

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL
KOLAM EQUALISASI PADA WASTE WATER TREATMENT PLANT
(WWTP) DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM**

(Skripsi)

Oleh

**SHIFA NUR AULIYAH
2117021028**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL KOLAM EQUALISASI PADA WASTE WATER TREATMENT PLANT (WWTP) DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM

Oleh

SHIFA NUR AULIYAH

PT Juang Jaya Abdi Alam merupakan salah satu perusahaan peternakan sapi potong yang berlokasi di Sidomulyo, Lampung Selatan. Dalam proses produksinya, perusahaan ini menghasilkan limbah cair yang berasal dari kotoran sapi dan mengandung selulosa, sehingga berpotensi menjadi substrat bagi mikroorganisme penghasil enzim selulase. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri selulolitik dari air limbah kolam ekualisasi pada instalasi pengolahan air limbah di PT Juang Jaya Abdi Alam, melakukan karakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis dari isolat yang terseleksi, serta menentukan isolat dengan nilai indeks selulolitik tertinggi. Metode yang digunakan meliputi pengambilan sampel air limbah menggunakan metode *grab sample* serta analisis parameter lingkungan, seperti pH, suhu, DO, COD, TSS, TDS, dan amonia. Isolasi bakteri selulolitik dilakukan menggunakan media Mandels CMC agar, diikuti dengan perhitungan jumlah koloni dan indeks selulolitik, kemudian isolat terseleksi dikarakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi air limbah kolam ekualisasi diperoleh jumlah koloni bakteri selulolitik tertinggi sebesar $6,9 \times 10^6$ CFU/mL. Hasil inokulasi menghasilkan tiga isolat dengan nilai indeks selulolitik, yaitu BES 8 (0,70 cm), BES 15 (0,43 cm), dan BES 16 (1,36 cm). Ketiga isolat menunjukkan morfologi koloni berbentuk *irregular* dengan tepian *lobate* dan permukaan datar, sel berbentuk *coccobacil* Gram positif, hanya BES 8 yang membentuk spora, bersifat tidak motil, tidak berlendir berdasarkan uji KOH, serta menunjukkan variasi dalam kemampuan fermentasi karbohidrat. Dengan demikian, diperoleh tiga isolat bakteri selulolitik yang memiliki karakteristik fisiologis dan morfologis yang bervariasi, dengan nilai indeks selulolitik tertinggi ditunjukkan oleh isolat BES 16.

Kata Kunci: bakteri selulolitik, indeks selulolitik, dan karakterisasi

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CELLULOLYTIC BACTERIA FROM THE EQUALIZATION POND AT THE WASTE WATER TREATMENT PLANT (WWTP) OF PT JUANG JAYA ABDI ALAM

By

SHIFA NUR AULIYAH

PT Juang Jaya Abdi Alam is a beef cattle farming company located in Sidomulyo, South Lampung. During its production process, the company generates liquid waste derived from cattle manure, which contains cellulose and has the potential to serve as a substrate for microorganisms that produce cellulase enzymes. This study aims to isolate cellulolytic bacteria from wastewater in the equalization pond at the wastewater treatment plant of PT Juang Jaya Abdi Alam, to perform macroscopic, microscopic, and physiological characterization of the selected isolates, and to identify the isolate with the highest cellulolytic index value. The method used involved collecting wastewater samples using the grab sampling method and analyzing environmental parameters such as pH, temperature, DO, COD, TSS, TDS, and ammonia. The isolation of cellulolytic bacteria was carried out using Mandels CMC agar medium, followed by colony count and cellulolytic index calculation. The selected isolates were then characterized macroscopically, microscopically, and physiologically. The results of the study showed that the highest number of cellulolytic bacterial colonies in the equalization pond wastewater was 6.9×10^6 CFU/mL. Inoculation produced three isolates with cellulolytic index values: BES 8 (0.70 cm), BES 15 (0.43 cm), and BES 16 (1.36 cm). All three isolates exhibited irregular colony morphology with lobate edges and flat surfaces. The cells were Gram-positive coccobacilli; only BES 8 formed spores. They were non-motile, non-mucoid based on the KOH test, and showed variations in their ability to ferment carbohydrates. Thus, three cellulolytic bacterial isolates with varying physiological and morphological characteristics were obtained, with the highest cellulolytic index observed in isolate BES 16.

Key Words: cellulolytic bacteria, cellulolytic index, and characterization

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL
KOLAM EQUALISASI PADA WASTE WATER TREATMENT PLANT
(WWTP) DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM**

Oleh

SHIFA NUR AULIAH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar SARJANA SAINS

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

: ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI
SELULOLITIK ASAL KOLAM EQUALISASI
PADA *WASTE WATER TREATMENT PLANT*
(WWTP) DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM

Nama Mahasiswa

: Shifa Nur Auliyah

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117021028

Program Studi

: Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.
NIP. 197808192008012018

Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP. 197912302008121001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

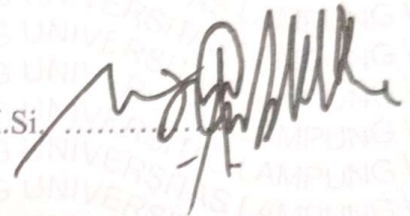
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

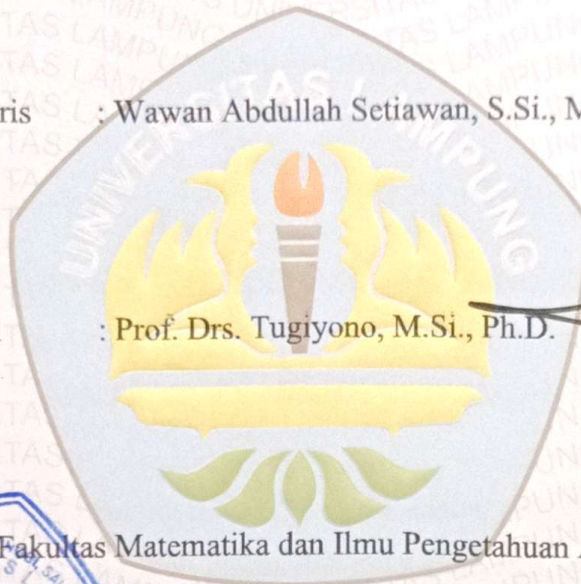
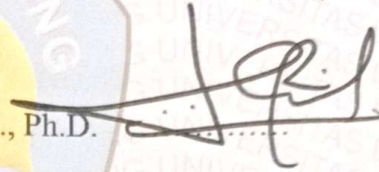
Ketua : Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si.



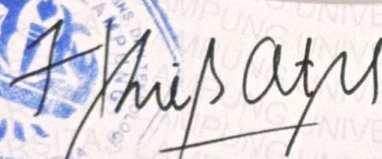
Penguji : Prof. Drs. Tugiyono, M.Si., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 10 Juli 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Shifa Nur Auliyah
NPM : 2117021028
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL
KOLAM EQUALISASI PADA *WASTE WATER TREATMENT PLANT*
(WWTP) DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM”**

Baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah benar karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku. Skripsi ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandarlampung, 21 Juli 2025



Shifa Nur Auliyah
NPM. 2117021028

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Shifa Nur Auliyah, lahir di Metro pada tanggal 27 Februari 2003. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Muhammad Zamharir dan Ibu Sumarsih. Penulis memulai jenjang pendidikan di SD Swasta Bratasena Adiwarna pada tahun 2009-2015. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 01 Kotagajah pada tahun 2015-2018.

Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 01 Kotagajah pada jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA) tahun 2018-2021. Selama belajar di SMA, penulis pernah mengikuti ekstrakurikuler Olimpiade Biologi, dan Karya Ilmiah Remaja.

Penulis melanjutkan pendidikan ke perguruan tinggi di Universitas Lampung sebagai Mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada tahun 2021. Selama kuliah, penulis aktif pada Organisasi Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota bidang Sains dan Teknologi pada tahun kepengurusan 2021-2023. Kemudian aktif pada UKM Penelitian Unila sebagai anggota Hubungan Luar dan Pengabdian Masyarakat (HPLM) pada tahun 2022-2023.

Penulis juga pernah menjadi asisten pada mata kuliah Mikrobiologi, Mikrobiologi Pangan dan Industri, Fisiologi Mikroba, Fisiologi Hewan, Zoologi Vertebrata, dan Zoologi Invertebrata. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Juang Jaya Abdi Alam Sidomulyo Kabupaten Lampung Selatan pada bulan Januari-Februari 2024 dengan judul “Pengaruh Pemberian Variasi Konsentrasi Kultur Bakteri Terhadap Parameter Pengujian Pada Proses *Secondary Treatment* (Aerasi) IPAL PT Juang Jaya Abdi Alam”. Penulis pernah melaksanakan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) di PT Juang Jaya Abdi Alam pada bulan Agustus-Desember 2023 dengan judul “Indeks Keanekaragaman Bakteri Pada Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) di PT Juang Jaya Abdi Alam”. Penulis pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Katon, Kecamatan Marga Tiga, Kabupaten Lampung Timur pada Bulan Juni-Agustus 2024 selama 40 hari.

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan karunia nikmat rohani dan jasmani tiada henti Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Kupersembahkan karya ini kepada:

Tiga orang yang paling berharga bagi hidup ku, Mamak, Bapak, dan Adik tersayang yang menjadi penyemangat hidupku, yang tak henti memberikan kasih sayang, memohonkan keridhaan atas diriku disetiap doa serta selalu memberikan dukungannya setiap saat. Terima kasih atas doa dan pengorbanan yang telah Mak Bapak panjatkan. Kemudian seluruh anggota keluargaku yang senantiasa memberikan dukungan disetiap langkahku.

Bapak dan Ibu dosen serta dosen pembimbingku yang telah membimbing dengan tulus dan ikhlas hingga berhasil mencapai gelar sarjana. Serta Bapak dan Kakak sekalian yang berada di PT Juang Jaya Abdi Alam yang membantu kelancaran dalam pengumpulan data skripsi.

Sahabat, dan teman-teman Biologi 21 yang telah berjuang bersama sejak menjadi mahasiswa baru hingga saat ini tetap memberi dukungan dalam perjalanan hidupku selama kuliah.

Almamater tercintaku,
Universitas Lampung

MOTTO

Awali dengan keberanian, jalani prosesnya dengan ikhlas, hadapi resikonya dengan kesiapan, dan sambutlah hasilnya dengan sukacita di akhir perjalanan.

Biarkan kemudi patah, biarkan layer robek, itu lebih mulia daripada membalik haluan. Jangan takut jatuh, karena yang tidak pernah memanjatlah yang tidak pernah jatuh. Yang takut gagal, karena yang tidak pernah gagal hanyalah orang-orang yang tidak akan pernah melangkah. Jangan takut salah, karena dengan kesalahan yang pertama kita dapat menambah pengetahuan untuk mencari jalan yang benar pada Langkah yang kedua.

(Buya Hamka)

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Asal Kolam Equalisasi pada *Waste Water Treatment Plant* (WWTP) di PT Juang Jaya Abdi Alam” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Selama penyusunan skripsi ini, penulis menyadari banyak sekali pihak yang telah membantu dan selalu memberikan dukungan serta dorongan agar terselesaikannya skripsi ini. Dengan terselesainya skripsi ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Jani Master, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung;
3. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si, M.Si., selaku kepala program studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung serta selaku dosen pembimbing 1 yang sabar membimbing, memotivasi, ilmu, kritik, dan sarannya sehingga skripsi ini dapat selesai;
4. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si, M.Si., selaku dosen pembimbing 2 atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi;
5. Bapak Prof. Drs. Tugiyono, M.Si, Ph.D selaku Pembahas yang telah memberi saran dan kritik serta ilmu pengetahuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;

6. Ibu Prof. Dr. Emantis Rosa, M. Biomed selaku pembimbing akademik atas nasihat dan bimbingannya;
7. Bapak Fajar Aditya Yulianto selaku supervisor *Wastewater Treatment Plant* (WWTP) yang telah membimbing dan memberikan arahan kepada penulis;
8. Bapak Abimanyu Pramudya Putra, S.Pi., selaku staff *Wastewater Treatment Plant* (WWTP) di laboratorium WWTP yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis;
9. Almarhum Kak Rachmat Nugraha Indra, S.Si., selaku Staff laboratorium mikrobiologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis dengan sabar dan teliti;
10. Kedua orangtuaku tercinta bapak M. Zamharir dan ibu Sumarsih, serta adikku tersayang Naila Safitri yang selalu memberikan semangat, mendo'akan, memberi kasih sayang, motivasi, serta kesabaran kepada penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga mamak, bapak, dan adik sehat selalu, Panjang umur dan Bahagia. serta untuk "M" terima kasih yang sudah meluangkan waktu, energi, dan kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi,
11. Kak Suwardi, kak Irul, kak Anga, kak Lutfi, dan Pak Panca, selaku tenaga harian di *Wastewater Treatment Plant* (WWTP) yang telah membantu penulis dalam kegiatannya;
12. Sahabat-sahabat penulis, Ni Putu Diva Maharani, Syifa Mutiara Ramadan, Harlina Elo Azizah, Elisabeth Dian Anggraini, Nelarasi Sigalingging, Oktavia Pupung, Apriansyah Tree Syaputra, M. Alif Nugroho, Altaz Surya Rivai, dan rekan penelitian penulis yaitu Meida Clara Enina serta seluruh rekan Biologi angkatan 2021 atas motivasi untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Bandarlampung, 21 Juli 2025

Penulis,

Shifa Nur Auliyah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xvii
---------------------------	-------------

DAFTAR GAMBAR.....	xviii
---------------------------	--------------

I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pemikiran.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Limbah Cair Kotoran Sapi	6
2.2 Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL)	7
2.3 Parameter Kualitas Air Limbah Peternakan Sapi	10
2.3.1 <i>Dissolved oxygen</i> (DO).....	10
2.3.2 Nilai potential Hydrogen (pH).....	11
2.3.3 Suhu	12
2.3.4 <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	13
2.3.5 <i>Total Suspended Solid</i> (TSS).....	13
2.3.6 Amonia (NH ₃ -N)	14
2.4 Bakteri Indigen.....	15
2.5 Bakteri Selulolitik	17

2.6 Selulosa.....	20
2.7 Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik	21
2.8 Angka Lempeng Total (ALT).....	23
III. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Waktu dan Tempat.....	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.3 Rancangan Penelitian.....	25
3.4 Prosedur Kerja	26
3.4.1 Pengambilan Sampel	26
3.4.2 Pengujian Parameter Lingkungan	27
3.4.3 Pembuatan Media Mandels Agar + CMC.....	30
3.4.4 Isolasi Bakteri	31
3.4.5 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik dengan TPC	32
3.4.6 Skrining Bakteri Selulolitik	32
3.4.7 Purifikasi atau Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik	33
3.4.8 Inokulasi Isolat Bakteri	33
3.4.9 Uji Kemampuan Bakteri Selulolitik dalam Mendegradasi Selulosa	34
3.4.10 Perhitungan Indeks Selulolitik.....	35
3.4.11 Karakterisasi Bakteri.....	36
3.5 Analisa Data.....	42
3.6 Bagan Alir Penelitian	43
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	44
4.1 Hasil	44
4.1.1 Hasil Analisis Kualitas Air Limbah Sapi.....	44
4.1.2 Hasil Perhitungan <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	45
4.1.3 Hasil Perhitungan Indeks Selulolitik	47
4.1.4 Karakterisasi Bakteri Selulolitik	48
4.2 Pembahasan.....	54
4.2.1 Hasil Analisis Kualitas Air Limbah Sapi.....	54
4.2.2 Hasil Perhitungan <i>Total Plate Count</i> (TPC)	63

4.2.3 Hasil Perhitungan Indeks Selulolitik	65
4.2.4 Karakterisasi Isolat Bakteri Selulolitik	67
V. KESIMPULAN.....	74
5.1 Simpulan	75
5.2 Saran	75
DAFTAR PUSTAKA.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengujian Parameter Lingkungan	30
2. Hasil Analisis Kualitas Air Limbah Sapi	44
3. Nilai Total Kepadatan Bakteri	46
4. Nilai Indeks Selulolitik	48
5. Morfologi Koloni Bakteri Selulolitik.....	49
6. Hasil Uji Mikroskopis Isolat Bakteri Selulolitik.....	50
7. Hasil Uji Karakterisasi Fisiologis	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ilustrasi Diameter Koloni dan Zona Jernih	19
2. Struktur Kimia Selulosa	21
3. Pengambilan sampel dilakukan pada kolam equalisasi	27
4. Teknik <i>Streak Plate</i> dengan Metode Kuadran	33
5. Ilustrasi Diameter Koloni dan Zona Jernih.	36
6. Karakteristik Koloni Bakteri	37
7. Uji Katalase.....	39
8. Uji Motilitas	40
9. Hasil Uji KOH 3%	41
10. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat	42
11. Diagram Alir Penelitian	43
12. Isolat Bakteri Selulolitik	47
13. Indeks Selulolitik	47
14. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri.....	48
15. Hasil Pengamatan Gram.....	49
16. Hasil Pengamatan Endospora.....	50
17. Hasil Pengamatan Uji Fermentasi Karbohidrat	52
18. Hasil Pengamatan Uji Katalase	52
19. Hasil Pengamatan Uji Motilitas	53
20. Hasil Pengamatan Uji KOH	53
21. Pengambilan Sampel di Kolam Ekualisasi	88
22. Pengujian Parameter Lingkungan	88
23. Isolasi Bakteri.....	88

24. Inokulasi Bakteri	88
25. Skrinning Bakteri Selulolitik	89
26. Pengamatan Mikroskopis	89
27. Pengujian Katalase	89

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kotoran sapi merupakan salah satu jenis limbah yang dihasilkan dari kegiatan peternakan. Limbah ini berkontribusi terhadap pencemaran lingkungan, karena kotoran ternak sering menimbulkan masalah bagi ekosistem. Menurut Romansah (2020), hingga saat ini belum ada teknologi yang memadai dan mudah diterapkan secara global oleh peternak rumahan maupun perusahaan peternakan sapi potong untuk menghindari pencemaran lingkungan dan dampaknya bagi manusia.

Limbah peternakan sapi umumnya terdiri dari dua jenis, yaitu limbah padat dan limbah cair. Limbah padat berupa kotoran sapi, sedangkan limbah cair mencakup urin sapi, cairan dari kotoran sapi, air sisa pencucian bak penampungan air minum sapi, dan kegiatan lainnya. Pengolahan limbah cair dilakukan di wilayah Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) atau *Waste Water Treatment Plant* (WWTP) melalui berbagai proses. Salah satu proses tersebut adalah kolam ekualisasi, yang berfungsi sebagai proses homogenisasi limbah sebelum diproses secara kimiawi dan biologis.

Kolam ekualisasi merupakan kolam kedua dalam proses pengolahan limbah, yang menerima limbah dari berbagai kandang melalui pipa yang mengalir ke kolam pertama, yaitu *grid chamber*. Selanjutnya, limbah tersebut difiltrasi sebelum masuk ke dalam kolam ekualisasi untuk proses homogenisasi.

Limbah cair kotoran sapi merupakan salah satu jenis limbah organik yang mengandung berbagai senyawa organik, termasuk selulosa, hemiselulosa, dan lignin, yang berasal dari sisa pakan dan serat tumbuhan yang tidak tercerna (Hidayah, 2017). Selulosa dapat terurai berkat peran mikroorganisme, yaitu bakteri selulolitik. Namun, perlu diketahui bahwa kandungan selulosa dalam air limbah sapi belum diketahui secara spesifik persentasenya, karena air limbah sapi merupakan hasil dari pencucian kandang dan aktivitas peternakan lainnya. Oleh karena itu, kandungan selulosa di dalamnya lebih rendah dibandingkan dengan kotoran padat. Dalam hal ini, diketahui bahwa limbah padat kotoran sapi mengandung selulosa sebesar 22,59%, hemiselulosa sebesar 18,32%, dan lignin sebesar 10,20% (Roni *et al.*, 2020).

Selulosa dapat terurai berkat adanya bakteri selulolitik yang berperan dalam menghasilkan enzim selulase, sehingga dapat menguraikan selulosa. Beberapa bakteri selulolitik yang ditemukan dalam air limbah sapi, diantaranya yaitu *Enterobacter cloacae* yang terdapat dalam cairan rumen sapi (Widya *et al.*, 2017), *Bacillus* sp., *Cellulosimicrobium* sp. (Kurniawan, 2022), serta *Micrococcus* sp. dan *Neisseria* sp. (Fuaziah *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Ananda (2023), aktivitas bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa dapat diketahui dari zona jernih yang terbentuk, yang diukur dengan perhitungan nilai Indeks Selulolitik (IS). Semakin luas nilai Indeks Selulolitik, semakin tinggi peran bakteri dalam mendegradasi selulosa. Oleh karena itu, penting untuk melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik yang berpotensi dalam menguraikan selulosa.

Isolasi mikroorganisme dilakukan melalui proses pengambilan mikroorganisme dari kolam equalisasi, kemudian ditumbuhkan pada suatu medium di laboratorium. Medium yang digunakan adalah medium Mandels CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) yang mengandung substrat selulosa, sehingga bakteri selulolitik dapat memproduksi enzim selulase (Hernawati *et al.*, 2016). Selanjutnya, dilakukan karakterisasi bakteri untuk mengetahui sifat-sifat makroskopis, mikroskopis, dan fisiologi (Putri dan Endang, 2018), serta untuk mendapatkan nilai indeks selulolitik dari isolat bakteri yang terpilih.

Penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik dari air limbah ternak sapi di kolam ekualisasi PT Juang Jaya Abdi Alam, Kabupaten Lampung Selatan perlu dilakukan untuk menunjang proses pengolahan limbah cair secara biologis dengan memanfaatkan isolat bakteri selulolitik yang ditemukan dan berpotensi sebagai agen biodegradasi limbah yang dapat digunakan dalam proses pengolahan limbah di kolam aerasi pada IPAL di PT Juang Jaya Abdi Alam.

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian permasalahan latar belakang diatas, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Melakukan isolasi bakteri selulolitik dari air limbah kolam ekualisasi pada *Waste Water Treatment Plant* (WWTP) di PT Juang Jaya Abdi Alam;
2. Mengetahui karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis dari isolat bakteri selulolitik yang terseleksi;
3. Mengetahui isolat terseleksi yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah, sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai isolat bakteri selulolitik yang terdapat pada air limbah kolam ekualisasi di wilayah yang diteliti, sehingga dapat dijadikan sebagai acuan penelitian selanjutnya;
2. Memberikan informasi mengenai karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis dari isolat bakteri yang terseleksi;
3. Memberikan informasi mengenai isolat terseleksi yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi.

1.4 Kerangka Pemikiran

Limbah peternakan sapi terdiri atas limbah padat dan limbah cair. Kedua jenis limbah tersebut dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan apabila tidak diolah dengan tepat. Dampak yang ditimbulkan antara lain pencemaran lingkungan. Limbah cair peternakan sapi mengandung bahan organik, salah satunya adalah selulosa. Kandungan selulosa yang relatif tinggi dalam limbah tersebut dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Selulosa tersebut berasal dari pakan hijauan sapi yang berupa tumbuhan, yang mengalami proses fermentasi di dalam rumen. Proses ini menyebabkan kotoran sapi mengandung selulosa. Oleh karena itu, selulosa dalam limbah cair kotoran sapi perlu didegradasi dengan bantuan bakteri selulolitik.

Bakteri selulolitik merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim selulase. Enzim ini berfungsi menghidrolisis selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa. Bahan organik yang mengandung selulosa dapat menjadi substrat bagi pertumbuhan bakteri selulolitik, sehingga bakteri ini dapat hidup dan berkembang dalam limbah cair kotoran sapi. Dengan demikian, bakteri selulolitik memiliki potensi

yang tinggi sebagai agen biodegradasi, khususnya dalam menguraikan selulosa pada limbah cair kotoran sapi.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Diperoleh isolat bakteri selulolitik dari air limbah kolam ekualisasi pada *Waste Water Treatment Plant* (WWTP) di PT Juang Jaya Abdi Alam;
2. Diperoleh isolat bakteri selulolitik terseleksi yang memiliki variasi morfologi, bentuk sel *coccobacil* bersifat Gram positif, dan memiliki variasi dalam uji fisiologinya.
3. Diperoleh isolat bakteri selulolitik terseleksi yang memiliki nilai indeks selulolitik tertinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Cair Kotoran Sapi

Feses, urin, dan sisa pakan merupakan komponen umum dalam limbah ternak. Usaha peternakan berskala besar cenderung menghasilkan limbah dalam jumlah yang signifikan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Seran (2020), seekor sapi dapat menghasilkan kotoran rata-rata sebanyak 10-25 kg per hari. Oleh karena itu, apabila jumlah sapi yang dipelihara mencapai 100 ekor, maka jumlah kotoran yang dihasilkan dapat mencapai sekitar 2.500 kg per hari.

Limbah ternak sapi terdiri atas dua jenis, yaitu limbah padat dan limbah cair. Limbah padat berupa fekes atau kotoran ternak serta sisa pakan yang tidak dikonsumsi oleh hewan. Sementara itu, limbah cair terdiri atas air seni sapi dan *effluent*, yaitu cairan yang berasal dari limbah padat. Limbah cair tersebut dapat meresap ke dalam tanah dan mengalir secara vertikal maupun horizontal melalui pergerakan air tanah atau saluran air, sehingga berpotensi mencemari lingkungan. Setiap jenis limbah mengandung berbagai mikroorganisme patogen yang dapat mencemari lingkungan (Unch *et al.*, 2003).

Komposisi air limbah peternakan sapi terdiri atas 99,9% cairan yang meliputi urin, air, dan sejumlah kecil padatan berupa feses sebesar 0,1%. Padatan tersebut merupakan campuran bahan organik dan anorganik yang berasal dari limbah peternakan sapi (Hidayatullah *et al.*, 2005). Air limbah peternakan sapi yang dibuang secara langsung tanpa melalui proses pengolahan dapat mencemari lingkungan serta mempengaruhi pertumbuhan mikroba dan makhluk hidup lainnya (Olivianti *et al.*, 2016).

Persentase kotoran padat pada limbah sapi lebih tinggi dibandingkan dengan persentase urin. Urin sapi mengandung sekitar 92% air, 1% nitrogen (N), 0,20% fosfor (P), dan 1,35% kalium (K). Kandungan nitrogen dan kalium dalam urin sapi lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan fosfor (Khoiriyah, 2017). Limbah peternakan sapi merupakan hasil sisa dari proses metabolisme tubuh sapi, dengan jumlah rata-rata mencapai 12% dari berat tubuh hewan tersebut. Volume limbah yang besar dapat menimbulkan permasalahan lingkungan, seperti bau tidak sedap dan potensi menjadi sumber penularan penyakit (Arifin *et al.*, 2019). Urin sapi sebagai bagian dari limbah peternakan yang mengandung unsur hara makro dan mikro. Kandungan unsur hara dalam urin tersebut meliputi 1% nitrogen, 0,20% fosfor, dan 1,35% kalium (Pratiwi, 2019).

Pencemaran air di lingkungan peternakan sapi yang disebabkan oleh kontaminasi limbah dapat dievaluasi berdasarkan beberapa parameter, antara lain *Total Suspended Solids* (TSS), *Dissolved Oxygen* (DO), *Chemical Oxygen Demand* (COD), pH, dan kepadatan bakteri. Nilai COD yang tinggi menunjukkan tingginya pencemaran air limbah oleh bahan organik dan anorganik dari limbah peternakan (Nasution, 2021). Selain itu, parameter lingkungan seperti pH juga menjadi penentu kualitas air karena dapat memengaruhi proses biologi dan kimia yang terjadi di dalamnya (Hasrianti & Nurasia, 2019). Oleh karena itu, analisis terhadap parameter-parameter tersebut perlu dilakukan untuk mengetahui kualitas air limbah yang dihasilkan, serta memastikan bahwa nilainya sesuai dengan standar

yang telah ditetapkan, agar lingkungan di sekitar peternakan sapi tetap aman (Bintang *et al.*, 2019).

2.2 Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL)

Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) merupakan rangkaian kegiatan pengolahan air limbah yang dilengkapi dengan sarana dan prasarana pengelolaan air limbah, sebagaimana diatur dalam Peraturan Menteri Pekerjaan Umum Nomor 4 Tahun 2017. Sistem IPAL bekerja dengan mengalirkan air limbah secara kolektif ke dalam subsistem pengolahan terpusat untuk diolah sebelum dibuang ke badan air sesuai perencanaan.

Menurut Indrayani (2018), pengolahan limbah dilakukan melalui beberapa tahapan proses, antara lain: *pre-treatment* (proses penampungan awal limbah), *primary treatment* atau pengendapan (pengendapan partikel-partikel organik yang terkandung dalam limbah setelah melalui proses penyaringan), dan *secondary treatment* (pengolahan limbah secara biologis dalam kondisi anaerob maupun aerob, yang kemudian dilanjutkan dengan pencampuran bahan kimia untuk membentuk flok-flok yang dapat mengendap menjadi lumpur).

Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) di PT Juang Jaya Abdi Alam, Sidomulyo, Lampung Selatan, melakukan pengolahan limbah melalui serangkaian proses fisika, kimia, dan biologi. Di area *Waste Water Treatment Plant* (WWTP), terdapat beberapa kolam yang berfungsi untuk mengolah limbah cair. Limbah cair yang diolah berasal dari berbagai sumber, antara lain: proses pembersihan kandang sapi yang pada bagian dasarnya menggunakan sabut kelapa, air pencucian bak minum sapi, urin sapi, serta feses.

Beberapa unit pengolahan limbah cair di WWTP antara lain sebagai berikut:

1. *Grid Chamber* merupakan bak penampungan awal limbah cair.
2. *Equalization* yaitu bak pengolahan pertama yang berfungsi untuk proses homogenisasi limbah.
3. *Pre-Treatment Tank* adalah tangki pengolahan limbah dari bak equalisasi, di mana dilakukan pemisahan antara padatan dan air limbah dengan bantuan bahan kimia.
4. *Aeration* merupakan proses pengolahan secara biologis yang melibatkan penambahan bakteri pengurai sebagai agen biodegradasi serta penggunaan *diffuser* untuk transfer oksigen.
5. *Sedimentation* merupakan proses pengendapan partikel padat dengan memanfaatkan gaya gravitasi.
6. *Chlorination (In dan Out)* merupakan proses penambahan klorin untuk membunuh bakteri patogen.
7. *Effluent Filter* merupakan proses filtrasi akhir dari air hasil olahan yang berasal dari bak klorin menggunakan *filter bag*.
8. Bak Bertingkat merupakan bak penampungan sementara sebelum air dialirkan ke bak berikutnya.
9. *Fish Pond* merupakan bak indikator yang digunakan untuk mengamati kualitas air limbah sebelum dialirkan ke lingkungan.
10. *Sludge Digester* merupakan unit pengolahan lumpur yang berasal dari sisa proses pada setiap unit pengolahan.
11. *Sludge Drying Bed (SDB)* merupakan tempat penyimpanan sementara limbah padatan hasil dari proses pengolahan.

2.3 Parameter Kualitas Air Limbah Peternakan Sapi

Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014, pembuangan limbah dari usaha peternakan sapi harus memenuhi baku mutu yang telah ditetapkan. Untuk menilai kelayakan limbah peternakan sapi yang akan dibuang ke lingkungan, limbah tersebut harus memenuhi kriteria baku mutu tersebut. Dalam ketentuan baku mutu tersebut, ditetapkan beberapa parameter, yaitu *Dissolved Oxygen* (DO), pH, suhu, *chemical oxygen demand* (COD), *total suspended solid* (TSS), dan amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$).

2.3.1 *Dissolved oxygen* (DO)

Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* atau DO) adalah jumlah oksigen yang terkandung di dalam air, yang umumnya diukur dalam satuan ppm (*parts per million*). Oksigen terlarut merupakan salah satu indikator penting dalam menentukan kualitas air baku.

Mikroorganisme perairan memanfaatkan oksigen tersebut dalam proses respirasi dan penguraian bahan organik menjadi zat anorganik. Oksigen terlarut berasal dari dua sumber utama, yaitu difusi oksigen dari udara ke dalam air dan hasil fotosintesis mikroorganisme berklorofil yang hidup di perairan. Oksigen ini juga berperan dalam proses oksidasi zat hara dalam ekosistem perairan. Semakin tinggi kadar oksigen terlarut, maka kualitas air cenderung lebih baik, karena menunjukkan bahwa tingkat pencemarannya relatif rendah. Sebaliknya, kadar oksigen terlarut yang rendah dapat mengindikasikan adanya pencemaran perairan.

Menurut Simanjuntak (2007), kadar oksigen terlarut yang rendah menyebabkan koagulan harus bereaksi dengan polutan atau bahan pencemar secara intensif saat proses pengendapan koloid berlangsung, yang pada akhirnya dapat menyebabkan peningkatan konsumsi koagulan secara berlebihan. Sementara itu, menurut

Salmin (2005), oksigen terlarut diperlukan oleh mikroorganisme yang hidup di dalam air untuk proses respirasi, metabolisme, dan pertukaran zat yang menghasilkan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan reproduksi.

2.3.2 Nilai *potential Hydrogen* (pH)

Nilai *potential hydrogen* (pH) merupakan indeks yang menunjukkan konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam air. pH menjadi salah satu variabel penting dalam pengelolaan air limbah karena dapat memengaruhi berbagai reaksi kimia yang terjadi di dalamnya. Kandungan bahan kimia dalam air limbah turut memengaruhi nilai pH tersebut. Nilai pH netral adalah 7,0, yang dianggap optimal dalam proses pengolahan air limbah, terutama pada suhu 25°C. Larutan yang bersifat asam memiliki nilai pH kurang dari 7, sedangkan larutan yang bersifat basa memiliki nilai pH lebih dari 7 (Zulius, 2017).

Pengujian pH dilakukan secara *in situ*, yaitu pengujian pH pada sampel dilakukan langsung di lokasi menggunakan pH meter digital. Selain itu, terdapat indikator sederhana yang juga digunakan dalam pengujian pH, yaitu kertas lakmus. Jika kertas lakmus berubah menjadi warna merah, maka sampel bersifat asam, sedangkan perubahan menjadi warna biru menunjukkan bahwa sampel bersifat basa (Sutrisna *et al.*, 2015).

Nilai pH limbah yang tidak netral dapat mengganggu proses kehidupan biologis dan mikrobiologis di dalamnya. Menurut Suada dan Tenaya (2023), limbah peternakan sapi memiliki nilai pH sebesar 9, sehingga bersifat sedikit basa. Salah satu faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan bakteri dalam limbah adalah nilai pH. Secara umum, rentang pH optimal untuk pertumbuhan bakteri

berada antara pH 4 hingga 9. Nilai pH air limbah peternakan sapi umumnya berkisar antara 7,2 hingga 7,5. pH merupakan parameter penting dalam analisis kualitas air karena memengaruhi berbagai proses biologis dan kimiawi di dalamnya (Hasrianti dan Nurasia, 2019). Kisaran pH 7-8 merupakan kondisi yang baik untuk pertumbuhan bakteri pengurai seperti *Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., serta bakteri golongan *coliform*. pH juga berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri. Enzim tersebut dibutuhkan dalam proses katalis berbagai reaksi yang terjadi selama pertumbuhan bakteri. Apabila nilai pH suatu limbah tidak berada pada kondisi optimal, maka aktivitas enzim dapat terganggu dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Suriani *et al.*, 2013). Selanjutnya, menurut Alam *et al.* (2013), aktivitas selulolitik tertinggi ditemukan pada kondisi pH 8.

2.3.3 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan bakteri. Setiap mikroorganisme memiliki kisaran suhu dan suhu optimum tertentu untuk mendukung pertumbuhannya. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, bakteri dibedakan menjadi tiga kelompok, yaitu: psikrofil, yaitu bakteri yang memiliki kisaran suhu pertumbuhan antara 0-20°C; mesofil, yaitu bakteri dengan kisaran suhu pertumbuhan 20-45°C; dan termofil, yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu di atas 45°C (Nurhayati *et al.*, 2022).

Menurut Rahmawati (2017), bakteri selulolitik memiliki kisaran suhu pertumbuhan antara 27-36°C. Nurhajati *et al.* (2016) menyatakan bahwa aktivitas selulolitik bakteri tertinggi tercapai pada suhu 35°C. Analisis suhu pada limbah Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) dapat dilakukan menggunakan alat DO meter,

sebagaimana diatur dalam SNI 06-6989.14-2004, yang memungkinkan pengukuran suhu dan kadar oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* atau DO) secara bersamaan.

2.3.4 *Chemical Oxygen Demand (COD)*

Chemical Oxygen Demand (COD) adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk menguraikan seluruh bahan organik yang terkandung dalam air secara kimiawi (Andika *et al.*, 2020). Parameter COD digunakan sebagai salah satu indikator dalam penilaian kualitas air limbah. Nilai COD yang tinggi menunjukkan bahwa kandungan bahan organik dalam air limbah cukup tinggi, sehingga membutuhkan lebih banyak oksigen untuk proses degradasi.

Menurut Islamawati *et al.* (2018), COD merupakan ukuran kebutuhan oksigen untuk mendegradasi senyawa organik dalam air secara kimia. Sementara itu, Haerun *et al.* (2018) menjelaskan bahwa pengukuran COD dilakukan dengan menggunakan oksidator berupa kalium bikromat dalam kondisi asam dan panas, serta menggunakan perak sulfat sebagai katalisator, sehingga seluruh bahan organik dapat terurai secara efektif.

2.3.5 *Total Suspended Solid (TSS)*

Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 05 Tahun 2014, nilai baku mutu *Total Suspended Solid (TSS)* pada limbah peternakan sapi adalah maksimum 100 mg/L. *Total Suspended Solid* merupakan partikel padat yang tersuspensi dalam air dan dibedakan dari padatan terlarut berdasarkan ukurannya. TSS sering kali menyebabkan perubahan warna pada air yang dikenal sebagai *false colour* (warna palsu), karena setelah dilakukan penyaringan, bagian supernatan menunjukkan warna asli (*true colour*).

Kandungan TSS dalam limbah peternakan sapi umumnya berasal dari tingginya konsentrasi zat-zat organik dan anorganik. Oleh karena itu, diperlukan penanganan lanjutan untuk mengurangi kadar TSS dalam limbah tersebut (Suada dan Tenaya, 2023).

Total Suspended Solid (TSS) atau padatan tersuspensi merupakan salah satu parameter fisika yang penting untuk menentukan kondisi awal lingkungan serta dapat digunakan sebagai indikator kualitas suatu perairan. Kadar TSS yang tinggi dalam perairan dapat menghambat penetrasi cahaya matahari ke dalam air, sehingga mengakibatkan penurunan proses fisiologis seperti fotosintesis dan respirasi organisme akuatik (Sari *et al.*, 2018).

2.3.6 Amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$)

Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 05 Tahun 2014, nilai baku mutu amonia dalam limbah peternakan sapi adalah 25 mg/L. Amonia merupakan senyawa yang bersifat toksik bagi manusia. Paparan amonia dapat menimbulkan iritasi pada kulit, mata, dan saluran pernapasan. Pada konsentrasi yang sangat tinggi, penghirupan uap amonia bersifat fatal. Jika terlarut dalam perairan, amonia dapat menyebabkan keracunan pada hampir seluruh organisme akuatik (Murti *et al.*, 2014). Oleh karena itu, perlu dilakukan pemeriksaan kadar amonia dalam limbah peternakan sapi sebelum dibuang ke badan air seperti sungai (Azizah dan Humairoh, 2015). Amonia dalam limbah sapi berasal dari proses amonifikasi, yaitu dekomposisi bahan organik oleh aktivitas mikroorganisme (Kartika *et al.*, 2019).

2.4 Bakteri Indigen

Bakteri indigen adalah bakteri yang secara alami hidup dan berkembang di suatu lingkungan tertentu atau lingkungan asalnya. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik maupun anorganik yang bersifat mencemari limbah (Mayanti dan Herto, 2009). Oleh karena itu, bakteri indigen berperan penting sebagai agen biodegradasi. Biodegradasi adalah proses penguraian senyawa oleh mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memecah polimer alami seperti lignin dan selulosa, maupun polimer sintesis seperti polietilen dan polistiren. Mikroorganisme tersebut memanfaatkan karbon yang dihasilkan dari proses degradasi polimer sebagai sumber energi dan bahan untuk pertumbuhan. Proses biodegradasi umumnya diawali dengan pemecahan polimer menjadi monomer, kemudian monomer tersebut akan mengalami proses mineralisasi. Sebagian besar polimer berukuran terlalu besar untuk dapat melewati membran sel mikroorganisme, sehingga harus terlebih dahulu diuraikan menjadi monomer yang lebih kecil agar dapat diserap dan selanjutnya didegradasi di dalam sel mikroba. Beberapa jenis mikroorganisme yang paling umum dimanfaatkan dalam proses biodegradasi adalah bakteri (Shovitri, 2015).

Pada saat bakteri tumbuh dan berkembang dalam limbah, unsur karbon akan digunakan untuk menyusun bahan sel penyusun mikroba, disertai dengan pelepasan karbon dioksida dan senyawa-senyawa lain yang mudah menguap. Selama proses biodegradasi, mikroorganisme juga mengasimilasi unsur nitrogen, fosfor, kalium, dan belerang yang terikat dalam protoplasma sel. Hal ini sejalan dengan tujuan utama dari pengolahan limbah secara biologis, yaitu untuk mendegradasi senyawa organik melalui proses oksidasi. Dengan demikian, senyawa-senyawa organik kompleks dapat diuraikan menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dan mudah larut. Selain itu, senyawa-senyawa hasil degradasi tersebut juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh bakteri indigenous (Fidiastuti *et al.*, 2017).

Air limbah pada umumnya mengandung bakteri yang mampu menguraikan bahan pencemar organik, sehingga air limbah menjadi lebih aman untuk dibuang ke lingkungan. Proses penguraian tersebut melibatkan dua jenis bakteri, yaitu bakteri indigen dan bakteri produk komersial. Bakteri indigen merupakan mikroorganisme hasil isolasi yang dilakukan oleh laboratorium dari sampel lingkungan setempat. Sementara itu, bakteri produk komersial adalah mikroorganisme yang diperoleh dari produk yang tersedia di pasaran dan relatif mudah didapatkan. Produk komersial ini umumnya digunakan dalam proses bioremediasi untuk menjaga kualitas air (Sila *et al.*, 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Priadie (2012) menyatakan bahwa hasil isolasi dan identifikasi bakteri indigen menunjukkan keberadaan beberapa jenis bakteri, antara lain *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Phenyllobacterium*, *Enhydrobacter*, *Morrococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, dan *Pseudomonas*, yang mampu mendegradasi logam Pb, nitrat, nitrit, bahan organik, sulfida, kekeruhan, dan amonia. Sementara itu, dari bakteri produk komersial diperoleh jenis-jenis bakteri seperti *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Escherichia* (Sila, 2022). Hasil identifikasi tersebut sejalan dengan temuan Fidiastuti (2017) yang menunjukkan adanya spesies-spesies bakteri potensial yang juga memiliki kemampuan dalam mendegradasi limbah cair, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pseudomallei*, dan *Actinobacillus* sp.

Bakteri indigen merupakan salah satu bentuk bioteknologi yang digunakan sebagai agen pengurai dalam pengolahan air limbah yang ramah lingkungan. Bakteri indigen diisolasi dari limbah tersebut, kemudian dikultur untuk memperoleh koloni tunggal. Konsorsium bakteri yang berpotensi selanjutnya diperbanyak di laboratorium dan digunakan sebagai starter dalam proses pengolahan limbah. Transformasi limbah dilakukan oleh mikroorganisme, khususnya bakteri pendegradasi, melalui proses metabolisme dengan cara menghasilkan enzim bakteri (Fidiastuti, 2017).

2.5 Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim selulase, yaitu enzim yang dapat menghidrolisis selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana, yaitu glukosa (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017). Bakteri selulolitik umumnya ditemukan pada substrat yang mengandung selulosa, seperti bahan organik dari bagian tumbuhan yang melapuk. Jannah *et al.* (2017) melaporkan bahwa terdapat beberapa genus bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik, antara lain *Achromobacter*, *Angiococcus*, *Cytophaga*, *Cellvibrio*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Polangium*, *Sorangium*, *Sporocytophaga*, *Vibrio*, *Cellfalcicula*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aeromonas*, *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Thermonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Acetivibrio*, *Micromonospora*, dan *Streptomyces*. Sementara itu, menurut Yogyaswari *et al.* (2016), spesies bakteri selulolitik aerob yang diisolasi dari cairan rumen sapi antara lain berasal dari genus *Nitrosomonas*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Cytophaga*, *Lactobacillus*, *Cellvibrio*, dan *Acidothermus*.

Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dilakukan proses pemurnian berdasarkan karakteristik morfologi koloni, dengan memilih koloni yang berbeda dari segi bentuk, warna, tepian, dan elevasi (Yosmaniar, 2018). Pemurnian bakteri dilakukan dengan metode *streak plate* pada media CMC agar dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Tujuan dari proses ini adalah untuk memperoleh koloni tunggal dari setiap isolat. Setiap isolat yang telah dimurnikan selanjutnya diuji aktivitas selulolitiknya secara kualitatif menggunakan metode totol pada media CMC agar. Uji dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Murtiyaningsih *et al.*, 2017). Koloni yang tumbuh selanjutnya diwarnai dengan larutan *Congo red* 0,1% selama 15 menit, lalu dibilas menggunakan larutan NaCl 1 M (Nababan *et al.*, 2019).

Aktivitas selulolitik bakteri ditentukan berdasarkan hasil pengukuran diameter zona jernih dan diameter koloni. Indeks aktivitas selulolitik dihitung dengan membandingkan rasio antara diameter zona jernih terhadap diameter koloni.

Luas setiap koloni dan luas zona jernih yang terlihat dihitung menggunakan pengukuran diameter koloni dan diameter zona jernih serta metode gravimetri. Menurut Irwan dan Wicaksono (2017), metode gravimetri dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Menggunakan pola-pola koloni (replika koloni) yang digambar pada plastik mika bening;
2. Replika koloni tersebut ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik;
3. Membuat potongan kertas 1 cm x 1 cm lalu ditimbang;
4. Menghitung luas koloni dengan menggunakan rumus:

$$\text{Luas Koloni} = \frac{\text{Bobot Replika Koloni}}{\text{Bobot Kertas 1 cm x 1 cm}} \times 1 \text{ cm}^2$$

Setelah diperoleh nilai luas koloni, selanjutnya di hitung indeks enzimatik. Pada penentuan indeks enzimatik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rosa *et al.*, 2020) dengan 3 kali replikasi.

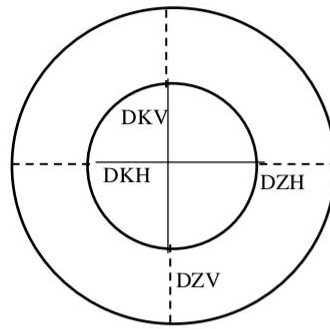
$$\text{IE} = \frac{\text{Luas zona jernih} - \text{luas koloni}}{\text{Luas koloni}}$$

Keterangan:

IE: Indeks Enzimatik

Metode pengukuran indeks selulolitik menurut Sumardi dkk (2018), yang menyatakan bahwa indeks zona jernih diukur dengan menghitung rasio antara diameter zona jernih dengan diameter koloni (Gambar 1). Indeks selulolitik diukur mengikuti rumus berikut:

$$\text{IE} = \frac{\text{Diameter zona bening (mm)} - \text{Diameter koloni (mm)}}{\text{Diameter koloni (mm)}}$$



Gambar 1. Ilustrasi Diameter Koloni dan Zona Jernih

Keterangan: DKH: Diameter koloni bakteri secara horizontal

DKV: Diameter koloni bakteri secara vertikal

DZH: Diameter zona jernih bakteri secara horizontal

DZV: Diameter zona jernih bakteri secara vertikal

Isolasi bakteri selulolitik dilakukan pada media CMC (*carboxymethyl cellulose*), yang merupakan media selektif bagi bakteri yang menggunakan selulosa sebagai sumber karbon. Menurut Fahrudin *et al.* (2020), terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media CMC menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi selulosa dalam media yang dikatalisis oleh enzim selulase. Isolat koloni yang tumbuh diduga memiliki aktivitas enzim selulase yang dapat merombak substrat selulosa dalam bentuk *carboxymethyl cellulose*.

Meryandini *et al.* (2009) menyatakan bahwa aktivitas enzim selulase pada media CMC terutama berupa enzim endo-1,4- β -glukanase. Selanjutnya, menurut Arifin *et al.* (2019), zona bening yang terbentuk pada media CMC disebabkan oleh reaksi antara *congo red* (natrium benzydindiazo-bis-naftilamin-4-sulfonat) dan ikatan β -1,4-glikosidik dalam CMC. Reaksi ini menunjukkan degradasi selulosa oleh aktivitas enzimatis bakteri. Sementara itu, Nofa *et al.* (2014) menyebutkan bahwa struktur rantai selulosa dalam CMC yang lebih pendek mempermudah bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni pada media tersebut.

Menurut Suhu *et al.* (2019), NaCl berfungsi untuk melunturkan *Congo red*, terutama di sekitar koloni yang mengandung enzim selulase. Enzim ini menghidrolisis substrat seperti selodekstrin, selobiosa, dan glukosa. *Congo red* tidak terikat kuat pada senyawa-senyawa tersebut, sehingga menghasilkan zona bening di sekitar koloni. *Congo red* merupakan pewarna yang merupakan garam natrium dari benzidinediazo-bis-1-naphthylamine-4-asamsulfonat ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) yang dapat larut saat dibilas dengan larutan garam natrium seperti NaCl. Oleh karena itu, terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri.

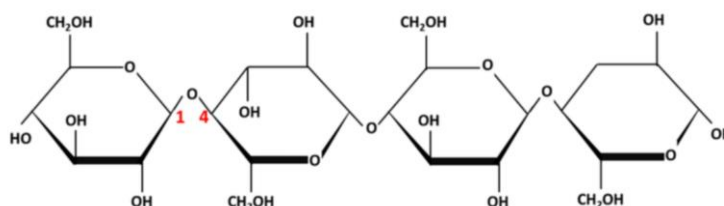
Zona bening tersebut menunjukkan area terjadinya pemutusan ikatan β -1,4-glikosidik yang menghubungkan monomer D-glukosa pada *carboxymethyl cellulose* (CMC) (Mahmudah *et al.*, 2016). Media isolasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Mandels CMC yang telah dimodifikasi. Menurut Hernawati *et al.* (2016), komposisi media Mandels CMC terdiri atas: CMC 0,5%, ekstrak ragi (*yeast extract*) 0,35%, tripton 0,35%, NaCl 0,2%, KH_2PO_4 0,245%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,035%, dan $(NH_4)_2SO_4$ 0,17%.

2.6 Selulosa

Selulosa merupakan senyawa organik yang termasuk dalam kelompok polisakarida. Senyawa ini merupakan komponen utama penyusun dinding sel tumbuhan hijau, bersama dengan hemiselulosa dan pektin, dan terdiri atas rantai linier yang tersusun dari beberapa ratus hingga lebih dari sepuluh ribu unit D-glukosa yang terikat melalui ikatan β -(1 $\rightarrow$ 4) (Klemm *et al.*, 2006). Selulosa memiliki struktur yang kaku dan sukar dirombak, tidak larut dalam air panas, serta sulit dicerna oleh sistem pencernaan manusia. Namun, selulosa dapat terdegradasi menjadi unit-unit glukosa oleh enzim yang dihasilkan oleh organisme atau mikroorganisme tertentu (Irfan *et al.*, 2012).

Berdasarkan derajat polimerisasi (DP) dan kelarutan dalam senyawa natrium hidroksida (NaOH) 17,5%, selulosa dapat dibagi atas tiga jenis (Nuringtyas, 2010), yaitu:

1. α - Selulosa (*Alpha Cellulose*) adalah selulosa berantai panjang, tidak larut dalam larutan NaOH 17,5% atau larutan basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) 600 – 15000. α - selulosa dipakai sebagai penduga dan atau tingkat kemurnian selulosa. Semakin tinggi kadar alfa selulosa, maka semakin baik mutu bahannya,
2. Selulosa β (*Betha Cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5% atau basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) 15 – 90, dapat mengendap bila dinetralkan,
3. Selulosa γ (*Gamma Cellulose*) adalah selulosa berantai pendek, larut dalam larutan NaOH 17,5% atau basa kuat dengan DP (Derajat Polimerisasi) kurang dari 15, kandungan utamanya adalah hemiselulosa. Struktur kimia selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Selulosa (Okolie *et al.*, 2021)

2.7 Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik

Mikroorganisme seperti cendawan, bakteri, dan aktinomisetes dapat mendegradasi selulosa secara langsung di alam. Mikroorganisme tersebut menghasilkan enzim selulase yang terdiri atas endoglukanase dan eksoglukanase, termasuk *cellobiohydrolases* dan β -glukosidase (Jayasekara & Ratnayake, 2019). Degradasi selulosa berlangsung melalui proses enzimatik dengan bantuan mikroorganisme yang dikenal sebagai mikroorganisme selulolitik. Salah satu enzim yang berperan dalam penguraian selulosa adalah enzim selulase, yang mampu menghidrolisis

ikatan β -(1 $\rightarrow$ 4). Enzim selulase memiliki peran penting dalam menguraikan limbah bahan organik yang mengandung selulosa menjadi glukosa, protein, pakan ternak, etanol, dan produk lainnya (Hidayah & Hazmi, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fahrudin *et al.* (2020), bakteri selulolitik penghasil enzim selulase dapat diisolasi dari limbah kotoran ternak. Penelitian tersebut berhasil memperoleh isolat yang mampu mendegradasi senyawa selulosa dengan tingkat degradasi yang tergolong sedang. Temuan ini menunjukkan bahwa kotoran ternak sapi mengandung bakteri selulolitik yang berpotensi digunakan untuk mendegradasi substrat selulosa. Tingkat degradasi sedang tersebut ditentukan berdasarkan perhitungan indeks selulolitik dari zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni. Variasi ukuran zona jernih tersebut berkaitan dengan kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam memproduksi enzim selulase. Isolat bakteri yang memiliki nilai indeks selulolitik tinggi mampu menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menghasilkan zona jernih yang lebih besar di sekitar koloni (Rahayu *et al.*, 2014). Menurut Choi *et al.* (2005), nilai indeks selulolitik dikategorikan menjadi tiga, yaitu: rendah (IS < 1 cm), sedang (IS antara 1–2 cm), dan tinggi (IS $\geq$ 2 cm).

Proses penguraian selulosa secara alami dilakukan dengan bantuan mikroorganisme yang menghasilkan enzim selulase. Enzim ini berfungsi memutus ikatan β -1,4-glikosida pada rantai panjang selulosa. Dalam lingkungan aerobik, selulosa akan terurai menjadi glukosa dan karbon dioksida yang kemudian dimanfaatkan oleh sel yang sedang tumbuh. Sementara itu, dalam lingkungan anaerobik, selulosa akan terurai menjadi alkohol dan asam. Hidrolisis enzimatik terhadap selulosa hanya dapat dilakukan oleh enzim yang dikenal sebagai enzim selulase (Prihatiningrum, 2002).

2.8 Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu sampel atau sediaan. Metode ini sering disebut juga sebagai *Total Plate Count* (TPC) (Irfan, 2021). ALT memiliki prinsip yang serupa dengan TPC.

Total Plate Count (TPC) adalah salah satu metode pemeriksaan mikrobiologi yang digunakan untuk mengestimasi jumlah total mikroba dalam suatu sampel (Elmoslemany *et al.*, 2009). TPC menunjukkan jumlah bakteri dalam setiap 1 mL atau 1gram sampel yang diperiksa. Prinsip dasar TPC adalah menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media agar setelah diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam. Metode TPC dapat dilakukan dengan beberapa teknik, yaitu metode *pour plate* dan *spread plate*.

Pada prinsipnya, dilakukan pengenceran sampel yang kemudian ditanam pada media agar. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media agar dihitung setelah proses inkubasi, dengan mempertimbangkan jumlah koloni antara 30 hingga 300. Angka lempeng total dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan yang dikalikan dengan faktor pengenceran (Sundari, 2019).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2024 sampai Maret 2025 di Laboratorium Mikrobiologi wilayah *Waste Water Treatment Plant* (WWTP) di PT Juang Jaya Abdi Alam, Sidomulyo Lampung Selatan dan Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini digunakan beberapa peralatan dan bahan. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah mikroskop, DO meter, ammonia HR, Hach DR 900, pH meter, termometer, *autoclave*, *incubator*, *laminar air flow*, *vortex*, *shaker incubator*, cawan petri, *beaker glass*, *hot plate magnetic stirrer*, batang pengaduk, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung durham, jarum ose bulat, bunsen, aluminium oil, gelas ukur, botol semprot, gayung sampel, botol gelap, *cool box*, sarung tangan latex, *object glass*, *cover glass*, penjepit, dan alat tulis.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media CMC agar 5 g/L, media *Mandels Agar* ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, tryptone, K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ *yeast extract*, NaCl, dan agar), alkohol 70%, cat Gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin), cat spora (safranin, dan *malachite green*), akuades, H_2O_2 3%, larutan *congo red* 0,1%, NaCl 1 M, KOH 3%,

gula (laktosa, sukrosa, glukosa, mannitol, maltosa), *brom cressol purple* (bcp), KOH 3% (Kalium Hidroksida), dan HCL (Hidrogen Klorida), dan NaOH.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri selulolitik pada air limbah kolam equalisasi di PT Juang Jaya Abdi Alam, Kabupaten Lampung Selatan. Pengambilan sampel dilakukan di area Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) pada kolam equalisasi PT Juang Jaya Abdi Alam, Desa Kota Dalam, Kecamatan Sidomulyo, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah metode *grab sample*. Sampel yang diperoleh selanjutnya diuji terhadap beberapa parameter lingkungan, yaitu suhu, pH, oksigen terlarut (*dissolved oxygen*), total padatan tersuspensi (*total suspended solids* atau *TSS*), kebutuhan oksigen kimia (*chemical oxygen demand* atau *COD*), dan amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$).

Sampel air kemudian diisolasi menggunakan media Mandels CMC dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi, muncul pertumbuhan koloni bakteri. Selanjutnya, dilakukan perhitungan total kepadatan koloni menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Pengamatan makroskopik dilakukan sebagai tahap seleksi awal dengan mengamati morfologi koloni, meliputi bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni. Isolat bakteri yang diperoleh kemudian diseleksi untuk aktivitas selulolitik dengan cara diinokulasikan pada media Mandels CMC menggunakan metode totol. Setelah inkubasi selama 48 jam, dilakukan visualisasi zona jernih dengan menambahkan larutan *Congo red* 0,1%, kemudian dibilas menggunakan larutan NaCl 1 M. Proses selanjutnya adalah purifikasi atau pemurnian isolat bakteri.

Setelah tahap pemurnian, dilakukan uji kemampuan isolat dalam mendegradasi selulosa untuk menentukan nilai indeks selulolitik terbaik dari masing-masing isolat terseleksi. Karakterisasi isolat bakteri dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis. Karakterisasi makroskopis dilakukan untuk mengamati morfologi koloni dan morfologi sel bakteri selulolitik, yang mencakup bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni. Karakterisasi mikroskopis dilakukan melalui pewarnaan Gram dan pewarnaan endospora. Karakterisasi fisiologis dilakukan dengan melalui uji KOH, uji katalase, uji fermentasi karbohidrat, dan uji motilitas. Hasil karakterisasi yang diperoleh dianalisis dan disajikan secara deskriptif.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di area *Waste Water Treatment Plant* (WWTP), tepatnya pada kolam ekualisasi di PT Juang Jaya Abdi Alam, Desa Kota Dalam, Kecamatan Sidomulyo, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah metode *grab sample* atau sampel sesaat, yang mengacu pada SNI 6989.59:2008 tentang Air dan Air Limbah Bagian 59: Metode Pengambilan Contoh Air Limbah, yaitu teknik pengambilan sampel yang dilakukan secara sesaat. Sampel diambil dari permukaan air kolam ekualisasi pada waktu tertentu dengan tiga titik sampling yang telah diberi jarak antar titik sebesar 5 meter. Selanjutnya, dilakukan penggabungan (komposit) dari ketiga titik menjadi satu sampel untuk setiap interval waktu pengambilan. Pengambilan dilakukan pada pukul 09.00 WIB, 12.00 WIB, dan 15.00 WIB.

Pengambilan sampel dilakukan menggunakan gayung plastik bertangkai. Sampel diambil dari tiga titik pada waktu yang sama, kemudian digabungkan ke dalam *beaker glass* berkapasitas 250 mL, dengan masing-masing titik diambil sebanyak 50 mL. Setelah homogenisasi sampel dari tiga titik tersebut menjadi satu sampel komposit, dilakukan pengujian parameter lingkungan secara langsung, yang meliputi pengukuran suhu, pH, oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* atau DO), total padatan tersuspensi (*Total Suspended Solids* atau TSS), kebutuhan oksigen kimiawi (*Chemical Oxygen Demand* atau COD), dan amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$).

Hasil pengujian parameter lingkungan tersebut dicatat dalam buku catatan khusus. Pengambilan sampel dilakukan pada kolam equalisasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengambilan sampel dilakukan pada kolam equalisasi (dokumen pribadi, 2024)

3.4.2 Pengujian Parameter Lingkungan

Adapun beberapa parameter yang diuji diantaranya sebagai berikut:

a. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter. Ujung elektroda pH meter terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan akuades, kemudian dibersihkan secara perlahan dengan tisu.

Setelah itu, pH meter dimasukkan ke dalam sampel air dan dibiarkan selama beberapa menit hingga nilai pH stabil. Nilai yang ditunjukkan kemudian dicatat (Eviati, 2005).

b. Pengukuran DO (*Dissolved Oxygen*) dan Suhu

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat DO meter yang terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan akuades. Setelah itu, sensor DO meter dicelupkan ke dalam sampel air, tombol daya ditekan, kemudian dibiarkan selama 2-5 menit hingga nilai yang ditunjukkan stabil. Hasil pengukuran kemudian dicatat (SNI 06-6989.14-2004).

c. *Chemical Oxygen Demand* (COD)

Penentuan kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) pada sampel air limbah dilakukan menggunakan alat colorimeter Hach DR 900 yang mengacu pada dokumen metode DOC 316.53.01099. Sebanyak 2 mL sampel yang telah dipersiapkan diambil menggunakan pipet volumetrik, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang berisi reagen COD. Setelah itu, dilakukan proses homogenisasi menggunakan alat vortex, dan disiapkan satu vial sebagai blanko. Selanjutnya, sampel dan blanko dipanaskan menggunakan alat DRB 200 Hach pada suhu 150°C selama 2 jam, lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Parameter COD kemudian diukur menggunakan alat colorimeter Hach DR 900, dan hasil pengukuran yang ditampilkan pada layar dicatat (Sufra *et al.*, 2024).

d. *Total Suspended Solid (TSS)*

Analisis TSS dilakukan menggunakan alat Hach DR 900. Proses dimulai dengan melakukan kalibrasi alat menggunakan tabung berisi blanko sebanyak 10 mL. Selanjutnya, sampel sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam tabung sampel, kemudian tabung tersebut dimasukkan ke dalam alat dan tombol *RECHTS* ditekan untuk memperoleh nilai TSS (Muna & Sitogasa, 2023).

e. *Amonia (NH₃-N)*

Analisis amonia dilakukan menggunakan alat *handheld colorimeter* Ammonia High Range (HR). Adapun tahapan penggunaan alat tersebut adalah sebagai berikut:

1. Alat diaktifkan dengan menekan tombol *on*. Seluruh segmen akan ditampilkan selama beberapa detik, kemudian akan muncul indikator "Add C.1" (*tambah C.1*) yang berkedip.
2. Sebanyak 1 mL sampel yang belum bereaksi diambil menggunakan jarum suntik, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Setelah itu, 9 mL sampel ditambahkan ke dalam reagen H1733B-0 Ammonia High Range B menggunakan pipet tetes. Tutup kuvet kemudian dipasang kembali dan larutan dikocok hingga homogen. Setelah itu, kuvet dimasukkan ke dalam ruang pengukuran dan penutup alat ditutup.
3. Tombol *on* ditekan hingga indikator "Add C.2" muncul dan berkedip, lalu dilakukan pengukuran nol (*zeroing*) instrumen.
4. Kuvet dikeluarkan dan tutupnya dibuka. Selanjutnya, sebanyak 4 tetes reagen H1733A-0 *Ammonia High Range*

ditambahkan. Tutup kuvet kemudian dipasang kembali dan larutan dikocok hingga merata.

5. Kuvet dimasukkan kembali ke dalam ruang pengukuran, dan penutup alat ditutup. Tombol *power* ditekan dan ditahan hingga layar menampilkan hitungan mundur. Setelah itu, waktu tunggu selama 3 menit 30 detik diperlukan sebelum tombol ditekan kembali untuk memulai pembacaan hasil.
6. Hasil pengukuran akan ditampilkan oleh instrumen dalam satuan mg/L (ppm) ion amonium (NH_4^+). Untuk mengonversi hasil menjadi ppm amonia (NH_3), pembacaan dikalikan dengan faktor 0,944. Sementara itu, untuk mengubahnya menjadi ppm nitrogen amonia ($\text{NH}_3\text{-N}$), pembacaan dikalikan dengan faktor 0,776. Instrumen akan mati secara otomatis setelah 10 menit tidak digunakan. Pengujian parameter lapangan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengujian Parameter Lingkungan

Waktu	Parameter					
	Suhu	pH	DO	TSS	COD	$\text{NH}_3\text{-N}$
09.00 WIB						
11.00 WIB						
13.00 WIB						

3.4.3 Pembuatan Media Mandels Agar + *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC)

Media Mandels yang dimodifikasi dengan penambahan CMC telah disiapkan sesuai metode yang dimodifikasi dari Sumardi (2020), dengan komposisi sebagai berikut: 5 g/L CMC; 2,45 g/L KH_2PO_4 ; 1,7 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,35 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 3,5 g/L ekstrak ragi; 3,5 g/L tripton; 2 g/L NaCl; dan 15 g/L agar dalam 1000 mL

akuades. Seluruh bahan dituang ke dalam gelas beaker dan ditutup menggunakan aluminium foil. Campuran tersebut kemudian dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih dan dihomogenkan. Setelah itu, larutan dipindahkan ke dalam Erlenmeyer steril, lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Gupta *et al.*, 2012).

3.4.4 Isolasi Bakteri

Pengenceran suspensi bakteri dari sampel air kolam equalisasi pada penelitian ini dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Sebanyak 1 mL sampel dari tabung Erlenmeyer pada tingkat pengenceran 10^{-1} diambil menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan NaCl 0,9%. Selanjutnya, campuran tersebut dihomogenkan menggunakan vortex untuk memperoleh tingkat pengenceran 10^{-2} . Prosedur yang sama dilanjutkan hingga mencapai tingkat pengenceran 10^{-5} .

Isolasi bakteri selulolitik dilakukan dengan metode *pour plate* pada media Mandels CMC. Setiap suspensi hasil pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-5} diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet, kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media Mandels CMC. Suspensi dihomogenkan dengan gerakan memutar membentuk angka delapan, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C dan pH 7. Proses isolasi dilakukan sebanyak dua kali ulangan (*duplo*). Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh diamati (Fauziah & Ibrahim, 2020).

3.4.5 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik dengan *Total Plate Count* (TPC)

Jumlah koloni yang tumbuh diamati setelah 48 jam inkubasi, kemudian dihitung kepadatan bakteri yang mampu tumbuh dan membentuk koloni pada media CMC dengan menggunakan *colony counter*. Menurut Utami *et al.* (2021), koloni pada cawan petri yang memiliki kepadatan antara 30 hingga 300 CFU dianggap memenuhi syarat untuk perhitungan. Penghitungan jumlah koloni dilakukan berdasarkan SNI 2897:2008.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] \times d}$$

Keterangan:

- N = jumlah koloni, dinyatakan dalam koloni per ml
- $\sum C$ = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
- n1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d = pengenceran pertama yang dihitung

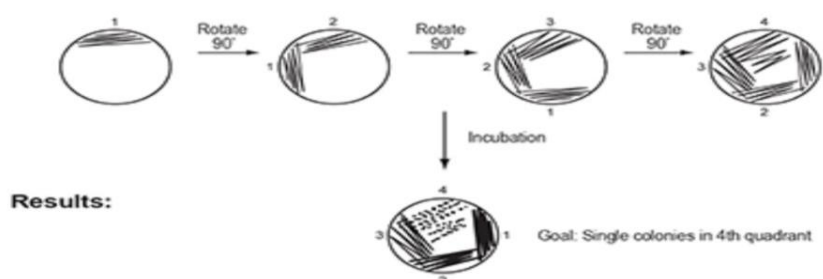
3.4.6 Skrining Bakteri Selulolitik

Seleksi terhadap bakteri hasil isolasi dilakukan dengan mengamati morfologi makroskopis koloni bakteri, yang mencakup bentuk, warna, elevasi, dan tepi koloni. Bakteri diinokulasikan pada media Mandels CMC menggunakan metode totol, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25°C dengan pH 7. Visualisasi zona jernih dilakukan dengan menuangkan larutan *Congo red* 0,1%, kemudian dibilas menggunakan larutan NaCl 1 M. Bakteri yang membentuk zona jernih dihitung untuk menentukan nilai indeks selulolitik. Pengujian lanjutan dilakukan terhadap isolat dengan nilai indeks selulolitik tertinggi.

3.4.7 Purifikasi atau Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik

Sebanyak satu ose koloni bakteri hasil isolasi diambil dan digoreskan pada media CMC menggunakan metode *streak plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C dan pH 7 selama 24 jam untuk memperoleh koloni tunggal. Selanjutnya, koloni tunggal tersebut ditanam pada media agar miring sebagai stok yang akan digunakan untuk uji lanjutan.

Teknik *streak plate* dengan metode kuadran dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Teknik *Streak Plate* dengan Metode Kuadran (Sanders, 2012).

3.4.8 Inokulasi Isolat Bakteri

Media Mandels CMC cair disiapkan dengan komposisi sebagai berikut: 5 g/L karboksimetil selulosa (CMC), 2,45 g/L KH_2PO_4 , 1,7 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,35 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3,5 g/L ekstrak ragi, 3,5 g/L tripton, 2 g/L NaCl, dan 15 g/L agar, yang dilarutkan dalam 1000 mL akuades. Selanjutnya, media disterilisasi menggunakan autoklaf. Setelah sterilisasi, media didinginkan dan disimpan pada suhu ruang.

Prosedur inokulasi isolat bakteri dimodifikasi dari penelitian yang dilakukan oleh Seprianto (2017). Isolat bakteri diambil sebanyak dua ose dan diinokulasikan ke dalam 10 mL media Mandels CMC cair dalam erlenmeyer. Kemudian, media diinkubasi pada suhu 37°C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam untuk memperoleh kultur *starter*. Kultur *starter* tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam 100 mL media Mandels CMC cair dalam erlenmeyer, dan kembali diinkubasi pada suhu 37°C dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Setelah inkubasi, jumlah sel bakteri dihitung menggunakan alat *hemocytometer* dan dinyatakan dalam satuan 10^6 sel/mL.

3.4.9 Uji Kemampuan Bakteri Selulolitik dalam Mendegradasi Selulosa

Kemampuan isolat bakteri selulolitik dalam mendegradasi substrat selulosa dapat dianalisis menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion test*) yang dimodifikasi dari Putri *et al.* (2023). Isolat bakteri hasil inkubasi pada media Mandels CMC cair diinokulasikan ke dalam cawan Petri, kemudian cakram kertas steril sebanyak 15 mL dicelupkan hingga seluruh permukaan cakram terendam selama 30 menit. Media Mandels CMC padat yang telah disterilisasi dituangkan ke dalam cawan Petri dan dibiarkan hingga memadat. Setelah media mengeras, kertas cakram diletakkan di atas permukaan media, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam. Visualisasi zona jernih dilakukan dengan penetesan larutan *Congo red* 0,1% (0,1 g *Congo red* dilarutkan dalam 100 mL akuades) sesuai metode Waling *et al.* (2021). Sebanyak 10 mL larutan ditetaskan pada media, didiamkan selama 15 menit, kemudian dibilas menggunakan larutan NaCl 1 M

(5,85 g NaCl dilarutkan dalam 100 mL akuades). Zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri diamati dan diukur menggunakan penggaris, lalu dihitung nilai Indeks Selulolitik nya.

3.4.10 Perhitungan Indeks Selulolitik

Luas setiap koloni dan luas zona jernih yang terlihat dihitung menggunakan pengukuran diameter koloni dan diameter zona jernih serta metode gravimetri. Menurut Irwan dan Wicaksono (2017), metode gravimetri dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Menggunakan pola-pola koloni (replika koloni) yang digambar pada plastik mika bening;
2. Replika koloni tersebut ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik;
3. Membuat potongan kertas 1 cm x 1 cm lalu ditimbang;
4. Menghitung luas koloni dengan menggunakan rumus:

$$\text{Luas Koloni} = \frac{\text{Bobot Replika Koloni}}{\text{Bobot Kertas 1 cm x 1 cm}} \times 1 \text{ cm}^2$$

Setelah diperoleh nilai luas koloni, selanjutnya di hitung indeks enzimatik. Pada penentuan indeks enzimatik dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Rosa *et al.*, 2020) dengan 3 kali replikasi.

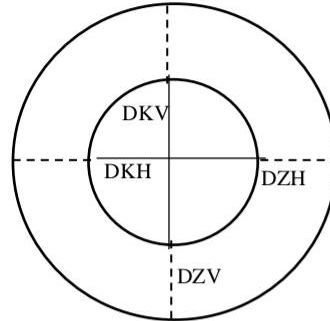
$$\text{IE} = \frac{\text{Luas zona jernih} - \text{luas koloni}}{\text{Luas koloni}}$$

Keterangan:

IE: Indeks Enzimatik

Metode pengukuran indeks selulolitik menurut Sumardi dkk (2018), yang menyatakan bahwa indeks zona jernih diukur dengan menghitung rasio antara diameter zona jernih dengan diameter koloni (Gambar 5). Indeks selulolitik diukur mengikuti rumus berikut:

$$IE = \frac{\text{Diameter zona bening (mm)} - \text{Diameter koloni (mm)}}{\text{Diameter koloni (mm)}}$$



Gambar 5. Ilustrasi Diameter Koloni dan Zona Jernih

Keterangan: DKH: Diameter koloni bakteri secara horizontal

DKV: Diameter koloni bakteri secara vertikal

DZH: Diameter zona jernih bakteri secara horizontal

DZV: Diameter zona jernih bakteri secara vertikal

3.4.11 Karakterisasi Bakteri

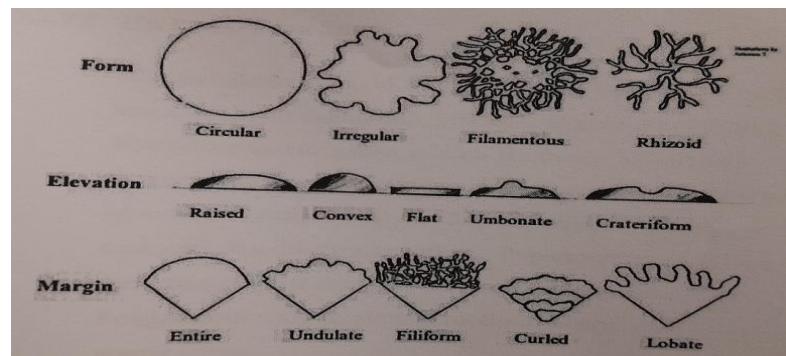
Karakterisasi bakteri dilakukan melalui pengamatan morfologi koloni secara makroskopik dan mikroskopik, serta melalui pengamatan karakter fisiologisnya.

3.4.11.1 Morfologi Koloni Secara Makroskopik

Koloni yang tumbuh diamati memiliki ciri-ciri berwarna putih hingga putih susu. Bentuk koloni yang teramati meliputi *irregular*, *filamentous*, *rhizoid*, dan *circular*, sedangkan elevasinya terdiri dari *raised*, *flat*, dan *convex*.

Margin koloni terdiri dari *entire*, *filamentous*, dan *lobate* (Amanda *et al.*, 2023). Selanjutnya, dilakukan pengamatan secara makroskopis dengan cara mengamati morfologi koloni berdasarkan ukuran, warna, bentuk elevasi, dan tepi koloni.

Karakteristik pola pertumbuhan koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Karakteristik Pola Pertumbuhan Koloni Bakteri.

3.4.11.2 Morfologi Koloni Secara Mikroskopik

Pengamatan morfologi sel dengan cara pengecatan gram dan pengecatan endospora. Adapun tahapan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

➤ Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengidentifikasi karakteristik dan bentuk sel bakteri. Preparat mikroskopik dibuat melalui metode pewarnaan Gram. Masing-masing isolat dari kultur murni bakteri yang telah berumur 24 jam digunakan untuk pembuatan preparat dengan mensterilkan *object glass* menggunakan alkohol 70%, kemudian *object glass* tersebut ditetesi satu tetes akuades. Isolat bakteri

diambil menggunakan jarum ose, lalu digoreskan pada *object glass*. Setelah itu, dilakukan proses fiksasi dengan cara melewati *object glass* di atas nyala api Bunsen. Preparat kemudian ditetesi larutan kristal violet (Gram A) dan dibiarkan selama satu menit. Kelebihan zat warna dibersihkan dengan membilas preparat menggunakan akuades, lalu ditetesi larutan lugol (Gram B) hingga seluruh permukaan preparat tergenang, dan didiamkan selama satu menit. Langkah berikutnya, preparat ditetesi alkohol 96% (Gram C), digoyangkan selama 30 detik, lalu dibilas kembali menggunakan akuades dan dikeringkan dengan kertas isap. Selanjutnya, preparat ditetesi larutan safranin (Gram D) dan didiamkan selama satu menit, kemudian dibilas menggunakan akuades. Preparat yang telah kering siap diamati di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran antara 400 hingga 1000 kali. Hasil pewarnaan akan menunjukkan warna ungu pada bakteri Gram positif, dan warna merah pada bakteri Gram negatif (Nuryanti *et al.*, 2021).

➤ **Pewarnaan Endospora**

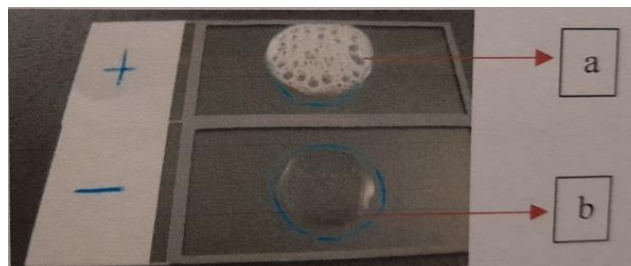
Dalam uji pewarnaan endospora, preparat mikroskopik dari masing-masing isolat bakteri yang berasal dari kultur murni berumur tujuh hari disiapkan. Objek glass diambil dan disterilkan menggunakan alkohol 70%, kemudian difiksasi di atas api Bunsen. Setelah itu, objek glass ditetesi satu tetes akuades, lalu satu ose isolat bakteri diambil dan diratakan di atas objek glass tersebut. Pewarna *malachite green* kemudian diteteskan

pada preparat. Preparat dilewatkan di atas nyala api Bunsen selama 10 menit, didiamkan pada suhu ruang, dan dibilas menggunakan akuades steril. Setelah kering, preparat ditetesi pewarna safranin selama satu menit, kemudian kembali dibilas dengan akuades steril. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x hingga 1000x serta penambahan minyak imersi (Fauzaan, 2022).

3.4.11.3 Uji Biokimia

➤ Uji Katalase

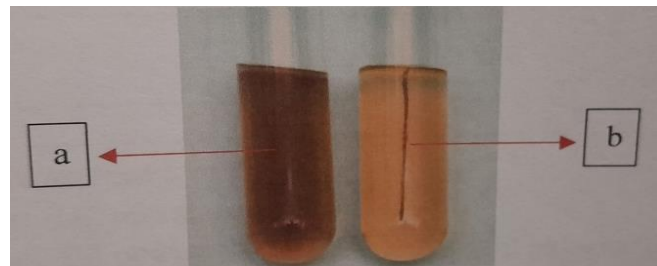
Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Isolat bakteri diambil menggunakan ose, kemudian ditempatkan di atas kaca objek dan ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. Hasil positif uji katalase ditunjukkan oleh munculnya gelembung saat larutan H_2O_2 ditetaskan pada kaca objek yang mengandung bakteri (Chusniasih, 2023). Contoh hasil positif uji katalase dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Uji katalase dengan Hasil Positif (terbentuk gelembung gas) (a) dan hasil negatif (tidak terbentuk gelembung gas) (b) (Khattoon *et al.*, 2022)

➤ Uji Motilitas

Motilitas bakteri diuji untuk mengetahui apakah bakteri termasuk motil atau tidak. Isolat bakteri diambil sebanyak satu ose, kemudian ditusukkan secara tegak lurus ke dalam media nutrient agar semi padat yang telah disterilkan. Media tersebut memiliki komposisi tripton 10 g/L, NaCl 5 g/L, dan agar 5 g/L, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Setelah itu, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil uji motilitas yang positif ditandai dengan penyebaran pertumbuhan bakteri dalam media sehingga menyebabkan media tampak keruh (Wibowo *et al.*, 2022). Contoh hasil uji motilitas positif dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Uji Motilitas dengan hasil positif (ada sebaran bakteri) (a) dan hasil negatif (tidak ada sebaran bakteri) (b) (Shield and Catchcart, 2011).

➤ Uji KOH

Uji KOH dilakukan untuk mengetahui jenis Gram bakteri yang ditandai dengan terbentuknya lendir. Prosedur uji dimulai dengan pengambilan satu ose isolat bakteri yang kemudian diletakkan pada objek gelas. Setelah itu, ditambahkan satu tetes larutan KOH

3%. Suspensi diaduk selama satu menit menggunakan ose, kemudian ose diangkat secara perlahan ke atas.

Berdasarkan hasil pengamatan, diketahui bahwa bakteri Gram negatif menghasilkan lendir, sedangkan bakteri Gram positif tidak menghasilkan lendir (Yusril *et al.*, 2020). Hasil uji KOH ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Hasil uji KOH 3% kode sebar 1 hasil bakteri Gram positif, dan kode sebar 2 hasil bakteri Gram negatif (Hardiansyah *et al.*, 2020).

➤ Uji Fermentasi Karbohidrat

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam memfermentasi karbohidrat dengan menggunakan lima jenis gula, yaitu glukosa, laktosa, manitol, maltosa, dan sukrosa, pada medium yang telah ditambahkan indikator *brom cresol purple* (BCP).

Komposisi medium pada setiap tabung terdiri atas *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 10 mL, gula 1% (0,1 gram), dan BCP 0,04%. Dengan demikian, komposisi medium yang digunakan adalah 10 mL NB, 0,1 gram gula, dan 0,5 mL BCP (Suhartati *et al.*, 2020).

Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat bakteri sebanyak satu ose ke dalam medium,

kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Perubahan warna medium menjadi kuning dan terbentuknya gelembung gas pada tabung Durham menunjukkan hasil positif, yang mengindikasikan kemampuan isolat dalam memfermentasi karbohidrat (Nuryanti *et al.*, 2021). Hasil positif dari uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada Gambar 10.

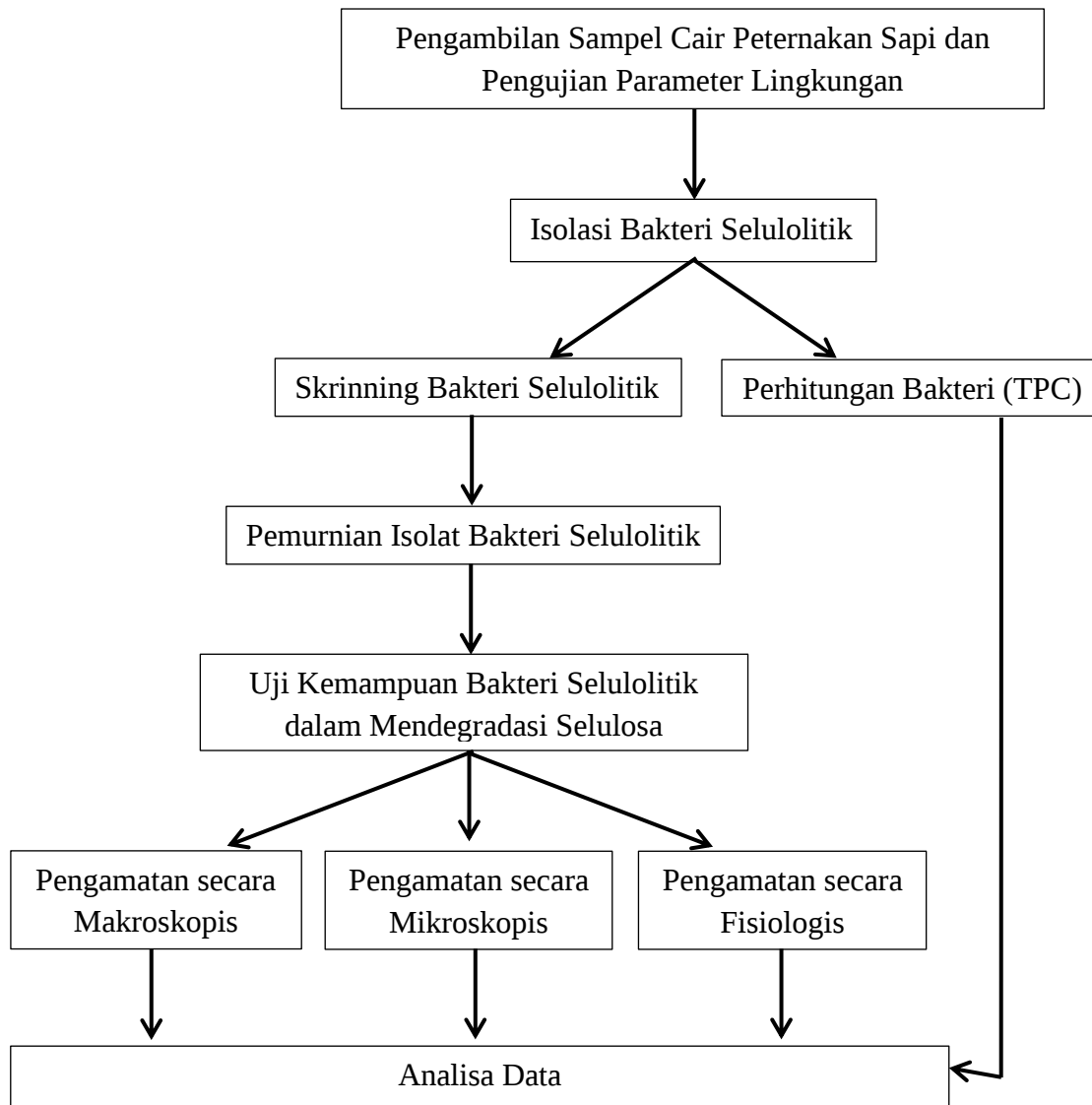


Gambar 10. Hasil positif uji fermentasi karbohidrat (Ummamie *et al.*, 2017)

3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh melalui proses isolasi, seleksi, serta karakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan fisiologis telah dianalisis dan diuraikan secara deskriptif.

3.6 Bagan Alir Penelitian



Gambar 11. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, simpulan yang didapatkan adalah sebagai berikut:

1. Diperoleh tiga isolat bakteri selulolitik dengan kode BES 8, BES 15, dan BES 16 yang berpotensi mendegradasi selulosa;
2. Karakteristik isolat BES 8 meliputi bentuk sel *coccobacil* Gram positif, memiliki endospora, mampu memfermentasi glukosa, laktosa, dan maltosa, bersifat tidak motil, tidak menghasilkan lendir pada uji KOH, serta mampu menghasilkan enzim katalase. Isolat BES 15 memiliki karakteristik berupa bentuk sel *coccobacil* Gram positif, tidak memiliki endospora, hanya mampu memfermentasi sukrosa, bersifat tidak motil, tidak menghasilkan lendir pada uji KOH, dan tidak menghasilkan enzim katalase. Isolat BES 16 menunjukkan karakteristik bentuk sel *coccobacil* Gram positif, tidak memiliki endospora, hanya mampu memfermentasi sukrosa, bersifat tidak motil, tidak menghasilkan lendir pada uji KOH, dan mampu menghasilkan enzim katalase;
3. Nilai indeks selulolitik tertinggi diperoleh pada isolat BES 16, yaitu sebesar 1,36 cm.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan berupa uji biomolekuler untuk mengidentifikasi spesies isolat bakteri yang terseleksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeko, A. W. 2018. Efektifitas Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dengan Metode Aerasi Untuk Menurunkan Kadar BOD. *Journal of Nursing and Public Health*. 6(1): 59-66.
- Adnyana, G. A. B., Gunam, I. B., dan Anggreni, A. M. 2016. Penentuan Suhu dan Sumber Karbon Terbaik pada Pertumbuhan Isolat SBJ8 dalam Bidesulfurisasi Dibenzo-tiofena. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 4(4): 43-48.
- Agustinur, Yusrizal. 2021. Isolasi bakteri selulolitik indigenous pendegradasi limbah tandan kosong kelapa sawit. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(1): 150–155. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p16>
- Alam, M. S., Sarjono, P. R., dan Aminia, A. L. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Selulase dari Bakteri Selulolitik Termofilik Kompos Pertanian Desa Bayat, Klaten, Jawa Tengah. *Jurnal Sains dan Matematika*, 21(2): 48-53.
- Alkahfi F, Adiyartasa W, Wirawan IGP. 2021 Isolasi dan identifikasi bakteri selulolitik pada sampah Organik di TPA Suwung Denpasar. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. 10(2): 153–160.
- Ananda, D., Rasyidah., dan Mayasari, U. 2023. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Dari Lumpur Mangrove Pantai Pandaratan Kecamatan Sarudlik Kabupaten Tapanuli Tengah Provinsi Sumatera Utara. *Bioma*, 25(1): 20-17.
- Andika B, Wahyuningsih P, Fajri R. 2020. Penentuan nilai BOD dan COD sebagai parameter pencemar air dan baku mutu air limbah di pusat penelitian kelapa sawit (PPKS) Medan. *Quimica. J. Kimia Sains Terapan*, 2(1): 14-22.

- Anuar W, Andi D, Jose AC. 2014. Isolasi bakteri selulolitik dari perairan Dumai. *JOM FMIPA*.1(2):149–159
- Apriliani, D., dan Zulaika, E. 2021. Viability and Production Calcifying Bacterial Endospore on Sand-Cement Carrier. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati*, 8(1): 8-13.
- Arifin, Z., Ida, B. W. G., Nyoman, S. A., Yohanes, S. 2019. Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa Dari Kompos. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(1): 39-47.
- Arifin, Z., Teguh T., Catur H., Singgih D. P., and Endang Y. 2019. Pengolahan Limbah Kotoran Sapi dan Onggok Pati Aren Menjadi Pupuk Organik. *Prosiding Senadimas*, 191-196.
- Azizah M, Humairo M. 2015. Analisis kadar amonia (NH₃) dalam air sungai Cileungsi. *J. Nusa Sylvia, Fak. Kehutanan Univ. Nusa Bangsa*. 15(1): 47-54.
- Aroza, M., Erina., dan Darniati. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Positif Kokus pada Kasus Ear Mites Kucing Domestik di Kecamatan Syiah Kuala Aceh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(2): 117-124.
- Bintang, Y. K., Chandrasasi, D., Haribowo, R. 2019. Studi Efektivitas dan Kinerja Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Pada Peternakan Sapi Skala Rumah Tangga. *Jurnal Teknik Pengairan*, 10(1): 51-58.
- Bonnet, M., Lagier, J.C., Raoult., and Khelaifia S. 2020. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34: 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Chusniasih, D., Suryanti, E., dan Safitri, E. 2023. (Isolation and Cellulolytic Activity Assay of Bacteria from Bagasse). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 28 (3): 386–395.
- Choi, Y. W., Hodgkiss, I. I., dan Hyde, K. D. 2005. Enzyme Production By Endophytes Of *Brucea Javanica*. *Journal of Agricultural Technology*, 1:55-66.
- Couvert, O., Koullen, L., Lochardet, A., dan Marc, Y. L. 2023. Effects of Carbon Dioxide and Oxygen on The Growth Rate of Various Food Spoilage Bacteria. *Food Microbiology*, 1(14).
- Damayanti, S.S., O. Komala, E.M. Effendi. 2018. Identifikasi Bakteri Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *Ekologia: Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 18(2): 63-71.

- Dewi, A. K., Meylina, L., & Rusli, R. (2017). Isolasi bakteri dari tanah mangrove *Rhizopora* sp. Di kota bontang. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 5, 59–68.
<https://www.academia.edu/download/81292510/221.pdf>
- Edwin. 2011. *Materi Kuliah Mikrobiologi*. Banjarbaru: Universitas Lambung Makurat.
- Fauziah, S. I., dan Ibrahim, M. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Pada Tanah Gambut di Desa Tagagiri Tama Jaya Kecamatan Pelangiran Kabupaten Inhil, Riau. *Lentera Bio*, 9(3): 194-203.
- Fahrudin., Haedar, N., dan Tuwo, M. 2020. Potensi Bakteri Dari Limbah Kotoran Ternak Dalam Mendegradasi Selulosa. *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, 11(1): 16-20.
- Fidiastuti, H. R., dan Suarsini, E. 2017. Potensi Bakteri Indigen Dalam Mendegradasi Limbah Cair Pabrik Kulit Secara In Vitro. *Bioeksperimen*, 3(1): 1-10.
- Firdiyanti, R., Kasrina, H. Bustaman. 2021. Ragam Jenis *Streptomyces* sp. Pa Rizosfer Tanaman Suku Liliacea Di Kawasan Desa Sumber Bening, Rejang Lebong, Bengkulu. *Jurnal Konservasi Hayati*, 17(1):29-34.
- Fitri, L., dan Yekki, Y. 2011. Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2): 20-25.
- Gupta, P., Samant, K., dan Sahu, A. 2012. Isolation of Cellulose–Degrading Bacteria and Determination of Their Cellulolytic Potential. *International Journal of Microbiology*. 10:1-5.
- Gustiana, T., Rozirwan, dan Ulqodry, T. Z. 2021. Actinomycetes yang diisolasi dari Mangrove *Rhizophora apiculata* di Perairan Tanjung Api-api, Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(3): 140-149.
- Haerun, R., Mallongi, A., Natsir, M. F. 2018. Efisiensi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Biofilter Sistem Upflow Dengan Penambahan Efektif Mikroorganisme 4. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*. 1(2): 1-11.
- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., dan Jaya, A. M. 2020. Identifikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria pada Rizosfer Bambu dengan Garam KOH 3%. *Journal Agrotechnology*, 4(1): 41-46.
- Hasrianti dan Nurasia. 2019. Analisis Warna, suhu, pH, dan salinitas Air Sumur Bor di Kota Palopo. *Prosiding Seminar Nasional*, 2(1): 747-896.

- Hernawati, W., Sumardi., Agustrina, R., Yulianto, H. (2016). Pengaruh Pemaparan Medan Magnet pada Media Mandels yang Termodifikasi Terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Enzim Selulase *Bacillus* sp. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 16(2): 76-84.
- Hidayah, M., Hazmi, M. 2017. Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop*, 15(2): 293 – 308.
- Hidayatullah, Gunawan, Mudikdjo, K., dan Erliza, N. 2005. Pengelolaan limbah cair usaha Peternakan Sapi Perah melalui Penerapan Konsep Produksi Bersih. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*, 8(1): 124-136.
- Irfan, M., Safdar, A., Syed, Q., and Nadeem, M. 2012. Isolation and Screening of Cellulolytic Bacteria from Soil and Optimization of Cellulase Production and Activity. *Turkish Journal of Biochemistry-Turk Journal Biochem.* 37(3): 287–293.
- Irwan, A. W. · F. Y. W., & Perbandingan. 2017. Perbandingan pengukuran luas daun kedelai dengan metode gravimetri, regresi dan scanner Comparations of soybean's leaf area measurement using gravimetry, regression, and scanning. *Jurnal Kultivasi*, 16(3): 425–429.
- Islamawati D, Darundiati YH, Dewanti NA. 2018. Studi penurunan kadar COD menggunakan ferri klorida pada limbah cair tapioka di desa Ngemplak Margoyoso Pati. *J. Kes. Mas*, 6(6): 69-78.
- Jannah J, Safik, Jalaluddin M, Darmawi, Farida, Aliza D. 2017. Jumlah koloni bakteri selulolitik pada sekum ayam kampung (*Gallus domesticus*). *Jimvet*. 1(3): 558–565.
- Jayasekara, S., and Ratnayake, R. 2019. *Microbial Cellulases: An Overview and Applications*. *IntechOpen*. <https://doi.org/DOI: 10.5772/intechopen.75244>
- Kali, A., Srirangaraj, S., dan Charles, P. M. 2015. A Cost-Effective Carbohydrate Fermentation Test for Yeast Using Microtitre Plate. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 33(2): 293-295.
- Kartika D dan Wahyuningsih P. 2019. Analisis kandungan amonia dalam limbah outlet KPPL PT Pupuk Iskandar Muda Lhokseumawe. *Quimica: J. Kimia Sains Terapan*, 1(2): 6-11.
- Khatoon, H., Chavan, D. D., Anokhe, A., dan Kalia. 2022. Agriscros e-Newsletter. January.
- Khoiriyah, M., Sutanto, A., dan Sulistiani, W. S. 2017. Pengaruh Macam Konsorsia Bakteri Indigen Terhadap Kualitas Pupuk Cair Urin Sapi. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan*, 212-217.

- Klemm, D., Schuman, D., Kramer, F., Hebler, N., Hornung, M., Schmauder, H.P., and Marsch, S. 2006. Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application. *Adv Polym Sci. Springer Berlin Heidelberg*. 205. 49-96.
- Kosasi C, Lolo WA, Sedewi S. 2019. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta identifikasi secara biokimia. *Pharmacon*. 5(2): 321–359. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29301>
- Kurniawan, E. 2022. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Cairan Rumen Sapi Lokal. Master Thesis, Universitas Jenderal Soedirman.
- Kusumadewi, R. Y. 2016. Perencanaan Instalasi Pengolahan Air Limbah Kegiatan Peternakan Sapi Perah dan Industri Tahu. Skripsi. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember: Surabaya.
- Lailiya, N. R. 2021. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran terhadap Logam Berat PB pada Air dan Sedimen di Sungai Porong, Jawa Timur. Undergraduated Thesis, UIN Sunan Ampel Surabaya.
- Lu, Z., W. Guo., C. Liu. 2018. Isolation, Identification and Characterization of novel *Bacillus subtilis*. *Veterinary Medical Science*, 80(3):427-433.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali, S. 2016. Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31–42.
- Maria, M., dan Ahmad, A. 2017. Pengaruh Konsentrasi Klorin Terhadap Penurunan Kadar Amonia pada Air Limbah Domestik. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 6(4): 206-213.
- Matter, C. G. 2018. Membran Filtration (Micro and Ultrafiltration) in Water Purification. In: Lahnsteiner J. *Handbook of Water and Used Water Purification*. Springer, Cham.
- Mayanti, B dan Herto Dwi. 2009. Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada *Comercial Seed* Pengolahan Limbah Cair Cat. *Jurnal Teknik Lingkungan*, 16(1): 52-61.
- Mayasari, U. 2020. *Diktat Mikrobiologi*. Medan: Universitas Islam Negeri Sumatera Utara.
- Meryandini, A., Wahyu, B. W., Titi, M., Nisa, C. S., Hasrul, R. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal Makara Sains*, 13(1): 33-38.
- Muna, A. A., dan Sitogasa, P. S. A. 2023. Analisis Kualitas Air Lindi (ph, TSS, Suhu, Konduktivitas) Tempat Pemrosesan Akhir (TPA) Griyomulyo. *Environmental Engineering Journal*, 3(2): 134-141.

- Murti R, Setiya, Maria CHP. 2014. Optimasi waktu reaksi pembentukan kompleks indofenol biru stabil pada uji N-Amona air limbah industri penyamakan kulit dengan metode fenat. *Maj. Kulit, Karet Plastik. Jurnal Kimia*. 30(1): 29-34.
- Murtiyaningsih H, dan Hazmi M. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 15(2): 293-308.
- Musyaffa, M. H., Santosa, I., Prianto, N., dan Fikri, A. 2024. Analisis Kinerja Membran Mikrofiltrasi Terhadap Penurunan Angka Coliform di Instalasi Pengolahann Air Limbah. *Midwifery Journal*, 4(4): 137-142.
- Nababan M, Gunam, IBW, dan Wijaya, IMM. 2019. Produksi Enzim Selulase Kasar Dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(2): 190-199.
- Nasution, F. R. 2021. Pengujian Kadar *Chemical Oxygen Demand* dan *Biological Oxygen Demand* (BOD) pada Limbah Cair Minyak Kelapa Sawit di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan. [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Nirwana, P. P. A., dan Legasari L. 2018. Analisis Kadar Total Dissolved Solid (TDS) pada Air Limbah Industri Menggunakan Metode Gravimetri. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 13(2): 132-135.
- Nofa, K., Siti, K., Irwan, L. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Ampas Tebu Kuning (*Bagasse*). *Jurnal protobiont*, 3(1): 33-38.
- Nurhajati, T., Soepranianondo, K., dan Lokapirnasari, W. P. 2016. Uji Aktivitas Pertumbuhan *Enterobacter cloacea* Selulolitik Aerob Rumen-1 Isolat Asal Limbah Cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner*, 17(3): 383-388.
- Nurhayati, E., Salim, M., Syari, J. P., dan Irine, R. 2022. Cemarannya Mikroba Pada Suhu Dingin dalam Kulkas Rumah Tangga. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 8(1): 69-63.
- Nuringtyas, Tri Rini. 2010. *Karbohidrat*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Nuryanti, S., Fitriana., Dan Pratiwi, F. 2021. Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*), 13(1):71-79.
- Okolie, J., Nanda, S., Dalai, A., & Kozinski, J. 2021. Chemistry and Specialty Industrial Applications of Lignocellulosic Biomass. *Waste and Biomass Valorization*, 12(272): 2145–2169. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01123-0>.

- Oktavia, H. F., U. T. Santoso., U. B. L. Utami. 2020. Uji Kemampuan Adsorpsi Komposit Keratin Bulu Itik-Polietilen Terhadap Ion Besi (III). *Jurnal Natural Scientiae*, 2(2): 1-7.
- Olivianti, A., Abidjulu, J., and Koleangan, H. S. J. 2016. Dampak Limbah Peternakan Ayam terhadap Kualitas Air Sungai Sawangan di Desa Sawangan Kecamatan Tombulu Kabupaten Minahasa. *Chem. Prog*, 9(2): 46-51.
- Panjaitan, F.J., T. Bachtiar, I. Arsyad, O.K. Lele. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif dan Fase Generatif. *Jurnal Agroplasma*. 7(2): 53-60.
- Paputungan IA, Sondakh RC, dan Umboh ML. 2020. Gambaran kadar limbah cair berdasarkan parameter BOD, COD dan pH di Rumah Sakit Umum Daerah Kota Kotamobagu. *J. Kesmas*, 9(6): 107-115.
- Patty. S. I. 2018. Oksigen Terlarut dan Apparent Oxygen Utilization di Perairan Selat Lembeh, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, 6(1): 54-60.
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 5 Tahun 2014 Tentang Baku Mutu Air limbah.
- Ponnuswamy, V., M. Kalaiyarasi., G. P. V. Samuel. 2015. Cow Dung is an Ideal Fermentation Medium for Amylase Production in Solid-state Fermentation by *Bacillus cereus*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 13:111– 117.
- Putri, A.L.O., E. Kusdiyantini. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Pangan Fermentasi Berbasis Ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*. 1(2): 6-12.
- Puspitasari, F. D., Shovitri, M., dan Kuswytasari, N. D. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1): 1-4.
- Rahayu, A.G., Yuli, H., Fifi, P., 2014. Uji Aktivitas Selulolitik Dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus.sp.* *Jurnal Jom Fmipa*. 1(2): 33-36.
- Rahmadian, C. A., Ismail, M. Abrar., Erina, Rastina, Y. Fahrimal. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Pseudomonas sp* Pada Ikan Asin Di Tempat Pelelangan Ikan Labuhan haji Aceh Selatan. *JIMVET*, 2(4):493-502.
- Rahmawati, D., dan Rafdinal. 2017. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Peniti Kecamatan Segedong Kabupaten Mempawah. *Protobiont Journal of Biological Sciences*, 6(3): 255-262.
- Rika. 2011. *Biogas dari Limbah Ternak*. Nuansa Cendekia. Bandung.

- Romansah, Fauzul. 2020. Penegakan Hukum Terhadap Pencemaran Limbah Sapi Potong. *Administrative and Evironmental Law Review*, 1(1): 25-32.
- Rosa, E., Ekowati, C. N., Handayani, T., Ikhsanudin, A., Apriliani, F., & Arifiyanto, A. 2020. Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of American cockroaches (*Periplaneta americana*). 21(11). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d211131>
- Rudiansyah, D., Rahmawati., dan Rafdinal. 2017. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Tanah Hutan Mangrove Kabupaten Mempawah. *Jurnal Probiot*, 6(3): 255-262.
- Sadhu, S., Saha, P., Sen, S. K., Mayilraj, S., Miti, T. 2013. Production, Purificaton and Characterization of Novel Thermotolerant Endoglucanase (CMCase) from Bacillus Strain Isolated from Cow Dung. *Springerplus Jurnal*, 2 (1): 2- 10.
- Sagita, Y., Pamungkas, A., dan Akhrianti, I. 2023. Sebaran Total Suspend Solid (TSS) Dan Tekstur Sedimen di Kawasan Perairan Pantai Matras Kabupaten Bangka. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 3(1): 1-12.
- Salmin. 2005. *Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) sebagai Salah Satu Indikator untuk Menentukan Kualitas Perairan*, Jakarta: Lipi.
- Sanders, E. R. 2012. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methodds. *Journal of Visualized Experiments*. 63(3064): 1-18.
- Santoso, A. D. 2018. Keragaman Nilai DO, BOD, dan COD di Danau Bekas Tambang Batu Bara Studi Kasus pada Danau Sangatta North PT. KPC di Kalimantan Timur. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 19(1): 89-96.
- Saputro, D. D., Wijaya, B. R., dan Wijayanti, Y. 2014. Pengelolaan Limbah Peternakan Sapi Untuk Meningkatkan Kapasitas Produksi pada Kelompok Ternak Patra Sutra. *Rekayasa*, 12(2): 91-98.
- Sari EDA. 2018. Kandungan Limbah Cair Berdasarkan Parameter Kimia di Inlet dan Outlet Rumah Pemotongan Hewan, Kecamatan Kali Wates Jember. Skripsi. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Jember.
- Saryono., Ismawati., Pratiwi, N. W., Devi, S., Sipayung, M. Y., dan Suraya, N. 2023. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Traditional Food Sarobuung of Kuantan Singingi, Riau. *Biodiversitas*, 24(4): 2201-2206.
- Seprianto. 2017. Isolasi dan Penapisan Bakteri Selulolitik dari Berbagai Jenis Tanah Sebagai Penghasil Enzim Selulase. *IJOB*, 1(2): 67-73.

- Septiana, L., Susanti, E., Haryani, Y., Rani, Z., dan Rambe, R. 2024. Penapisan dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik Termofilik. *Forte Journal*, 4(2): 472-480.
- Seran, P. R., Ati, V., dan Kadang, L. 2020. Analisis Kandungan Gizi Limbah Padat (*sludge*) Pada Pembuatan Biogas Kotoran Ternak Sapi Bali (*Bos sondaicus*). *Jurnal Biotropikal Sains*, 17(1): 1-10.
- Shu, L. J., Y L. Yang. 2017. Bacillus Classification Based on Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry-Effects of Culture Conditions. *Scientific Reports*, 7: 1-10.
- Sholihin, M., Perwira, I. Y., dan Ernawati, N. M. 2021. Bahan Organik Terlarut dan Parameter Yang Mempengaruhinya di Bagian Hilir Tukad Mati, Bali. *Current Trends in Aquatic Science*, 4(1): 89-95.
- Shovitri, M., dan Sriningsih, A. 2015. Potensi Isolat Bakteri Pseudomonas Sebagai Pendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2): 67-70.
- Sianipar, G. W. S., Sartini, Riyanto. 2020. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*. 2(2):83-92.
- Sila, N., Birawida, A. B., dan Natsir, M. F. 2022. The Existence of Organic Pollution Decomposing Bacteria in Domestic Wastewater of Kodingareng Island. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*, 4(3): 44-51.
- Simanjuntak, M. 2007. Oksigen Terlarut dan Apparent Oxygen Utilization di Perairan Teluk Klabat, Pulau Bangka. *Ilmu Kelautan*, 12(2): 59-66.
- Siti, U., R, A., & Y., E. 2011. Identifikasi Bakteri Selulolitik Dari Saluran Pencernaan Rayap Lokal. *Jurnal Biologi*, 2(1): 22-28.
- Soestyaningsih, E., dan Azizah. 2020. Akurasi Perhitungan Bakteri Pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Jurnal Berkala Saintek*, 8(3): 75-79.
- Sousa, A. M., Idalina, M., Ana, M., dan Maria, O. P. 2013. Improvements on Colony Morphology Identification Towards Bacterial Profiling. *Journal of Microbiology Methods*, 95:327-335.
- Sriningsih, A., dan Shovitri, M. 2015. Potensi Isolat Bakteri Pseudomonas sebagai Pendegradasi Plastik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2): 67-70.
- Studi Teknik Lingkungan Undip. 2020. *Penurunan Kadar TDS pada Limbah Tahu dengan Teknologi Biofilm Menggunakan Biofilter Kerikil Hasil Letusan Gunung Merapi dalam Bentuk Random*. Semarang: Studi Kasus.

- Suada, I. K., dan Tenaya, I. W. M. 2023. Analisis Limbah Sapi yang Berpotensi Mencemari Lingkungan dan Menularkan Penyakit pada Masyarakat. *Buletin Veteriner Udayana*, 15(5): 1012-1022.
- Sufra *et al.* 2024. Intensifikasi Pengolahan Limbah Cair Laboratorium melalui Proses Koagulasi dan Adsorpsi Studi Pengolahan Limbah Cair Laboratorium dengan Metode Kombinasi Fisika-Kimia. *Jurnal Talenta Sipil*, 7(1): 266-275.
- Suhartati, R., Novitriani, K. 2020. *Buku Ajar Pengetahuan Media dan Reagensia*. Yogyakarta: Pustaka Ilmu.
- Suhartati, R., Peti, D., dan Fanzi, A. 2021. Pemanfaatan Kubis Ungu Sebagai Indikator Fermentasi Karbohidrat pada Media Uji Biokimia. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*, 2(1): 1-13.
- Sumardi, Agustrina, R., Ekowati, C. N., and Pasaribu, Y. S. 2018. Characterization of Protease from *Bacillus* sp. on Medium Containing FeCl₃ Exposed to Magnetic Field 0.2 MT. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1): 1–12. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/130/1/012046>
- Sunarti, T.C., Suprihatin., dan Lauda R. D. 2014. Stabilization of Sludge From Waste Water Treatment Plant (WWTP) by Using Indigenous Bacteria Starter In Aerobic Sludge Digester. *Jurnal Agroindustri Indonesia*, 3(1): 200-213.
- Suariani, S., Soemarno., dan Suharjono. 2013. Pengaruh Suhu dan ph Terhadap Laju Pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang Diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen Sekitar Kampus Universitas Brawijaya. *J. PAL*, 3(2): 58-62.
- Susanti, V., Mahrizal., Yurleni., Adriani., Manin, F. 2021. Isolation of Cellulolytic Bacteria From tractus digestivus of rayap and daya hidup on some plantation waste. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 24(2): 81-96.
- Sutrisna R, Ekowati CN, Sinaga E. 2015. Pengaruh pH terhadap produksi antibakteri oleh bakteri asam laktat dari usus itik. *J. Pendidikan Pertanian Terapan*, 15(3): 234-238.
- Syukri N, Kasprijo P, Tjahja H, Syakuri H, Listiowati E. 2021. Penapisan bakteri selulolitik pada saluran pencernaan ikan kerapu cantang yang dibudidayakan di Desa Babakan, Kecamatan Pangandaran, Kabupaten Pangandaran. *Jurnal Ruaya*. 9(2): 1–10. <https://doi.org/10.29406/jr.v9i2.3000>.
- Ummamie, L., Rastina., Erina., Ferasyi, T. R., Darniati., dan Azhar, A. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Pada Keumamah di Pasar Tradisional. *JIMVET*, 1(3): 574-583.

- Unc, A., dan Goss, M. J. 2003. Movement of faecal bacteria through the vadose zone. *Water Air Soil Poll*, 149:327-337.
- Wahyuni, D., Khotimah, S., dan Linda, R. 2015. Eksplorasi Bakteri Selulolitik pada Tingkat Kematangan Gambut yang Berbeda di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont*, 4(1): 69-76.
- Waksman, S. A. 1959. *The Actinonrycd.es, Vol. I Nature, Occurrence, and Activities. The Williams and Wilkins Company. Baltimore*, 322.
- Waluyo, L. 2012. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press, Malang, 344.
- Wang, Y. N., Wang, R. 2019. Chapter 1- Reverse Osmosis Membran Separation Technology, In *Handbooks in Separation Science*, Elsevier.
- Welsiliana., Lisnahan, C. V., dan Pardosi, L. 2023. Isolasi dan Uji Patogen Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Usus Ayam Kampung yang Dipelihara Secara Intensif di Kefamenanu. *Jurnal Pro-Life*, 10(1): 654-664.
- Wibowo, R.H., Sembiring, S. R., Sipriyadi., Darwis, W., Supriyanti, R., Hidayah, T., dan Yudha, S. P. 2022. Kemampuan Bakteri Endofit Pelarut Fosfat dari Tumbuhan Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) Asal Pulau Enggano, Provinsi Bengkulu. *Jurnal Biologi*, 15(2): 171-181.
- Widyastuti, L., Sulistiyanto, Y., Jaya, A., Jagau, Y., dan Neneng, L. 2019. Potensi Mikroorganisme sebagai Biofertilizer dari Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Jurnal Surya Medika*, 5(1): 1-12.
- Widya, P.L., Adriana, M. S., Tri, N., Koesnoto, S., dan Andreas B. 2017. Sekuensing 16S DNA Bakteri Selulolitik Asal Limbah Cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner*, 18(1): 76-82.
- Wulandari, A. 2018. Analisis Beban Pencemaran Dan Kapasiitas Asimilasi Perairan Pulau Pasaran Di Provinsi Lampung. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Bandar Lampung.
- Yogyaswari, S. A., Rukmi, M. G. I., dan Raharjo, B. 2016. Ekplorasi Bakteri Selulolitik dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (PFH) dan Limousine Peternakan Ongolo (Limpo). *Jurnal Biologi*, 5(4): 70-80.
- Yosmaniar Y, Novita H, dan Setiadi E. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Nitrifikasi dan Denitrifikasi Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(4): 369-378.
- Zulius, A. 2017. Rancang Bangun Monitoring pH Air menggunakan Soil Moisture Sensor di SMK N 1 Tebing Tinggi Kabupaten Empat Lawang. *Jusikom*, 2(1): 37-43.