senyawa - senyawa organik kompleks yang telah mengalami proses dekomposisi oleh organisme pengurai, baik berupa humus hasil humifikasi maupun senyawa-senyawa anorganik hasil mineralisasi. Untuk mengurangi limbah organik dalam media pemeliharaan ikan lele (*Clarias gariepinus*) dan buangan limbah budidaya diperlukan suatu teknologi pengelolaan budidaya, salah satu teknologi tersebut adalah bioremediasi dengan menggunakan *Bacillus subtilis* sebagai bioremediator. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis parameter kandungan bahan organik meliputi TOM (*Total Organic Matter*), Protein, Karbohidrat dan Lemak. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari 2019. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan penambahan *Bacillus subtilis* sebanyak 4 perlakuan termasuk kontrol (Kontrol, 10^7 CFU/mL, 10^6 CFU/mL dan 10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, ke-48, ke-72, ke-96 dan ke-120, terdiri dari tiga ulangan.

Berdasarkan hasil penelitian, konsentrasi TOM, Protein, Karbohidrat dan Lemak pada perlakuan D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, hal ini menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* dapat menurunkan limbah organik dari kolam budidaya ikan lele. Perlakuan terbaik ditemui pada perlakuan dosis bakteri 10^6 CFU/mL dengan waktu pengujian pada jam ke- 120, dengan sisa TOM 13,03 mg/L (16,23%) dengan nilai efisiensi 84%, sisa Protein 0,1526% dengan nilai efisiensi 13%, sisa Karbohidrat 0,1898% dengan nilai efisiensi 36% dan sisa Lemak 0,0176% dengan nilai efisiensi 47%.

Uji efektifitas bioremediasi dari dosis bakteri terbaik yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 kemudian diaplikasikan pada media pemeliharaan ikan lele di UPT PTPB Kepanjen. Berdasarkan hasil pengujian tersebut diketahui pengujian TOM awal di kolam budidaya ikan lele adalah 86,58 mg/L, namun setelah diaplikasikan dengan dosis terbaik hasil uji in vitro konsentrasi TOM menurun hingga 12,74 mg/L dengan efisiensi penurunan sebesar 85,3%. Hasil penelitian oksigen terlarut menunjukkan nilai berkisar pada 1,83 – 3,50 mg/L. Suhu air selama perlakuan menunjukkan angka rata-rata 27 – 28°C. Hasil pengukuran pH pada penelitian yaitu rata-rata 7,2.

SUMMARY

Sri Intan Angraini. Masters Program in Aquaculture and Fisheries, Faculty of Fisheries and Marine Sciences, Brawijaya University. *Bioremediation of Organic Matter in Wastewater Catfish Cultivation Using Bacillus subtilis with a Combination of Different Doses.* Advisory Commission: **Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS** and **Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS**

Organic material is a collection of complex organic compounds that have undergone a process of decomposition by decomposers, both in the form of humus and mineralized inorganic compounds. To reduce organic waste in catfish maintenance media (*Clarias gariepinus*) and waste management wastes a cultivation management technology is needed, one of these technologies is bioremediation using *Bacillus subtilis* as bioremediation. This study aims to analyze the parameters of organic matter content including TOM (*Total Organic Matter*), Protein, Carbohydrates, and Lipids. This research was conducted in January-February 2019. The study used a factorial complete randomized design (Factorial RAL) with the addition of *Bacillus subtilis* 4 treatments including controls (Control, 10^7 CFU / mL, 10^6 CFU / mL and 10^5 CFU / mL) at 24th, 48th, 72nd, 96th and 120th, consisting of three replications.

Based on the results of the study, the concentrations of TOM, Protein, Carbohydrates, and Fats in treatments D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) and D3 (10^5 CFU/mL) were lower than controls, indicating that *Bacillus subtilis* can reduce organic waste from catfish ponds. The best treatment was found in the treatment of bacterial doses of 10^6 CFU / mL with testing time at 120 hours, with the remaining TOM 13.03 mg/L (16.23%) with an efficiency of 84%, remaining protein 0.1526% with efficiency value 13%, the remaining carbohydrate is 0.1898% with an efficiency value of 36% and the remaining fat is 0.0176% with an efficiency value of 47%.

The effectiveness of the bioremediation test from the best bacterial dose, namely the dose of *Bacillus subtilis* 10^6 CFU / mL at 120 hours was then applied to the media of catfish maintenance at UPT PTPB Kepanjen. Based on the results of these tests it is known that the initial TOM testing in catfish ponds was 86.58 mg/L, but after being applied with the best dosage the results of in vitro TOM concentrations decreased to 12.74 mg/L with an efficiency of 85.3% decrease. The results of the dissolved oxygen study showed values ranging from 1.83 - 3.50 mg/L. The water temperature during treatment shows an average number of 27 - 28°C. The results of pH measurements in the study were 7.2.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Kuasa atas limpahan kasih dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul "Bioremediasi Bahan Organik Pada Air Limbah Budidaya Ikan Lele (*Clarias gariepinus*) Menggunakan *Bacillus Subtilis* Dengan Kombinasi Dosis yang Berbeda".

Penulis menyadari bahwa dengan keterbatasan dan kekurangan yang dimiliki oleh penulis dalam penyusunan Tesis ini, oleh sebab itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan sehingga dapat dimanfaatkan bagi yang membutuhkan.

Malang, 11 Juni 2019

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN i

IDENTITAS PENGUJI ii

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS iii

RIWAYAT HIDUP PENULIS iv

UCAPAN TERIMAKASIH v

RINGKASAN vii

KATA PENGANTAR i

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar belakang 1

1.2 Rumusan masalah 4

1.3 Tujuan penelitian 4

1.4 Manfaat penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5

2.1 Bahan organik 5

2.1.1 Pengertian bahan organik 5

2.1.2 Sumber bahan organik 5

2.2 Pengaruh bahan organik terhadap organisme & lingkungan .. 7

2.3 Mekanisme perombakan bahan organik oleh bakteri 9

2.3.1 Mekanisme pelarutan senyawa Karbohidrat 9

2.3.2 Mekanisme pelarutan senyawa Protein 10

2.3.3 Mekanisme pelarutan senyawa Lemak 13

2.4 Bioremediasi 13

2.4.1 Pemanfaatan bakteri untuk bioremediasi 14

2.4.2 Mekanisme remidiasi senyawa organik oleh bakteri 15

2.4.3 Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi

proses bioremediasi 17

2.5 Pengenalan bakteri *Bacillus subtilis* 19

2.6 Parameter kualitas air 21

2.6.1 Bahan organik total (*Total Organic Matter/ TOM*) 21

2.6.2 Suhu 22

2.6.3 Oksigen terlarut 23

2.6.4 Derajat keasaman (pH) 25

BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN.....	26
3.1 Landasan teori	26
3.2 Kerangka konsep penelitian	29
3.3 Hipotesis penelitian	31
3.4 Kerangka operasional penelitian	31
3.5 Strategi publikasi	33
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	34
4.1 Waktu dan lokasi penelitian	34
4.2 Bahan dan alat	34
4.3 Metode penelitian	35
4.4 Desain penelitian	35
4.5 Metode pengambilan sampel	38
4.6 Prosedur penelitian	39
4.6.1 Kultur dan penghitungan bakteri	39
4.6.2 Uji efektivitas bakteri sebagai bioremediasi	42
4.7 Kualitas air limbah	43
4.7.1 Total bahan organik/ <i>Total organic matter</i> (TOM)	43
4.7.2 Pengukuran oksigen terlarut	45
4.7.3 Pengukuran suhu	46
4.7.4 Pengukuran pH	46
4.8 Analisis data	47
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	50
5.1 Gambaran umum lokasi penelitian	50
5.2 Pertumbuhan bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	51
5.3 Senyawa organik pada air limbah budidaya ikan lele	53
5.4 Bioremediasi Protein, Karbohidrat dan Lemak oleh <i>Bacillus subtilis</i>	55
5.4.1 Analisis kadar protein	56
5.4.2 Analisis kadar karbohidrat	60
5.4.3 Analisis kadar lemak	63
5.5 Bioremediasi TOM oleh <i>Bacillus subtilis</i>	66
5.6 Parameter kualitas air	71
5.6.1 Oksigen terlarut (<i>Dissolved Oxygen</i>)	71
5.6.2 Suhu Air	73
5.6.3 pH Air	73





BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 76

6.1 Kesimpulan 76

6.2 Saran 76

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1.	Karakteristik morfologi dan biokimia <i>B. subtilis</i>	20
2.	Hasil penelitian terkait.....	27
3.	Strategi publikasi.....	33
4.	Karakteristik awal limbah budidaya ikan lele.....	54
5.	Nilai rata-rata oksigen terlarut selama penelitian.....	99
6.	Nilai rata-rata suhu selama penelitian.....	99
7.	Nilai rata-rata pH selama penelitian.....	99



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1.	Struktur senyawa protein	12
2.	Kerangka konsep penelitian	30
3.	Kerangka operasional penelitian	32
4.	Denah penelitian	43
5.	Proses isolasi, uji remediasi, identifikasi dan perbanyakkan bakteri.....	49
6.	Kolam induk lele sangkuriang (<i>Clarias gariepinus</i>).....	51
7.	Kurva pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i>	52
8.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi protein pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	57
9.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi karbohidrat pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	61
10.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi lemak pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	64
11.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi TOM pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	68
12.	Konsentrasi penurunan TOM dengan dosis terbaik.....	71
13.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai oksigen terlarut pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	72
14.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai suhu pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	73
15.	Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai pH pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1.	Cara kerja analisis proksimat limbah organik budidaya ikan lele	86
2.	Analisis protein dalam penelitian	88
3.	Analisis karbohidrat dalam penelitian	90
4.	Analisis lemak dalam penelitian	93
5.	Analisis TOM dalam penelitian	96
6.	Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian	99



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kegiatan budidaya perikanan sistem intensif meliputi penerapan kepadatan yang tinggi, penggunaan jumlah pakan yang tinggi, penambahan aerasi, serta penggantian air secara berkala dalam jumlah besar. Sistem budidaya seperti ini akan menghasilkan total beban limbah pakan yang lebih banyak daripada yang terretensi menjadi daging ikan. Tingginya input pakan pada budidaya secara intensif juga mengakibatkan semakin tinggi akumulasi limbah N dalam kolam budidaya (Avnimelech, 1999). Intensifikasi budidaya ikan lele mengakibatkan penggunaan pakan buatan kaya protein yang semakin banyak agar pertumbuhan ikan semakin besar. Limbah yang dihasilkan oleh sistem budidaya tersebut juga akan semakin tinggi (Gunadi, 2012). Limbah budidaya secara intensif berasal dari akumulasi residu organik yang berasal dari pakan yang tidak termakan, ekskresi amoniak, feses, dan partikel-partikel pakan (Avnimelech *et al.*, 1995).

Menurut Moccia *et al.*, (2007), limbah budidaya ikan memiliki kadar bahan organik sekitar 33,7 – 46,8 %. Sedangkan menurut Arfiati *et al.*, (2018), terdapat peningkatan total bahan organik sebesar 318,88% dari inlet ke outlet di kolam budidaya ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) di UPT PTPBP2KP Kepanjen. Limbah organik meliputi limbah yang mengandung karbohidrat, protein, minyak dan lemak, hidrokarbon dan fenol (Welasih, 2008). Pada prinsipnya proses penguraian bahan organik berlangsung lama dan terjadi secara aerob dan anaerob. Reaksi secara aerob menghasilkan karbondioksida,

air dan ammonia. Sedangkan proses perombakan bahan organik yang berlangsung secara anaerob akan menghasilkan gas metan. Limbah organik tersebut umumnya berupa limbah yang dapat membusuk atau terdegradasi oleh mikroorganisme (Harmayani, 2007).

Mikroorganisme dimanfaatkan dalam pengolahan limbah secara biologi untuk menguraikan substrat organik menjadi bentuk yang lebih sederhana (Muljadi, 2005). Penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada bahan organik (polutan) tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut dikenal sebagai Bioremediasi. Pada saat proses bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme tersebut akan memodifikasi struktur bahan organik beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya. Bioremediasi dengan memanfaatkan bakteri bukan hal baru namun telah memainkan peran sentral dalam pengolahan limbah konvensional sejak tahun 1900-an (Mara *et al.*, 2003).

Cara kerja bakteri dalam menguraikan limbah organik adalah dengan memotong ikatan senyawa organik menjadi lebih sederhana sehingga mudah diuraikan oleh golongan bakteri sejenis yang strainnya berdekatan (Astuti *et al.*, 2013). Selain dapat menguraikan senyawa organik, bakteri *Bacillus* sp. juga menghasilkan produk sampingan berupa karbondioksida, metana, hidrogen dan air, serta energi sebagai penunjang aktivitas metabolisme (Sumarsih, 2008). Keuntungan menggunakan *Bacillus subtilis* adalah karena dapat bertahan pada suhu -5°C sampai 75°C, dengan pH antara 2-8. Pada kondisi yang sesuai, populasinya akan menjadi dua kali banyaknya selama waktu tertentu (Hatmanti, 2000). *Bacillus* sp. juga mempunyai sifat: (1) mampu bertahan terhadap pasteurisasi, (2) mampu tumbuh pada konsentrasi garam tinggi (>10%), (3)

mampu menghasilkan spora dan (4) mempunyai daya proteolitik yang tinggi dibandingkan mikroba lainnya. Karakteristik *Bacillus* sp. adalah selulolitik, proteolitik, lipolitik, dan amilolitik (Sutiamiharjo, 2008).

Menurut Zhao *et al.*, (2009) bakteri *Bacillus cereus* dapat menurunkan bahan organik pada air limbah reklamasi yang dapat menurunkan kadar BOD 20.000 mg/L menjadi <20 mg/L dalam 12 hari pada kondisi aerobik dengan kepadatan optimum dan diinkubasi selama 60 jam pada suhu 28°C. Sedangkan kadar COD menurun dari 127 mg/L menjadi 36 mg/L. Berdasarkan hasil uraian tersebut diatas, maka penulis akan melakukan penelitian dengan memanfaatkan bakteri *Bacillus subtilis* untuk mengurangi total bahan organik di kolam ikan lele.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang di atas terdapat beberapa masalah, yaitu:

1. Apakah bakteri *Bacillus subtilis* mampu menurunkan kadar protein, karbohidrat, dan lemak dari air limbah budidaya ikan lele (secara *in vitro*)?
2. Apakah bakteri *Bacillus subtilis* dapat menurunkan kadar total bahan organik pada air limbah budidaya ikan lele (secara *in vivo*) ?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan yang dicapai pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menganalisis efektivitas pemanfaatan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai agen bioremediasi dalam menurunkan kadar protein, karbohidrat, dan lemak dari air limbah budidaya ikan lele (secara *in vitro*).
2. Untuk menganalisis efektivitas pemanfaatan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai agen bioremediasi dalam menurunkan kadar total bahan organik dari kolam budidaya ikan lele (secara *in vivo*).

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melalui pemanfaatan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai agen bioremediasi, ternyata dapat menurunkan kadar protein, karbohidrat, dan lemak dari air limbah budidaya ikan lele (secara *in vitro*).
2. Melalui pemanfaatan bakteri *Bacillus subtilis* sebagai agen bioremediasi, ternyata efektif dalam menurunkan kadar total bahan organik dari kolam budidaya ikan lele (secara *in vivo*).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bahan organik

2.1.1 Pengertian bahan organik

Menurut Gunawan (2000), bahan organik merupakan bahan yang dapat didaur ulang atau diperbaiki lagi dengan perombakan oleh bakteri di perairan menjadi unsur-unsur yang dapat dimanfaatkan kembali. Ada beberapa karakteristik bahan organik menurut Sawyer dan McCarty (1978) diantaranya adalah mudah terbakar, memiliki titik beku dan titik didih yang rendah, lebih sukar larut dalam air. Reaksi bahan organik dengan unsur lain akan berlangsung lambat karena reaksinya terjadi dalam bentuk molekul bukan terjadi dalam bentuk ion (Achmad, 2004).

Buangan bahan organik berupa limbah yang dapat membusuk atau terdegradasi oleh mikroorganisme (Gunawan, 2000). Bahan organik merupakan faktor penting dalam proses dekomposisi di dalam perairan. Di alam bahan organik banyak terdapat dalam bentuk karbohidrat, protein dan lemak yang membentuk organisme hidup. Bahan organik juga berasal dari sisa-sisa organisme baik dalam ukuran besar, kecil dan terlarut (Achmad, 2004). Sumber bahan organik bisa berasal dari perairan itu sendiri (*autochthonous*) maupun disuplai dari ekosistem lain (*allochthonous*).

2.1.2 Sumber bahan organik

Berdasarkan sumbernya bahan organik dibedakan menjadi tiga: 1) Bahan organik yang berasal dari limbah domestik yang terdiri dari lemak/minyak, karbohidrat dan protein; 2) Bahan organik yang berasal dari limbah industri terdiri

dari fenol, lemak, minyak, karbohidrat dan protein; 3) Bahan organik yang berasal dari limbah pertanian seperti pestisida (MetCalf dan Eddy, 1979). Hasil penelitian Flint (1992) menyatakan bahwa komposisi limbah domestik adalah: lemak (33%), protein (25%), selulosa (8%), pati (8%), lignin (6%) dan abu (20%) dengan nilai BOD berkisar antara 275 – 3000 ppm. Semua bahan organik mengandung unsur karbon (C) yang berkombinasi dengan satu atau lebih elemen lainnya (Effendi, 2003). Sumber utama karbon diperairan adalah aktivitas fotosintesis dan fiksasi karbon oleh bakteri.

Bahan organik pada kolam budidaya juga berasal dari sisa pakan dan feses yang dihasilkan oleh ikan. Pakan yang kaya nutrisi terutama protein dapat menyumbangkan bahan organik pada kolam budidaya (Darmawan, 2010). Diperkirakan 80% P dalam limbah dari kegiatan budidaya ikan berbentuk padatan sebagai kotoran ikan atau pakan yang tidak dikonsumsi (Laurel, 2010). Limbah budidaya ikan dalam bentuk padatan tersuspensi diasumsikan sebanyak 36% dari jumlah pakan yang diberikan setiap harinya. Jumlah pakan yang tidak dikonsumsi atau terbuang di dasar perairan oleh ikan sekitar 20–30% (Setyowibowo, 2012). Limbah dari pakan dan feses ikan akan terakumulasi dan menurunkan kualitas perairan.

Pemberian pakan yang dilakukan secara *ad libitum* menyebabkan banyak pakan yang terbuang dan terakumulasi di dasar perairan. Akumulasi sisa pakan pada dasar wadah budidaya menyebabkan terjadinya dekomposisi nitrogen (Irianto, 2015). Kandungan protein dalam sisa pakan yang tidak termakan dan ekskresi ikan pada akhirnya akan diuraikan oleh jasad-jasad pengurai yang memerlukan oksigen. Protein merupakan senyawa organik yang akan terurai dalam perairan menjadi dua bentuk yaitu dalam bentuk NH_4^+ (Ammonium) dan NH_3 (Amonia) (Connel and Miller, 1995). Amonia merupakan senyawa yang

berbahaya dan tidak diperbolehkan ada dalam suatu perairan karena akan menurunkan kadar oksigen terlarut (DO) dan menyebabkan penyempitan pembuluh darah pada insang. Minimal konsentrasi Amonia yang diperbolehkan dalam usaha budidaya < 0,1 ppm (Boyd, 1988).

Penguraian bahan organik dapat berjalan dalam kondisi anaerobik, namun proses anaerobik ini menghasilkan berbagai gas beracun yang dapat mencemari perairan. Dijelaskan oleh Effendi (2003) bahwa denitrifikasi oleh mikroba pada kondisi anaerob dapat menghasilkan gas Amonia dan gas – gas lainnya. Disamping hal tersebut, sisa pakan dan buangan padat ikan akan terurai melalui proses dekomposisi membentuk senyawa organik dan anorganik, beberapa diantaranya senyawa nitrogen dan fosfor (Makmur *et al.*, 2012).

Senyawa-senyawa nitrogen dan fosfor diperlukan oleh fitoplankton dan tumbuhan air lainnya. Fitoplankton di perairan merupakan produsen primer yang mempengaruhi kelimpahan organisme. Sisa-sisa pakan dan kotoran ikan berperan sebagai pupuk yang dapat menyuburkan perairan. Apabila dalam keadaan hipertropik berakibat pertumbuhan yang tidak terkendali (*blooming*) plankton jenis tertentu (Yusuf, 2008).

2.2 Pengaruh bahan organik terhadap organisme dan lingkungan

Pencemaran air dapat ditunjukkan oleh perubahan sifat fisik, kimia, dan biologi perairan. Parameter fisik, antara lain: suhu, warna, bau, kedalaman, kecerahan, kekeruhan, dan padatan tersuspensi total (Effendi, 2003). Parameter kimiawi seperti: salinitas, pH oksigen terlarut, BOD, COD, nitrat, nitrit, amonia, ortofosfat dan karbondioksida serta parameter biologi meliputi: *fecal coliform* dan hewan makrobentos (Irianto, 2015).

Nitrogen berperan kuat dalam reaksi biologi pada perairan, dengan melihat kandungan nutrisi seperti nitrogen, fosfat dan bahan organik yang

terdapat dalam perairan maka dapat dilihat tingkat kesuburan perairan tersebut (Meagler, 2000). Bahan organik pada perairan dapat memicu perkembangan bakteri patogen, dimana buangan bahan organik di perairan dapat meningkatkan populasi mikroorganisme di dalam air sehingga memungkinkan bakteri patogen untuk berkembang (Palar, 1994). Bahan organik dapat menimbulkan terjadinya eutrofikasi yaitu proses bertumbuh kembangnya organisme perairan karena kesuburan yang meningkat dan biasanya membawa dampak negatif terhadap biota perairan (Sunarto, 2008).

Pengaruh negatif dari eutrofikasi ini adalah terjadinya perubahan keseimbangan kehidupan antara tanaman air dengan hewan air. Eutrofikasi menjadi salah satu penyebab kasus kerusakan kualitas air di perairan (Widyastuti, 2015). Eutrofikasi mengakibatkan ketidakseimbangan perairan sehingga beberapa spesies ikan akan musnah dan tanaman air akan dapat menghambat laju arus air (Simbolon, 2016). Jenis alga, terutama ganggang hijau, sangat subur bila mendapatkan pupuk nitrat ini (Widyastuti *et al.*, 2013). Pencemaran organik ke perairan mengakibatkan ketidakseimbangan organisme dan pada kondisi tidak diinginkan bisa memicu terjadinya ledakan populasi plankton yang membahayakan bagi organisme perairan (Kaff, 2012). Bakteri pembusukan menguraikan organisme yang mati, baik tanaman maupun hewan yang terdapat di dasar air (Erari *et al.*, 2012).

Proses pembusukan tersebut banyak menggunakan oksigen terlarut dalam air, sehingga kadar oksigen akan menurun secara drastis, dan pada akhirnya kehidupan biologis di daerah tersebut berkurang (Febrianto, 2016).

Proses pembusukan bahan organik oleh mikroba secara anaerob akan menghasilkan Amonia dalam perairan. Limbah organik akan mengalami degradasi dan dekomposisi oleh bakteri aerob (menggunakan oksigen dalam

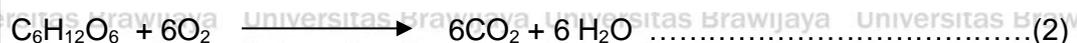
air), sehingga lama-kelamaan oksigen yang terlarut dalam air akan sangat berkurang (Simbolon, 2016). Dalam kondisi berkurangnya oksigen tersebut hanya spesies organisme tertentu saja yang dapat hidup.

2.3. Mekanisme perombakan bahan organik oleh bakteri

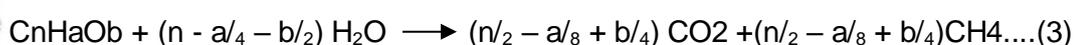
2.3.1 Mekanisme pelarutan senyawa Karbohidrat

Pencemaran perairan salah satunya berasal dari limbah domestik, dimana limbah ini menghasilkan senyawa organik berupa protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Menurut Effendi (2003) Bahan organik dilingkungan perairan dapat terjadi dalam bentuk padatan terlarut maupun tersuspensi. Materi padatan tersebut mengandung karbohidrat (CHO), protein (CHONS) dan lemak (CHO). Menurut Suwarso *et al.*, (1997) bahan organik tersebut akan mengalami proses *enzimatis* oleh mikroorganisme dan pecah menjadi senyawa-senyawa sederhana.

Bahan organik karbohidrat akan didegradasi melalui tahap tahap reaksi glikolisis menjadi glukosa atau maltose dan dihasilkan asam piruvat melalui siklus Krebs. Pada kondisi *anaerob* sebagian hasil pemecahan karbohidrat dapat membentuk senyawa alkohol (R-COH) serta hasil akhir berupa gas metana (CH₄), CO₂ dan H₂O (Suwarso *et al.*, 1997). Pada prinsipnya proses oksidasi bahan organik berlangsung lama. Proses oksidasi dapat berlangsung secara aerob dan anaerob. Dijelaskan oleh Effendi (2003) bahwa reaksi kimia perombakan bahan organik terlihat pada reaksi berikut ini:



Pada reaksi (1) menunjukkan hubungan kuantitatif antara jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik menjadi karbondioksida, air dan Amonia. Sedangkan reaksi (2) menunjukkan oksidasi glukosa menjadi karbondioksida dan air. Kedua reaksi tersebut berlangsung secara aerob. Sedangkan proses perombakan bahan organik yang berlangsung secara anaerob akan menghasilkan gas metan, reaksi oksidasi tersebut digambarkan dalam reaksi kimia (3).



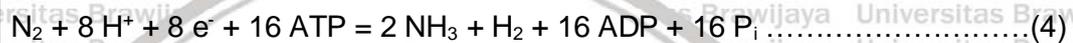
2.3.2 Mekanisme pelarutan senyawa Protein

Menurut Suriadikarta dan Simanungkalit (2006), limbah yang kaya protein jika terdekomposisi oleh bakteri dekomposer akan menghasilkan nitrat, nitrit dan amonia. Ketiga hasil dekomposisi ini dapat mengakibatkan permasalahan lingkungan dan kesehatan. Nitrit jika bereaksi dengan senyawa amina akan menjadi senyawa nitrosamin yang merupakan senyawa karsinogenik pada lambung ikan. Untuk mengatasi hal tersebut harus ditambahkan bakteri dinitrifikan yang telah direkayasa seperti *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus lichemiformis*, *Pseudomonas denitrifikasi*, *Pseudomonas stuzeri*, *Micrococcus denitrificans* dan *Thiobacillus denitrificans*. Bakteri mengubah nitrat menjadi nitrogen bebas yang tidak berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan makhluk hidup.

Penambatan nitrogen dapat terjadi karena proses biologis oleh fungi, cyanobakteri, dan bakteri lainnya. Dalam reaksi penambat nitrogen akan membutuhkan enzim bakteri, nitrogenase dan Adenosine Tri Fosfat (ATP). Penambahan sisa-sisa tanaman (biomassa) sebagai sumber C ke dalam tanah memacu perkembangan populasi bakteri penambat N. Ini menjelaskan mengapa

jumlah nitrogen yang ditambat oleh bakteri bervariasi di setiap tempat tergantung pada ketersediaan energi dan kemampuan bakteri penambat N bersaing dengan mikroba lain yang hidup dan perkembangbiakannya juga bergantung kepada sumber energi yang sama (Suriadikarta dan Simanungkalit, 2006).

Mekanisme penambatan nitrogen secara biologis dapat digambarkan melalui persamaan di bawah ini. Dua molekul ammonia dihasilkan dari satu molekul gas nitrogen dengan menggunakan 16 molekul ATP dan pasokan elektron dan proton.

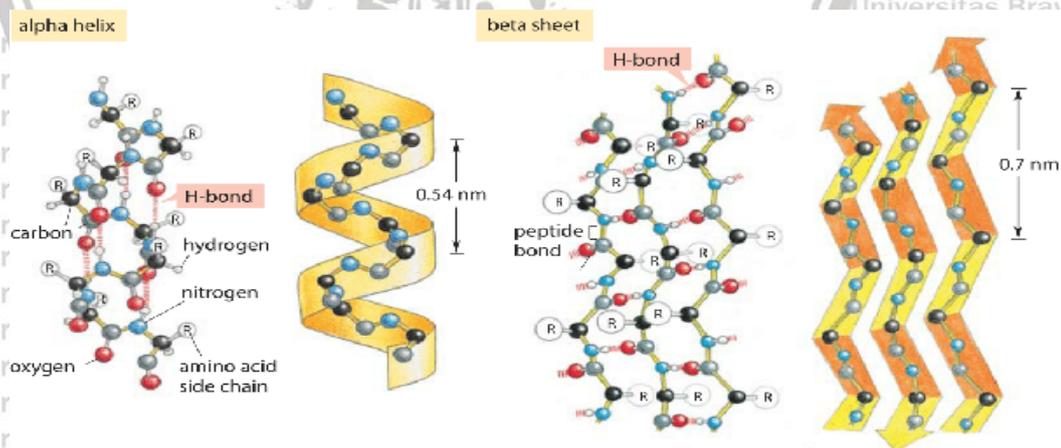


Reaksi ini hanya dilakukan oleh bakteri prokariot, menggunakan suatu kompleks enzim nitrogenase. Enzim ini mengandung dua molekul protein yaitu satu molekul protein besi dan satu molekul protein molibden besi. Reaksi ini berlangsung ketika molekul N_2 terikat pada kompleks enzim nitrogenase. Protein Fe mula-mula direduksi oleh elektron yang diberikan oleh ferredoksin. Kemudian protein Fe reduksi mengikat ATP dan mereduksi protein molibden besi, yang memberikan elektron kepada N_2 , sehingga menghasilkan $\text{NH}=\text{NH}$. Pada dua daur berikutnya proses ini (masing-masing membutuhkan elektron yang disumbangkan oleh ferredoksin) $\text{NH}=\text{NH}$ direduksi menjadi $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$, dan selanjutnya direduksi menjadi NH_3 . Tergantung pada jenis mikroba, ferredoksin reduksi yang memasok elektron untuk proses ini diperoleh melalui fotosintesis, respirasi atau fermentasi (Suriadikarta dan Simanungkalit, 2006).

Protein akan mengalami perombakan melalui hidrolisis menjadi senyawa proteosa dan kemudian pepton. Senyawa pepton kemudian dipecah menjadi polipeptida (- C - N - H), selanjutnya menjadi asam - asam amino (R-C-NH₂) dan terakhir menjadi ammonia (NH_4^+), CO_2 dan H_2O . Ammonia yang dihasilkan

ini dalam keadaan *aerob* yang kemudian mengalami oksidasi menjadi nitrit (NO_2) dan akhirnya menjadi nitrat (NO_3^-). Fitoplankton hanya dapat menyerap senyawa N dalam bentuk (NO_3^-). Bakteri penambat nitrogen (BPN) diketahui dapat menyediakan N agar dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Astuti *et al.*, 2013).

Cara kerja bakteri dalam menguraikan limbah organik adalah dengan cara memotong ikatan polisakarida maupun ikatan peptida menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga mudah diuraikan oleh golongan bakteri sejenis yang strainnya berdekatan. Bakteri bekerja dengan cara spesifik dalam memotong ikatan senyawa organik ini. Limbah pakan mengandung protein dengan kandungan asam amino yang kompleks, oleh karena itu diperlukan kompleksitas spesies bakteri yang beragam. Semakin banyak macam/jenis spesies bakteri yang digunakan maka semakin efektif kerja bakteri tersebut dalam penguraian limbah yang kompleks (Astuti *et al.*, 2013). Dari hasil analisis susunan limbah, protein dari pakan mengandung 20 macam asam amino seperti yang tercantum dalam struktur senyawa protein pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Struktur senyawa protein (Sumber: Patterson, 2017)

Protein mengandung 20 asam amino dengan berbagai macam jenis ikatan kimia (peptida, beta, gamma, alfa, kovalen, primer, sekunder, tertier dan lain-lain) yang harus dipecahkan oleh bakteri pengurai. Oleh karena itu

penambahan tiga jenis bakteri saja kadang tidak cukup memberikan hasil yang diharapkan, karena untuk menguraikan ikatan kimia yang kompleks itu diperlukan kerja sinergis beberapa jenis bakteri (Astuti *et al.*, 2013).

2.3.3 Mekanisme pelarutan senyawa Lemak

Bacillus subtilis mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat digunakan untuk mendegradasi bahan organik seperti lemak (Safitri *et al.*, 2015).

Kandungan lemak pada media air pembenihan ikan lele dumbo mengalami penurunan dikarenakan pendegradasian lemak oleh bakteri lipolitik. Bakteri lipolitik merupakan bakteri penghasil lipase. Lipase merupakan enzim yang mampu mengkatalis reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol (Gupta *et al.*, 2003). Enzim lipase berfungsi mengkatalis trigliserida menjadi digliserida dan asam lemak. Proses penguraian lipase adalah sebagai berikut:



2.4 Bioremediasi

Menurut Megasari *et al.*, (2012) bioremediasi merupakan salah satu alternatif dalam mengendalikan kualitas air, dengan melakukan pendekatan secara biologis dan memanfaatkan aktivitas bakteri dalam merombak bahan organik yang berlebihan yang terkandung di dalam suatu perairan termasuk limbah. Proses pengolahan limbah dengan metode biologi adalah metode yang memanfaatkan mikroorganisme sebagai katalis untuk menguraikan material yang terkandung di dalam air limbah. Mikroorganisme sendiri selain menguraikan dan menghilangkan kandungan material, juga menjadikan material yang terurai tadi sebagai tempat berkembang biak.

Menurut Zhu *et al.*, (2001), Metode bioremediasi berdasarkan pemanfaatan mikroba terdiri atas bioaugmentasi dan biostimulasi. Bioaugmentasi merupakan metode yang dilakukan dengan menginokulasikan mikroba pendegradasi bahan organik ke daerah tercemar limbah dengan tujuan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada, sedangkan biostimulasi merupakan metode yang dilakukan dengan memodifikasi lingkungannya seperti mengubah habitat atau penambahan nutrisi untuk menstimulasi mikroba indigenos agar dapat mendegradasi senyawa pencemar. Proses pengolahan limbah secara biologi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam makhluk hidup, dapat berupa tanaman tingkat tinggi, plankton maupun bakteri. Namun pada penelitian ini menggunakan jasa mikroba, yaitu bakteri yang kemungkinan hidup dominan pada limbah cair industri gula. Dengan memanfaatkan mikroorganisme yang hidup pada limbah, dan juga akan melakukan remediasi secara otomatis terhadap bahan pencemar yang terkandung sebelum dilakukan pembuangan.

2.4.1 Pemanfaatan bakteri untuk bioremediasi

Menurut Badjoeri dan Widiyanto (2008), beberapa mikroorganisme khususnya bakteri sangat berperan dalam pengelolaan lingkungan, seperti hubungan simbiotik (baik positif maupun negatif) dengan organisme yang lain. Salah satu contohnya adalah sebagai pengurai, dengan kemampuannya mendaur ulang nutrisi dari sisa produk dari organisme lain. Mikroba ini memainkan peranan penting dalam siklus *biogeochemical*. Siklus nitrogen, siklus fosfor dan siklus karbon semuanya tergantung pada satu jalan atau yang lain. Contoh nitrogen menyusun 78% atmosfer planet adalah tidak dapat dicerna untuk banyak organisme, dan alur nitrogen ke dalam biosfer tergantung atas proses mikroba yang dikenai dengan fiksasi.

Beberapa jenis atau kelompok bakteri yang diketahui mampu melakukan proses perombakan (dekomposisi) senyawa-senyawa metabolit toksik, dan dapat dikembangkan sebagai bakteri agen bioremediasi untuk pengendalian kualitas air adalah jenis bakteri nitrifikasi, bakteri sulfur (pereduksi sulfid), dan bakteri pengoksidasi amonia, yang mana bakteri-bakteri tersebut dapat dikondisikan berdasarkan kebutuhan, dalam melakukan remediasi dan disesuaikan dengan karakteristik perairan atau limbah yang akan dilakukan remediasi. Penyesuaian tersebut dilakukan agar bakteri dapat lebih aktif dalam membantu proses perombakan, sehingga dapat mengeliminasi senyawa-senyawa toksik atau bahan organik yang berlebihan dalam suatu perairan (Badjoeri dan Widiyanto, 2008).

Megasari *et al.*, (2012) menyatakan bahwa keberagaman jenis bakteri dan mikroba tersebut disebabkan oleh perkembangan secara alami jenis mikroba dari air limbah, udara dan partikel-partikel lumpur. Bakteri dan mikroba tersebut akan teraklimatisasi terhadap cairan limbah tersebut dan memudahkan proses pengurangan bahan pencemar. Bakteri dapat digunakan sebagai organisme pembersih jenis polutan (limbah) yang dimungkinkan menghasilkan bahan yang lebih bernilai ekonomi. Penguraian limbah dilakukan secara bersama-sama oleh bakteri aerob dan anaerob. Bakteri pengurai (dekomposer) memerlukan oksigen, nitrogen dan fosfor untuk melakukan kegiatannya. Bahan ini diambil dari lingkungan dan bahan mentah yang mengandung unsur tersebut dalam berbagai bentuk persenyawaan seperti amonium, nitrat, dan fosfat (Budiyanto, 2004).

2.4.2 Mekanisme remediasi senyawa organik oleh bakteri

Menurut Karigar dan Rao (2011) proses bioremediasi merupakan proses yang sangat lambat, hanya oleh jenis bakteri yang tepat yang dapat meningkatkan kemampuannya sebagai pelaku degradasi polutan. Mikroba lain

diketahui dapat melakukan hal yang sama dan efektif sebagai agen bioremediasi namun hanya dapat berlangsung pada kondisi yang telah disesuaikan yaitu kondisi laboratorium.

Keterbatasan pertumbuhan bakteri tersebut sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, oksigen, struktur dari substrat, kelembaban, dan ketersediaan nutrisi yang sesuai, rendah akan dukungan pertumbuhan organisme dari polutan, dan keberadaan dari senyawa toksik lainnya. Meskipun mikroorganisme diketahui mampu bertahan hidup pada kondisi yang ekstrim sekalipun, namun kebanyakan dari mereka lebih menyukai kondisi yang memang optimal untuk mereka hidup, dan hal ini sangat sulit didapatkan dilapangan, terkecuali pada kondisi laboratorium yang telah disesuaikan. Penggunaan bakteri cukup efektif dalam melakukan degradasi mengingat bakteri menghasilkan enzim yang membantu dalam proses remediasi. Karigar dan Rao (2011), membagi enzim yang dihasilkan oleh bakteri ke dalam enam macam enzim yaitu Oxidoreductases, Transferases, Hydrolases, Lyases, Isomerases dan Lygases.

Menurut Husin (2008) proses pengolahan limbah oleh bakteri dapat berlangsung dengan dua kategori yaitu aerob maupun anaerob. Dalam penelitian ini akan digunakan cara yang pertama yaitu remediasi limbah dengan cara aerob.

Pengolahan limbah cair dengan proses aerob pada dasarnya sama dengan proses anaerob yang mana sama-sama menggunakan jasa mikroorganisme atau memanfaatkan aktifitas metabolisme sel dari mikroba untuk menurunkan bahkan menghilangkan substrat tertentu terutama senyawa-senyawa organik yang ada dalam limbah buangan. Dan tentunya senyawa yang dapat diolah tersebut adalah senyawa yang bersifat *biodegradable* (dapat diurai).

Proses metabolisme sel dapat dibagi menjadi dua proses yaitu proses katabolisme dan anabolisme. Katabolisme merupakan semua proses biokimia

yang terlibat dalam degradasi atau oksidasi substrat menjadi produk akhir yang disertai dengan pelepasan energi. Energi yang dilepas dalam proses oksidasi tersebut ditransfer ke *energy carrier* yang kemudian menyimpannya, dan selanjutnya akan digunakan oleh bakteri tersebut untuk pergerakan sel, perbaikan sel, serta kebutuhan energi proses lainnya (Metcalf and Eddy, 2003).

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

2.4.3 Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi proses bioremediasi

Proses remediasi secara anaerob bahan organik menjadi gas metan dan CO₂ di dalam limbah cair, selain ditentukan oleh jenis mikroba yang hidup atau yang ditumbuhkan, juga bergantung pada faktor-faktor eksternal yang mempengaruhi proses internal metabolisme mikroorganisme dalam mendegradasi limbah. Dalam Husin (2008) dijelaskan faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi, antara lain:

1. pH

Pada proses remediasi secara aerobik terhadap senyawa organik dapat menghasilkan amoniak dan karbondioksida yang secara langsung dapat meningkatkan nilai derajat keasaman. Bahan-bahan organik tersebut akan mengalami penguraian menjadi gas CO₂ dan NH₄ dengan penambahan oksigen, perubahan tersebut terjadi jika keasaman bergerak ke arah basa, sehingga reaksi tersebut dapat mengurangi kadar

bahan organik di dalam limbah (Fardiaz, 1992). Pada penelitian ini dilakukan secara aerobik dengan pH yang diharapkan baik pada hasil uji remediasi.

2. Senyawa Inhibitor

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

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

3. Suhu

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

4. Bahan Nutrisi

Sukma (2010) menjelaskan bahwa di dalam limbah cair terdapat zat-zat pencemar yang jika dialirkan ke badan air penerima limbah, dengan

konsentrasi tertentu akan mengganggu dan mengubah kualitas perairan penerima limbah. Kualitas air merupakan gambaran atas konsentrasi senyawa yang terkandung di dalam perairan, baik berupa makhluk hidup, energi, zat-zat atau pun komponen lainnya. Limbah cair mengandung bahan organik yang merupakan sumber nutrisi bagi mikroorganisme di dalamnya, bahan nutri tersebut dapat berupa protein, karbohidrat, minyak dan lemak, TOM, COD, BOD, deterjen maupun fenol.

2.5 Pengenalan bakteri *Bacillus subtilis*

Menurut Hatmanti (2000), *Bacillus* sp. pertama kali dideskripsikan oleh Cohn pada tahun 1872 pada *B. subtilis* yang semula disebut *Vibrio subtilis* oleh Ehrenberg pada tahun 1835. Spora tersebut mempunyai resistensi yang lebih dibandingkan sel vegetatifnya, keberadaan endospora yang berbentuk elips merupakan suatu keuntungan untuk penerapan industri dan penggunaan bioteknologi. Bakteri *B. subtilis* dapat bertahan pada kondisi lingkungan tertentu, yaitu pada suhu -5°C sampai 75°C , dengan tingkat keasaman (pH) antara 2-8. Pada kondisi yang sesuai dan mendukung, populasinya akan menjadi dua kali banyaknya selama waktu tertentu. Waktu ini dikenal dengan waktu generasi atau waktu penggandaan, yang untuk *B. subtilis* adalah 28,5 menit pada suhu 40°C (Hatmanti, 2000).

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif yang dapat membentuk endospora yang berbentuk oval di bagian sentral sel. Hasil uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri gram positif karena menghasilkan warna ungu saat ditetesi dengan larutan KOH. Warna ungu yang muncul pada pewarnaan gram tersebut dikarenakan dinding sel *Bacillus subtilis* mampu mempertahankan zat warna Kristal violet (Aini *et al.*, 2013). Sel *Bacillus* spp. berbentuk batang, berukuran $0,3-2,2 \times 1,2-7,0 \mu\text{m}$ dan mempunyai flagel

peritrikus, memproduksi spora bentuk silinder yang tidak membengkak, bersifat aerob atau anaerob fakultatif serta heterotrof, katalase positif, sel gerak yang membentuk endospora elips lebih tahan daripada sel vegetatif terhadap panas, kering dan faktor lingkungan lain yang merusak. *B. subtilis* termasuk kelompok bakteri dengan fisiologi yang berbeda dari bakteri non-patogen, yang relatif mudah dimanipulasi secara genetika dan sederhana dibiakkan, yang memperkuat kesesuaiannya untuk kepentingan industri.

Tabel 1. Karakteristik morfologi dan biokimia *B. subtilis*

No	Pengujian	Reaksi
1	Sifat Gram	+
2	Flagela	+
3	Katalase	+
4	Endospora (sentral)	+
5	Pembengkakan sel berspora	-
6	Tumbuh pada suhu 45°C	+
7	Tumbuh pada pH 5,70	+
8	Tumbuh pada kandungan NaCl 1%	+
9	Penggunaan sitrat	+
10	Hidup dalam medium glukosa pada kondisi tanpa oksigen	-
11	Produksi asam dari karbon: arabinosa, manitol dan xylosa	+
12	Produksi indol	-
13	VP test	+
14	Hidrolisis pati	+
15	Hidrolisis gelatin	+

Sumber: Leary dan Chun (1988) dalam Aini *et al.*, (2013)

Bacillus spp. mempunyai sifat yang lebih menguntungkan daripada mikroorganisme lain karena dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya (Wong, 1994). *Bacillus* spp merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, dapat tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob. Sporangia tahan terhadap panas (suhu tinggi), mampu mendegradasi xylandan karbohidrat (Cowan dan Stell's, 1973).

Selain dapat tumbuh pada suhu ekstrim, *Bacillus* spp juga mempunyai sifat:

(1) mampu bertahan terhadap pasteurisasi, (2) mampu tumbuh pada konsentrasi

garam tinggi (>10%), (3) mampu menghasilkan spora dan (4) mempunyai daya proteolitik yang tinggi dibandingkan mikroba lainnya. Bacillus adalah salah satu genus bakteri yang berbentuk batang dan merupakan anggota dari divisi Firmicutes. Bacillus merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase.

Berdasarkan sifat pertumbuhannya, *B. subtilis* bersifat mesofilik. Bakteri *B. subtilis* menghasilkan enzim protease, amilase, lipase, serta kitinase sebagai enzim pengurai dinding sel patogen (Hatmanti, 2000). Bakteri *B. subtilis* juga efektif dalam melarutkan fosfat. Fosfat dapat menjadi tersedia untuk perakaran melalui sekresi asam organik mikroorganisme. Pada pH netral dan basa yang memiliki kandungan kalsium yang tinggi, terjadi pengendapan kalsium fosfat, sehingga mikroorganisme mampu melarutkan fosfat dan mengubahnya menjadi tersedia dan mudah diserap bagi tanaman (Avivi *et al.*, 2010). Bacillus juga merupakan golongan bakteri pengurai bahan organik (heterotrof) dan penghasil senyawa antimikroba serta hasil metabolisme yang membantu proses penguraian limbah.

Bacillus spp. secara alami terdapat dimana-mana dan termasuk spesies yang hidup bebas. Beberapa spesies Bacillus menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, amylase dan selulosa yang dapat membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Jenis *Bacillus cereus*, *B. clausii* dan *B. pumilus* termasuk dalam lima produk probiotik komersil terdiri dari spora bakteri yang telah dikarakterisasi dan berpotensi untuk kolonisasi, immunostimulasi dan aktivitas antimikroba (Duc *et al.*, 2004).

2.6 Parameter kualitas air

2.6.1 Total bahan organik (*Total organic matter*/ TOM)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), total bahan organik atau *Total Organic Matter* (TOM) menggambarkan kandungan total bahan organik suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi (partikulat) dan koloid.

Menurut Sudaryanti (1991), sumber bahan organik dapat berasal dari dalam perairan itu sendiri (*autochthonous*) atau berasal dari luar perairan (*allochthonous*).

Bahan organik yang terlarut dan tersuspensi penting untuk makanan organisme heterotrofik. Menurut Hynes (2001), kadar organik total pada sungai-sungai alami hanya berkisar antara 1 - 10 mg/L.

Bahan organik di perairan terdapat sebagai plankton, partikel-partikel tersuspensi dari bahan organik yang mengalami perombakan (detritus) dan total bahan organik yang berasal dari daratan dan terbawa oleh aliran sungai. Kandungan total bahan organik air di tambak Kabupaten Probolinggo berkisar 21,34 - 61,31 mg/L dengan rata-rata 42,14 mg/L. Bahan organik total dalam air laut biasanya rendah dan tidak melebihi 3 mg/L. Perairan dengan kandungan bahan organik total diatas 26 mg/L adalah golongan perairan yang subur.

2.6.2 Suhu

Suhu air merupakan faktor yang mempengaruhi laju metabolisme, nafsu makan, pertumbuhan organisme yang hidup di perairan dan kelarutan oksigen dalam perairan tersebut. Hal ini sesuai dengan literatur menurut Kordi dan Tancung (2007), suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, oleh karena itu penyebaran organisme baik di lautan maupun di perairan air tawar dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu.

Suhu dapat menekan kehidupan hewan budidaya bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan drastis. Suhu air dipengaruhi oleh musim, lintang, ketinggian dari permukaan laut, waktu harian, sirkulasi udara, penutupan awan, dan aliran serta kedalaman badan air (Effendi, 2003). Suhu dalam perairan akan berpengaruh terhadap kelangsungan hidup organisme seperti laju metabolisme, aktivitas patogen, sistem imunitas, daya larut senyawa kimia, serta kelarutan oksigen dan karbondioksida. Suhu perairan juga dipengaruhi oleh intensitas cahaya yang masuk kedalam air.

Menurut Effendi (2003), peningkatan suhu perairan sebesar 10°C menyebabkan terjadinya peningkatan konsumsi oksigen oleh organisme akuatik sekitar 2 -3 kali lipat. Namun, peningkatan suhu ini disertai dengan penurunan kadar oksigen terlarut sehingga keberadaan oksigen seringkali tidak mampu memenuhi kebutuhan oksigen bagi organisme akuatik untuk melakukan proses metabolisme dan respirasi. Peningkatan suhu juga menyebabkan terjadinya peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba. Suhu memiliki peran yang penting dalam kegiatan budidaya.

2.6.3 Oksigen terlarut

Konsentrasi oksigen terlarut (DO) menyatakan besarnya kandungan oksigen yang terlarut dalam suatu perairan. Konsentrasinya dipengaruhi oleh suhu, salinitas, turbulensi air dan tekanan atmosfer. Konsentrasinya juga berfluktuasi secara harian dan musiman tergantung pada pencampuran dan pergerakan massa air, aktivitas fotosintesis, respirasi, dan limbah yang masuk perairan (Effendi, 2003). Tingkat kelarutan oksigen yang ada di dalam lingkungan perairan merupakan faktor yang sangat penting dalam kualitas air. Oksigen terlarut dalam air bersumber dari difusi oksigen atmosfer dan hasil fotosintesis tumbuhan dalam air (Salmin, 2005).

Sedangkan pengurangan oksigen terlarut disebabkan karena digunakan untuk respirasi hewan dan tumbuhan, digunakan untuk perombakan bahan-bahan organik secara biologis oleh *mikroorganisme*, digunakan untuk reaksi kimia anorganik, serta hilang atau terlepaskan ke atmosfer (Effendi, 2003). Oksigen yang terlarut dalam air laut terdiri dari 2 bentuk senyawa, yaitu yang terikat dengan unsur lain (NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3+} , H_2O , CO_2 , CO_3^{2-} dan lain-lain) dan sebagai molekul bebas (O_2). Molekul oksigen (O_2) yang terdapat dalam air laut terlarut secara fisika, sehingga kelarutannya sangat dipengaruhi oleh suhu air. Kadar oksigen terlarut dalam air bervariasi yang dipengaruhi oleh suhu perairan, ketinggian tempat dan tingkat turbulensi air. Semakin tinggi suhu perairan maka daya larut oksigen semakin rendah (Effendi, 2003). Begitu juga semakin tinggi ketinggian tempat maka daya larut oksigen juga semakin rendah.

Oksigen terlarut pada air tawar antara 15 mg/L pada suhu 0°C dan 8 mg/L pada suhu 25°C . Kadar oksigen pada perairan alami biasanya kurang dari 10 mg/L (Salmin, 2005). Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen = DO*) dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernafasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembiakan. Disamping itu oksigen juga dibutuhkan untuk oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam proses aerobik.

Sumber utama oksigen dalam suatu perairan berasal dari suatu proses difusi dari udara bebas dan hasil fotosintesis organisme yang hidup dalam perairan tersebut (Salmin, 2005). Oksigen terlarut dalam ekosistem perairan sangat penting untuk mendukung eksistensi organisme dan proses-proses yang terjadi didalamnya. Konsentrasi oksigen terlarut DO (*dissolved oksigen*) merupakan parameter penting yang harus diukur untuk mengetahui kualitas perairan. Organisme perairan tidak selalu nyaman hidup pada air dengan

kandungan oksigen tinggi. Air dengan oksigen terlalu tinggi 200% jenuh berakibat dapat membahayakan organisme. Tingkat kejenuhan tersebut ditentukan oleh suhu air dari salinitas air, makin tinggi suhu air maka kapasitas kejenuhan oksigen makin besar, sebaliknya makin tinggi salinitas kapasitas kejenuhan oksigen di air semakin menurun (Saeni, 1989).

2.6.4 Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH merupakan nilai yang menunjukkan aktivitas hidrogen dalam air. Nilai pH suatu perairan mencerminkan keseimbangan antara asam dan basa dalam perairan tersebut. Nilai pH berkisar 1-14, pH 7 adalah batasan tengah antara asam dan basa (netral). Semakin tinggi pH suatu perairan maka semakin besar sifat basanya dan semakin rendah nilai pH maka semakin asam suatu perairan. Nilai pH dipengaruhi oleh beberapa parameter, antara lain aktivitas biologi, suhu, dan kandungan oksigen (Erlangga, 2007). Pada pH 6–9 kehidupan biota dalam suatu perairan dapat berlangsung secara normal baik kehidupan hewan maupun tumbuhan air, karena dalam kondisi tersebut proses-proses kimia dan mikrobiologis yang menghasilkan senyawa yang berbahaya bagi kehidupan biota serta kelestarian lingkungan tidak terjadi. Dengan demikian maka pH limbah rumah tangga yang telah melalui proses bioremediasi telah memenuhi syarat untuk dilepas ke lingkungan (Yusuf, 2008).

Derajat keasaman (pH) suatu perairan dapat digunakan sebagai indikasi suatu pencemaran khususnya pencemaran bahan organik. Pemecahan bahan organik oleh mikroorganisme akan menghasilkan karbondioksida. Peningkatan karbondioksida akan mengakibatkan penurunan nilai pH jika sistem *buffer carbonat* di perairan rendah. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, misalnya proses nitrifikasi akan berakhir pada pH yang rendah (Sumantri, 2010).

BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN

3.1 Landasan teori

Budidaya ikan secara intensif mengakibatkan banyaknya limbah yang dihasilkan (Gunadi, 2012). Demikian juga dengan budidaya ikan Lele yang berkembang di masyarakat. Budidaya ikan Lele yang dilakukan secara intensif menyumbangkan limbah organik yang banyak. Banyaknya limbah yang dihasilkan tergantung dengan jumlah pakan yang dimasukkan dalam kolam budidaya Lele tersebut. Menurut Avnimelech (1999) banyaknya pakan pada budidaya intensif mengakibatkan akumulasi limbah N yang tinggi dalam air budidaya yang dapat merugikan. Limbah bahan organik yang dihasilkan berasal dari feces dan sisa pakan yang tidak dikonsumsi ikan Lele (Setyowibowo, 2012).

Limbah budidaya ikan memiliki kadar bahan organik sekitar 33,7 – 46,8 % (Moccia *et al.*, 2007). Pada budidaya ikan limbah yang dihasilkan berasal dari feces serta sisa pakan yang mengandung bahan organik dengan kadar yang tinggi (Ghate *et al.*, 1993). Pakan untuk ikan sebagian besar diekskresikan menjadi buangan metabolisme yang mengandung banyak amoniak (Effendi, 2003). Tingginya amoniak dapat menyebabkan kerusakan pada insang sehingga ikan mudah terserang penyakit dan mengakibatkan terhambatnya laju pertumbuhan. Kegiatan budidaya yang kurang terkendali menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan berupa pencemaran perairan. Usaha budidaya perikanan darat yang tidak memperhatikan aspek lingkungan dan proses budidaya yang tepat dapat menyebabkan kualitas air menjadi buruk (Sukadi, 1999). Kajian tentang limbah organik dan kualitas air yang dihasilkan oleh budidaya ikan Lele perlu dilakukan untuk mendapatkan data yang bisa dijadikan dasar dalam pengembangan budidaya ini.

Penambahan bakteri *Bacillus subtilis* diperlukan untuk dapat mengurangi limbah organik yang dihasilkan dan mendapatkan kualitas air budidaya ikan yang masih dalam ambang batas yang ditetapkan oleh pemerintah. Salah satu upaya pengelolaan untuk meningkatkan kualitas air dan mengoptimalkan pemanfaatan air budidaya adalah memanfaatkan bakteri sebagai agen bioremediasi dalam menurunkan kadar bahan organik dari limbah. Bakteri sebagai pengurai, dengan kemampuannya mampu mendaur ulang nutrisi dari sisa produk dari organisme lain. Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang sangat memegang peranan penting dan banyak dimanfaatkan untuk menyelamatkan lingkungan dari pencemaran lingkungan melalui proses bioremediasi.

Penelitian ini merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari penelitian-penelitian sebelumnya, karena penelitian terdahulu merupakan titik awal dari perkembangan penelitian yang akan dikerjakan. Penelitian tentang bioremediasi total bahan organik dengan bakteri *Bacillus subtilis* ini akan menjadi data acuan untuk penelitian selanjutnya yang akan berkembang. Penelitian terdahulu yang dijadikan referensi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penelitian terkait

No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
1	Arfiati, D., Putra, C.D.G., Tullah, A.H., Permanasari, S.W.A., dan Puspitasari, A.W., 2018.	The Dynamics of TOM on Sangkuriang Catfish Farming at UPT PTPBP2KP and the Effectiveness of Freshwater Bivalve (<i>Anodonta woodiana</i>) in Reducing the Total Organic Matter with Varying Density.	Kijing air tawar (<i>Anodonta woodiana</i>) pada perlakuan 75% mampu mengurangi 87% total bahan organik di kolam budidaya ikan lele sangkuriang (<i>Clarias gariepinus</i>) dengan perendaman selama 16 jam.

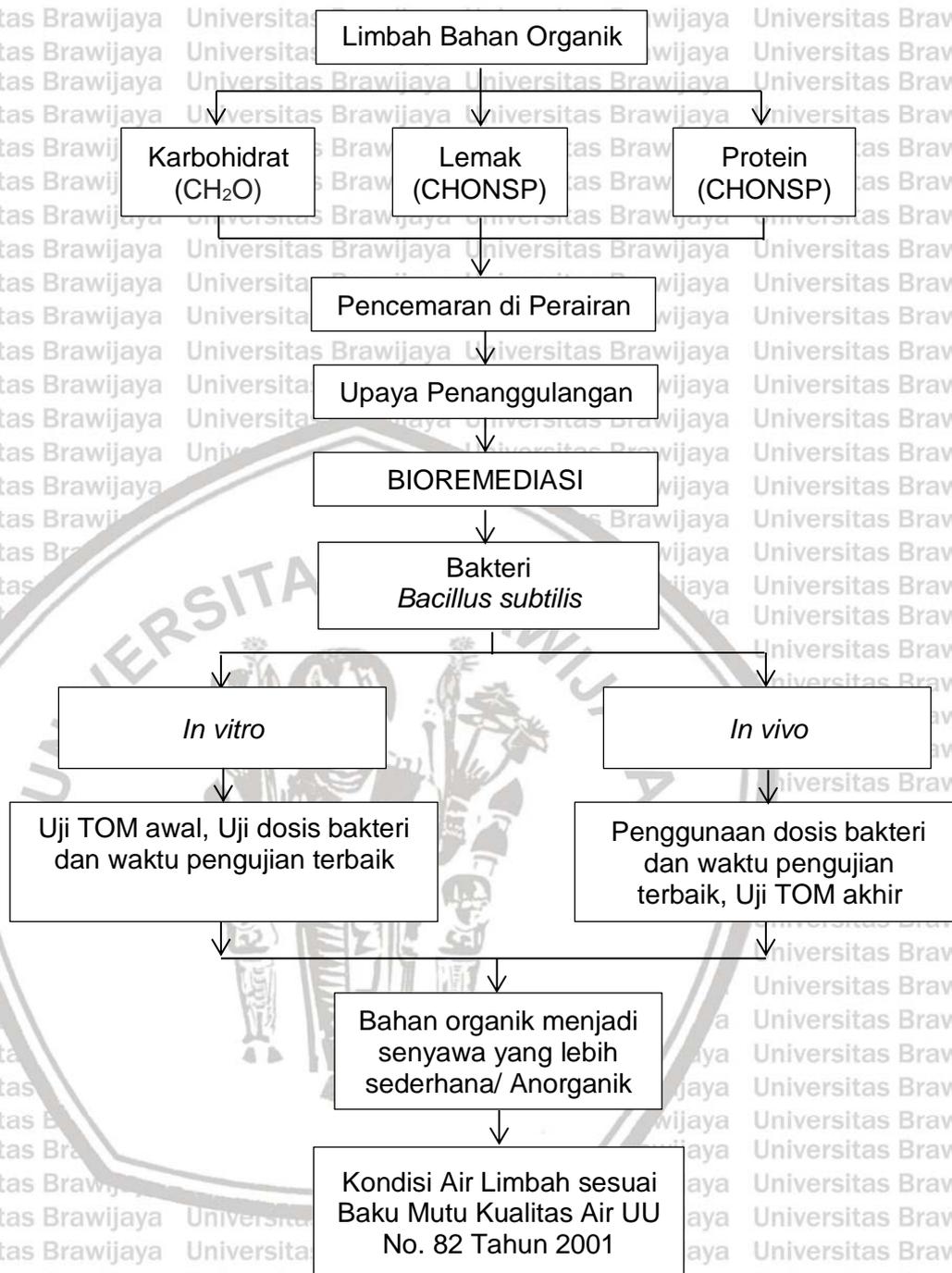
No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
2	Dora D. R Turista, 2017	Biodegradasi Limbah Cair Organik Menggunakan Konsorsium Bakteri Sebagai Bahan Penyusunan Buku Ajar Matakuliah Pencemaran Lingkungan	Kombinasi dari 3 isolat bakteri (<i>Enterobacter gergoviae</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>P. stutzeri</i>) merupakan komposisi konsorsium yang tertinggi potensinya dalam menurunkan kadar BOD (71.75%), COD (74.40%), TSS (58.44%) dan menaikkan DO (84.15%).
3	Hasminar Rachman Fidiastuti, 2014	Potensi Bakteri Indigen Dalam Biodegradasi Air Sungai	Biodegradasi dilakukan secara <i>in vitro</i> , dan menunjukkan perubahan yang signifikan terhadap perubahan kadar TSS menjadi 293,3 ppm, BOD sebesar 117,3 mg/L, COD sebesar 165,3 mg/L, DO sebesar 19 mg/L dan kadar lemak sebesar 0,02 mg/L.
4	Shumiao Zhao, Nan Hu, Zhengjun Chen, Bin Zhao, dan Yunxiang Liang, 2013	Bioremediation of Reclaimed Wastewater Used as Landscape Water by Using the Denitrifying <i>Bacterium Bacillus cereus</i>	Pengurangan bahan organik dan nitrogen pada air limbah dengan bioremediasi <i>in situ</i> dengan bakteri denitrifikasi <i>Bacillus cereus</i> DNF409. Total TN dan COD dari air permukaan menurun dari 9,86 menjadi 3,1 mg/L (menurun 68,6%) dan dari 127 menjadi 36 mg / L (menurun, 71,7%).
5	W. Mongkoltha naruka dan S. Dharmsthitia, 2002	Biodegradation of lipid-rich wastewater by a mixed bacterial consortium	Bakteri yang terdiri dari <i>P. aeruginosa</i> LP602, <i>Bacillus</i> sp. B304 dan <i>A. calcoaceticus</i> LP009 digunakan dalam

No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Hasil Penelitian
			formulasi perlakuan air limbah kaya lipid. Nilai BOD dan Lipid berkurang dari 20.000 mg/L menjadi 20 mg/L dalam waktu 12 hari pada kondisi aerobik.

3.2 Kerangka konsep penelitian

Penelitian ini fokus pada limbah bahan organik total yang dihasilkan dari budidaya ikan Lele. Diharapkan dengan memanfaatkan bakteri sebagai agen bioremediasi pada kolam budidaya ikan Lele ini dapat mengurangi limbah bahan organik total di air. Kerangka konsep penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.





Gambar 2. Kerangka konsep penelitian

3.3 Hipotesis penelitian

Rumusan hipotesis terkait dengan permasalahan dan tujuan dalam penelitian ini adalah:

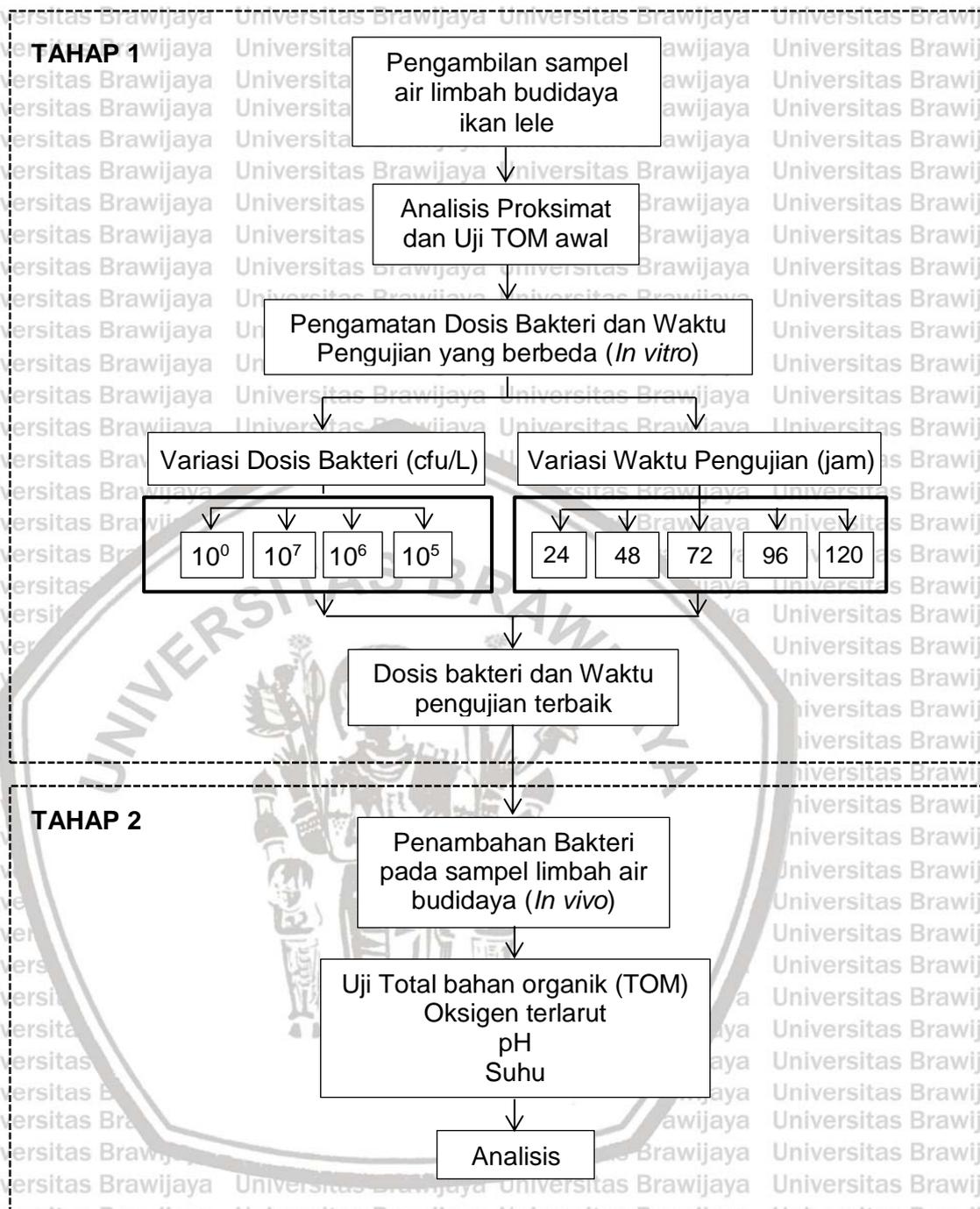
H_0 : Diduga perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kadar limbah bahan organik.

H_1 : Diduga perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda berpengaruh terhadap kadar limbah bahan organik.

3.4 Kerangka operasional penelitian

Kegiatan operasional penelitian terdiri dari 2 tahapan, tahap pertama adalah melakukan uji TOM awal, selanjutnya adalah mencari dosis bakteri dan waktu ipengujian terbaik untuk kemudian dilakukan uji kemampuan dan aktivitas bakteri dalam mendegradasi karbohidrat, protein dan lemak secara *in vitro*.

Tahap dua merupakan kegiatan bioremediasi total bahan organik air limbah budidaya ikan Lele dengan *Bacillus subtilis* secara *in vivo*. Tahap Kegiatan operasional penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kerangka operasional penelitian

3.6 Kebaruan penelitian

Penelitian mengenai kemampuan bakteri sebagai agen bioremediasi bahan organik telah banyak dilakukan di Indonesia. Penelitian ini merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari penelitian-penelitian sebelumnya. Namun penelitian tentang bioremediasi bahan organik pada air limbah budidaya ikan lele (*Clarias gariepinus*) menggunakan *Bacillus subtilis* dengan kombinasi dosis dan waktu pengujian yang berbeda belum cukup banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

3.7 Strategi publikasi

Penulis memilih untuk mengirimkan jurnalnya dengan judul *Reducing the Concentration of Organic Matter and Proximat of Catfish (Clarias gariepinus) Culture Medium Using Bacillus subtilis* pada Journal of Experimental Life Science (JELS). The Journal of Experimental Life Science (JELS) merupakan jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Program Pascasarjana Universitas Brawijaya sebagai sarana penyebaran hasil-hasil penelitian dari peneliti Indonesia di bidang ilmu hayati kepada masyarakat luas. JELS terbit setiap empat bulan. JELS mempublikasikan tulisan-tulisan ilmiah dalam bentuk review, short report, dan artikel pada bidang-bidang ilmu hayati terutama nanobiologi, biologi molekuler dan biologi seluler. Informasi strategi publikasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Strategi publikasi

No	Judul	Bulan/ Tahun	Jurnal
1	Reducing the Concentration of Organic Matter and Proximat of Catfish (<i>Clarias gariepinus</i>) Culture Medium Using <i>Bacillus subtilis</i>	Mei 2019	Journal of Experimental Life Science (JELS)

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Februari 2019 di UPT PTPBP2KP Kepanjen, Malang. Pengujian dilakukan di Laboratorium Ichtiology dan Lingkungan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

4.2 Bahan dan alat

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan alat dan bahan skala laboratorium dan lapang. Alat yang digunakan dalam penelitian diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Alat untuk pengambilan sampel, yaitu ember (wadah berukuran besar);
2. Alat untuk sterilisasi, yaitu autoklaf, oven kering;
3. Alat untuk pengukuran dan pengenceran media: timbangan analitik digital, gelas ukur Pyrex (10 mL, 100 mL, 500 mL), labu Erlenmeyer Pyrex (500 mL, 1000 mL), gelas piala Pyrex (2000 mL), tabung kultur Pyrex (20 mL), thermolyne homogenizer, magnetic steerer, pipet berskala;
4. Alat untuk aklimasi, yaitu shaker, kaca pengaduk, magnetic steerer;
5. Alat untuk mengisolasi, yaitu mikropipet 0,01; 1; 10 μ L, jarum inokulasi berkelong, jarum inokulasi ujung lurus, tabung reaksi, cawan petri, lemari es, inkubator, rak tabung;
6. Alat untuk inokulasi dan inkubasi, yaitu Cawan Petri (diameter 15 cm, tinggi 6,3 cm, tebal 3 mm), jarum inokulasi lurus, jarum inokulasi

berkolong, lampu spiritus, laminar flow, inkubator digital, kaca pengaduk, pengocok;

7. Alat untuk pengujian bioremediasi *in vivo*: 4 buah wadah bervolume 1 liter dilengkapi thermometer, pH meter, aerator dan pengaduk.

4.3 Metode penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen.

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

Penelitian dengan menggunakan metode eksperimen merupakan metode yang cukup akurat dalam memberi informasi, karena apabila penelitian tersebut dilakukan dengan baik maka dapat menjawab hipotesis yang utamanya berkaitan dengan hubungan sebab akibat. Metode ini pun membutuhkan ketelitian sehingga diperoleh hasil penelitian yang sesuai. Hal ini sesuai dengan maksud peneliti untuk mendapat hasil yang akurat terhadap apa yang menjadi hipotesa yang kemudian dibuktikan melalui metode eksperimen ini, dengan memperhatikan berbagai variabel penelitian dengan ketat (Soendari, 2013).

4.4 Desain penelitian

Penelitian tahap satu dilakukan selama 3-4 minggu di dalam laboratorium dengan kondisi yang disesuaikan. Rancangan penelitian di Laboratorium (*in vitro*) menggunakan Rancangan Acak Lengkap Kelompok. Rancangan ini merupakan rancangan yang paling sederhana jika dibandingkan dengan rancangan-

rancangan lainnya (Hanafiah, 1997). Model persamaan rancangan acak lengkap kelompok adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y_{ijk} = Hasil pengamatan untuk Faktor A level ke- i, Faktor B level ke- j, pada ulangan ke- k

μ = Rataan umum

α_i = Pengaruh Faktor A pada level ke- i

β_j = Pengaruh Faktor B pada level ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Interaksi antara A dan B pada Faktor A level ke- i, Faktor B level ke- j

\sum_{ijk} = Galat percobaan untuk Faktor A level ke- i, Faktor B level ke- j, pada ulangan ke- k

Hipotesis

$$\begin{aligned} \text{➤ } H_0: \quad \alpha_i &= 0 \\ \beta_j &= 0 \\ (\alpha\beta)_{ij} &= 0 \end{aligned}$$

Artinya, interaksi antara dua faktor tidak memberikan pengaruh yang nyata.

$$\begin{aligned} \text{➤ } H_1: \quad \alpha_i &= 0 \\ \beta_j &= 0 \\ (\alpha\beta)_{ij} &= 0 \end{aligned}$$

Artinya, minimal ada satu interaksi antara dua faktor yang memberikan pengaruh yang nyata.

Rancangan penelitian terdiri dari 20 perlakuan dengan 3 kali ulangan, sebagai berikut:

D0 = Tanpa perlakuan (kontrol)

D1 = Perlakuan dengan dosis bakteri 10^7 cfu/L

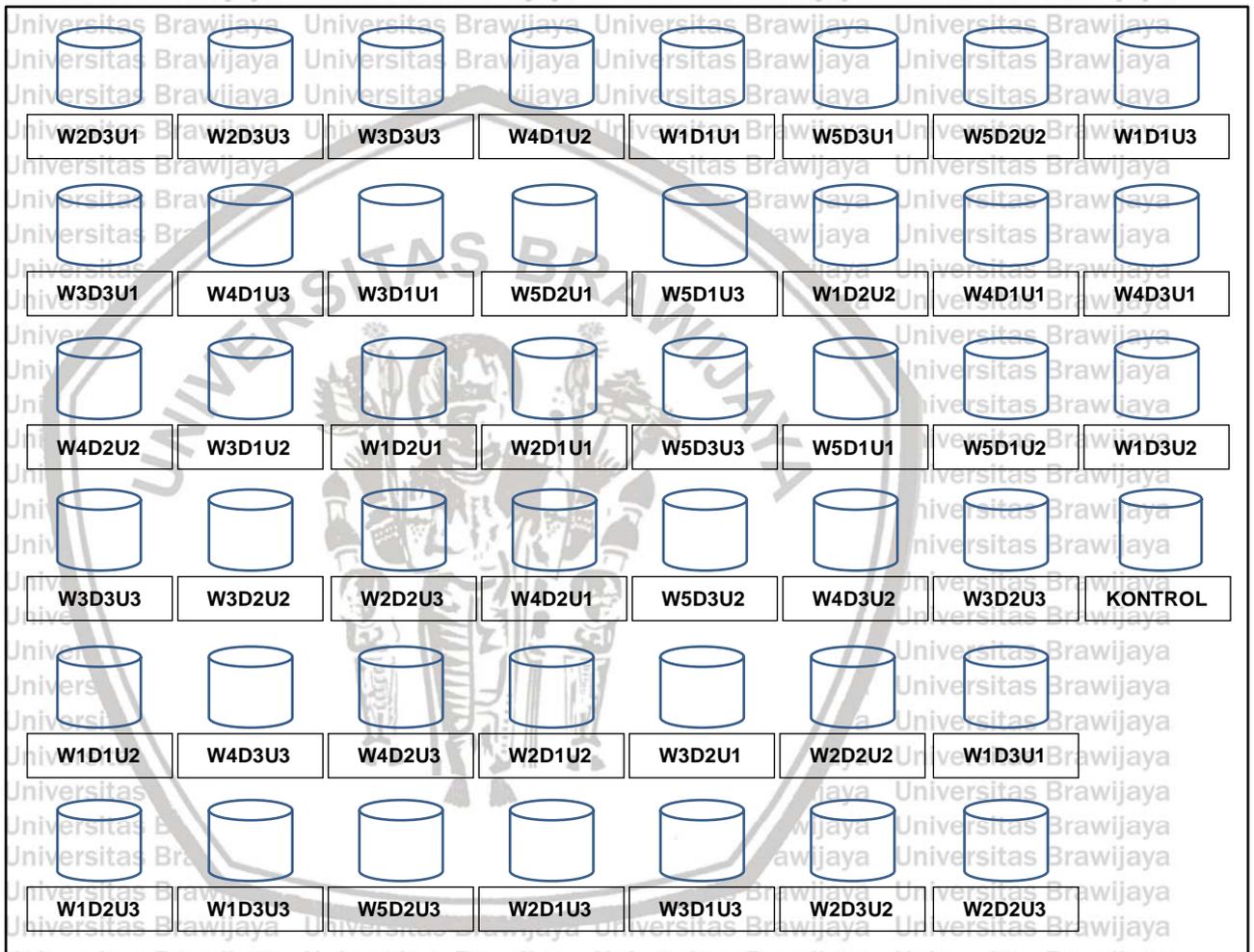
D2 = Perlakuan dengan dosis bakteri 10^6 cfu/L

D3 = Perlakuan dengan dosis bakteri 10^5 cfu/L

W1 = Waktu penurunan bahan organik dalam 24 jam

- W2 = Waktu penurunan bahan organik dalam 48 jam
 W3 = Waktu penurunan bahan organik dalam 72 jam
 W4 = Waktu penurunan bahan organik dalam 96 jam
 W5 = Waktu penurunan bahan organik dalam 120 jam

Denah penelitian yang dilakukan adalah dengan cara diacak, dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 4. Denah penelitian

Keterangan:

D0, D1, D2, dan D3 = Perlakuan dosis bakteri

W1, W2, W3, W4 dan W5 = Perlakuan waktu uji penurunan bahan organik

1, 2, 3 = Ulangan

Penelitian selanjutnya yakni uji bioremediasi (*in vivo*), dilakukan selama 3-4 hari uji seperti yang dilakukan oleh Mambang *et al.*, (2015). Hal ini dianggap merupakan waktu yang cukup untuk mengamati pertumbuhan dan perkembangan bakteri yang diujikan. Selama 4 hari uji secara aerobik, dengan berdasar pada kondisi awal air limbah pada lokasi telah diberi aerator, sehingga perlakuan selanjutnya adalah menyesuaikan, agar tidak merubah komposisi bakteri asli dari air limbah tersebut. Hasil uji bioremediasi diketahui dengan cara melakukan perbandingan antara nilai kualitas air limbah awal, kontrol dan akhir.

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

4.5 Metode pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan di UPT PTPBP2KP Kepanjen, Kabupaten Malang. Stasiun pengambilan sampel air yakni pada outlet atau saluran pembuangan. Proses pengiriman sampel air menggunakan wadah berukuran besar dan disimpan dalam coolbox yang didalamnya terdapat es batu. Pengambilan air limbah budidaya ikan lele sebagai sampel penelitian, dilakukan sebanyak satu kali dalam jumlah yang cukup. Hal tersebut dilakukan pada awal kualitas air limbah yang diuji serta pada uji remediasi dan kontrol yang dilakukan dua hari setelahnya dengan menggunakan sampel air limbah yang sama.

Sebelum sampel diambil dilakukan pengukuran pH, suhu, DO dan TOM awal terlebih dahulu, untuk mengetahui parameter air limbah yang sesungguhnya sebelum dibawa ke dalam laboratorium. Sampel air limbah diambil menggunakan botol yang gelap dan tertutup rapat. Dimaksudkan agar tidak terjadi kontaminasi saat sampel dibawa ke laboratorium. Sampel tersebut di bawa ke Laboratorium

Ichthyology dan Lingkungan FPIK Universitas Brawijaya untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.

4.6 Prosedur penelitian

4.6.1 Kultur dan penghitungan bakteri

Berdasar pada buku panduan *Basic Practical Microbiology A Manual* (Burdass et al., 2006), kultur bakteri dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Menimbang media NB (Nutrient Broth) dengan timbangan digital,
2. Larutkan NB yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer yang berisi aquades dan dihomogenkan dengan spatula,
3. Merebus larutan NB di atas hot plate hingga mendidih,
4. Larutan NB yang telah direbus disterilkan selama 15 menit pada suhu 121°C dalam autoklaf pada tekanan 1 atm,
5. Kemudian media NB tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 mL,
6. Menunggu media hingga dingin,
7. Menyiapkan isolat murni dan jarum ose disterilkan di atas Bunsen,
8. Menginokulasi isolat murni ke dalam media NB dan dihomogenkan dengan vortex mixer,
9. Membandingkan kekeruhan yang diperoleh dengan larutan McFarlan menggunakan Haemocytometer,
10. Menginkubasi kembali sampel selama 2 x 24 jam dengan suhu 27°C untuk memantau perkembangan dan pertumbuhan bakteri.

Menurut Tria (2012), penghitungan jumlah bakteri hidup terbagi atas dua, yaitu secara (tidak langsung), misalnya perhitungan pengurangan jumlah substrat dan secara langsung. Penghitungan mikroba secara langsung seperti *Plate Count* (hitungan cawan), *Counting Chamber* (menggunakan Hemositometer) dan

Turbidimetri (menggunakan Spektrofotometer). Penghitungan bakteri pada penelitian ini menggunakan Hemositometer dan Spektrofotometer.

1. *Counting Chamber* (menggunakan Hemositometer)

Hemositometer adalah metode perhitungan secara mikroskopis. Ruang hitung terdiri dari 9 kotak besar dengan luas 1 mm². Satu kotak besar di tengah, dibagi menjadi 25 kotak sedang dengan panjang 0,05 mm. Satu kotak sedang dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian satu kotak besar tersebut berisi 400 kotak kecil. Tebal dari ruang hitung ini adalah 0,1 mm. Sel bakteri yang tersuspensi akan memenuhi volume ruang hitung tersebut sehingga jumlah bakteri per satuan volume dapat diketahui (Mikapin, 2012).

Pada Hemositometer terdapat celah yang digunakan sebagai wadah untuk larutan dengan tinggi 0,1 mm. Oleh karena itu volume larutan yang dapat masuk ke celah kotak hitung besar (*counting grid*) adalah 0,1 mm³.

Perhitungan menggunakan teknik sampling, dimana 5 kotak diambil dari 25 kotak yang ada kemudian hasilnya dihitung rata-rata dan dianggap sebagai jumlah bakteri per kotak. Jumlah dari bakteri per kotak dikalikan dengan 25 agar mendapatkan jumlah bakteri per volume Hemositometer (0,1 mm³). Volume hemositometer memiliki satuan yang dikonversi ke cm³ dengan mengalikan 1000 lalu dikalikan dengan kebalikan dari faktor pengenceran. Hal ini karena pengenceran berbanding terbalik dengan jumlah bakteri.

Berikut prosedur pengukurannya:

- a) Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan,
- b) Membersihkan hemositometer dengan tisu yang telah diberi alkohol,
- c) Setelah itu hemositometer ditutup dengan cover glass yang bersih,
- d) Melakukan pengenceran hingga tabung reaksi 10¹⁰,

- e) Memasukkan air aquades kedalam botol yang berisi bakteri kemudian digoyang agar sel bakteri terangkat,
- f) Mengisi tabung reaksi dengan 1 ml larutan bakteri yang sebelumnya sudah berisi 9 ml air akuades,
- g) Kemudian divortex selama 15-30 detik agar sampel tercampur secara merata dengan akuades, lakukan terus hingga pada tabung 10^{10} ,
- h) Mengambil 1 ml larutan dari tabung reaksi pengenceran pada tabung ke 10^{10} dengan menggunakan pipet isap,
- i) Meneteskan larutan tadi pada alat hemasitometer ± 1 tetes,
- j) Amati dengan menggunakan mikroskop hitung berapa jumlah sel dalam satu kotak,
- k) Rumus perhitungan langsung dapat ditulis:

$$\Sigma \text{ Bakteri Total} = \text{Jumlah Bakteri Rata-Rata} \times 25 \times 10 \times 10^3 \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

atau

$$\text{Jumlah sel per ml sampel} = \text{jumlah sel per kotak besar} \times 1,25 \times 10^{10}$$

2. Turbidimetri (Spektrofotometer)

Turbidimetri merupakan metode yang cepat untuk menghitung jumlah bakteri dalam suatu larutan menggunakan Spektrofotometer. Bakteri menyerap cahaya sebanding dengan volume total sel (ditentukan oleh ukuran dan jumlah). Ketika mikroba bertambah jumlahnya atau semakin besar ukurannya dalam biakan cair, terjadi peningkatan kekeruhan dalam biakan. Kekeruhan dapat disebut *Optical Density* (absorpsi cahaya, biasa diukur pada panjang gelombang 520 nm – 700 nm). Untuk mikroba tertentu, kurva standar dapat memperlihatkan jumlah organisme/mL

(dengan metode hitungan cawan) hingga pengukuran *Optical Density* (dengan Spektrofotometer) (Mikapin, 2012). Berikut pengukurannya:

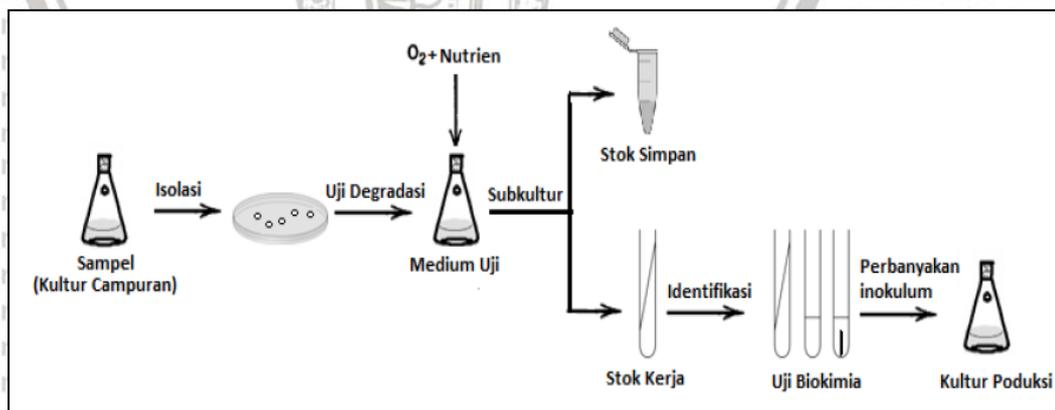
- Membuat larutan standar McFarland, lalu nyalakan alat spektrofotometer dan memanaskannya terlebih dahulu selama 30 menit,
- Memasukkan larutan blanko yang telah dimasukkan cuvet kedalam spektrofotometer dan diatur panjang gelombangnya yang terdapat pada spektrofotometer sebesar 625 nm,
- Melakukan "BLANK" pada spektrofotometer hingga absorbansinya "NOL",
- Memasukkan larutan yang telah berisi bakteri ke dalam cuvet dan dimasukkan dalam spektrofotometer,
- Menutup alat spektrofotometer dan dihitung absorbansi nya,
- Mencatat hasil dan dihitung dengan rumus regresi, yakni:

$$Y = aX - b$$

Keterangan:

Y = Kepadatan (cfu/ mL); X = Absorbansi; a = Intersep; b = Slope

4.6.2 Uji efektivitas bakteri sebagai bioremediasi



Gambar 5. Proses isolasi, uji remediasi, identifikasi dan perbanyakan bakteri

Uji efektivitas bakteri digunakan untuk mengetahui seberapa efektif bakteri tersebut dalam melakukan remediasi pada limbah budidaya ikan lele.

Priadie (2012), menerapkan prosedur kerja dalam menguji kemampuan remediasi bakteri terhadap limbah yang dijelaskan dalam Gambar 5. Biakan bakteri *Bacillus subtilis* dimanfaatkan untuk uji efektivitas bakteri sebagai bioremediasi pada air limbah budidaya ikan lele yang telah disediakan. Biakan bakteri dimasukkan ke dalam limbah budidaya ikan lele dan ditunggu hingga 3-4 hari untuk diketahui hasilnya. Uji efektivitas bakteri dapat dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menyediakan alat dan bahan yang diperlukan,
2. Merancang alat menjadi empat bagian, yaitu tiga botol winkler sebagai wadah uji remediasi yang diberi bakteri, sedangkan tiga botol winkler lainnya tanpa diberi bakteri sebagai kontrol, dan satu botol winkler digunakan sebagai pengisi aquadest sebagai penyangga uji. Rancangan alat didesain secara aerobik sehingga menggunakan aerator,
3. Mengambil biakan bakteri dan memasukkannya ke dalam sampel,
4. Melakukan pengecekan aerator agar berfungsi dengan baik,
5. Membiarkan sampel selama 3-4 hari dalam kondisi ter-aerasi,
6. Pada hari ke 4, mengambil sampel dan mulai melakukan uji TOM,
7. Efektivitas bakteri akan diketahui setelah membandingkan nilai kualitas air limbah (TOM, DO, Suhu dan pH) di awal, kontrol dan akhir.

4.7 Kualitas air limbah

4.7.1 Total bahan organik/ *Total organic matter* (TOM)

Bahan Organik Total atau Total Organic Matter (TOM) menggambarkan kandungan bahan organik total suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi (*particulate*) dan koloid (Hariyadi *et al.*, 1992). Bahan organik

yang diukur ini merupakan akumulasi dari berbagai macam sumber bahan yaitu bahan organik yang berasal dari limbah biota air yang mati maupun tanaman berupa fitoplankton dan tanaman lain. Kisaran optimal kandungan bahan organik total (TOM) pada perairan kurang dari 150 ppm (Adiwidjaya *et al.*, 2008). Adapun cara pengukuran kadar bahan organik total adalah sebagai berikut:

A. Alat

Alat yang digunakan adalah gelas ukur 25 ml, erlenmeyer 100 ml, beaker glass 100 ml, pipet tetes, buret, statif, klem, hot plate, thermometer, pipet volume 10 ml dan bola hisap.

B. Pereaksi

1. KMnO_4 0,1 N:

Timbang 3,160 gr KMnO_4 dan larutkan dalam 1000 ml akuades.

2. KMnO_4 0,01 N,

Pipet 25 ml larutan (1) diatas, kemudian encerkan dengan akuades hingga 250 ml.

3. Natrium Oxalate 0,10 N

Timbang 3,35 gr Na-oxalate, larutkan dalam 500 ml akuades.

4. Natrium Oxalate 0,01 N

Ambil 25 ml larutan (3) diatas, encerkan dengan akuades sampai 250 ml.

5. H_2SO_4 (1:4)

Masukkan 20 ml H_2SO_4 pekat dalam 80 ml akuades, dinginkan.

C. Prosedur

1. Memasukkan 50 ml air sampel kedalam erlenmeyer,
2. Menambahkan 9,5 ml KMnO_4 dari buret dan 10 ml H_2SO_4 1:4,
3. Memanaskan sampai suhu mencapai 70 – 80°C, kemudian angkat,

4. Menambahkan Na-oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna bila suhu telah turun menjadi 60 – 70°C,
5. Menitrasi dengan KMnO₄ 0,01 N sampai terbentuk warna (merah jambu/pink) dan mencatat volume yang terpakai sebagai ml titran (x ml),
6. Memipet 50 ml akuades, lakukan prosedur (1 – 5) dan dicatat titran yang digunakan sebagai blanko (y ml),
7. Selanjutnya kadar TOM dalam perairan tersebut dapat dihitung sesuai dengan rumus berikut:

$$\text{TOM (mg/l)} = \frac{(x - y) \times 31,6 \times 0,001 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan:

x = ml titran untuk air sampel

y = ml titran untuk akuades (larutan blanko)

31,6 = seperlima dari BM KMnO₄, karena setiap mol KMnO₄ melepaskan 5 oksigen dalam reaksi ini

0,01 = normalitas KMnO₄

4.7.2 Pengukuran oksigen terlarut

Pengukuran DO dengan menggunakan alat yaitu DO meter (Pro 20. YSI).

Pengukuran DO dilakukan dengan cara:

1. Menyalakan DO meter dengan menekan tombol ON kemudian kalibrasi dengan menggunakan aquades hingga menunjukkan angka nol,
2. Memasukkan elektroda DO meter pada perairan yang akan diukur kadar oksigen terlarutnya,
3. Menunggu hingga angka muncul pada layar dan stabil perubahannya,
4. Mencatat hasilnya,
5. Mengangkat elektroda dari DO meter.

4.7.3 Pengukuran suhu

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

1. Melakukan kalibrasi Thermometer Hg terlebih dahulu,
2. Menguji fungsi thermometer terlebih dahulu sebelum digunakan,
3. Memasukkan Thermometer Hg ke dalam sampel limbah cair dengan cara membelakangi sinar matahari diusahakan tidak terkena sinar matahari langsung) didiamkan selama 1-2 menit sampai air raksa thermometer bergerak dan berhenti pada skala tertentu,
4. Mencatat nilai skala yang ditunjukkan oleh air raksa pada thermometer sebagai nilai suhu perairan dalam $^{\circ}\text{C}$ tanpa harus diangkat thermometernya.

4.7.4 Pengukuran pH

Menurut Toledo (2007), berdasarkan Buku pH Theory Guide, pengukuran pH dapat dilakukan melalui beberapa tahapan sebagai berikut:

a. Kalibrasi

pH meter yang digunakan perlu dilakukan kalibrasi terlebih dahulu, hal ini sangat direkomendasikan untuk dilakukan setidaknya dilakukan sekali dalam sehari sebelum pengukuran dilakukan.

b. pH meter (Elektroda)

Adapun pengukuran pH dilakukan melalui tahap-tahap sebagai berikut:

1. Menuang sampel secukupnya pada gelas pengukuran sampai level sampel yang dituang berada di atas penyambung elektroda,

2. Memastikan bahwa suhu pada sampel telah diketahui dan atau suhu tersebut terukur selama ketetapan nilai pH melalui internal atau eksternal sesor suhu pada alat tersebut,
3. Mengaduk sampel dan menyelupkan elektroda ke dalam air sampel,
4. Jika suhu pada sampel yang telah diketahui sebelumnya berbeda dengan yang tertera pada elektroda, dapat dipastikan bahwa penyimpangan tersebut terjadi karena gradien suhu telah berhenti sebelum memulai pembacaan pH,
5. Menekan tombol pengukuran pada pH meter dan menunggu hingga diperoleh nilai akhir yang stabil,
6. Mengeluarkan elektroda dari air sampel dan membilas elektroda dengan air sulingan atau aquades.

4.8 Analisis data

Pada tahap penelitian eksperimen *in vitro*, analisa data dilakukan untuk mengetahui pengaruh setiap perlakuan terhadap respon parameter yang diamati dengan menggunakan analisis satu arah (One Way Anova) secara manual dengan Ms. Excel dan dilanjutkan dengan uji Duncan setelah hasil sidik ragam diketahui untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon berbeda nyata. Sedangkan pada tahap penelitian kedua, yakni *in vivo*, analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

Beberapa data disajikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar sesuai dengan tujuan dari kegiatan penelitian. Analisis varians digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap sintasan. Beberapa rumus yang digunakan dalam perhitungan analisis varians antara lain:

1. Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(Y_{...})^2}{rab}$$

2. Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = \sum_{i,j,k} Y_{ijk}^2 - FK$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKA = \sum_i \frac{y_{i..}^2}{rb} - FK$$

$$JKB = \sum_j \frac{y_{.j.}^2}{ra} - FK$$

$$JK(AB) = \sum_{i,j} \frac{y_{ij.}^2}{r} - FK - JKA - JKB$$

4. Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKA - JKB - JK(AB)$$

5. Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{\text{db Perlakuan}}$$

$$KTB = \frac{JKB}{\text{db Faktor B}}$$

$$KTA = \frac{JKA}{\text{db Faktor A}}$$

$$KT(AB) = \frac{JK(AB)}{\text{db Faktor (AB)}}$$

6. Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = \frac{JKG}{\text{db Galat}}$$

7. F_{hitung}

$$F_{hitung}^{Perlakuan} = \frac{KTP}{KTG}$$

$$F_{hitung}^A = \frac{KTA}{KTG}$$

$$F_{hitung}^B = \frac{KTB}{KTG}$$

$$F_{hitung}^{(AB)} = \frac{KT(AB)}{KTG}$$



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Gambaran umum lokasi penelitian

Lokasi dalam penelitian ini adalah UPT Pengembangan Teknologi Perikanan Budidaya (PTPB) Kepanjen yang terletak di Desa Panggungrejo, Kecamatan Kepanjen, Kabupaten Malang. Secara topografi UPT PTPB Kepanjen terletak pada $112^{\circ} 34' 30''$ BT dan $8^{\circ} 7' 30''$ LS, termasuk dataran rendah dengan ketinggian 358 mdpl. Suhu harian rata-rata berkisar antara $25-30^{\circ}\text{C}$ dengan curah hujan rata-rata 600-1000 mm/tahun. UPT PTPB Kepanjen mempunyai batas-batas sebagai berikut:

Sebelah Utara : Jalan Kepanjen-Gondanglegi (Kantor BKKBN, KUD)

Sebelah Selatan : Tanah hak yayasan

Sebelah Timur : Persawahan dan Perumahan

Sebelah Barat : Jalur jalan Kepanjen-Sengguruh (Batalyon Zipur 5)

Pengambilan air sampel dilakukan di kolam budidaya ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) (Gambar 6) pada bagian outletnya. Air yang disalurkan ke masing-masing kolam berasal dari air sumur bor yang ditampung pada kolam. Pemeliharaan ikan di UPT PTPBP2KP ini tergolong intensif. Air yang ada pada kolam budidaya lele tergolong cukup keruh dan berwarna kehijau-hijauan. Stasiun pengambilan sampel yaitu pada saluran keluarnya air (Outlet) sisa kegiatan budidaya ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*). Pada outlet kolam budidaya terdapat serasah-serasah daun yang berasal dari pohon yang tumbuh di sekitar outlet. Pengurasan air kolam budidaya lele sangkuriang yang berada di kepanjen tidak terjadwal. Pada saat pengambilan sampel untuk penelitian ini, kolam tersebut sudah 4 bulan tidak dikuras, sehingga airnya terlihat

sangat hijau. Bau air yang dihasilkan juga sedikit menyengat sehingga menandakan banyaknya bahan organik yang terkandung dalam air tersebut.

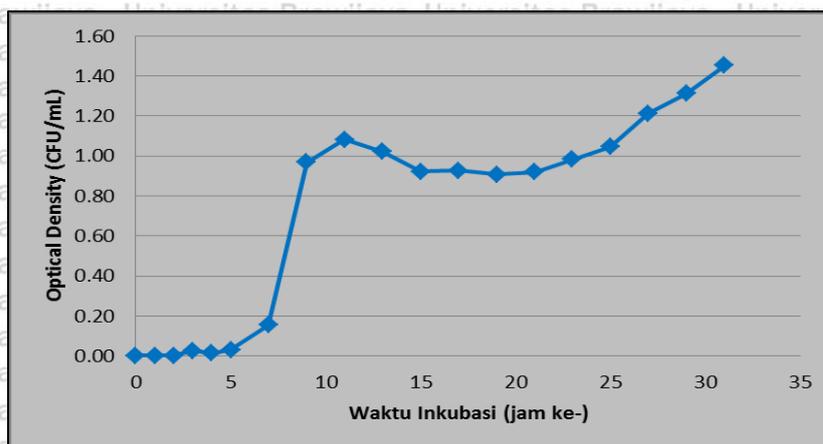


Gambar 6. Kolam induk lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*)

5.2 Pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*

Pola pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* secara umum terdiri dari empat fase yaitu fase Lag, fase Eksponensial, fase Stasioner dan fase Kematian. Hasil kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* tumbuh pada pengenceran berseri dari 10^1 sampai 10^8 . Fase eksponensial atau jumlah optimum kepadatan berada pada jam ke-10 dan kepadatan bakteri mulai menurun di jam ke-13 dengan nilai kepadatan sebesar $3,12 \times 10^8$ CFU/mL dan terus menurun hingga jam ke-20.

Dengan demikian waktu pembuatan media cair *Bacillus subtilis* dilakukan pada 1 x 20 jam selama penelitian berlangsung. Hal tersebut dilakukan karena diduga media pemeliharaan pada jam ke-20 dalam kondisi kepadatan bakteri yang rendah sehingga diperlukan penambahan media bakteri di jam tersebut, agar kepadatan bakteri terus meningkat dan limbah organik dikonversi secara maksimal (Anggraeni, 2014). Hasil pengamatan pola pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada media Nutrient Broth (NB) dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis*

Nilai absorbansi (OD) pada grafik diatas diukur setiap selang waktu 2 jam sekali selama 48 jam menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 600nm. Kurva pertumbuhan diatas menunjukkan bahwa fase adaptasi memiliki waktu yang relatif singkat yaitu pada media yang sama dengan media pada penyegaran, sehingga penyesuaian dengan lingkungan baru berlangsung dengan cepat (Yuliana, 2008). Panjang atau pendeknya fase adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologis yang sesuai dengan media kultivasi yang dibutuhkan (Fardiaz, 1992).

Fase kedua yaitu fase eksponensial yang merupakan fase dimana pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat. Pada penelitian ini, fase eksponensial dimulai pada jam ke-4 hingga jam ke-8, namun pada jam ke-14 hingga jam ke-18 juga mengalami kenaikan OD yang artinya bakteri mengalami pertumbuhan yang berlangsung dengan cepat. Fase eksponensial pada *Bacillus subtilis* terjadi setelah fase adaptasi dan berlangsung hingga jam ke-18. Bakteri mengalami pertumbuhan yang tetap pada fase stasioner yang berlangsung pada jam ke-10 hingga jam ke-13 dengan ditandai adanya pertumbuhan yang konstan antara bakteri yang hidup dan bakteri yang mati. Hal ini disebabkan karena berkurangnya nutrisi dan terbentuknya senyawa hasil metabolisme yang

cenderung bersifat racun bagi bakteri. Menurut Chubukov dan Sauer (2014), fase stasioner pada pertumbuhan *Bacillus subtilis* dapat dilihat pada kandungan nutrisi, dimana terbatasnya nutrisi mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat sehingga cenderung berada pada kondisi konstan bahkan mungkin terhenti ketika mencapai tingkat populasi kritis. Puncak pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada penelitian ini ditemui pada jam ke-8. Ditambahkan oleh Andriani *et al.*, (2013), bahwa kurva pertumbuhan di plot untuk memahami fase kebutuhan masing-masing bakteri.

5.3 Senyawa organik pada air limbah budidaya ikan lele

Menurut Craigh dan Helfrich (2002), meskipun melalui manajemen yang baik, pakan yang diberikan pada ikan pasti akan menghasilkan limbah. Dari 100 unit pakan yang diberikan kepada ikan, biasanya 10% tidak termakan, 10% merupakan limbah padatan, dan 30% merupakan limbah cair yang dihasilkan oleh ikan. Dari sisanya, 25% digunakan untuk tumbuh dan 25% lainnya untuk metabolisme. Komponen bahan organik yang merupakan sumber bahan pencemar kualitas air umumnya adalah bahan organik yang terdiri dari protein, lemak dan karbohidrat (Droste, 1997).

Selama proses kegiatan budidaya sebagian besar limbah organik akan terakumulasi di sedimen dasar kolam. Limbah ini berasal terutama dari sisa pakan dan hasil ekskresi hewan budidaya, sehingga mempunyai karakteristik yang mirip dengan komposisi pakan yang digunakan. Pellet ikan kaya akan nitrogen, selain itu pakan ikan juga mengandung komponen karbohidrat diantaranya adalah selulosa. Lipid juga terdapat dalam pakan meskipun dalam jumlah yang relatif lebih sedikit (Nimrat *et al.*, 2008). Senyawa organik yang terdapat dalam limbah budidaya ikan lele secara garis besar mengalami perombakan terutama karbohidrat, lemak dan protein. Penguraian tersebut

dilakukan oleh mikroorganisme pengurai menjadi bentuk persenyawaan yang lebih sederhana. Senyawa organik yang dalam bentuk persenyawaan sederhana dapat diserap oleh mikroorganisme sebagai nutrisi pertumbuhannya (Nurhasan dan Pramudiyanto, 1997). Kandungan bahan organik dalam air limbah diketahui dengan melakukan uji proksimat. Hasil pengujian proksimat dari air limbah budidaya ikan lele ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik awal limbah budidaya ikan lele

No	Parameter	Satuan	Hasil Pengujian
1	TOM	mg/L	80,26
2	Protein	%	0,16
3	Lemak	%	0,03
4	Karbohidrat	%	0,24

Sumber: Hasil Lab. Analisis dan Pengukuran Jurusan Kimia FMIPA Unibraw, 2018

Senyawa organik yang terkandung dalam limbah budidaya dapat diserap oleh mikroalga melalui proses respirasi. Menurut Salisbury (1995), pati, fruktan, sukrosa atau gula lainnya, lemak, asam organik, bahkan protein dapat digunakan sebagai substrat respirasi. Pada proses respirasi karbohidrat, protein dan lemak diuraikan menjadi monomer-monomer penyusunnya. Pada proses respirasi, glukosa akan dipecah menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis kemudian didekarboksilasi menghasilkan asetil koA. Protein diuraikan menjadi asam amino selanjutnya menjadi asam piruvat dan menghasilkan asetil koA melalui proses transaminase. Sedangkan lemak dipecah menjadi asam lemak melalui proses lipolisis yang kemudian dioksidasi menjadi asetil koA. Asetil koA merupakan dasar siklus krebs yang dilanjutkan dengan transport elektron yang menghasilkan ATP yang dapat digunakan sebagai energi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel (Poedjadi, 2007).

5.4 Bioremediasi Protein, Karbohidrat dan Lemak oleh *Bacillus subtilis*

Bioremediasi adalah proses pengolahan kandungan bahan organik limbah oleh organisme hidup pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasi dibawah baku mutu yang ditentukan.

Bioremediasi akan berjalan efisien karena mikroorganisme mendekomposisi bahan yang terdispersi halus, koloid, dan zat terlarut melalui metabolisme

(Dhall *et al.*, 2012). Proses pengolahan limbah berdasarkan karakteristiknya dapat digolongkan menjadi tiga, yaitu proses fisik, kimia, dan biologi. Pada

pengolahan limbah cair yang mengandung bahan organik, salah satu yang dapat dilakukan adalah menggunakan proses pengolahan limbah secara biologi.

Pengolahan limbah secara biologi, dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu

aerobic treatment dan *anaerobic treatment*. Pengolahan aerobik membutuhkan oksigen dalam prosesnya, sedangkan pengolahan anaerobik harus

meminimumkan oksigen dalam proses perombakan kandungan bahan organik limbah cair (Wen, 2011).

Metode biologi merupakan salah satu cara yang dapat digunakan sebagai upaya dalam mereduksi bahan organik limbah. Secara biologi, kandungan bahan

organik limbah diurai menggunakan proses bioremediasi. Pengolahan limbah cair tersebut dapat dilakukan menggunakan bakteri sebagai pereduksi kandungan

bahan organik limbah (Kuswytasari, 2012). Pemanfaatan bakteri sebagai agen bioremediasi merupakan salah satu alternatif dalam mengatasi masalah kualitas

air dalam budidaya yang diadaptasi dari teknik pengolahan limbah domestik secara konvensional. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan

bakteri berperan dalam perbaikan kualitas air, peningkatan biosekuriti dan peningkatan produktivitas. Senyawa organik digunakan sebagai sumber nutrisi

bagi mikroorganisme sehingga menjadi senyawa yang lebih sederhana.

Senyawa organik terurai menjadi senyawa sederhana yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri nitrifikasi dalam industri air limbah. Untuk mengurangi limbah organik dan buangan limbah dari lingkungan budidaya diperlukan sistem pengelolaan budidaya. Salah satu sistem pengelolaan tersebut dengan pendekatan biologis menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* yang merupakan salah satu agen biologis dalam proses dekomposisi bahan organik.

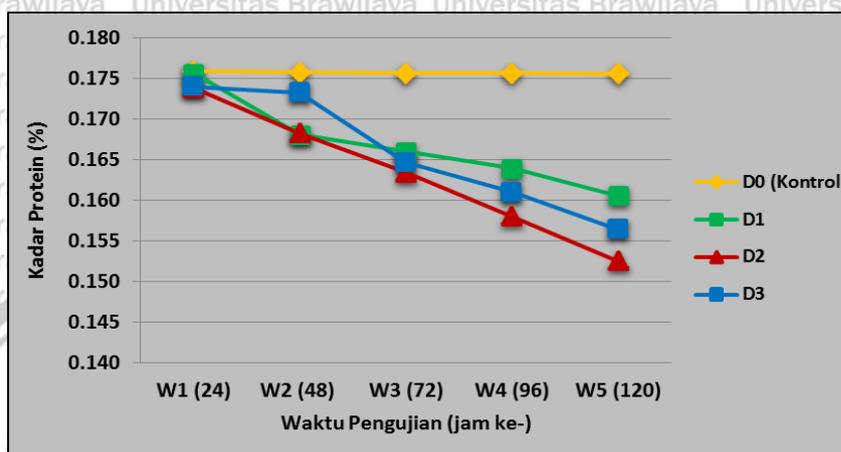
Pada penelitian ini, kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* dalam mereduksi bahan organik limbah dapat diketahui melalui persen efisiensi penurunan konsentrasi pada beberapa parameter berdasarkan pengamatan nilai parameter kadar protein, karbohidrat, lemak dan TOM serta hasil pengamatan terhadap parameter lain yang memiliki kaitan dengan kinerja bakteri, yaitu DO, suhu, dan pH.

5.4.1 Analisis kadar protein

Organisme akuatik umumnya membutuhkan protein yang cukup tinggi dalam pakannya. Namun demikian organisme akuatik hanya dapat meretensi protein sekitar 20-25% dan selebihnya akan terakumulasi dalam air (Stickney, 2005). Metabolisme protein oleh organisme akuatik umumnya menghasilkan amoniak sebagai hasil ekskresi. Pada saat yang sama protein dalam feses dan pakan yang tidak termakan akan diuraikan oleh bakteri menjadi produk yang sama. Bakteri *Bacillus subtilis* memiliki aktivitas proteolitik yakni mampu menghasilkan enzim protease yang disekresikan ke lingkungannya. Enzim proteolitik ekstraseluler ini selanjutnya bekerja menghidrolisis senyawa-senyawa bersifat protein menjadi oligopeptida, peptida rantai pendek dan asam amino.

Keberadaan enzim protease ekstraseluler ini sangat penting bagi kehidupan bakteri karena menyediakan kebutuhan senyawa nitrogen yang dapat diangkut ke dalam sel. Oleh karena itu *Bacillus subtilis* memiliki potensi yang besar untuk digunakan sebagai agen pembersih bahan pencemar yang bersifat

protein. Pakan ikan budidaya kaya akan protein sehingga sisa pakan dan produk ekskresi juga mengandung protein tinggi. Maka keberadaan enzim protease ekstraseluler ini akan merombak senyawa-senyawa protein ini menjadi senyawa sederhana yang langsung dapat digunakan oleh *Bacillus subtilis* sebagai komponen nutrisinya untuk pertumbuhannya.



Gambar 8. Rata-rata fluktuasi konsentrasi protein pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Berdasarkan hasil uji proksimat, diketahui bahwa pada limbah organik budidaya ikan lele mengandung kadar protein sebesar 0,16%. Protein adalah rantai dari asam amino yang saling bergabung melalui ikatan peptida. Ikatan peptida ini dapat putus melalui hidrolisis (dengan penambahan air) dan akan melepaskan energi bebas. Namun pada makhluk hidup, reaksi hidrolisis dapat dipercepat dengan adanya katalis berupa enzim (Herlina *et al.*, 2016). Protein mampu diuraikan oleh bakteri *Bacillus subtilis* dengan memanfaatkan enzim protease yang dihasilkannya. Protease adalah enzim yang dapat mempercepat hidrolisis ikatan peptida pada molekul protein yang menghasilkan peptida atau asam amino. Verschuere *et al.*, (2000) menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* dapat secara langsung menguraikan bahan organik dalam air sehingga dapat meningkatkan kualitas air.

Grafik kandungan protein yang ditampilkan pada Gambar 8 terlihat menurun setiap jam-nya. Hal ini menunjukkan bahwa enzim protease yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* bekerja dalam mengurai protein yang terdapat dalam air limbah. Proses penguraian protein yaitu enzim protease menghidrolisis protein menjadi senyawa polipeptida, oligopeptida dan asam-asam amino (Rahardja *et al.*, 2010). Selanjutnya asam amino mengalami transaminase, deaminasi, dekarboksilasi atau dehidrogenasi menjadi zat lain yang lebih sederhana (Sutanto, 2011). Bakteri *Bacillus subtilis* akan terus bekerja mengurai dan merombak bahan organik kompleks. Hal ini sependapat dengan Kordi dan Tanjung (2007) bahwa selama bahan organik masih ada, selama itu pula proses dekomposisi berlangsung.

Hasil pengukuran awal protein yakni 0,1761%. Konsentrasi penurunan protein yang cukup besar dimulai pada jam ke-48 untuk D2 (10^6 CFU/mL) yaitu 0,1683%, sisa protein 97% dengan efisiensi penurunan 5%, kemudian diikuti oleh D1 (10^7 CFU/mL) yaitu 0,1681%, sisa protein 99% dengan efisiensi penurunan sebesar 4% dan D3 yaitu 0,1733% (10^5 CFU/mL), sisa protein 89% dengan efisiensi penurunan sebesar 2%. Hal ini menunjukkan bahwa proses dekomposisi bahan organik terjadi secara alamiah dalam limbah budidaya ikan, sehingga nilai protein juga menurun selama proses penguraian. Pada jam ke-120, efisiensi penurunan protein tertinggi diperoleh pada D2 (10^6 CFU/mL) sebesar 13% diikuti oleh D3 (10^5 CFU/mL) sebesar 11% dan D1 (10^7 CFU/mL) sebesar 9% dan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu perlakuan, maka akan semakin besar juga penurunan konsentrasi protein, akan tetapi penurunan konsentrasi protein pada jam ke-96 cenderung stasioner yang berarti berlanjut pada fase kematian bakteri. Pada saat itu penguraian bahan organik berlangsung lambat akibat *Bacillus subtilis* mengalami kejenuhan nutrisi.

Bertambahnya waktu interaksi antara kepadatan bakteri dan waktu pengujian pada proses bioremediasi mengakibatkan konsentrasi protein semakin menurun karena lokasi interaksi antara bakteri *Bacillus subtilis* dan limbah organik tersedia cukup banyak, sehingga interaksi berlangsung dengan baik. Pada Gambar 8 terlihat perlakuan terbaik dalam menurunkan konsentrasi protein yaitu pada perlakuan D2 (10^6 CFU/mL) dengan penurunan hingga konsentrasi protein 0,1526% (sisa 87%) dengan efisiensi penurunan sebesar 13% pada jam ke-120. Berdasarkan analisis statistik Anova dengan taraf signifikansi 5%, perlakuan perbedaan kepadatan bakteri dan waktu pengujian berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar protein. Pengamatan protein pada seluruh perlakuan mengalami penurunan sejak jam ke-24, selanjutnya mengalami kondisi yang relatif sama pada jam ke-48, ke-72, ke-96 dan ke-120. Penurunan kadar protein terjadi pada seluruh perlakuan, dengan nilai terbaik pada perlakuan W5D2, yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 dengan sisa protein sebesar 87%.

Berdasarkan hasil uji Anova, diketahui untuk faktor dosis kepadatan *Bacillus subtilis*, karena nilai F-hitung $>$ F-tabel ($54,33 > 2,69$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi faktor A (pemberian dosis *Bacillus subtilis* yang berbeda) mempengaruhi nilai protein. Sedangkan pada faktor waktu pengujian, F-hitung $>$ F-tabel ($6,25 > 3,32$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi Faktor B (waktu pengujian yang berbeda) mempengaruhi nilai protein. Interaksi kedua faktor (dosis dan waktu pengujian) yakni F-hitung $>$ F-tabel ($38,52 > 2,27$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi secara umum perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit perlakuan lebih besar dari nilai F-tabel 5%. Hasil perhitungan pengaruh perlakuan dosis kepadatan *Bacillus subtilis* dan waktu

pengujian terhadap kadar protein limbah budidaya ikan lele diketahui dengan uji Anova yang dapat dilihat pada Lampiran 2.

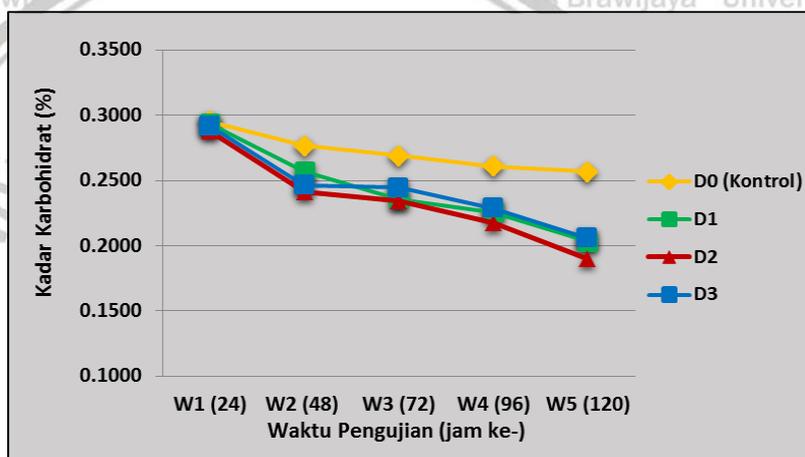
5.4.2 Analisis kadar karbohidrat

Pakan ikan yang menggunakan komponen nabati sebagai bahan baku pakan seperti tepung kedelai, katul dan juga bahan perekat seperti CMC mengandung karbohidrat dalam jumlah yang cukup besar (Setyati dan Subagiyo, 2012). Komponen karbohidrat diantaranya adalah amilum dan selulosa. Amilum lebih mudah dicerna daripada selulosa. Amilum dicerna oleh enzim amilase. Bakteri *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler. Enzim ini dibutuhkan untuk merombak amilum yang terdapat dalam sisa pakan. Sedangkan selulosa bersifat tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan ikan lele, sehingga dikeluarkan kembali dalam bentuk feses. Perombakan selulosa di lingkungan diperlukan enzim selulosa.

Kelompok bakteri *Bacillus* sp. telah lama diketahui mampu mensekresi sejumlah protein terlarut yang berbeda-beda ke medium ekstraseluler (ke lingkungan). Salah satu protein (enzim) utama yang dimiliki oleh kelompok ini adalah amilase. Substrat utama dari enzim ini adalah pati yang nantinya dihidrolisis (dipecah) menjadi oligosakarida yang lebih sederhana (Meryandini, 2009). Pada penelitian ini, proses degradasi karbohidrat pada bahan organik dilakukan dengan cara penambahan bakteri *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat digunakan untuk mendegradasi bahan organik seperti karbohidrat (Safitri *et al.*, 2015).

Hasil pengukuran awal karbohidrat yakni 0.297%. Berdasarkan Gambar 9 penurunan karbohidrat jam ke-24 untuk D2 (10^6 CFU/mL) yaitu 0,2880% dengan efisiensi penurunan 3%, kemudian diikuti oleh D3 (10^5 CFU/mL) sebesar 2% dan D1 (10^7 CFU/mL) sebesar 1%. Hal ini menunjukkan bahwa proses dekomposisi

bahan organik terjadi secara alamiah dalam limbah budidaya ikan, sehingga nilai karbohidrat juga menurun selama proses penguraian. Pada jam ke-120, penurunan karbohidrat terendah diperoleh pada D2 (10^6 CFU/mL) sebesar 63,91%, diikuti oleh D1 (10^7 CFU/mL) sebesar 68,48 % dan D3 (10^5 CFU/mL) sebesar 69,35 %. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu perlakuan, maka akan semakin besar juga penurunan konsentrasi karbohidrat, akan tetapi penurunan konsentrasi karbohidrat pada jam ke-96 cenderung stasioner yang berarti berlanjut pada fase kematian bakteri. Pada saat itu penguraian bahan organik berlangsung lambat akibat *Bacillus subtilis* mengalami kejenuhan nutrisi.



Gambar 9. Rata-rata fluktuasi konsentrasi karbohidrat pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Konsentrasi karbohidrat pada perlakuan D3 jam ke-48 mengalami penurunan hingga 0,2456% dengan efisiensi penurunan sebesar 17%, dimana lebih besar nilai efisiensinya dibandingkan dengan D1 dan D2. Hal ini menunjukkan bahwa bertambahnya waktu kontak dan kepadatan bakteri lebih tinggi dalam proses bioremediasi mengakibatkan konsentrasi karbohidrat semakin menurun karena tempat kontak antara bakteri *Bacillus subtilis* dan limbah budidaya ikan lele tersedia cukup banyak, sehingga interaksi berlangsung dengan baik. Perlakuan terbaik dalam menurunkan konsentrasi karbohidrat yaitu

pada perlakuan D2 (10^6 CFU/mL) dengan penurunan hingga karbohidrat 0,1898% dengan efisiensi penurunan sebesar 36% pada jam ke-120.

Berdasarkan analisis statistik Anova dengan taraf signifikansi 5%, perlakuan perbedaan kepadatan bakteri dan waktu pengujian berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar karbohidrat.

Pengamatan karbohidrat pada seluruh perlakuan mengalami penurunan sejak jam ke-24, selanjutnya mengalami kondisi yang relatif sama pada jam ke-48, ke-72, ke-96 dan ke-120. Penurunan kadar karbohidrat terjadi pada

seluruh perlakuan, dengan nilai terbaik pada perlakuan W5D2, yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 dengan konsentrasi karbohidrat sebesar 0,1898% (tersisa 63,91%). Berdasarkan hasil uji Anova, faktor dosis kepadatan *Bacillus subtilis* memiliki nilai F-hitung $>$ F-tabel ($3574,53 > 2,69$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi faktor A (pemberian dosis *Bacillus subtilis* yang berbeda) mempengaruhi nilai karbohidrat. Sedangkan pada faktor waktu pengujian, F-hitung $>$ F-tabel ($135,72 > 3,32$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi Faktor B (waktu pengujian yang berbeda) mempengaruhi nilai karbohidrat.

Interaksi kedua faktor (dosis dan waktu pengujian) yakni F-hitung $>$ F-tabel ($20,46 > 2,27$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi secara umum perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit perlakuan lebih besar dari nilai F-tabel 5%.

Hubungan antara kepadatan bakteri *Bacillus subtilis* dan waktu pengujian berpengaruh terhadap perubahan nilai karbohidrat (Sig. = $0,000 < \alpha = 0,05$) yang menyatakan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji lanjut yakni uji Duncan's. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa semua perlakuan kepadatan bakteri (10^7 , 10^6 dan 10^5 CFU/mL) menunjukkan

perbedaan bahwa kepadatan 10^6 CFU/mL memiliki perbedaan yang signifikan terhadap nilai kepadatan bakteri yang lain, namun perlakuan kepadatan bakteri 10^7 CFU/mL dan 10^5 CFU/mL menunjukkan hasil bahwa tidak memiliki beda nyata terhadap nilai kepadatan 10^6 CFU/mL. Sedangkan untuk perlakuan waktu pengujian (24, 48, 72, 96 dan 120 jam) menunjukkan perbedaan yang nyata ditunjukkan oleh terbentuknya 3 subset. Hasil perhitungan pengaruh perlakuan dosis kepadatan *Bacillus subtilis* dan waktu pengujian terhadap kadar karbohidrat limbah budidaya ikan lele diketahui dengan uji Anova dan Uji lanjut Duncan's dapat dilihat pada Lampiran 3.

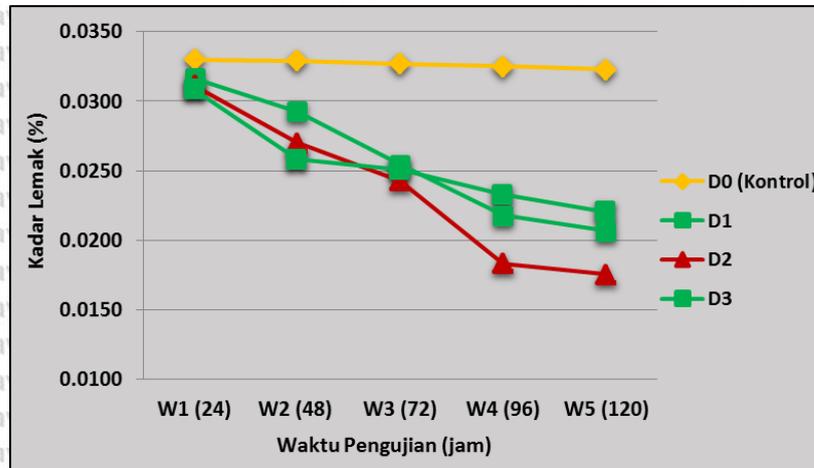
5.4.3 Analisis kadar lemak

Proses degradasi lemak pada bahan organik dilakukan dengan cara penambahan bakteri *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat digunakan untuk mendegradasi bahan organik seperti lemak. Kandungan lemak pada media air pembenihan ikan lele dumbo mengalami penurunan dikarenakan pendegradasian lemak oleh bakteri lipolitik.

Bakteri lipolitik merupakan bakteri penghasil lipase. Lipase merupakan enzim yang mampu mengkatalis reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol (Gupta *et al.*, 2003). Enzim lipase berfungsi mengkatalis trigliserida menjadi digliserida dan asam lemak.

Bacillus subtilis memiliki kemampuan dalam mendegradasi lemak tertinggi, yaitu konsentrasi lemak turun hingga 0,0176 mg/L (tersisa 53%) pada pengujian jam ke-120 dengan dosis bakteri 10^6 mg/L. Kadar lemak dalam sampel air telah memenuhi baku mutu sesuai PP No 82 Tahun 2001 untuk air kelas II sebesar 1 mg/L. Kenyataan ini membuktikan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dengan dosis bakteri 10^6 mg/L memiliki potensi degradasi lemak yang lebih

efektif, jika dibandingkan dengan dosis bakteri lainnya, dan waktu degradasi paling efektif adalah jam ke-120.



Gambar 10. Rata-rata fluktuasi konsentrasi lemak pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Gambar 10 menunjukkan penurunan kadar lemak yang terjadi karena pemanfaatan lemak sebagai substrat oleh bakteri *Bacillus subtilis* yang mampu menghasilkan enzim lipase yang dapat berperan menurunkan kadar minyak dan lemak (Cordova, 2000). Pengujian terhadap aktivitas enzim lipase ekstraseluler dari bakteri menunjukkan bahwa enzim tersebut mampu menguraikan trigliserida menjadi asam lemak bebas. Hasil pengukuran awal lemak yakni 0,0334%.

Berbeda dengan konsentrasi protein dan karbohidrat, konsentrasi penurunan lemak pada jam ke-24 lebih besar dimulai pada D3 (10^5 CFU/mL) yaitu 0,0308% dengan efisiensi penurunan 8%, kemudian diikuti oleh D2 (10^6 CFU/mL) yaitu 0,0311% dengan efisiensi penurunan sebesar 7% dan D1 yaitu 0,0317% (10^7 CFU/mL) dengan efisiensi penurunan sebesar 5%. Hal ini menunjukkan bahwa proses dekomposisi bahan organik terjadi secara alamiah dalam limbah budidaya ikan, sehingga nilai lemak juga menurun selama proses penguraian.

Pada jam ke-120, sisa lemak pada dosis D2 (10^6 CFU/mL) sebesar 52,69% dengan efisiensi penurunan 47%, diikuti oleh D1 (10^7 CFU/mL) sisa lemak 61,88% dengan efisiensi penurunan sebesar 38% dan D3 (10^5 CFU/mL) sisa lemak 66,07% dengan efisiensi penurunan sebesar 34%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu perlakuan, maka akan semakin besar juga penurunan konsentrasi lemak, akan tetapi penurunan konsentrasi lemak pada jam ke-96 cenderung stasioner yang berarti berlanjut pada fase kematian bakteri. Pada saat itu penguraian bahan organik berlangsung lambat akibat *Bacillus subtilis* mengalami kejenuhan nutrien. Bertambahnya waktu kontak dan kepadatan bakteri lebih tinggi dalam proses bioremediasi mengakibatkan konsentrasi lemak semakin menurun karena tempat kontak antara bakteri *Bacillus subtilis* dan limbah budidaya ikan lele tersedia cukup banyak, sehingga interaksi berlangsung dengan baik.

Perlakuan terbaik dalam menurunkan konsentrasi lemak yaitu pada perlakuan D2 (10^6 CFU/mL) dengan penurunan hingga konsentrasi lemak 0,0176% dengan efisiensi penurunan sebesar 47% pada jam ke-120. Selain itu konsentrasi lemak menurun dengan cepat pada jam ke-72, dimana efisiensi penurunan pada jam tersebut lebih tinggi dibandingkan dosis lainnya. Berdasarkan analisis statistik Anova dengan taraf signifikansi 5%, perlakuan perbedaan kepadatan bakteri dan waktu pengujian berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar lemak. Pengamatan lemak pada seluruh perlakuan mengalami penurunan sejak jam ke-24, selanjutnya mengalami kondisi yang relatif sama pada jam ke-48, ke-72, ke-96 dan ke-120. Penurunan kadar lemak terjadi pada seluruh perlakuan, dengan nilai terbaik pada perlakuan W5D2, yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 dengan konsentrasi lemak sebesar 0,0176%.

Berdasarkan uji Anova, faktor dosis kepadatan *Bacillus subtilis* memiliki nilai F-hitung > F-tabel ($146,75 > 2,69$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi faktor A (pemberian dosis *Bacillus subtilis* yang berbeda) mempengaruhi nilai lemak. Sedangkan pada faktor waktu pengujian, F-hitung > F-tabel ($14,85 > 3,32$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi Faktor B (waktu pengujian yang berbeda) mempengaruhi nilai lemak. Interaksi kedua faktor (dosis dan waktu pengujian) yakni F-hitung > F-tabel ($5,32 > 2,27$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi secara umum perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit perlakuan lebih besar dari nilai F-tabel 5%. Hasil perhitungan pengaruh perlakuan dosis kepadatan *Bacillus subtilis* dan waktu pengujian terhadap kadar lemak limbah budidaya ikan lele diketahui dengan uji Anova yang dapat dilihat pada Lampiran 4.

5.5 Bioremediasi TOM oleh *Bacillus subtilis*

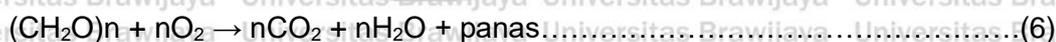
Konsentrasi total bahan organik yang melebihi baku mutu di suatu perairan yaitu berkisar antara 0,01 – 30 mg/L (Afu, 2005) dapat menyebabkan perairan tersebut berpotensi terjadinya pencemaran bahan organik, sehingga perlu upaya pencegahan terjadinya pencemaran. Bioremediasi merupakan proses yang memanfaatkan makhluk hidup (organisme) untuk melakukan dekomposisi bahan organik. Bioremediasi memungkinkan terciptanya kondisi lingkungan yang dirancang sedemikian rupa, sehingga tercipta suasana yang kondusif bagi terselenggaranya interaksi pada bakteri, sehingga bakteri memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa pencemar menjadi tidak toksik.

Penguraian bahan organik adalah proses alami yang dilakukan oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Proses ini dapat terjadi jika air mengandung oksigen yang cukup. Pada Gambar 11 menunjukkan penurunan nilai TOM, dimana TOM

menggambarkan kandungan bahan organik total suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi dan koloid. Penurunan nilai TOM terjadi karena adanya menurunnya jumlah bahan organik dan menurunnya jumlah bakteri *Bacillus subtilis* yang menguraikan bahan organik dalam limbah menjadi CO₂ dan amoniak karena kekurangan bahan organik sebagai sumber substrat. Menurut Mahida (1984) hancurnya bahan organik menjadi CO₂ dan amoniak oleh aktivitas bakteri yang terjadi pada tahap awal akan mengakibatkan penurunan nilai oksigen terlarut, sehingga nilai TOM tinggi. Adanya aktivitas bakteri terus menerus menyebabkan kadar oksigen terlarut berkurang hingga mencapai tingkat paling rendah. Menurunnya populasi bakteri karena penurunan oksigen terlarut dalam air limbah mengakibatkan penurunan proses penguraian bahan organik yang ditunjukkan dengan penurunan TOM.

Bahan organik dalam air limbah budidaya diuraikan oleh bakteri menjadi karbondioksida, amoniak dan untuk pembentukan sel baru serta hasil lain yang berupa lumpur (sludge). Bakteri juga perlu respirasi dan melakukan sintesa untuk kelangsungan hidupnya. Menurut Winarno dan Fardiaz (1974) berkurangnya oksigen pada umumnya digunakan untuk oksidasi bahan organik, sintesa sel dan oksidasi sel dari mikroorganisme. Secara sederhana reaksi-reaksi yang mengkonsumsi oksigen adalah sebagai berikut:

Oksidasi bahan organik:



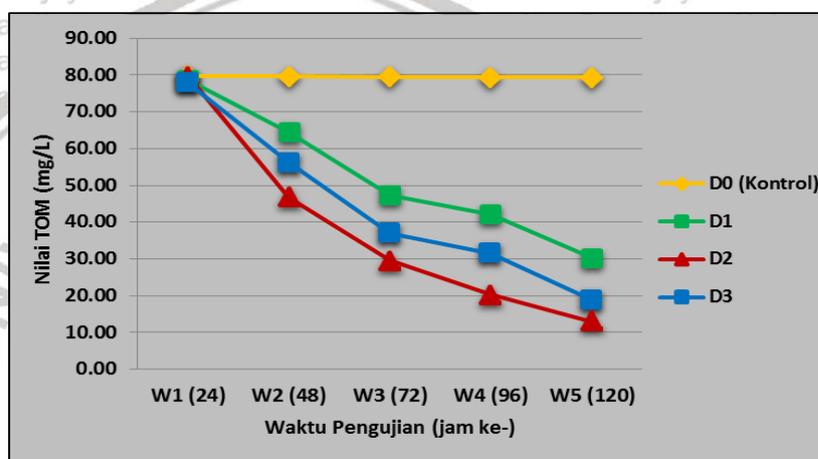
Sintesa sel:



Oksidasi sel:



Hasil pengukuran awal TOM yakni 80,26 mg/L masih melebihi ambang batas baku mutu yang telah ditetapkan oleh Keputusan Menteri Negara Kependudukan dan Lingkungan Hidup Nomor 2 Tahun 1988 tentang Baku Mutu Air Limbah, yaitu sebesar 80 mg/L. Berdasarkan Gambar 11 penurunan TOM awal jam ke-48 untuk D2 (10^6 CFU/mL) yaitu 46,77 mg/L dengan efisiensi penurunan 42%. Hal ini menunjukkan bahwa proses dekomposisi bahan organik terjadi secara alamiah dalam limbah budidaya ikan, sehingga nilai TOM juga menurun selama proses penguraian.



Gambar 11. Rata-rata fluktuasi konsentrasi TOM pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Sama halnya dengan awal jam ke-48, D2 (10^6 CFU/mL) pada jam ke-72 juga mengalami penurunan konsentrasi TOM yaitu 29,49 mg/L dengan efisiensi penurunan 63%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu perlakuan, maka akan semakin besar juga penurunan konsentrasi TOM, akan tetapi penurunan konsentrasi TOM pada akhir jam ke-96 sampai dengan awal jam ke-120 cenderung stasioner yang berarti berlanjut pada fase kematian bakteri. Pada saat itu penguraian bahan organik berlangsung lambat akibat bakteri mengalami kejenuhan nutrisi.

Menurut Effendi (2003), dekomposisi bahan organik pada dasarnya terjadi melalui dua tahapan. Tahap pertama bahan organik diuraikan menjadi bahan anorganik, sedangkan tahap kedua bahan anorganik yang tidak stabil dioksidasi menjadi bahan anorganik yang stabil, misalnya amoniak menjadi nitrit dan nitrat (Nitrifikasi). Pada penentuan nilai TOM, yang berperan hanya tahap pertama sedangkan tahap kedua yaitu oksidasi bahan anorganik dianggap mengganggu karena proses oksidasi amoniak juga memerlukan oksigen. Kondisi ini diperkuat dengan efisiensi penurunan TOM pada perlakuan D3 (10^5 CFU/mL) pada akhir jam ke-96 sampai dengan awal jam ke-120 hanya 76% dan juga pH pada limbah budidaya mengalami peningkatan yaitu 6,97 serta menimbulkan bau busuk oleh gas amoniak. Adanya peningkatan pH serta ditandai dengan adanya bau gas amoniak tersebut menunjukkan bahwa proses yang berlangsung merupakan oksidasi amoniak yang dianggap sebagai mengganggu.

Konsentrasi perlakuan D2 pada jam ke-120 mengalami penurunan hingga 13,03 mg/L dengan efisiensi penurunan TOM sebesar 83,8%, dimana lebih besar nilai efisiensinya dibandingkan dengan D1 dan D2. Hal ini menunjukkan bahwa bertambahnya waktu kontak dan kepadatan bakteri lebih tinggi dalam proses bioremediasi mengakibatkan konsentrasi TOM semakin menurun karena tempat kontak antara bakteri *Bacillus subtilis* dan limbah budidaya ikan lele tersedia cukup banyak, sehingga interaksi berlangsung dengan baik. Perlakuan terbaik dalam menurunkan konsentrasi TOM yaitu pada perlakuan D2 (10^6 CFU/mL) dengan penurunan hingga TOM tersisa 16,2% (13,03 mg/L) pada jam ke-120.

Berdasarkan analisis statistik Anova dengan taraf signifikansi 5 %, perlakuan perbedaan kepadatan bakteri dan waktu pengujian berpengaruh signifikan terhadap perubahan parameter TOM.

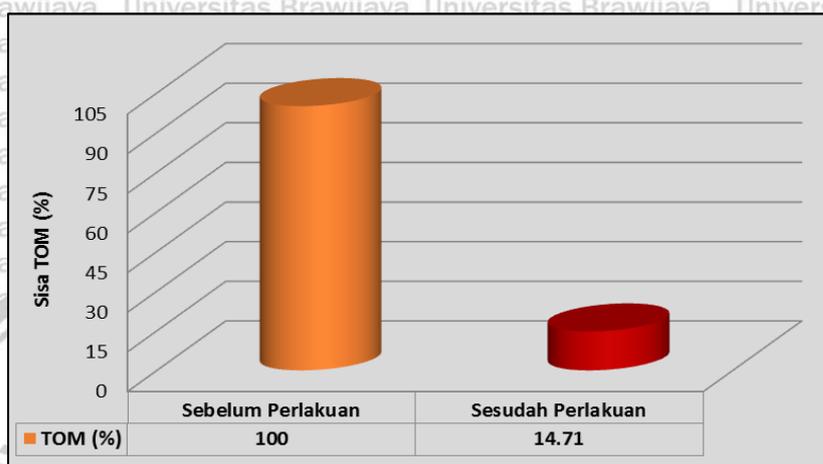
Pengamatan parameter kualitas air *Total Organic Matter* (TOM) pada seluruh perlakuan mengalami penurunan pada jam ke-48, selanjutnya mengalami kondisi yang relatif sama pada jam ke-72, ke-96 dan ke-120.

Penurunan kadar TOM terjadi pada seluruh perlakuan, dengan nilai terbaik pada perlakuan W5D2, yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 dengan sisa TOM sebesar 16,2 %.

Konsentrasi TOM menurun dengan cepat pada jam ke-48, dimana hal ini menunjukkan bahwa terjadi degradasi bahan organik pada air limbah budidaya oleh *Bacillus subtilis*. Pada awal penelitian kadar TOM sebesar 80,26 mg/L kemudian mengalami penurunan pada hampir seluruh perlakuan hingga pada pengamatan jam ke-120. Dari hasil perhitungan diketahui untuk faktor dosis kepadatan *Bacillus subtilis*, karena nilai F-hitung $>$ F-tabel ($388.53 > 2.84$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi faktor A (pemberian dosis *Bacillus subtilis* yang berbeda) mempengaruhi nilai TOM. Sedangkan pada faktor waktu pengujian, F-hitung $>$ F-tabel ($274.95 > 2.61$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi Faktor B (waktu pengujian yang berbeda) mempengaruhi nilai TOM. Interaksi kedua faktor (dosis dan waktu pengujian) yakni F-hitung $>$ F-tabel ($140.13 > 1.85$), maka H_0 ditolak dan menerima H_1 , jadi secara umum perlakuan pemberian *Bacillus subtilis* dengan dosis dan waktu pengujian yang berbeda menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit perlakuan lebih besar dari nilai F-tabel 5%. Hasil perhitungan pengaruh perlakuan dosis kepadatan *Bacillus subtilis* dan waktu pengujian terhadap kadar TOM limbah budidaya ikan lele diketahui dengan uji ANOVA yang dapat dilihat pada Lampiran 5.

Uji efektifitas bioremediasi dari dosis bakteri terbaik yakni dosis *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120 kemudian diaplikasikan pada media pemeliharaan ikan lele di UPT PTPB Kepanjen. Berdasarkan hasil pengujian

tersebut diketahui pengujian TOM awal di kolam budidaya ikan lele adalah 86,58 mg/L, namun setelah diaplikasikan dengan dosis terbaik hasil uji in vitro konsentrasi TOM menurun hingga 12,74 mg/L dengan efisiensi penurunan sebesar 85,29%, sehingga sisa TOM adalah 14,71%. Konsentrasi penurunan nilai TOM di kolam budidaya ikan lele dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Konsentrasi penurunan TOM dengan dosis terbaik

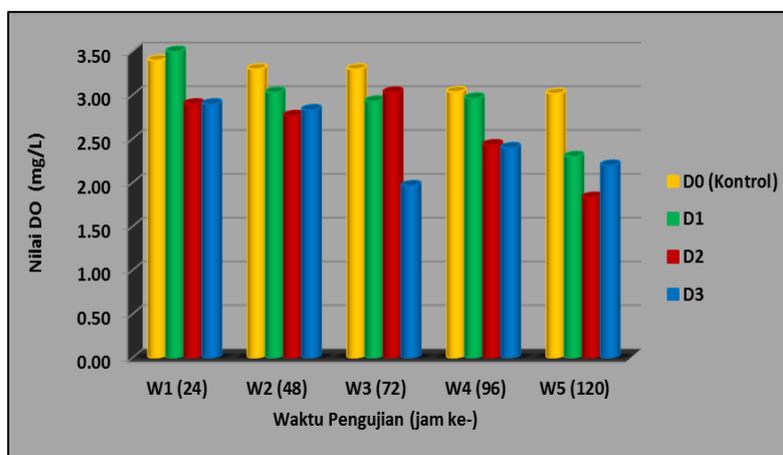
5.6 Parameter kualitas air

Kualitas air merupakan faktor pembatas dalam pertumbuhan ikan budidaya termasuk lele. Sekalipun ikan lele dapat hidup pada kualitas air yang buruk, hal tersebut dapat menjadi sumber penyakit yang dapat menginfeksi ikan. Kualitas air harus dipertahankan pada kisaran optimal sehingga pertumbuhan lele dapat dipacu.

5.6.1 Oksigen terlarut (DO/ *Dissolved Oxygen*)

Oksigen terlarut memegang peran penting dalam proses budidaya intensif yang memanfaatkan teknologi bioremediasi. Hal ini dikarenakan aktifitas mikroorganisme pendekomposisi bahan organik memerlukan cukup oksigen. Bahan organik tersebut mengandung protein, karbohidrat dan lemak yang mudah diuraikan oleh mikroorganisme pengurai. Pernyataan ini didukung pula oleh kondisi parameter oksigen terlarut yang terukur pada saat penelitian. Hampir

sebagian besar DO yang terukur selama penelitian yaitu < 5 mg/L. Hal ini menandakan bahwa kebutuhan oksigen mikroorganisme pengurai dalam menguraikan bahan organik cukup tinggi.



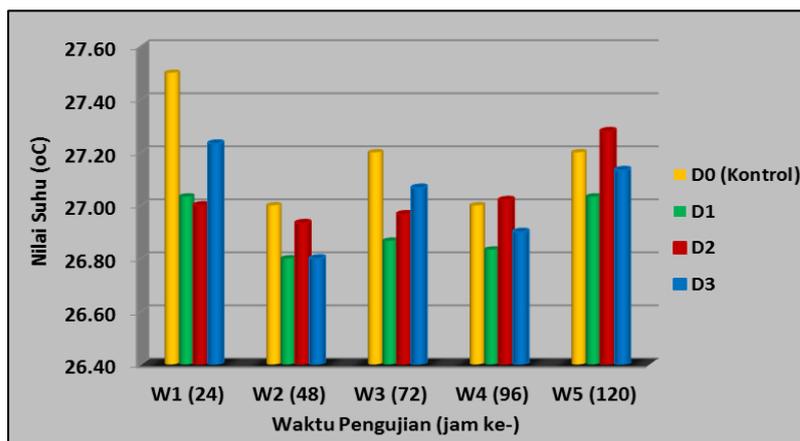
Gambar 13. Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai oksigen terlarut pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Menurut Stickney (2005), konsentrasi oksigen yang baik untuk ikan lele tidak boleh kurang dari 3 mg/l. Oksigen yang rendah umumnya diikuti dengan meningkatnya amoniak dan karbondioksida di air yang menyebabkan proses nitrifikasi menjadi terhambat. Selanjutnya Effendi (2003) menjelaskan penghilangan oksigen pada bagian dasar perairan lebih banyak disebabkan proses dekomposisi bahan organik yang membutuhkan oksigen terlarut.

Ditambahkan Susana (2009), bahwa tingginya kandungan TOM dapat menyebabkan rendahnya kandungan oksigen terlarut dalam perairan. Hal ini terbukti dari hasil penelitian oksigen terlarut berada pada 1,83 – 3,50 mg/L, dimana nilai ini berada dibawah ambang batas yang ditetapkan yakni >5 mg/L (SNI 01-6483.4-2000). Rendahnya nilai oksigen terlarut disebabkan terjadi proses oksidasi yang dalam reaksinya menggunakan sejumlah besar oksigen.

5.6.2 Suhu Air

Suhu air selama perlakuan menunjukkan angka rata-rata 27 – 28°C. Hal ini sesuai dengan pendapat Kordi dan Tancung (2007) bahwa pertumbuhan optimal lele pada suhu 27 – 30°C. Suhu air dapat mempengaruhi kehidupan air secara tidak langsung yaitu melalui pengaruhnya terhadap kelarutan oksigen dalam air. Semakin tinggi suhu air, semakin rendah daya larut oksigen di dalam air. Semakin tinggi suhu air semakin tinggi pula laju metabolisme biota budidaya yang berarti semakin besar konsumsi oksigennya. Hubungan antara suhu terhadap TOM berbanding terbalik, yaitu setiap parameter suhu naik, terlihat bahwa nilai TOM akan turun begitu juga sebaliknya pada saat nilai pH dan DO turun maka nilai TOM juga akan naik.

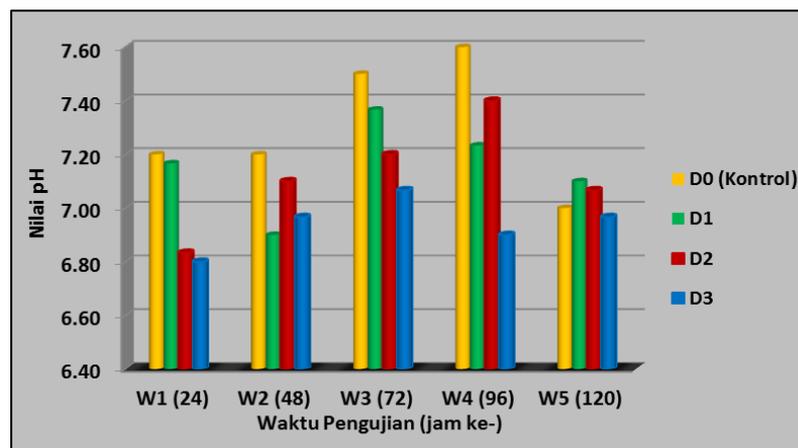


Gambar 14. Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai suhu pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

5.6.3 pH Air

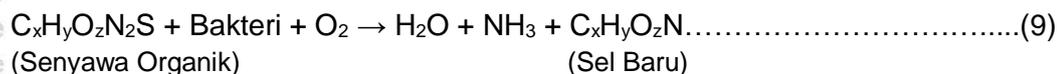
Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bakteri di dalam media penguraian bahan organik adalah pH. pH optimum untuk proses penguraian bahan organik menurut Sutanto (2002) antara 5-8. Hasil pengukuran awal pada penelitian ini pH limbah budidaya yaitu 7,2. Berdasarkan Gambar 15 nilai pH di setiap perlakuan pada limbah budidaya ikan lele mengalami peningkatan selama

proses penguraian terjadi oleh bakteri *Bacillus subtilis*. Kenaikan pH dari asam hingga netral pada limbah budidaya lele, diperkirakan oleh aktivitas *Bacillus subtilis*. Proses penguraian berjalan sempurna apabila nilai pH mendekati 7. Adapun salah satu ciri dari penguraian bahan organik ini antara lain menghasilkan gas berbau seperti amoniak (NH_3) (Fitria, 2008).



Gambar 15. Rata-rata fluktuasi konsentrasi nilai pH pada perlakuan bakteri dosis D1 (10^7 CFU/mL), D2 (10^6 CFU/mL) dan D3 (10^5 CFU/mL) pada jam ke-24, 48, 72, 96 dan jam ke-120

Mekanisme bakteri pada proses dekomposisi bahan organik yang terdapat pada limbah budidaya ikan lele dapat dilihat pada reaksi sebagai berikut (Effendi, 2003):



Berdasarkan persamaan reaksi tersebut, lingkungan yang bersifat basa karena terbentuk amoniak, apabila reaksi yang terbentuk berupa NH_4^+ , maka lingkungan bersifat asam (Effendi, 2003). Menurunnya nilai TOM ternyata seiring pula dengan naiknya nilai pH, karena berkurangnya sejumlah ion H^+ yang dihasilkan dari proses oksidasi, sehingga nilai pH tidak turun. Hal ini terbukti dari hasil pengukuran pH selama penelitian menghasilkan nilai pH hampir mendekati

7 yaitu sebesar 6,8 – 7,6. Nilai pH dari masing-masing perlakuan masih berada pada ambang batas yang ditetapkan yaitu 6,5 – 8,5 (SNI 01-6483.4-2000).

Proses biokimiawi perairan seperti nitrifikasi sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Proses nitrifikasi akan berakhir jika pH bersifat asam. Pada pH 4,5–5,5 proses nitrifikasi akan terhambat (Novotny dan Olem, 1994). Selanjutnya Effendi (2003) menjelaskan bakteri pada umumnya tumbuh dengan baik pada pH netral dan alkalis. Oleh karena itu proses dekomposisi bahan organik berlangsung lebih cepat pada kondisi pH netral dan alkalis. Jika dalam suatu perairan terdapat bahan organik yang tinggi, maka hasil dekomposisi bahan organik tersebut diantaranya adalah karbondioksida. Dalam karbondioksida ini akan membentuk asam karbonat (Moss, 1993), keadaan ini juga bisa terjadi jika 1% dari karbondioksida bereaksi dengan air sehingga membentuk asam karbonat (Cole, 1988). Pada pembentukan asam karbonat tersebut akan dihasilkan ion hidrogen yang mengakibatkan pH perairan menurun.



BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Seluruh perlakuan dosis bakteri dan waktu pengujian dapat menurunkan bahan organik pada limbah budidaya ikan lele. Perlakuan terbaik ditemui pada dosis bakteri *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120, dimana mampu menurunkan kadar protein hingga 0,1526%, kadar karbohidrat turun hingga 0,1898% dan kadar lemak turun hingga 0,0176%.
2. Bakteri *Bacillus subtilis* sebagai agen bioremediasi mampu menurunkan kadar TOM pada uji *in vitro* dari 80,26 mg/L hingga 13,03 mg/L dengan efisiensi penurunan sebesar 83,8%. Perlakuan terbaik ditemui pada dosis bakteri *Bacillus subtilis* 10^6 CFU/mL pada jam ke-120. Pada uji *in vivo* di UPT Kepanjen, nilai TOM juga mengalami penurunan dari 86,58 mg/L turun hingga 12,74 mg/L dengan efisiensi penurunan sebesar 85,29%. Kondisi Air Limbah setelah perlakuan sesuai dengan Baku Mutu Kualitas Air UU No. 82 Tahun 2001 yakni TOM kurang dari 80 mg/L.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Sebaiknya dalam proses bioremediasi menggunakan lebih dari satu jenis bakteri (konsorsium) agar efisiensi penurunan bahan organik pada air limbah budidaya ikan lele dapat berlangsung lebih cepat dan optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Rukaesih. 2004. *Kimia Lingkungan*. Andi Publisher. Jakarta.
- Afu, La Ode Alirman. 2005. *Pengaruh Limbah Organik terhadap Kualitas Perairan Teluk Kendari Sulawesi Tenggara*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Andriani, R.D., Akeprathumchai, S., Laoteng, K., Poomputsa, K., Mekvichitsaeng, P. 2013. *Utilization of Pineapple Juice Base Growth Medium for Lipid Production by Xanthophyllomyces dendrorhous*. Jurnal Teknologi Pertanian Vol 14, No 3 (2013). Publisher: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
- Anggraeni PN. 2014. *Potensi Konsorsium Mikroba dalam Meningkatkan Efektivitas Proses Pengelolaan Limbah Cair Bir*. [Thesis]. Denpasar (ID): Universitas Udayana.
- Aini, F.N., S. Sukamto, D. Wahyuni, R.G Suhesti, dan Q. Ayyunin. 2013. *Penghambatan pertumbuhan Colletotrichum gloeosporioides oleh Trichoderma harzianum, Trichoderma koningii, Bacillus subtilis dan Pseudomonas fluorescens*. Jurnal Pelita Perkebunan 29(1).
- Arfiati, D., Putra, C.D.G., Tullah, A.H., Permanasari, S.W.A., dan Puspitasari, A.W. 2018. *The Dynamics of Total Organic Matter (TOM) on Sangkuriang Catfish Farming at UPT PTPBP2KP and the Effectiveness of Freshwater Bivalve (Anodonta woodiana) in Reducing the Total Organic Matter with Varying Density*. Incofims-2018, Surabaya.
- Astuti, Y.W., Lestanto, U.W., dan Iman, B. 2013. *Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat Dan Bakteri Penambat Nitrogen terhadap Pertumbuhan Tanaman Tomat pada Tanah Masam*. Univ. Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Avivi, S., I.S Suyani, S. Winarco. 2010. *Efek Bakteri Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Aspergillus flavus Pada Perkecambahan Kacang Tanah*. Jurnal HPT Tropika 10(1): 64-72. ISSN 1411-7525.
- Avnimelech Y., Noam Mozes, and Shaher Diab. 1995. *Rates of Organic Carbon and Nitrogen Degradation in Intensive Fish Ponds*. Aquaculture 134 211-216.
- Avnimelech, Y. and Kochba M. 2009. *Evaluation of Nitrogen Uptake And excretion by Tilapia in Biofloc Tanks, Using 15N Tracing*. Aquaculture 287:163-168.
- Badjoeri M., dan T. Widiyanto. 2008. *Penggunaan Bakteri Nitrifikasi Untuk Bioremediasi dan Pengaruhnya Terhadap Konsentrasi Amonia dan Nitrit di Tambak Udang*. Oseanologi dan Limnologi. Pusat Penelitian Limnologi – LIPI. 34 (2) : 261-276.

- Bairagi, A., K. Ghosh, S. Kumarsen, dan A. K. Ray. 2002. *Enzyme Producing Bacterial Flora Isolated From Fish Digestive Tracts*. *Aquaculture International*. 10: 109-121.
- Boyd, C.E. 1988. *Water Quality in Warmwater Fish Pond*. Fourth Printing. Auburn University Agricultural Experiment Station. Alabama, USA.
- Boyd C.E. 1990. *Water Quality Management in Aquaculture and Fisheries Science*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company. 3125p.
- Budiyanto, M. A. K. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. Universitas Muhammadiyah Press. Malang
- Burdass D., J. Grainger and J. Hurst., 2006. *Basic Pratical Microbiology A Manual*. E-Book. Society for General Microbiology (SGM). UK.
- Chubukov, Victor A. and Sauer, Uwe. 2014. *Environmental dependence of stationary-phase metabolism in Bacillus subtilis and Escherichia coli*. Published in *Applied and environmental microbiology* 2014. DOI:10.1128/AEM.00061-14
- Cole, G.A. 1988. *Textbook of Limnology*. Third Edition. Waveland Press, Inc., Illinois, USA. pp: 401.
- Cordova, J. 2000. *The World Congress on Biotechnology 11th. International Biotechnology Symposium and Exhibition*. *Biotechnology* Vol. 3 Unpublished. Berlin.
- Connel, D.W and G.J Miller. 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran* (Terjemahan Yanti Koestoer). Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Cowan dan Steel's. 1973. *Manual for Identification of Medical Bacteria*. Second Ed. Cambridge Univ. Press.
- Craigh S. and Helfrich LA. 2002. *Understanding Fish Nutrition, Feeds and Feeding*, *Viginia Coperative Extension Service*. Pub. 420-256: 1-4.
- Darmawan, W. P. J. 2010. *Pemanfatan Air Buangan Lele Dumbo Sebagai Media Budidaya Daphnia sp.* (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Dhall, P., Kumar, R. and Kumar, A. (2012). *Biodegradation of Sewage Wastewater Using Autochthonous Bacteria*. *Scientific World Journal* v.2012 PMC3260589.
- Droste, R.L. 1997. *Theory and Practice of Water and Wastewater Treatment*. USA. John Wiley & Sons, Inc. hal. 547 -595
- Duc L.H., Hong, H.A., Barbosa, T.M., Henriques, A.O., Cutting, S.M. 2004. *Characterization of Bacillus Probiotics Available for Human Use*. *J Appl Environ Microbiol* 70 (4): 2161–2171.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air, Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Penerbit Kanisius : Yogyakarta.

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

Elfiati, D. 2005. *Peranan Mikroba Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Tanaman*. USU e-Repository. Medan.

Erari S.S., Jubhar, M dan Karina L. 2012. *Pencemaran Organik di Perairan Pesisir Pantai Teluk Youtefa Kota Jayapura*. Papua. Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa. ISBN : 978-979-028-550-7 Surabaya.

Erlangga. 2007. *Efek Pencemaran Perairan Sungai Kampar Di Provinsi Riau Terhadap Ikan Baung (Hemibagrus nemurus)*. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor.

Fardiaz, S. 1992. *Polusi Air dan Udara*. Cetakan ke-9. Penerbit Kanisius. Anggota IKAPI. Yogyakarta.

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

Febrianto J. 2016. *Studi Pengelolaan Air Limbah Sisa Pemeliharaan Budidaya Ikan Dengan Sistem Anaerob*. Tesis. IPB. Bogor.

Fidiastuti, H.R. 2017. *Potensi Bakteri Indigen Dalam Biodegradasi Air Sungai*. Jurnal Bioeksperimen Vol. 3 No.1 ISSN 2460-1365.

Fitria, Y. 2008. *Pembuatan Pupuk Organik Cair dari Limbah Cair Industri Perikanan Menggunakan Asam Asetat dan EM4 (Effective Microorganism 4)*. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.

Flint, K.P. 1992. *Microbial Ecology of Domestic Waste*. In Brns, R.G. and Slater, J.H. *Experimental Microbial Ecology*. Blackwell Scientific Publication

Ghate S.R, Burtle G.J, and Gascho G.J. 1993. *Reuse of water from catfish Ponds*. Proceedings of the 1993 Georgia Water Resources Conference, at The University of Georgia, Kathryn 1. Hatcher, Limnology Mc Raw-Hill Book Company. New York.

Gunadi B. 2012. *Minimalisasi Limbah Nitrogen dalam Budidaya Ikan Lele (Clarias gariepinus) dengan Sistem Akuakultur Berbasis Jenjang Rantai Makanan*. [Disertasi]. Institut Pertanian Bogor.

Gunardi, B dan Hafsari DR. 2008. *Pengendalian Limbah Amoniak Budidaya Ikan Lele dengan Sistem Heterotrofik Menuju Sistem Akuakultur Nir-Limbah*. Jurnal Riset Akuakultur 3.

Gunawan, T. 2000. *Rancangan Sistem Teknologi Pengolahan Limbah Cair*. Surakarta. Program Pasca Sarjana Ilmu Lingkungan UNS.

- Gupta, R., P. Rathi, N. Gupta dan S. Bradoo. 2003. *Lipase Assays for conventional and Molecular Screening: A Overview*. Biotechnol. Appl. Biochem. (37) 63 – 71.
- Hanafiah, K.A. 1997. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Manajemen PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Hariyadi, S., I. N., N Suryadiputri dan B. Widigbo. 1992. *Limnology. Metode Analisa Kualitas Air*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- Hatmanti, A. 2000. *Pengenalan Bacillus spp.* Oseana, 25(1): 31-41.
- Hedioto, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 163 hlm.
- Herlina, Bambang H. P, Mukhammad Fauzi, dan Fikri A. R. 2016. *Penggunaan α -Amilase dan Variasi Lama Hidrolisis pada Pembuatan Tepung Glukomanan dari Umbi Gembili (*Dioscorea esculenta L.*)*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Jurnal Agroteknologi, Vol. 10 No.01.
- Hepher, B. 1978. *Ecological Aspects of Warm – Water Fishpond Management*. Hal 447 – 468 dalam Geeking. S. D. (Ed). *Ecology of Freshwater Fish Production*. New York.
- Husin, A., 2008. *Pengolahan Limbah cair Industri Tahu dengan Biofiltrasi Anaerob dalam reaktor Fixed-Bed*. Tesis. Pasca Sarjana, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Hynes, H.B.N. 2001. *The Ecology of Running Waters*. Second Edition The Blackburn Press. Caldwell, New Jersey. Hal. 555
- Irianto, K. 2015. *Buku Bahan Ajar Pencemaran Lingkungan*. Fakultas Pertanian. Universitas Marwadewa.
- Jaenudin A., 2011. *Metodologi Penelitian Eksperimen*. Makalah disampaikan pada kegiatan In Service I Pelatihan Penulisan Artikel Ilmiah oleh LPMP Yogyakarta. Fakultas Teknik UNY.
- Kaff, A. M. 2012. *Eutrophication in Shallow Lakes and Water Dams*. *Environment and Public Health Expert*. Envirocities eMagazine. Issue 2, May 2012.
- Karigar, C. S., and S. S. Rao, 2011. *Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review*. *Review Article*. Department of Biochemistry, Bangalore University, India.
- Kordi, M.G.H dan Tancung, A.B. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan*. Rineka Cipta: Jakarta
- Kosim, M., dan S. R. Putra, 2010. *Pengaruh Suhu Pada Protease Dari Bacillus subtilis*. Prosiding Skripsi Semester Genap. Jurusan Kimia, FMIPA, ITS Surabaya.

Kuswytasari ND, Paramita P, Maya S. 2012. *Biodegradasi Limbah Organik Pasar Dengan Menggunakan Mikroorganisme Alami Tangki Septik*. Jurnal Sains dan Seni ITS 1: 2301-928X.

Laurel J, Ramseyer and Donald L Garling. 2010. *Fish Nutrition and Aquaculture Waste Management*. Departement of Fisheries and Wilglife. Michigan State University.

Mahida, U. N. 1984. *Pencemaran Air dan Pemanfaatan Limbah Industri*. CV. Rajawali. Jakarta.

Makmur M, Haryoto K, Setyo S dan Djarot S. 2012. *Pengaruh Limbah Organik dan Rasio N/P Terhadap Kelimpahan Fitoplankton di Kawasan Budidaya Kerang Hijau Cilincing*. Jurnal Teknologi Pengelolaan Limbah. Vol 15. Nomer 2. 2012. 51-64.

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

Mara, Duncan and Horan, N.J. 2003. *Handbook of Water and Wastewater Microbiology*. ISBN 0-12-470100-0. Elsevier.

Meagler, R.B. 2000. *Phytoeremediation to Toxic Elemental and Organic Pollutants*. Current Opinion In Plant Biology 3 (2) : 153-162.

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

Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania dan H. Satria. 2009. *Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya*. Makara Sains 13(1): 33-38.

Metcalf and I. N. C. Eddy, 1979. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal dan Reuse*. McGraw-HillBook, New York

Metcalf and I. N. C. Eddy, 2003. *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal dan Reuse*. McGraw-HillBook, New Delhi

Mikapin, 2012. *Tes Jurnal Praktikum Mikrobiologi Jilid VI (Penghitungan Jumlah Mikroba Dengan Ruang Hitung)*. Artikel Teknis Kimia.

Moccia R, Bevan D and Reid G. 2007. *Composition of Fecal Waste from Commercial Trout Farms in Ontario: Macro and Micro Nutrient Analyses and Recommendations for Recycling*. Aquaculture Centre University of Guelph.

Moss, B. 1993. *Ecology of Freshwater*. Second Edition. Black Well Scientific Publication. London

Muljadi. 2005. *Penurunan Kadar BOD Limbah Cair Secara Proses Biologi dengan Tipe Rotating Biological Contractors (RBCs)*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Sebelas Maret: Surakarta.

Nimrat S, S. Suksawat, P. Maleweach and V. Vuthiphandchai.. 2008. *Effect of Different Shrimp Pond Bottom Soil Treatments on the Change of Physical Characteristics and Pathogenic Bacteria in Pond Bottom Soil*. *Aquaculture*. 285: 123-129.

Novotny, V. and H. Olem. 1994. *Water Quality, Prevention, Identification, and management of diffuse Pollution*. Van Nostrans Reinhold, New York. 1054 p

Palar, H. 1994. *Pencemaran, toksikologi dan logam berat*. Rineka Cipta. Jakarta.

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

Poedjiadi, A. 2007. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press

Pratama, M. A., Mohammad Amin, dan Endang Suarsini. 2016. *Isolasi Bakteri Indigen Pengoksidasi Sulfida (H₂S) pada Limbah Cair Industri Pengolahan Ikan di Sungai Kali Mati, Kecamatan Muncar*. Universitas Negeri Malang. Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek 2016.

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

Rahardja., B.S., Prayogo, Gunanti Mahasri dan Mochammad Dwi Hardhianto. 2010. *Efektifitas Bakteri Pseudomonas Sebagai Pengurai Bahan Organik (Protein, Karbohidrat, Lemak) Pada Media Air Limbah Pembenihan Ikan Lele Dumbo (Clarias sp.) Sistem Resirkulasi Tertutup*. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol. 2 No. 2, November 2010.

Rao, S, 2007. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Jakarta Universitas Indonesia Press. Skripsi.

Saeni.1989. *Kimia Lingkungan*. IPB. Bogor.

Safitri, N., Sunarti, T.C., dan Anja Meryandini. *Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Pediococcus pentosaceus Menggunakan Substrat Whey Tahu*. *Jurnal Sumberdaya Hayati* Agustus 2016. Vol. 2 No. 2, hlm 31-38

Salisbury. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 2*. Institut Teknologi Bandung. Bandung

Salmin. 2005. *Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator untuk menentukan Kualitas Perairan*. *Oseana*. 30 (3) 21-26.

Saragih, B. R. 2010. *Analisis Potensi Biogas untuk Menghasilkan Energi Listrik dan Termal pada Gedung Komersil di Daerah Perkotaan*. Magister Teknik Elektro, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Sawyer, C. N., and McCarty, P. L. 1978. *Chemistry for Environmental Engineering* (3rd ed.). New York: McGraw-Hill Book Co.

Schryver PD, Crab R, Defoirdt T, Boon N, and Verstraete W. 2008. *The Basics of Bio-flocs Technology: The Added Value for Aquaculture*. Aquaculture 277: 125-137.

Setyati, W.A dan Subagiyo. 2012. *Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amilolitik, Lipolitik dan Selulolitik) yang Berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove*. ISSN 0853-7291. Jurnal Ilmu Kelautan. Vol. 17 (3) 164-168

Setyowibowo C. 2012. *Pengembangan Teknologi Budidaya Ikan Lele Di Lahan Perkotaan*. BPBAT Jambi. Jambi.

Simanjutak, R.H. 1996. *Pembudidayaan Ikan Lele Lokal dan Dumbo*. Bhratara. Jakarta.

Simbolon, A. R. 2016. *Pencemaran Bahan Organik dan Eutrofikasi Di Perairan Citus, Pesisir Tangerang*. Jurnal Pro-Life. Vol 3. Nomor 2. 109-118.

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

Stickney RR. 2005. *Aquaculture: An Introductory Text*. Oxford: CABI Publishing, 265 p.

Sudaryanti, S. 1991. *Dampak Mekanisme Alat Limnotek 3.1. Terhadap Sebaran Oksigen Terlarut*. Institut Pertanian Bogor.

Sukadi, 1999. *Pencemaran Sungai Akibat Buangan Limbah dan Pengaruhnya terhadap BOD dan DO*. Makalah. ITB

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

Sumantri, A. 2010. *Kesehatan Lingkungan*. Kencana Prenada Media Group. Jakarta.

Sumarsih, S. 2008. *Bioaktivator Kompos*. Fakultas Pertanian Universitas Pendidikan Nasional "Veteran": Yogyakarta.

Sunarto. 2008. *Karakteristik Biologi Dan Peranan Plankton Bagi Ekosistem Laut*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Univ. Padjajaran. Bandung.

Suriadikarta, R.D.M dan Simanungkalit, D.A. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.

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

Susana, T. 2009. *Tingkat Keasaman (pH) dan Oksigen Terlarut Sebagai Indikator Kualitas Perairan Sekitar Muara Sungai Cisadane*. Jurnal Teknologi Lingkungan., 5(2) : 33 – 39.

Sutanto, Rachman. 2002. *Penerapan Pertanian Organik : Pemasarakatan dan Penerapannya*. Kanisius. Yogyakarta

Sutiamiharjo, N. 2008. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase*. Gramedia: Jakarta.

Suwarso, Christiani dan Kusnarti. 1997. *Pengolahan Air Limbah Domestik Secara Biologis*. Buletin Keslingmas No. 64 Oktober – Desember 1997.

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

Tria Ardi Puspa Laga. 2012. *Laporan Praktikum Mikrobiologi Menghitung Jumlah Sel*. Laboratorium Ilmu Hama Dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian. Universitas Bengkulu.

Turella, R. 2005. *Kimia Lingkungan Tanah*. Modul Diklat Berjenjang. Departemen Pendidikan Nasional Ditjen Pendidikan Dasar dan Menengah Pusat Pengembangan dan Penataran Guru Ilmu Pengetahuan Alam.

Udiharto, M. 1996. *Pengujian Biodegradasi Limbah Minyak Bumi Dalam Air*. Prosiding Pelatihan dan Lokakarya Peranan Bioremediasi Dalam Pengelolaan Lingkungan.

Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., dan Singleton, P. 2000. *Probiotic Bacteria as Control Agent in Aquaculture*. J Mol Biol Biotechnol 64(4): 655-671.

Waluyo, L. 2007. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. UMM Press, Malang.

Welasih, T. 2008. *Penurunan BOD dan COD Limbah Industri Kertas dengan Air Laut Sebagai Koagulan*. Jurusan Teknik Kimia UPN Veteran: Surabaya.

Wen Y dan Chao HW. 2011. *Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterium Isolated from Anaerobic/ Anoxic/ Oxic Treatment System*. Journal of Biotechnology 10: 6985-6990.

Widyastuti E, Sukanto dan Nuning S. 2013. *Pengaruh Limbah Organik Terhadap Status Tropik, Rasio N/P Serta Kelimpahan Fitolankton di Waduk Panglima Besar Soedirman, Kabupaten Banjarnegara*. Jurnal Biosfera.

Widyastuti. 2015. *Potensi Sitotoksisitas Bahan Aktif Bakteri Asosiasi Flavobacterium sp. dari Karang Keras Acropora Muricata yang Terinfeksi Penyakit BRB (Brown Band)*. Skripsi. Universitas Hasanuddin.

Winarno, F.G dan Fardiaz, S. 1974. *Polusi dan Analisa Air*. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. FATEMETA IPB.Bogor.

Wong, P.T.W. 1994. *Bio-control of Wheat Take-All in the Field Using Soil Bacteria and Fungi* dalam Ryder MH, Stephens PM, Bowen GP, editor.

Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia.

Wongsa, P., dan Werukhamkul, P. 2007. *Product Development and Technical Service, Biosolution International*. Thailand. Bengkadi Industrial Park.

Yuliana, N., 2008. *Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 yang Berasal dari Tempoyak*. J. Teknologi Industri dan Hasil Pertanian. 13(2):108-116

Yusuf, G. 2008. *Bioremediasi Limbah Rumah Tangga Dengan Sistem Simulasi Tanaman Air*. Jurnal Bumi Lestari. 8 (2) : 136-144

Zhao, S., Hu, N., Chen, Z., Zhao, B., dan Liang, Y. *Bioremediation of Reclaimed Wastewater Used as Landscape Water by Using the Denitrifying Bacterium Bacillus cereus*. Bull Environ Contam Toxicol (2009) 83:337–340. Springer Science+Business Media.

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

Sumber Internet:

Nurhasan dan Pramudyanto. 1997. *Penanganan Air Limbah Tahu*. Yayasan Bina Karya Lestari: Jakarta. <http://www.menlh.go.id/usaha-kecil> (diakses pada 7 April 2019).

Patterson, B. 2017. *Do proteins only connect with others using hydrogen bond of 'amino' and 'acid'? Do they also connect using the 'R'? Also, do proteins only connect with those of same 'R' value?. Former Biology/ Genetics Instructor at University of Arizona*. (Diakses tanggal 22 September 2018).

http://wiki.biomine.skelleftea.se/wiki/index.php/Sulfate_reducing_bacteria. 2018. *Combining the action of SRBs and sulfide oxidizing microbes. Sulfate reduction by SRBs and sulfide oxidation by oxidising microbes*. To the left - one SRB bacterium with elemental sulfur particles on the cell membrane. (Diakses tanggal 22 September 2018).

SNI 01-6483.4-2000 tentang *Budidaya Ikan Lele*. BSN. (Diakses tanggal 07 April 2019)

<https://www.ilmukimia.org/2015/06/ikatan-peptida.html>. *Ikatan Peptida*. (Diakses tanggal 07 April 2019)

Lampiran 1. Cara kerja analisis proksimat limbah organik budidaya ikan lele

1. KADAR PROTEIN

Pengujian kadar protein dilakukan melalui tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Tahapan pengujian kadar protein adalah sebagai berikut :

1) Destruksi

Sampel ditimbang sebanyak 1-5 g kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambah dengan Kjeldahl tab selenium dan 10 ml H₂SO₄.

Labu diletakkan pada alat pemanas dengan suhu 400 °C di dalam ruang asam. Destruksi dilakukan hingga larutan menjadi bening (1-1,5 jam).

Hasil destruksi kemudian didinginkan dan diencerkan dengan akuades secara perlahan hingga mencapai 100 mL.

2) Destilasi

Hasil dekstruksi dipipet 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu destilasi.

Erlenmeyer 125 mL berisi 25 mL larutan H₃BO₃ (asam borat) dan

2-4 tetes indikator (campuran 2 bagian metil red 0,1% dalam alkohol dan

1 bagian *browncresol green* (BCG) 0,1% dalam alkohol) diletakkan sesaat

sebelum destilasi dimulai. Ujung kondensor harus terendam di bawah

larutan asam borat. Sampel hasil destruksi ditambahkan ke dalam larutan

NaOH 8-10 mL kemudian dilakukan destilasi sampai berwarna hijau

kebiruan.

3) Titrasi

Titrasi hasil destilasi menggunakan larutan HCl 0,01 N hingga

larutan berwarna merah muda. Kadar protein dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar nitrogen (\%)} = \frac{\text{Volume titrasi} \times \text{N HCl} \times \text{BM N}}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = \text{kadar N} \times 6,25$$

2. KADAR LEMAK

Labu lemak dikeringkan didalam oven (105 °C) kemudian ditimbang hingga berat konstan. Sampel sebanyak 2 gr dibungkus dengan kertas saring bebas lemak kemudian dimasukkan ke dalam selongsong lemak. Selongsong tersebut dimasukkan ke dalam tabung soxhlet. Sebanyak 150 mL kloroform dimasukkan ke dalam labu lemak. Sampel direfluks selama delapan jam, apabila pelarut sudah terlihat jernih menandakan lemak telah terekstrak semua. Pelarut yang ada pada labu lemak kemudian dievaporasi untuk memisahkan pelarut dan lemak setelah itu dikeringkan dalam oven 105 °C selama 30 menit. Labu lemak kemudian ditimbang hingga didapatkan berat konstan. Penentuan kadar lemak menggunakan umus:

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{\text{Berat labu akhir} - \text{Berat labu awal}}{\text{berat sampel (gr)}} \times 100\%$$



Lampiran 2. Analisis protein dalam penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	0.1757	0.1739	0.1740	0.1759
W2 (48)	0.1681	0.1683	0.1733	0.1758
W3 (72)	0.1661	0.1635	0.1547	0.1757
W4 (96)	0.1640	0.1581	0.1611	0.1757
W5 (120)	0.1606	0.1526	0.1565	0.1756

D1 (100 ml)			
0 jam	0.1761	0.002	0.2%
24 jam	0.1757	0.043	4.3%
48 jam	0.1681	0.012	1.2%
72 jam	0.1661	0.012	1.2%
96 jam	0.1640	0.021	2.1%
120 jam	0.1606	0.088	8.8%

EFISIENSI PENURUNAN PROTEIN		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0023	0%
Awal-48	0.0454	5%
Awal-72	0.0570	6%
Awal-96	0.0687	7%
Awal-120	0.0880	9%

SISA PROTEIN
100%
96%
99%
99%
98%
91%

D2 (10 ml)			
0 jam	0.1761	0.012	1.2%
24 jam	0.1739	0.032	3.2%
48 jam	0.1683	0.029	2.9%
72 jam	0.1635	0.033	3.3%
96 jam	0.1581	0.035	3.5%
120 jam	0.1526	0.133	13.3%

EFISIENSI PENURUNAN PROTEIN		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0123	1%
Awal-48	0.0441	4%
Awal-72	0.0716	7%
Awal-96	0.1024	10%
Awal-120	0.1334	13%

SISA PROTEIN
99%
97%
97%
97%
97%
87%

D3 (1 ml)			
0 jam	0.1761	0.012	1.2%
24 jam	0.1740	0.004	0.4%
48 jam	0.1733	0.107	10.7%
72 jam	0.1547	-0.041	-4.1%
96 jam	0.1611	0.029	2.9%
120 jam	0.1565	0.111	11.1%

EFISIENSI PENURUNAN PROTEIN		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0117	1%
Awal-48	0.0157	2%
Awal-72	0.1213	12%
Awal-96	0.0854	9%
Awal-120	0.1115	11%

SISA PROTEIN
99%
100%
89%
104%
97%
89%

Uji ANOVA

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Waktu Inkubasi	Fixed	5	24; 48; 72; 96; 120
Kepadatan Bakteri	Fixed	3	1; 10; 100

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Waktu Inkubasi	4	0,001933	0,000483	54,33	2,690
Kepadatan Bakteri	2	0,000111	0,000056	6,25	3,320
Error	38	0,000338	0,000009		
Lack-of-Fit	8	0,000308	0,000038	38,52	2,270
Pure Error	30	0,000030	0,000001		
Total	44	0,002382			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0029823	85,81%	83,57%	80,10%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,164702	0,000445	370,48	0,000	
Waktu Inkubasi					
24	0,009853	0,000889	11,08	0,000	1,60
48	0,005220	0,000889	5,87	0,000	1,60
72	-0,003269	0,000889	-3,68	0,001	1,60
96	-0,003658	0,000889	-4,11	0,000	1,60
Kepadatan Bakteri					
1	0,002191	0,000629	3,49	0,001	1,33
10	-0,001416	0,000629	-2,25	0,030	1,33

Comparisons for Kadar Protein Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi	N	Mean	Grouping
24	9	0,174556	A
48	9	0,169922	B
72	9	0,161433	C
96	9	0,161044	C
120	9	0,156556	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Kepadatan Bakteri Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
100	15	0,166893	A
1	15	0,163927	B
10	15	0,163287	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 3. Analisis karbohidrat dalam penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	0.2939	0.2880	0.2922	0.2955
W2 (48)	0.2572	0.2712	0.2456	0.2767
W3 (72)	0.2358	0.2346	0.2447	0.2689
W4 (96)	0.2257	0.2177	0.2289	0.2611
W5 (120)	0.2034	0.1898	0.2060	0.2569

D1 (100 ml)			
0 jam	0.2970	0.0101	1.0%
24 jam	0.2940	0.1253	12.5%
48 jam	0.2572	0.0832	8.3%
72 jam	0.2358	0.0426	4.3%
96 jam	0.2257	0.0989	9.9%
120 jam	0.2034	0.3152	31.5%

EFISIENSI PENURUNAN KARBO		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0101	1%
Awal-48	0.1341	13%
Awal-72	0.2062	21%
Awal-96	0.2400	24%
Awal-120	0.3152	32%

SISA KARBOHIDRAT
98.99%
87.47%
91.68%
95.74%
90.11%
68.48%

D2 (10 ml)			
0 jam	0.2970	0.0304	3.0%
24 jam	0.2880	0.0582	5.8%
48 jam	0.2712	0.1350	13.5%
72 jam	0.2346	0.0719	7.2%
96 jam	0.2177	0.1283	12.8%
120 jam	0.1898	0.3609	36.1%

EFISIENSI PENURUNAN KARBO		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0304	3%
Awal-48	0.0869	9%
Awal-72	0.2101	21%
Awal-96	0.2669	27%
Awal-120	0.3609	36%

SISA KARBOHIDRAT
96.96%
94.18%
86.50%
92.81%
87.17%
63.91%

D3 (1 ml)			
0 jam	0.2970	0.0160	1.6%
24 jam	0.2922	0.1597	16.0%
48 jam	0.2456	0.0037	0.4%
72 jam	0.2447	0.0646	6.5%
96 jam	0.2289	0.1001	10.0%
120 jam	0.2060	0.3065	30.7%

EFISIENSI PENURUNAN KARBO		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.0160	2%
Awal-48	0.1732	17%
Awal-72	0.1762	18%
Awal-96	0.2294	23%
Awal-120	0.3065	31%

SISA KARBOHIDRAT
98.40%
84.03%
99.63%
93.54%
89.99%
69.35%

Uji ANOVA

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Waktu Inkubasi	Fixed	5	24, 48, 72, 96, 120
Kepadatan Bakteri	Fixed	3	1, 10, 100

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Waktu Inkubasi	4	0.041420	0.010355	3574.53	2.690
Kepadatan Bakteri	2	0.000786	0.000393	135.72	3.320
Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri	8	0.000474	0.000059	20.46	2.270
Error	30	0.000087	0.000003		
Total	44	0.042768			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.0017020	99.80%	99.70%	99.54%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0.240402	0.000254	947.50	0.000	
Waktu Inkubasi					
24	0.051142	0.000507	100.78	0.000	1.60
48	0.007887	0.000507	15.54	0.000	1.60
72	-0.002058	0.000507	-4.06	0.000	1.60
96	-0.016291	0.000507	-32.10	0.000	1.60
Kepadatan Bakteri					
1	0.003111	0.000359	8.67	0.000	1.33
10	-0.005909	0.000359	-16.47	0.000	1.33
Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri					
24 1	-0.002856	0.000718	-3.98	0.000	2.13
24 10	0.003264	0.000718	4.55	0.000	2.13
48 1	-0.005133	0.000718	-7.15	0.000	2.13
48 10	-0.000947	0.000718	-1.32	0.197	2.13
72 1	0.003211	0.000718	4.47	0.000	2.13
72 10	0.002164	0.000718	3.02	0.005	2.13
96 1	0.001644	0.000718	2.29	0.029	2.13
96 10	-0.000469	0.000718	-0.65	0.518	2.13

Comparisons for Kadar Karbohidrat Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi	N	Mean	Grouping
24	9	0.291544	A
48	9	0.248289	B
72	9	0.238344	C
96	9	0.224111	D
120	9	0.199722	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Kepadatan Bakteri Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
1	15	0.243513	A
100	15	0.243200	A
10	15	0.234493	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
24 100	3	0.293933	A
24 1	3	0.291800	A
24 10	3	0.288900	A
48 100	3	0.257167	B
48 1	3	0.246267	C
72 1	3	0.244667	C
48 10	3	0.241433	C
72 100	3	0.235767	D
72 10	3	0.234600	D
96 1	3	0.228867	E
96 100	3	0.225733	E
96 10	3	0.217733	F
120 1	3	0.205967	G
120 100	3	0.203400	G
120 10	3	0.189800	H

Means that do not share a letter are significantly different.



Lampiran 4. Analisis lemak dalam penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	0.0317	0.0311	0.0308	0.033
W2 (48)	0.0293	0.0270	0.0258	0.033
W3 (72)	0.0254	0.0243	0.0251	0.033
W4 (96)	0.0218	0.0183	0.0233	0.033
W5 (120)	0.0207	0.0176	0.0221	0.032

D1 (100 ml)			
0 jam	0.0334	0.052	5.2%
24 jam	0.0317	0.076	7.6%
48 jam	0.0293	0.131	13.1%
72 jam	0.0254	0.143	14.3%
96 jam	0.0218	0.052	5.2%
120 jam	0.0207	0.381	38.1%

EFISIENSI PENURUNAN LEMAK		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.052	5%
Awal-48	0.124	12%
Awal-72	0.239	24%
Awal-96	0.347	35%
Awal-120	0.381	38%

SISA LEMAK
95%
92%
87%
86%
95%
62%

D2 (10 ml)			
0 jam	0.0334	0.069	6.9%
24 jam	0.0311	0.132	13.2%
48 jam	0.0270	0.100	10.0%
72 jam	0.0243	0.247	24.7%
96 jam	0.0183	0.038	3.8%
120 jam	0.0176	0.473	47.3%

EFISIENSI PENURUNAN LEMAK		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.069	7%
Awal-48	0.192	19%
Awal-72	0.272	27%
Awal-96	0.452	45%
Awal-120	0.473	47%

93%
87%
90%
75%
96%
53%

D3 (1 ml)			
0 jam	0.0334	0.077	7.7%
24 jam	0.0308	0.163	16.3%
48 jam	0.0258	0.028	2.8%
72 jam	0.0251	0.072	7.2%
96 jam	0.0233	0.052	5.2%
120 jam	0.0221	0.339	33.9%

EFISIENSI PENURUNAN LEMAK		
Waktu Pengujian	Persentase	
Awal-24	0.077	8%
Awal-48	0.228	23%
Awal-72	0.250	25%
Awal-96	0.303	30%
Awal-120	0.339	34%

92%
84%
97%
93%
95%
66%

UJI ANOVA

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Waktu Inkubasi	Fixed	5	24; 48; 72; 96; 120
Kepadatan Bakteri	Fixed	3	1; 10; 100

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Waktu Inkubasi	4	0,000748	0,000187	146,75	0,000
Kepadatan Bakteri	2	0,000038	0,000019	14,85	0,000
Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri	8	0,000054	0,000007	5,32	0,000
Error	30	0,000038	0,000001		
Total	44	0,000878			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0011286	95,65%	93,62%	90,21%

Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	0,024947	0,000168	148,28	0,000	
Waktu Inkubasi					
24	0,006264	0,000336	18,62	0,000	1,60
48	0,002409	0,000336	7,16	0,000	1,60
72	-0,000013	0,000336	-0,04	0,969	1,60
96	-0,003813	0,000336	-11,33	0,000	1,60
Kepadatan Bakteri					
1	0,000460	0,000238	1,93	0,063	1,33
10	-0,001280	0,000238	-5,38	0,000	1,33
Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri					
24 1	-0,000838	0,000476	-1,76	0,089	2,13
24 10	0,001202	0,000476	2,53	0,017	2,13
48 1	-0,002016	0,000476	-4,24	0,000	2,13
48 10	0,000924	0,000476	1,94	0,061	2,13
72 1	-0,000327	0,000476	-0,69	0,498	2,13
72 10	0,000647	0,000476	1,36	0,184	2,13
96 1	0,001673	0,000476	3,52	0,001	2,13
96 10	-0,001520	0,000476	-3,19	0,003	2,13

Comparisons for Kadar Lemak Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi	N	Mean	Grouping
24	9	0,0312111	A
48	9	0,0273556	B
72	9	0,0249333	C
96	9	0,0211333	D
120	9	0,0201000	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Kepadatan Bakteri
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
100	15	0,0257667	A
1	15	0,0254067	A
10	15	0,0236667	B

Means that do not share a letter are significantly different.



Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
24 100	3	0,0316667	A
24 10	3	0,0311333	A
24 1	3	0,0308333	A
48 100	3	0,0292667	A B
48 10	3	0,0270000	B C
48 1	3	0,0258000	C D
72 100	3	0,0254333	C D E
72 1	3	0,0250667	C D E F
72 10	3	0,0243000	C D E F
96 1	3	0,0232667	D E F G
120 1	3	0,0220667	E F G
96 100	3	0,0218000	F G
120 100	3	0,0206667	G H
96 10	3	0,0183333	H
120 10	3	0,0175667	H

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri
Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Waktu Inkubasi*Kepadatan Bakteri	N	Mean	Grouping
24 100	3	0,0316667	A
24 10	3	0,0311333	A
24 1	3	0,0308333	A
48 100	3	0,0292667	A B
48 10	3	0,0270000	B C
48 1	3	0,0258000	C D
72 100	3	0,0254333	C D E
72 1	3	0,0250667	C D E F
72 10	3	0,0243000	C D E F
96 1	3	0,0232667	D E F G
120 1	3	0,0220667	E F G
96 100	3	0,0218000	F G
120 100	3	0,0206667	G H
96 10	3	0,0183333	H
120 10	3	0,0175667	H

Means that do not share a letter are significantly different.



Lampiran 5. Analisis TOM dalam penelitian

FAKTOR A (DOSIS)	ULANGAN	FAKTOR B (WAKTU PENGUJIAN)					TOTAL	RATA-RATA
		W1	W2	W3	W4	W5		
D0 (Kontrol)	1	79.73	79.56	79.47	79.40	79.34	397.5	79.5
	2	79.73	79.56	79.47	79.40	79.34	397.5	79.5
	3	79.73	79.56	79.47	79.40	79.34	397.50	79.5
Sub Total		239.19	238.68	238.41	238.2	238.02	1192.5	238.5
Rata-rata		79.73	79.56	79.47	79.4	79.34		
D1	1	78.68	74.89	43.19	39.18	32.86	268.8	53.76
	2	78.36	64.14	50.4	45.5	27.8	266.2	53.24
	3	78.87	54.66	48.6	41.71	30.3	254.14	50.828
Sub Total		235.91	193.69	142.19	126.39	90.96	789.14	157.828
Rata-rata		78.64	64.56	47.40	42.13	30.32		
D2	1	79.63	50.45	31.6	21.48	13.9	197.06	39.412
	2	79.18	41.7	27.8	17.69	12.6	178.97	35.794
	3	79.94	48.15	29.07	21.48	12.6	191.24	38.248
Sub Total		238.75	140.3	88.47	60.65	39.10	567.27	113.454
Rata-rata		79.58	46.77	29.49	20.22	13.03		
D3	1	77.73	54.03	35.39	35.39	16.4	218.94	43.788
	2	78.36	57.82	30.33	27.8	22.75	217.06	43.412
	3	77.42	56.56	45.5	31.6	17.69	228.77	45.754
Sub Total		233.51	168.41	111.22	94.79	56.84	664.77	132.954
Rata-rata		77.84	56.14	37.07	31.60	18.95		

PERLAKUAN	ULANGAN			TOTAL	RATA-RATA
	1	2	3		
W1D0	80.26	80.05	80.02	240.33	80.11
W1D1	78.68	78.36	78.87	235.91	78.64
W1D2	79.63	79.18	79.94	238.75	79.58
W1D3	77.73	78.36	77.42	233.51	77.84
W2D0	80.01	80.21	80.04	240.26	80.09
W2D1	74.89	64.14	54.66	193.69	64.56
W2D2	50.45	41.7	48.15	140.30	46.77
W2D3	54.03	57.82	56.56	168.41	56.14
W3D0	80.13	80.00	80.02	240.15	80.05
W3D1	43.19	50.4	48.6	142.19	47.40
W3D2	31.60	27.80	29.07	88.47	29.49
W3D3	35.39	30.33	45.50	111.22	37.07
W4D0	80.06	80.05	80.00	240.11	80.04
W4D1	39.18	45.50	41.71	126.39	42.13
W4D2	21.48	17.69	21.48	60.65	20.22



W4D3	35.39	27.80	31.60	94.79	31.60
W5D0	80.40	80.40	80.02	240.82	80.27
W5D1	32.86	27.80	30.30	90.96	30.32
W5D2	13.90	12.60	12.60	39.10	13.03
W5D3	16.40	22.75	17.69	56.84	18.95
Total Ulangan (R)	1069.26	1040.19	1056.56		
Jumlah				3166.01	1055.34

Tabel Sidik Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F-Hit	F-Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	34329.78	19	1806.83	140.13**	1.85	2.39
Faktor Dosis (A)	15029.13	3	5009.71	388.53**	2.84	4.31
Faktor Waktu (B)	14181.17	4	3545.29	274.96**	2.61	3.83
Faktor D*W (A*B)	5119.48	12	426.62	33.09**	2.00	2.66
Galat	515.76	40	12.89			
Total	34845.54	59				

Keterangan: ** Signifikan pada taraf 5% (P<0.05)

UJI DMRT (Duncan's Multiple Range Test's)

Rumus Uji Duncan (DMRT α) = $R(p, v, \alpha) \times (KTG/r)$
 $1/2$
 Akar dari KTG/r = 2.07
Perlakuan (20-1) 19
db Galat 40
Taraf Nyata 5%

P	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nilai Jarak, R (19, 40, 0.05)	2.86	3.01	3.10	3.17	3.22	3.27	3.30	3.33	3.35	3.37
Nilai DMRT 5%	5.92	6.22	6.42	6.56	6.67	6.76	6.83	6.89	6.94	6.98

12	13	14	15	16	17	18	19
3.39	3.41	3.42	3.43	3.44	3.45	3.46	3.46
7.02	7.05	7.08	7.10	7.12	7.14	7.15	7.17

Urutan Perlakuan dari nilai terkecil hingga terbesar

Perlakuan	Rata-Rata	Notasi	DMRT	Rata-Rata + DMRT
W5D2	13.03	a	5.92	18.95
W5D3	18.95	ab	6.22	25.17
W4D2	20.22	bc	6.42	26.64
W3D2	29.49	d	6.56	36.05
W5D1	30.32	de	6.67	36.99
W4D3	31.60	de	6.76	38.36
W3D3	37.07	f	6.83	43.90
W4D1	42.13	gh	6.89	49.02
W3D1	47.40	hi	6.94	54.34
W2D2	46.77	hij	6.98	53.75
W2D3	56.14	k	7.02	63.15
W2D1	64.56	l	7.05	71.61
W1D3	77.84	m	7.08	84.91
W1D1	78.64	mn	7.10	85.73
W1D2	79.58	mn	7.12	86.70
W4D0	80.04	mn	7.14	87.17
W3D0	80.05	mn	7.15	87.20
W1D0	80.11	mn	7.17	87.28
W2D0	80.14	mn	7.18	87.32
W5D0	80.27	mn		

Perlakuan Dosis dan Waktu Pengujian	Rerata nilai TOM (mg/L)	Notasi
W1D0	80.11	mn
W1D1	78.64	mn
W1D3	77.84	m
W1D2	79.58	mn
W2D0	80.14	mn
W2D1	64.56	l
W2D3	56.14	k
W2D2	46.77	hij
W3D0	80.05	mn
W3D1	47.40	hi
W3D3	37.07	f
W3D2	29.49	d
W4D0	80.04	mn
W4D1	42.13	gh
W4D3	31.60	de
W4D2	20.22	bc
W5D0	80.27	mn
W5D1	30.32	de
W5D3	18.95	ab
W5D2	13.03	a

Lampiran 6. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian

Tabel 6. Nilai rata-rata oksigen terlarut selama penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Kepadatan Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	3.50	2.90	2.90	3.40
W2 (48)	3.03	2.77	2.83	3.30
W3 (72)	2.93	3.03	1.97	3.30
W4 (96)	2.97	2.43	2.40	3.04
W5 (120)	2.30	1.83	2.20	3.02
Rata-rata	27.03	26.91	27.04	27.18

Tabel 7. Nilai rata-rata suhu selama penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Kepadatan Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	27.03	27.00	27.23	27.50
W2 (48)	26.80	26.93	26.80	27.00
W3 (72)	26.87	26.97	27.07	27.20
W4 (96)	26.83	27.02	26.90	27.00
W5 (120)	27.03	27.28	27.13	27.20
Rata-rata	2.46	2.95	2.59	3.21

Tabel 8. Nilai rata-rata pH selama penelitian

Waktu Pengujian (jam)	Dosis Kepadatan Bakteri (CFU/mL)			
	D1 (100 ml)	D2 (10 ml)	D3 (1 ml)	Kontrol
W1 (24)	6.80	7.17	6.83	7.20
W2 (48)	6.97	6.90	7.10	7.20
W3 (72)	7.07	7.37	7.20	7.50
W4 (96)	6.90	7.23	7.40	7.60
W5 (120)	6.97	7.10	7.07	7.00
Rata-rata	6.94	7.15	7.12	7.30