

**UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DAN PROTEASE DARI ISOLAT
KOLAM BAK AERASI PADA PROSES WASTE WATER
PRETREATMENT PLANT DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM**

(Skripsi)

Oleh

**DEA SESA RIADIYANTIKA
NPM 2117061043**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI TERAPAN
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

**UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DAN PROTEASE DARI ISOLAT
KOLAM BAK AERASI PADA PROSES WASTE WATER
PRETREATMENT PLANT DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM**

Oleh

DEA SESA RIADIYANTIKA

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
2026**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DAN PROTEASE DARI ISOLAT KOLAM BAK AERASI PADA PROSES WASTE WATER PRETREATMENT PLANT DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM

Oleh

DEA SESA RIADIYANTIKA

Limbah cair kotoran sapi salah satu jenis limbah organik yang mengandung berbagai senyawa organik, seperti protein, karbohidrat, lemak, selulosa, hemiselulosa dan lignin. Penggunaan enzim dalam industri di pasar global semakin meningkat dari tahun ke tahun hal ini menjadi salah satu fokus peneliti mengkaji kemampuan mikroba dalam menghasilkan enzim untuk mempercepat proses degradasi limbah. Adapun tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menguji isolat bakteri sebagai kandidat penghasil enzim selulase dan enzim protease dari kolam bak aerasi sehingga peneliti dapat mengetahui karakteristik makroskopis, mikroskopis dan nilai indeks enzimatik tertinggi. Penelitian ini menggunakan metode *grab sample* yang meliputi pengambilan sampel, isolasi bakteri, karakteristik isolat, uji aktivitas selulase dan protease serta menentukan nilai indeks enzimatik tertinggi. Hasil dari penelitian ini di analisis menggunakan metode deskriptif dan di sajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat selulolitik dengan nilai indeks enzimatik tertinggi 3,23 yang di hasilkan oleh isolat BA 14 serta nilai indeks enzimatik tertinggi dari isolat proteolitik sebesar 2,02 yang di hasilkan oleh isolat BA 7, adapun isolat dengan kode BA 11 yang mampu menghasilkan kedua enzim dengan nilai indeks enzimatik selulase 2,06 dan nilai indeks enzimatik protease 0,71.

Kata Kunci: Selulolitik, Proteolitik, Karakteristik, dan Indeks Enzimatik.

ABSTRACT

CELLULASE AND PROTEASE ENZYME ACTIVITY TEST OF AERATION BASINS ISOLATES IN THE WASTE WATER PRETREATMENT PLANT PROCESS AT PT JUANG JAYA ABDI ALAM

BY

DEA SESA RIADIYANTIKA

Cow dung liquid waste is a type of organic waste that contains various organic compounds, such as protein, carbohydrates, fat, cellulose, hemicellulose, and lignin. The use of enzymes in the global market industry is increasing every year, so that the researcher focuses to study the ability of microbes to produce enzymes to accelerate the waste degradation process. The purpose of this study was to isolate and test bacterial isolates as candidates for producing cellulase and protease enzymes from aeration ponds so that researchers could determine their macroscopic and microscopic characteristics and the highest enzymatic index value. This study used the grab sample method which included sampling, bacterial isolation, isolate characteristics, cellulase and protease activity tests, and determining the highest enzymatic index value. The results of this study were analyzed using descriptive methods and presented in the form of figures and tables. The results of this study indicate that the cellulolytic isolate with the highest enzymatic index value of 3.23 was produced by isolate BA 14 and the highest enzymatic index value of the proteolytic isolate was 2.02 produced by isolate BA 7, while the isolate with the code BA 11 was able to produce both enzymes with a cellulase enzymatic index value of 2.06 and a protease enzymatic index value of 0.71.

Keywords: Cellulolytic, Proteolytic, Characteristics, and Enzymatic Index.

Judul Skripsi :

UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE
DAN PROTEASE DARI ISOLAT
KOLAM BAK AERASI PADA PROSES
WASTE WATER PRETREATMENT PLANT
DI PT JUANG JAYA ABDI ALAM

Nama Mahasiswa :

Dea Sesa Riadiyantika

Nomor Pokok Mahasiswa :

2117061043

Jurusan/Program Studi :

Biologi/S1 Biologi Terapan

Fakultas :

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dr. Kusuma Handayani, M. Si
NIP. 197808192008012018


Ir. Salman Farisi, M. Si
NIP. 196104181987031001

Ketua Jurusan


Dr. Jani Master, S. Si., M. Si
NIP. 19830131200812100

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.

Penguji : Prof. Dr. Sumardi, M.Si

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 20 Februari 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dea Sesa Riadiyantika
NPM : 2117061043
Jurusan : Biologi
Program Studi : Biologi Terapan
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

**“UJI AKTIVITAS ENZIM SELULASE DAN PROTEASE DARI ISOLAT
KOLAM BAK AERASI PADA PROSES *WASTE WATER*
PRETREATMENT PLANT 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.



Dea Sesa Riadiyantika
NPM. 2117061043

Lampung, 26 Februari 2026

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Dea Sesa Riadiyantika, lahir di Sukabumi, Jawa Barat pada tanggal 18 Oktober 2001. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara pasangan Bapak Yepriadi dan Ibu Melisa Antika. Penulis memulai jenjang pendidikan di SD N Kebun Jeruk pada tahun 2008 -2014. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Madrasah Tsanawiyah di MTs Negeri Martapura pada tahun 2014-2017. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Martapura pada jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA) tahun 2017-2020.

Penulis melanjutkan pendidikan ke perguruan tinggi di Universitas Lampung sebagai Mahasiswa Jurusan Biologi, Program Studi Biologi Terapan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam pada tahun 2021. penulis juga pernah menjadi asisten pada matakuliah Mikro Biologi Bahan Pangan dan Mikrobiologi Lingkungan. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Juang Jaya Abdi Alam Sidomulyo Kabupaten Lampung Selatan pada bulan Januari – Februari 2024 dengan judul “Analisis Cemaran Bakteri *Coliform* dan *Escherichia Coli* pada Air Minum Sapi di PT Juang Jaya Abdi Alam Sidomulyo Provinsi Lampung”. 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 Bak Air Minum Sapi di PT Juang Jaya Abdi Alam Sumatera Selatan”. Penulis pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Dusun Meranti Jaya, Desa Pelindung Jaya III, 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:

Kedua orang tuaku tercinta Papa dan Mama serta kedua adik laki-laki ku yang selalu menjadi cahaya penuntun dalam setiap langkahku. Terima kasih atas cinta yang tak terbatas, doa yang tak pernah terputus, dan pengorbanan yang tak ternilai sepanjang hidupku. Semoga karya sederhana ini menjadi awal dari kebahagiaan yang bisa kuberikan untuk kalian, sebagai bentuk rasa syukur karna telah diberikan rasa cinta dan kasih sayang yang cukup.

Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing dengan tulus dan ikhlas sampai berhasil mencapai gelar sarjana

Sahabat, dan teman-teman Biologi 21, terima kasih sudah menjadi bagian dari perjalanan ini sejak menjadi mahasiswa baru.

Almamater tercintaku,
Universitas Lampung

MOTTO

“...Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal itu amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal itu amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.”

(Q.S. AL-Baqarah: 216)

“...Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S. AL-Baqarah: 286)

“...Bisa jadi ujian dan cobaan yang tidak engkau sukai, akan membawamu menuju anugerah indah yang tak pernah kau bayangkan sebelumnya.”

(Syekh Mutawalli Assya'rawi)

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Enzim Selulase dan Protease Dari Isolat Kolam Bak Aerasi Pada Proses Waste Water Pretreatment Plant 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 dosen pembimbing 1 yang sabar membimbing, memotivasi, ilmu, kritik, dan sarannya sehingga skripsi ini dapat selesai;
4. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku dosen pembimbing 2 atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, saran, dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi;
5. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Pembahas yang telah memberi saran dan kritik serta ilmu pengetahuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si.,M.Si. 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 Fajar Aditya Yulianto selaku supervisor Wastewater Treatment Plant (WWTP) yang telah membimbing dan memberikan arahan 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 Yepriadi dan ibu Melisa Antika, serta adikku tersayang Deo Rivaldo dan Riski Junissar yang selalu memberikan semangat, mendo'akan, memberi kasih sayang, motivasi, serta kesabaran kepada penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi ini;
11. Adhittya Sujarwo, S.Pd., terima kasih atas dukungan serta telah menjadi tempat berkeluh kesah, yang selalu ada dalam suka maupun duka selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas waktu, do'a yang selalu senantiasa dilantarkan dan terima kasih sudah menjadi bagian dari perjalanan untuk menuju kesuksesan didepan mata bersama saya;
12. Sahabat-sahabat penulis, Reni Puspita Sari dan Iis Rohidayanti serta seluruh rekan Biologi angkatan 2021 atas motivasi, semangat, dukungan untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Bandar Lampung, ... Februari 2026
Penulis,

Dea Sesa Riadiyantika

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
1.3. Hipotesis Penelitian.....	4
1.4. Kerangka Pikir.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. PT. Juang Jaya Abdi Alam.....	6
2.2. Limbah Cair Kotoran Sapi	7
2.3. Mikroorganisme yang Terkandung Dalam Limbah Cair	9
2.4. Enzim Selulase	11
2.5. Bakteri Selulolitik	12
2.6. Enzim Protease	15
2.7. Bakteri Proteolitik	16
2.8. Perhitungan Indeks Enzimatik (IE)	18
III. METODE PENELITIAN.....	20
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2. Alat dan Bahan Penelitian	20
3.3. Rancangan Penelitian	21
3.4. Prosedur Kerja.....	22
3.4.1. Sterilisasi Alat	22
3.4.2. Pengambilan Sampel.....	22
3.4.3. Pembuatan Media Isolasi Bakteri	23
3.4.4. Isolasi Bakteri	23
3.4.5. Pemurnian Isolat (Purifikasi)	23

3.4.6.	Karakterisasi Isolat.....	24
3.4.7.	Skrining Bakteri Selulolitik dan Proteolitik.....	25
3.4.8.	Inokulasi Isolat Bakteri	26
3.4.9.	Skrining Bakteri Selulolitik	26
3.4.10.	Uji Aktivitas Selulase.....	27
3.4.11.	Uji Aktivitas Protease	27
3.4.12.	Perhitungan Indeks Enzimatik (IE).....	28
3.5.	Analisis Data	28
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1.	Hasil	29
4.1.1.	Isolasi dan Skrining Isolat Kolam Bak Aerasi	29
4.1.2.	Aktivitas Enzimatik Selulase	30
4.1.3.	Aktivitas Enzimatik Protease	31
4.1.4.	Karakterisasi Makroskopis Isolat Bakteri Selulolitik	33
4.1.5.	Karakterisasi Makroskopis Isolat Bakteri proteolitik	34
4.1.6.	Karakterisasi Mikroskopis Isolat Bakteri Selulolitik	35
4.1.7.	Karakterisasi Mikroskopis Isolat Bakteri Proteolitik.....	36
4.2.	Pembahasan.....	37
4.2.1.	Isolat Hasil Isolasi dari Kolam Bak Aerasi.....	37
4.2.2.	Aktivitas Enzimatik Isolat Bakteri Bak Kolam Aerasi ...	39
4.2.3.	Isolasi dan karakterisasi Makroskopis Isolat Selulolitik dan Proteolitik	46
4.2.4.	karakterisasi Mikroskopis Isolat Bakteri Selulolitik dan Proteolitik.....	49
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	52
5.1.	Simpulan.....	52
5.2.	Saran.....	52
	DAFTAR PUSTAKA.....	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Morfologi Isolat Bakteri pada Bak Kolam Aerasi.....	25
2. Hasil Isolasi dan Skrining Isolat Kolam Bak Aerasi	29
3. Nilai Indeks Enzimatik dari Isolat Selulolitik dan Proteolitik.....	33
4. Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Bakteri Selulolitik dan Bakteri Proteolitik.....	35
5. Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Selulolitik dan Bakteri Proteolitik.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Logo PT. Juang Jaya Abdi Alam.....	6
2. Degradasi Selulosa oleh Selulase	11
3. Hasil Positif Uji Selulase	14
4. Hasil Positif Uji Protease.....	18
5. Teknik Streak Plate dengan Metode Kuadran	24
6. Hasil Uji Selulase Lima Isolat Bakteri Selulolitik.....	31
7. Hasil Uji Protease Lima Isolat Bakteri Proteolitik	32
8. Karakter Morfologi Lima Isolat Bakteri Selulolitik	34
9. Karakter Morfologi Lima Isolat Bakteri Proteolitik.....	34
10. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Lima Isolat Selulolitik.....	36
11. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram Lima Isolat Proteolitik	36

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pada dasarnya pencemaran lingkungan berasal dari limbah industri dan limbah domestik. Permukiman warga yang berada disekitar kawasan industri pasti lingkungannya tercemar. Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 16 Tahun 2005 mengenai Pengembangan Sistem Penyediaan Air Minum, air limbah merupakan air buangan yang berasal dari rumah tangga, termasuk tinja manusia dari lingkungan permukiman. Dalam penerapannya, air limbah sendiri terbagi ke dalam beberapa jenis, salah satunya adalah air limbah domestik. Limbah cair domestik sendiri merupakan limbah cair yang diproduksi dari kegiatan di permukiman, rumah sakit, perkantoran, dan lain sebagainya (Wahyuningsih, *et al.*, 2015).

Kotoran sapi merupakan salah satu sumber pencemaran lingkungan yang serius. Dalam industri peternakan, limbah kotoran sapi sering kali menjadi masalah besar karena jumlah sapi yang dipelihara secara massal. Kotoran sapi mengandung campuran feses sapi, urine sapi dan sisa pakan yang bernitrogen tinggi. bahan organik yang tinggi dan dapat menghasilkan gas metana yang berbahaya bagi lingkungan. Selain itu, kotoran sapi juga dapat mengandung patogen dan bakteri yang berpotensi menyebabkan penyakit. Peternakan dan pertanian merupakan sebagian besar komoditi yang berdampingan di daerah pedesaan maupun perkotaan. Karena peternakan ialah salah satu sarana berinvestasi serta meningkatkan perekonomian masyarakat di pedesaan (Simatupang, 2020).

Limbah cair kotoran sapi salah satu jenis limbah organik yang mengandung berbagai senyawa organik, seperti protein, karbohidrat, lemak, selulosa, hemiselulosa dan lignin, yang berasal dari sisa pakan, serat tumbuhan dan mikroorganisme dalam saluran cerna sapi. Kandungan ini menjadikan limbah tersebut sebagai medium yang potensial untuk pertumbuhan mikroorganisme penghasil enzim (Hidayah, 2017). Mikroorganisme yang terdapat pada cairan rumen mampu menghasilkan berbagai enzim yaitu enzim selulosa, enzim amilase, enzim protease, dan enzim xilanase (Basri, 2017).

Penggunaan enzim dalam industri di pasar global meningkat dari tahun ke tahun. Penjualan enzim juga telah mengalami peningkatan serta perkembangan di berbagai pasar industri dan sektor-sektor lainnya seperti industri detergen, makanan, farmasi, kulit, diagnostik, dan pengelolaan limbah, (Hamza, 2017). Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang paling potensial dibandingkan tanaman dan hewan. Penggunaan mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik (Yempita *et al.*, 2017).

Produksi enzim selulase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme baik jamur maupun bakteri yang memiliki kemampuan selulolitik. kandungan selulosa didalam air limbah kotoran sapi lebih rendah dibandingkan dengan kotoran sapi padat, Diketahui bahwa limbah padat kotoran sapi mengandung selulosa sebesar 22,59%, hemiselulosa sebesar 18,32%, dan lignin sebesar 10,20% (Roni *et al.*, 2017). Selulosa dapat terurai berkat adanya bakteri selulolitik yang berperan menghasilkan enzim selulase, sehingga dapat menguraikan selulosa. Beberapa bakteri selulolitik yang ditemukan dalam limbah kotoran sapi antara lain *Enterobacter cloacae* yang terdapat dalam cairan rumen sapi (Widya *et al.*, 2017), *Bacillus sp.*, *Cellulosimicrobium sp.*, serta *Micrococcus sp.* dan *Neisseria sp.* (Fuaziah *et al.*, 2020).

Salah satu enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri. Enzim ini merupakan salah satu enzim dengan tingkat penjualan hingga 60% dari total penjualan enzim di dunia. Kebutuhan protease di Indonesia hampir 100% berasal dari impor (Baehaki dan Rinto, 2012). Aplikasi enzim protease misalnya pada industri pembuatan detergen, industri penyamakan kulit, bahan aditif pada industri pangan, dan zat terapeutik pada bidang farmasi (Gupta *et al.*, 2018).

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dapat dihasilkan oleh tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease terbatas oleh tersedianya lahan tanam dan kondisi pertumbuhan yang sesuai, serta memerlukan waktu produksi enzim yang lama. Produksi protease dari hewan juga dibatasi oleh ketersediaan ternak penghasil enzim (Poernomo *et al.*, 2017).

Penelitian mengenai uji aktivitas enzim selulase dan protease dari isolat bakteri kolam bak aerasi pada proses waste water pretreatment plant di PT Juang Jaya Abdi Alam perlu dilakukan untuk menunjang proses pengolahan limbah cair secara biologis dengan memanfaatkan isolat bakteri selulolitik dan proteolitik yang ditemukan dan berpotensi sebagai agen biodegradasi limbah yang dihasilkan dalam proses pengolahan limbah dikolam aerasi pada IPAL di PT Juang Jaya Abdi Alam. Proses aerasi memiliki peran yang cukup dominan dalam pengolahan limbah cairan, khususnya dalam oksidasi biologi yang nantinya berujung pada peningkatan efektivitas bakteri dalam mengurai senyawa-senyawa organik. Karena peran aerasi dan pengoksidasi sangatlah penting, maka untuk meningkatkan hasil pengolahan limbah, serta untuk meningkatkan efektivitas oksidasi.

Mikroorganisme pengurai senyawa organik seperti selulosa dan protein melibatkan berbagai kelompok bakteri yang mampu memproduksi enzim spesifik untuk degradasi senyawa tersebut Untuk penguraian selulosa, mikroorganisme disebut sebagai bakteri selulolitik yang menghasilkan

enzim selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa atau senyawa glukosa lebih kecil.

Sementara itu, mikroorganisme pengurai protein adalah bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease. Enzim ini bertugas memecah protein menjadi senyawa nitrogen larut yang bisa diserap kembali sebagai nutrisi. Produksi protease oleh bakteri ini penting dalam daur ulang senyawa organik berprotein sehingga menjadi lebih sederhana dan dapat digunakan oleh mikroba lain atau tanaman.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk dapat mengisolasi dan menguji isolat bakteri sebagai kandidat penghasil enzim selulase dan enzim protease dari kolam bak aerasi di PT Juang Jaya Abdi Alam Provinsi Lampung Selatan.
2. Untuk mengetahui karakteristik makroskopis dan mikroskopis dari isolat bakteri selulolitik dan proteolitik yang terseleksi.
3. Mengetahui nilai indeks selulolitik dan proteolitik tertinggi.

1.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Terdapat isolat bakteri selulolitik dan proteolitik pada air limbah kolam bak aerasi
2. Terdapat karakteristik makroskopis dan mikroskopis yang berbeda-beda dari isolat bakteri yang terseleksi.
3. Terdapat nilai indeks selulolitik dan proteolitik tertinggi.

1.4. Kerangka Pikir

Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) merupakan sebuah struktur yang dirancang untuk membuang zat pencemar yang terkandung dalam air, sehingga memungkinkan air tersebut bisa digunakan kembali untuk aktivitas

yang lain. Tujuan utama dari pengolahan air limbah yaitu untuk mengurangi kandungan bahan pencemar di dalam limbah air sehingga tidak mencemari apabila dibuang ke lingkungan (Marhayuni dan Faizi, 2022). Jika dikaji lebih jauh, jumlah limbah cair industri yang relatif besar membutuhkan pengurai yang relatif efektif. Salah satu pengurai efektif yang banyak digunakan di Indonesia adalah mikroorganisme, yang dalam hal ini digunakan juga untuk proses pengolahan air limbah secara biologis. Namun demikian, seperti yang sudah diketahui, proses penanganan air limbah secara biologis terdiri dari campuran mikroorganisme yang mampu memetabolisme limbah organik.

Proses aerasi memiliki peran yang cukup dominan dalam pengolahan limbah cairan, khususnya dalam oksidasi biologi yang nantinya berujung pada peningkatan efektivitas bakteri dalam mengurai senyawa-senyawa organik. Karena peran aerasi dan pengoksidasi sangatlah penting, maka untuk meningkatkan hasil pengolahan limbah, serta untuk meningkatkan efektivitas oksidasi, peneliti kemudian mengarahkan penelitian pada bak aerasi yang ada pada *Waste Water Treatment*.

Mikroorganisme pengurai senyawa organik seperti selulosa dan protein melibatkan berbagai kelompok bakteri yang mampu memproduksi enzim spesifik untuk degradasi senyawa tersebut. Untuk penguraian selulosa, mikroorganisme disebut sebagai bakteri selulolitik yang menghasilkan enzim selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa atau senyawa glukosa lebih kecil.

Sementara itu, mikroorganisme pengurai protein adalah bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease. Enzim ini bertugas memecah protein menjadi senyawa nitrogen larut yang bisa diserap kembali sebagai nutrisi. Produksi protease oleh bakteri ini penting dalam daur ulang senyawa organik berprotein sehingga menjadi lebih sederhana dan dapat digunakan oleh mikroba lain atau tanaman.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. PT. Juang Jaya Abdi Alam



Gambar 1. Logo PT. Juang Jaya Abdi Alam

PT. Juang Jaya Abdi Alam (PT. JJAA) didirikan pada tahun 2000 dengan kepemilikan saham oleh Gregory John Pankhrust dan Adikelana Adiwoso. Pada tahun 2006, PT. JJAA bekerjasama dengan PT. Agro Giri Perkasa, memulai program pembibitan sapi yang berlokasi di *Feedlot* PT. JJAA. Sejak tahun 2006 sebanyak 5000 ekor sapi indukan dengan jenis Brahman Cross telah didistribusikan ke seluruh Indonesia untuk membantu meningkatkan jumlah populasi sapi nasional. Pada 2010, terjadi perubahan kepemilikan saham menjadi perusahaan *Consolidated Pastoral Company* dan Adikelana Adiwoso. Fasilitas Breeding Center didirikan pada tahun ini di *Feedlot* PT. JJAA Lampung, dengan tujuan untuk mendukung program pemerintah dengan bermitra dan melakukan pembinaan peternak lokal terkait manajemen ternak. Sebagai bagian dari program *Corporate Social Responsibility* (CSR) terhadap desa di sekitar lingkungan perusahaan.

PT. JJAA memiliki beberapa program CSR rutin maupun tidak rutin, diantaranya menyediakan fasilitas air bersih, membangun infrastruktur (jalan dan jembatan), program beasiswa, dan memberikan bantuan financial untuk pembangunan desa. PT. JJAA saat ini mengoperasikan dua *feedlot* yang berlokasi di Lampung Selatan (Lampung) dengan kapasitas 17,000 ekor dan Deli Serdang (Sumatera Utara) dengan kapasitas 5000 ekor. Kedua Fasilitas masuk ke dalam kategori "Kelas terbaik" dalam hal operasional. PT. JJAA mempekerjakan 180 karyawan tetap dan 400 orang tenaga harian dan borongan.

2.2. Limbah Cair Kotoran Sapi

Pada umumnya limbah ternak dapat berupa sisa buangan sisa buangan yang meliputi *feses*, *urin*, dan sisa pakan. Semakin besar skala usaha peternakan maka limbah yang dihasilkan semakin banyak. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tercatat bahwa satu ekor sapi rata-rata menghasilkan kotoran 10-25 kg/hari. Apabila dalam satu kandang kolektif dipelihara sebanyak 100 ekor sapi maka kotoran yang dapat dikumpulkan sekitar 2.500 kg (Sjofjan O. 2021).

Air limbah peternakan sapi memiliki sifat fisik yaitu cairan 99,9 % urin, air, dan campuran *feses* dengan urin serta padatan 0,1 % berupa suspense padat yang bercampur dengan bahan organik maupun anorganik limbah peternakan sapi . Pencemaran air tersebut dapat disebabkan karena air limbah peternakan langsung dibuang ke saluran sungai tanpa pengolahan terlebih dahulu sehingga mempengaruhi pertumbuhan mikrobiota dan makhluk hidup di sekitar peternakan (Olivianti dkk., 2016).

Kotoran sapi terdapat dua jenis yaitu kotoran padat (*feces*) sapi lebih banyak dibandingkan dengan urinnnya. Kandungan dari urin sapi terdiri dari air 92 %, nitrogen 1,00 %, fosfor 0,20 %, dan kalium 1,35 %. Pada urin sapi ini lebih banyak mengandung zat N dan K, sedangkan kandungan zat P lebih banyak terdapat pada fasenya (Khoiriyah, 2017). Limbah yang dihasilkan oleh peternakan sapi merupakan sisa metabolisme tubuh sapi dengan nilai

rata-rata adalah 12 % berat tubuhnya. Jumlah limbah yang sangat banyak ini akan menimbulkan masalah lingkungan seperti bau yang tidak sedap dan sumber penyakit (Arifin dkk., 2019). Kandungan unsur hara makro dan mikro limbah peternakan sapi dari urin sapi mengandung nitrogen sebanyak 1 %, phosphor sebanyak 0,5 %, dan kalium sebesar 1,5 % (Pratiwi, 2019).

Limbah terdiri dari bahan kimia, senyawa organik, dan senyawa anorganik dengan konsentrasi dan kuantitas tertentu. Kehadiran limbah berdampak negatif terhadap lingkungan terutama bagi kesehatan manusia sehingga perlu dilakukan penanganan terhadap limbah. Program penanganan dan penanggulangan pencemaran perlu dibuat dalam jangka panjang ataupun pendek, kemudian membuat perubahan terhadap lingkungan sehingga perlu dilakukannya pengolahan agar limbah yang dihasilkan tidak mengganggu struktur lingkungan (Arief dan Rizal, 2016).

Pengolahan limbah harus dilakukan sebelum dibuang atau dilepas ke lingkungan. Limbah wajib diolah karena di dalam limbah terdapat pencemar yang berbahaya atau dapat mencemari serta merusak lingkungan dan berpotensi membahayakan manusia. Limbah baik dalam jumlah yang besar maupun kecil, dengan jangka panjang atau pendek dapat menyebabkan perubahan bahkan kerusakan pada lingkungan yang dapat berdampak langsung pada manusia. (Sahlan and Razak, 2019).

Menurut Peraturan Menteri Pekerjaan Umum Nomor 4 Tahun 2017, sistem IPAL adalah serangkaian kegiatan pengelolaan air limbah dalam satu kesatuan dengan prasarana dan sarana pengelolaan air limbah. Sistem IPAL terpusat oleh sistem pengelolaan yang dilakukan dengan mengalirkan air limbah dari sumber secara kolektif ke sub sistem pengolahan terpusat untuk diolah sebelum dibuang ke badan air perencanaan. Menurut Indrayani (2018), yang menyatakan bahwa pengolahan limbah dilakukan dengan beberapa tahapan proses diantaranya yaitu pretreatment yaitu proses pengolahan limbah awal dengan menampung limbah awal, *primary treatment* atau proses sedimentasi (pengendapan) yaitu dengan berprinsip

pada pengendapan dan stabilisasi bahan-bahan yang diendapkan kemudian untuk menyaring partikel dan mereduksi materi organik yang terkandung didalam limbah. Selanjutnya terdapat kolam anaerob dan aerob (*secondary treatment*) yang merupakan pengolahan limbah secara biologi pada kondisi anaerob maupun aerob dan selanjutnya proses koagulasi dan flokulasi dimana suatu proses dengan mencampurkan beberapa bahan kimia untuk membentuk flok-flok yang dapat mengendap menjadi lumpur.

2.3. Mikroorganisme yang Terkandung Dalam Limbah Cair

Air limbah pada umumnya mengandung bakteri yang dapat menguraikan bahan pencemar organik sehingga air limbah aman dibuang ke lingkungan. Penelitian saat ini menggunakan dua agen bioremediator yaitu bakteri indigen dan bakteri produk komersial. Bakteri indigen merupakan hasil isolasi bakteri yang dilakukan oleh laboratorium yang bersangkutan dan didapatkan dari sampel lingkungan sedangkan bakteri produk komersial. mikroorganisme yang didapatkan dipasaran komersial dan mudah didapatkan. Produk komersial untuk bioremediasi biasa digunakan untuk menjaga kualitas air (Sila, 2022).

Beragam bakteri yang berpotensi sebagai pengurai atau pendegradasi bahan pencemar di dalam air limbah domestik dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan komposisi zat-zat yang terkandung di dalam air limbah domestik. Menemukan bakteri-bakteri ini merupakan upaya konkrit yang kemudian dimanfaatkan dan dikembangkan di dalam proses pengolahan air limbah domestik. Upaya ini dilakukan agar mendukung terciptanya lingkungan yang bersih dan sehat untuk masyarakat khususnya mereka yang hidup di pesisir dan pulau-pulau kecil (Sila, 2022).

Salah satu teknologi pengolahan air limbah yang aman dan berwawasan lingkungan adalah menggunakan bakteri yang berpotensi sebagai pengurai dalam proses biodegradasi. Secara alamiah untuk memperoleh bakteri yang berpotensi sebagai pengurai dapat dilakukan dengan mengisolasi limbah itu sendiri (bakteri indigen), kemudian dikultur secara murni di dalam

laboratorium secara invitro. Pemanfaatan konsorsia bakteri yang berpotensi akan diperbanyak di laboratorium untuk selanjutnya dipakai sebagai starter dalam pengolahan limbah. Transformasi dilakukan oleh mikroorganisme, khususnya bakteri pendegradasi melalui proses metabolisme dengan cara menghasilkan bakteri enzim (Fidiastuti, 2017).

Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi yang berasal dari bakteri indigen didapatkan dari *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Phenyllo-bacterium*, *Enhydro-bacter*, *Morrococcus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, dan *Pseudomonas* yang dapat mendegradasi logam Pb, nitrat, nitrit, bahan organik, sulfida, kekeruhan, dan ammonia. Sedangkan dari bakteri *commercial product* didapatkan jenis: *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Eschericia* (Sila, 2022). Hasil identifikasi bakteri-bakteri tersebut sejalan dengan penelitian Fidiastuti (2017), yang menyebutkan bahwa diperoleh spesies-spesies bakteri potensial yang juga memiliki kemampuan dalam mendegradasi limbah cair yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pseudomallei*, dan *Actinobacillus* sp.

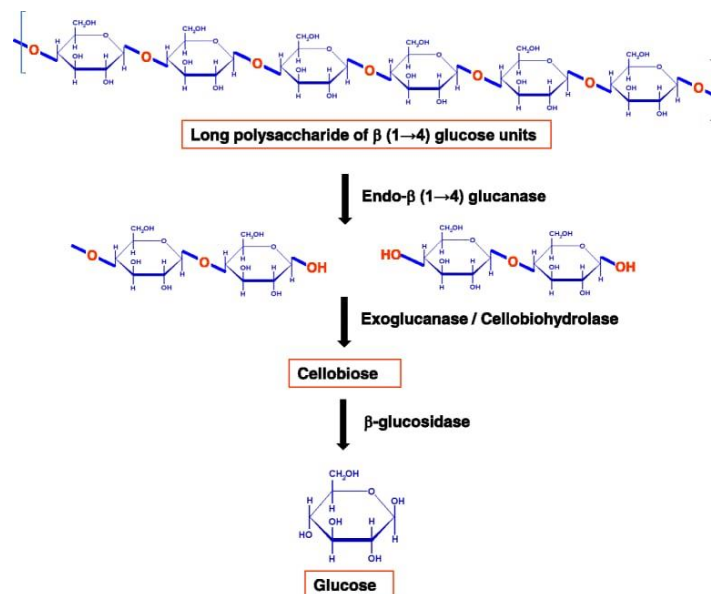
Bakteri indigen merupakan salah satu bentuk bioteknologi yang digunakan sebagai agen pengurai dalam pengolahan air limbah yang ramah lingkungan. Bakteri indigen diisolasi dari limbah tersebut, kemudian dikultur untuk memperoleh koloni tunggal. Konsorsium bakteri yang berpotensi selanjutnya diperbanyak 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).

2.4. Enzim Selulase

Selulase adalah enzim yang mendegradasi selulosa, tiga enzim yang bekerja bersama untuk menghidrolisis polimer terstruktur ini sepenuhnya antara lain: endoselulase, selobiosidase, beta-glukosidase (Arifin *et al.*, 2019).

Seperti yang sudah dijelaskan hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergis dari tiga tipe enzim ini, yaitu :

- Endo-1,4- β -D-glukanase (endoselulase, *carboxymethylcellulase* atau CMC, yang mengurai polimer selulosa secara random pada ikatan 35 internal α -1,4-glikosida untuk menghasilkan oligodekstrin dengan panjang rantai yang bervariasi.
- Ekso-1,4- β -D-glukanase (eksoselulase), yang mengurai selulosa dari ujung pereduksi dan non pereduksi untuk menghasilkan selobiosa dan/atau glukosa.
- β -glukosidase (selobiase), yang mengurai selobiosa untuk menghasilkan glukosa.



Gambar 2. Degradasi Selulosa oleh Selulase
Sumber: (Okolie *et al.*, 2021)

sebagian besar enzim yang telah digunakan secara tradisional berasal dari tumbuhan dan hewan. Enzim yang bersumber dari mikroorganisme lebih sering digunakan daripada enzim yang bersumber dari hewan atau tanaman, karena mikroorganisme memiliki kemampuan untuk bereproduksi dengan cepat, pertumbuhannya dapat diatur dengan mudah, produksi enzim yang dihasilkan tinggi, sehingga lebih ekonomis dalam penggunaannya di industri, dan enzim yang dihasilkan juga lebih stabil.

Produksi selulase dalam skala besar memerlukan formulasi media yang tepat untuk mengatur pertumbuhan mikroba dan produksi enzim, mengingat kebutuhan mikroba dapat bervariasi. Optimasi produksi enzim memerlukan pemahaman yang mendalam mengenai berbagai faktor yang mempengaruhi produksi enzim. Berbagai proses terlibat dalam produksi enzim dan faktor-faktor yang umumnya dipertimbangkan dalam upaya optimasi produksi enzim yakni pengembangan galur mikroorganisme, komponen medium pertumbuhan, kondisi operasi, dan inokulum. Dari sekian banyak faktor ini, komposisi medium pertumbuhan dianggap sebagai salah satu faktor yang paling penting (Arifin *et al.*, 2019).

Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi aktivitas selulase dan produksinya dalam berbagai kondisi. Hasil penelitian Arifin *et al.*, (2019) melaporkan bahwa kondisi optimum untuk produksi selulase adalah pada suhu 40°C dengan pH 10, menggunakan glukosa sebagai sumber karbon, dan amonium sulfat sebagai sumber nitrogen, serta diantara empat jenis bakteri yang diuji, bakteri *Pseudomonas fluorescens* merupakan produsen selulase terbaik, diikuti oleh *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Serratia marcescens*.

2.5. Bakteri Selulolitik

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase dengan mekanisme hidrolisis selulosa menjadi produk sederhana berupa glukosa (Arifin *et al.*, 2019). Sesuai dengan pernyataan Poernomo, (2003) bahwa bakteri selulolitik berperan sebagai penghasil enzim selulase

sehingga mampu mendegradasi selulosa melalui proses pemecahan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa. Pemilihan bakteri sebagai subjek sumber enzim dikarenakan sel bakteri lebih mudah ditumbuhkan dan produksinya tidak tergantung dengan pergantian musim seperti pada tumbuhan. Selain itu, produksi masa bakteri relatif lebih cepat dan mudah daripada mikroorganisme lain seperti fungi (Poernomo, 2003).

Bakteri selulolitik tumbuh secara alami pada substrat bahan organik yang mengandung selulosa seperti serasah daun, olahan pertanian dan limbah hasil pertanian (Arifin *et al.*, 2019). Selulosa merupakan komponen penyusun tumbuhan yang menempati hampir 60% dan disintesis oleh tanaman dalam bentuk karbohidrat. Selulosa dapat dimanfaatkan dalam berbagai hal terutama dengan kandungan yang cukup tinggi (Han & Chen, 2007). Menurut Kurniawan, (2022) selulosa termasuk salah satu polimer yang sangat melimpah di alam, namun pemanfaatannya sebagai bahan organik kurang maksimal karena 3 rendahnya nilai cerna sehingga dimungkinkan dapat diperbaiki dengan proses dekomposisi melalui peran bakteri selulolitik.

Bakteri selulolitik memiliki kemampuan dalam mendegradasi komponen kompleks selulosa ke bentuk yang lebih sederhana yaitu glukosa (Fauziah & Ibrahim, 2020). Menurut Rudiansyah *et al.* (2017), bakteri selulolitik memiliki tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan bakteri jenis lainnya sehingga produksi bakteri selulolitik hanya membutuhkan waktu yang singkat. Menurut Jannah *et al.* (2017) 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*.

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).

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh faktor internal (genetik) dan faktor eksternal (kondisi lingkungan) antara lain suhu, pH, senyawa penginduksi, sumber karbon dan waktu produksi (Prima *et al.*, 2015). Aktivitas enzim selulase dari bakteri dapat diketahui melalui uji selulase dengan mengamati hasil positif berupa zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni bakteri yang diinokulasikan pada media CMC agar (Saidan *et al.*, 2024) seperti pada

Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Positif Uji Selulase
Sumber: (Sandipan *et al.*, 2020)

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). 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*. Adapun penjelasan 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 enzimatik bakteri.

2.6. Enzim Protease

Enzim protease merupakan salah satu enzim yang banyak digunakan dalam bidang industri. Enzim ini merupakan salah satu enzim dengan tingkat penjualan hingga 60% dari total penjualan enzim di dunia. Kebutuhan protease di Indonesia hampir 100% berasal dari impor (Baehaki dan Rinto, 2012). Aplikasi enzim protease misalnya pada industri pembuatan detergen, industri penyamakan kulit, bahan aditif pada industri pangan, dan zat terapeutik pada bidang farmasi (Gupta *et al.*, 2022).

Protease merupakan enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Enzim ini akan mengkatalisis reaksi-reaksi hidrolisis, yaitu reaksi yang melibatkan unsur air pada ikatan spesifik substrat. Berdasarkan cara hidrolisisnya, protease dibedakan menjadi proteinase dan peptidase. Proteinase menghidrolisis molekul protein menjadi polipeptida, sedangkan peptidase menghidrolisis fragmen polipeptida menjadi asam amino esensial (Yempita *et al.*, 2017).

Protease dapat dihasilkan oleh tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Penggunaan tumbuhan sebagai sumber protease terbatas oleh tersedianya lahan tanam dan kondisi pertumbuhan yang sesuai, serta memerlukan waktu produksi enzim yang lama. Protease tumbuhan yang dikenal antara lain papain, bromealin, keratinase. Protease hewan yang paling dikenal adalah tripsin, kimotripsin, pepsin dan rennin. Produksi protease dari hewan juga dibatasi oleh ketersediaan ternak penghasil enzim (Poernomo *et al.*, 2017).

Aktivitas enzim pencernaan berkorelasi dengan jumlah enzim yang terdapat pada tempat pencernaan berlangsung. Hal ini dapat diartikan bahwa bakteri yang berpotensi menghasilkan enzim protease dapat diisolasi dari tempat pencernaan berlangsung (kelenjar penghasil maupun saluran pencernaan) (Al Gadri *et al.*, 2014). Selama ini limbah saluran pencernaan belum dimanfaatkan secara optimum. Salah satu alternatif pemanfaatan limbah tersebut adalah sebagai sumber mikroorganisme penghasil protease. Hal ini karena limbah tersebut mengandung nutrisi yang berpotensi sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme penghasil protease (Zusfahair *et al.*, 2011).

Menurut Al Gadri *et al.*, (2014) enzim-enzim pencernaan dihasilkan oleh hepatopankreas dan disekresikan ke usus (intestine). Hepatopankreas merupakan kelenjar yang berfungsi mensekresikan enzim yang baru disintesis (zymogen), sedangkan intestine merupakan tempat disekresikannya protease yang telah teraktivasi. Hal tersebut mengakibatkan aktivitas protease yang dihasilkan berbeda, dapat diartikan bahwa kedua tempat tersebut memiliki bakteri yang berpotensi sebagai penghasil enzim protease.

2.7. Bakteri Proteolitik

Enzim protease dapat dihasilkan dari bakteri penghasil protease yang disebut bakteri proteolitik. Enzim ini juga dapat diproduksi dari tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Mikroorganisme merupakan sumber yang paling potensial untuk produksi enzim protease. Beberapa dari genus bakteri

ini diketahui mampu menghasilkan protease adalah *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptomyces*, dan *Pseudomonas* (Yempita *et al.*, 2017).

Mikroorganisme dapat berupa bakteri, fungi, protozoa dan lain-lain, terdapat di berbagai tempat seperti tanah, debu, air, udara kulit dan selaput lendir.

Mikroorganisme dapat menghasilkan enzim dan metabolit sekunder yang dapat mendegradasi bahan kompleks sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengelolaan limbah. Contoh enzim hidrolitik yaitu protease, selulase, esterase, lipase, fosfatase, kutinase, dan amilase. Enzim protease dan lipase merupakan salah satu enzim yang penting untuk mendegradasi biomassa dan bahan organik (Arifiani dan Stalis, 2018). Mikroorganisme merupakan sumber yang paling potensial untuk produksi enzim protease. Beberapa dari genus bakteri ini diketahui mampu menghasilkan protease adalah *Bacillus*, *Lactococcus*, *Streptomyces*, dan *Pseudomonas* (Yempita *et al.*, 2017).

Penggunaan mikroorganisme lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah, lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan dan rekayasa genetik (Yuniati *et al.*, 2015).

Genus *Bacillus* termasuk batang besar, Gram positif, aerob yang membentuk rantai. Kebanyakan anggota genus ini adalah organisme saprofit dan beberapa menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat memecah polisakarida, asam-asam nukleat, dan lemak, serta menggunakannya sebagai sumber karbon dan energi. Kemampuannya dalam menguraikan bahan-bahan organik menyebabkan genus *Bacillus* berperan penting dalam proses dekomposisi bahan (Kurniasih *et al.*, 2013). *Bacillus* sp. termasuk bakteri Gram positif, yakni katalase positif yang umum ditemukan di tanah, air, udara dan materi tumbuhan yang terdekomposisi (debu). *Bacillus* sp. bersifat aerob dan anaerob obligat serta bakteri ini mampu membentuk endospora ketika kondisi lingkungan yang tertekan. Spora ini dapat bertahan 60 tahun atau lebih pada kondisi lingkungan ekstrim (Sholihati *et al.*, 2013).



Gambar 4. Hasil Positif Uji Protease
Sumber: (Abdelmoteleb *et al.*, 2017)

Enzim protease merupakan enzim pemecah protein, yang mengkatalisis reaksi hidrolisis polipeptida pada molekul protein (polipeptida) sehingga menghasilkan peptide dan asam amino. Isolasi dan kultivasi bakteri proteolitik dapat dilakukan dengan kultur pada media SMA. Susu skim pada media SMA mengandung protein susu kasein yang merupakan sumber nutrisi yang digunakan bakteri proteolitik (Arifiani dan Stalis, 2018).

Pada proses degradasi kasein oleh bakteri, diharapkan enzim protease ekstraseluler yang disekresi bakteri mampu menghasilkan zona bening di sekitar koloni (Kurniasih *et al.*, 2013).

2.8. Perhitungan Indeks Enzimatik (IE)

Besarnya aktivitas enzimatik ditentukan dengan mengukur luas koloni bakteri dan luas zona jernih yang terbentuk dengan menggunakan metode gravimetri menurut sumardi *et al.*, 2018. 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 dan pola luas zona jernih (replica) yang Digambar di plastik mika bening
2. Replika koloni tersebut ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik
3. Membuat potongan kertas 1 cm x 1 cm lalu ditimbang

4. Hitung luas koloni dengan menggunakan rumus.

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

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

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

$$\text{Indeks Enzimatik} = \frac{\text{luas Zona Jernih} - \text{luas koloni}}{\text{luas koloni}}$$

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Agustus 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, gayung, beaker gelas, Erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, *hotplate stirrer*, rak tabung reaksi, jarum ose bulat, Bunsen, *plastic wrap*, oven, neraca analitik, vortex, object glass, mikro pipet, *autoklaf*, mikroskop, BSC (*Bio Safety Cabinet*), spidol, plastic mika bening, gunting, aluminium foil, tisu, kertas cakram, mikrotip dan sarung tangan latex.

Bahan – Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel cair dari kolam bak aerasi, Media CMC agar 5g/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) Media *Nutrient Agar*, aquades, kertas cakram, alkohol 70%, cat Gram (kristal violet, lugol, alcohol 96%, safranin), larutan *congo red* 0,1%, NaCl 1 M, dan media *Skim Milk Agar*.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengambilan sampel dilakukan pada wilayah waste water treatment plant (WWTP) di PT. Juang Jaya Abdi Alam, Kota Dalam, Kecamatan Sidomulyo, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu metode *grab sample* atau sampel sesaat yang mengacu pada SNI 6989.59:2008 tentang Metoda pengambilan contoh air limbah. Teknik pengambilan sampel yang dilakukan pada air permukaan kolam aerasi pada waktu tertentu dengan 3 titik sampling yang telah diberi batas jarak 5 meter. Kemudian dilakukan komposit sampel. Komposit atau penggabungan pada 3 titik sampling menjadi 1 sampel pada setiap 3 jam sampling. Waktu pengambilan sampling pada pukul 09.00 WIB, 12.00 WIB dan 15.00 WIB.

Pengambilan sampel menggunakan gayung plastik bertangkai, sampel yang terdiri dari 3 titik pengambilan perwaktu yang sama tersebut digabungkan menjadi 1 pada *beker glass* berukuran 500 ml sampel dengan masing-masing titik sampling diambil sebanyak 100 ml. pada saat homogenisasi 3 titik sampling menjadi 1 sampel dilakukan pengujian pH secara langsung.

Tahap kedua, sampel cair diambil sebanyak 5 mL dan dihomogenisasi dalam 45 mL larutan NaCl 0,9 % sebagai pengenceran 10^{-1} , selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} dan diisolasi pada media Na (*Nutrient Agar*) pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} sampai 10^{-5} . Diisolasi dengan metode *pour plat* dihomogenkan memutar searah angka 8 dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu dan pH berdasarkan hasil sampling di lapangan.

Selanjutnya dilakukan identifikasi dan karakterisasi untuk mengamati morfologi koloni, morfologi sel bakteri, serta aktivitas enzim selulase dan protease yang dihasilkan bakteri. Identifikasi secara makroskopis dilakukan meliputi pengamatan bentuk koloni (*forms*), bentuk tepi koloni (*margins*), elevasi (*elevation*), dan warna koloni bakteri. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan Gram. Identifikasi enzimatik

dilakukan dengan uji selulase dan uji protease, hasil dari aktivitas enzimatis yang dihasilkan isolat bakteri selanjutnya akan ditentukan indeks enzimatisnya. Hasil identifikasi dan karakterisasi yang telah diperoleh selanjutnya dianalisis serta diuraikan secara deskriptif.

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu, alat-alat gelas disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan, jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dibakar di atas api bunsen langsung (Zahara, 2024).

3.4.2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada wilayah waste water treatment plant (WWTP) di PT. Juang Jaya Abdi Alam, Kota Dalam, Kecamatan Sidomulyo, Kabupaten Lampung Selatan, Provinsi Lampung. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu 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 yang artinya Teknik pengambilan sampel dilakukan pada air permukaan kolam aerasi pada waktu tertentu dengan 3 titik sampling yang telah diberi batas jarak 5 meter. Kemudian dilakukan komposit sampel. Komposit atau penggabungan pada 3 titik sampling menjadi 1 sampel pada setiap 2 jam sampling. Waktu pengambilan sampling pada pukul 09.00 WIB, 12.00 WIB dan 15.00 WIB.

Pengambilan sampel menggunakan gayung plastik bertangkai, sampel yang terdiri dari 3 titik pengambilan perwaktu yang sama tersebut digabungkan menjadi 1 botol sampel berukuran 500 ml

sampel dengan masing – masing titik sampling diambil sebanyak 100 ml. pada saat homogenisasi 3 titik sampling menjadi 1 sampel.

3.4.3. Pembuatan Media Isolasi Bakteri

Media NA (*Natrium Agar*) sebanyak 20 g dilarutkan dengan 1000 ml aquades didalam Erlenmeyer. Media kemudian dihomogenkan dengan cara pengadukan dan pemanasan menggunakan *hot plate dan stirrer*. Campuran media tersebut disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, Tekanan 1 atm selama 15 menit. Media selanjutnya dituang dalam cawan petri yang telah steril masing-masing 10 ml dan dibiarkan hingga mengeras (Handayani *et al.*, 2020)

3.4.4. Isolasi Bakteri

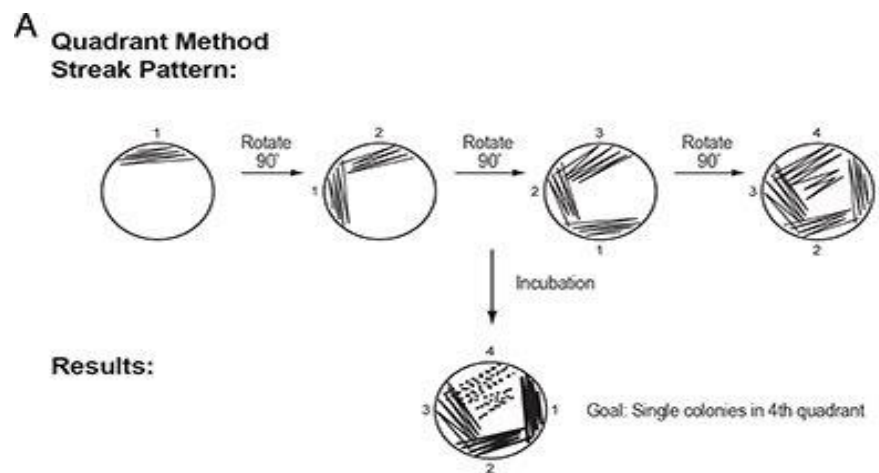
Sampel cair diambil sebanyak 5 mL dan dihomogenisasi dalam 45 mL larutan NaCl 0,9 % sebagai pengenceran 10^{-1} , selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-2} diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl fisiologis 0,9 % steril dan dilakukan pengenceran bertingkat sampai dengan pengenceran 10^{-5} , kemudian diambil pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} sampai 10^{-5} diisolasi pada media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode *pour plat* dihomogenkan memutar searah angka 8 dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu dan pH berdasarkan hasil sampling dilapangan kemudiam diamati koloni yang tumbuh (Fauziah dan Ibrahim, 2020)

3.4.5. Pemurnian Isolat (Purifikasi)

Media NA (*Nutrient Agar*) terdiri 20 Gram dalam 1000 ml aquades, kemudian dihomogenkan dengan *hotplate magnetic stirrer*, selanjutnya media disterilkan dengan menggunakan autoclave

selama 15 menit pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm (Handayani *et al.*, 2020)

kemudian di tuang ke dalam cawan petri sebanyak 15- 20 ml, dan ditunggu hingga memadat. Koloni bakteri hasil isolasi diambil sebanyak 1 ose lalu digoreskan pada Media NA (*Nutrient Agar*) dengan Teknik *streak plate* lalu diinkubasi pada suhu dan pH berdasarkan hasil sampling dilapangan selama 24 jam untuk mendapatkan koloni tunggal. Selanjutnya koloni tunggal dibuat pada media agar miring sebagai stok untuk dilakukan uji lanjutan. Teknik *streak plate* dengan metode kuadran dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Teknik Streak Plate dengan Metode Kuadran
Sumber: (Sandres, 2012)

3.4.6. Karakterisasi Isolat

1) Pengamatan Secara Makroskopik

Isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari sampel yang diperoleh dari kolam bak aerasi di kelompokkan berdasarkan ciri-ciri morfologi koloni yang berbeda-beda pada table 1 berikut ini.

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Isolat Bakteri pada Bak Kolan Aerasi

Kode	Karakteristik Morfologi			
Isolat	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi

2) Pengamatan Secara Mikroskopik (Pengecatan Gram)

Pewarna yang digunakan pada pengecatan Gram yaitu kristal violet (Gram A), iodine (Gram B), alkohol (Gram C), dan safranin (Gram D). Masing-masing isolat diambil sebanyak satu ose, kemudian di letakkan keatas kaca objek dan diratakan. Fiksasi dilakukan dengan melewati kaca objek diatas api bunsen, lalu isolat ditetesi Kristal violet, diamkan selama 1 menit dan dibilas dengan aquades. Selanjutnya isolat ditetesi Iodin selama 1 menit dan dibilas. Lalu, isolat ditetesi alkohol dan didiamkan selama 30 menit, terakhir isolat ditetesi safranin, didiamkan selama 1 menit, dan bilas kembali dengan aquades. Pengamatan bakteri dilakukan menggunakan mikroskop. Jika sel bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut Gram negatif, sedangkan jika sel bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut Gram positif (Nunki *et al.*, 2020).

3.4.7. Skrining Bakteri Selulolitik dan Proteolitik

Isolat bakteri diseleksi dengan mengamati morfologi makroskopis koloni bakteri, yang mencakup bentuk, warna, tepi dan elevasi. Bakteri kemudian diinokulasikan dengan metode titik pada media mandels CMC dan media *skim milk agar*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Visualisasi zona jernih pada media mandels CMC dilakukan dengan menuangkan larutan *congo red*

0,1% kemudian dibilas dengan NaCl 1 M, visualisasi zona jernih pada media *skim milk agar* dapat dilihat secara langsung apakah terbentuk zona jernih disekitar koloni bakteri. Bakteri yang membentuk zona jernih dihitung untuk menentukan nilai indeks selulolitik dan proteolitik. Kemudian untuk isolat dengan nilai indeks tertinggi akan dilakukan uji lanjutan.

3.4.8. Inokulasi Isolat Bakteri

Media Mandels *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) cair disiapkan dengan prosedur inokulasi isolat bakteri yang dimodifikasi dari penelitian yang dilakukan oleh seprianto (2017) dengan komposisi media karboksimetil selulosa (CMC) 5g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,35 g/L, tryptone 3,5 g/L, K_2HPO_4 2,45 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1,7 g/L, *yeast extract* 3,5 g/L, NaCl 2 g/L, dan agar 15 g/L, yang dilarutkan dalam 1000 mL akuades, selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf.

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasi kedalam tabung reaksi yang berisi 10 mL media Mandels CMC cair.

Kemudian, media diinkubasi pada suhu 37°C menggunakan shaker incubator dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Selanjutnya isolat hasil inkubasi media Mandels CMC cair diinokulasikan ke dalam cawan petri yang sudah berisi kertas cakram steril hingga permukaan kertas cakram terendam selama 30 menit.

3.4.9. Skrining Bakteri Selulolitik

Isolat bakteri diseleksi dengan mengamati morfologi makroskopis koloni bakteri, yang mencakup bentuk, warna, tepi dan elevasi.

Bakteri kemudian diinokulasikan dengan metode titik pada media mandels CMC dan media *skim milk agar*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Visualisasi zona jernih pada media mandels CMC dilakukan dengan menuangkan larutan *congo red* 0,1% kemudian dibilas dengan NaCl 1 M, visualisasi zona jernih

pada media *skim milk agar* dapat dilihat secara langsung apakah terbentuk zona jernih disekitar koloni bakteri. Bakteri yang membentuk zona jernih dihitung untuk menentukan nilai indeks selulolitik dan proteolitik. Kemudian untuk isolat dengan nilai indeks tertinggi akan dilakukan uji lanjutan.

3.4.10. Uji Aktivitas Selulase

Uji ini menggunakan metode difusi cakram (*disk diffusion test*) yang dimodifikasi dari putri *et al.* (2023). Media mandels CMC padat yang sudah disterilisasi dituangkan 20 mL kedalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Setelah media mengeras, kertas cakram diletakkan diatas permukaan media, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Visualisasi zona jernih dilakukan dengan penetesan larutan *congo red* 0,1% sampai menutupi permukaan media dan didiamkan selama 30 menit, kemudian dibilas dengan menggunakan larutan NaCL 1 M selama 15 menit. Hasil positif uji selulase ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni bakteri. Selanjutnya, dilakukan perhitungan enzimatik isolat bakteri (Saidan *et al.*, 2024).

3.4.11. Uji Aktivitas Protease

Uji ini menggunakan metode difusi cakram (*disk diffusion test*) yang dimodifikasi dari putri *et al.* (2023). Media *skim milk agar* 55,5g/L yang sudah disterilisasi dituangkan 20 mL kedalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. kertas cakram diletakkan diatas permukaan media, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif uji protease ditandai dengan adanya zona jernih disekitar koloni bakteri. Selanjutnya, dilakukan perhitungan enzimatik isolat bakteri (Saidan *et al.*, 2024).

3.4.12. Perhitungan Indeks Enzimatik (IE)

Besarnya aktivitas enzimatik ditentukan dengan mengukur luas koloni bakteri dan luas zona jernih yang terbentuk dengan menggunakan metode gravimetri menurut sumardi *et al.*, 2018. 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 dan pola luas zona jernih (replica) yang Digambar di plastik mika bening
2. Replika koloni tersebut ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik
3. Membuat potongan kertas 1 cm x 1 cm lalu ditimbang
4. Hitung luas koloni dengan menggunakan rumus.

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

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

$$\text{Indeks Enzimatik} = \frac{\text{luas Zona Jernih} - \text{luas koloni}}{\text{luas koloni}}$$

3.5. Analisis Data

Analisis data hasil dari proses isolasi, seleksi, serta karakterisasi makroskopis dan mikroskopis dilakukan dengan membandingkan hasil visualisasi pada referensi yang ada, sedangkan analisis data karakterisasi fisiologis meliputi aktivitas enzimatik yang dilakukan dengan mengamati zona jernih yang terbentuk dan menentukan indeks enzimatknya. Keseluruhan data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dan diuraikan secara deskriptif.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

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

1. Diperoleh lima isolat selulolitik dengan kode BA 9, BA 11, BA 14, BA 16, dan BA 18 dan lima isolat proteolitik antara lain yaitu, BA 1, BA 4, BA 7, BA 11, dan BA 15
2. Karakterisasi mikroskopis terhadap isolat bakteri selulolitik menunjukkan bahwa isolat BA 9, BA 14, dan BA 18 memiliki bentuk sel dan sifat Gram yang sama, yaitu bentuk sel basil dan sifat Gram positif sedangkan pada isolat BA 11 dan BA 16 memiliki bentuk sel yang sama yaitu basil namun memiliki sifat Gram yang berbeda, isolat BA 11 bersifat Gram negatif dan BA 16 bersifat Gram positif.
Karakterisasi mikroskopis terhadap isolat bakteri proteolitik disajikan bahwa isolat bakteri proteolitik yaitu BA 1, BA 4, BA 7, dan BA 15 memiliki bentuk sel basil dan sifat Gram positif sedangkan isolat bakteri BA 11 memiliki bentuk sel kokus dengan sifat Gram negatif
3. Isolat BA 14 memiliki aktivitas selulolitik tertinggi dengan indeks sebesar 3,23 dan isolat BA 7 mampu menghasilkan nilai indeks proteolitik tertinggi sebesar 2,02.

5.2. Saran

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui spesies isolat bakteri yang ditemukan untuk mempermudah pengaplikasian isolat pada kolam bak aerasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Gadri, S.F., U. Susilo dan S. Priyanto. 2014. Aktivitas protease dan amilase pada hepatopankreas dan intestine ikan nilem (*Osteochillus hasselti*). *Scripta Biologica*. 1 (1)
- Alamsyah, B. (2007). Pengelolaan Limbah di Rumah Sakit Pupuk Kaltim Bontang untuk Memenuhi Baku Mutu Lingkungan. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Alrumman, S., Mostafa, Y. S. M., Al-Qahtami, S., & Taha, T. H. T. 2018. Hydrolitic Enzyme Production by Thermophilic Bacteria Isolated from Saudi Hot Spring. *Open Life Sciences*. 13(1): 470-480
- Arief, L. M. (2016). Pengolahan Limbah Industri: Dasar-Dasar Pengetahuan dan Aplikasi di Tempat Kerja. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Arief, S., Stiadi, Y., dan Rizal, R. (2016). Synthesis of Magnetic Nanoparticles of TiO_2 - NiFe_2O_4 : Characterization And Photocatalytic Activity on Degradation of Rhodamine B. 12(3): 229–234.
- Arif, A. (2017). Uji Sensitivitas Ampisilin, Imipenem Dan Tetrasiklin Terhadap *Staphylococcus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Peranakan Etawa Asal Kabupaten Asal Kabupaten Polewali Mandar. Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Arifiani, N dan S. N. Ethica. 2018. Isolasi bakteri penghasil lipase dan protease yang berpotensi sebagai agen bioremediasi dari limbah biomedis cair puskesmas halmahera kota semarang. *Prosiding Seminar Nasional Mahasiswa Unimus*. 1 : 268-275.
- 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., T. Triyono., C. Harsito., S. D. Prasetyo., dan E. Yuniastuti. (2019). Pengolahan Limbah Kotoran Sapi Dan Onggok Pati Aren Menjadi Pupuk Organik. *Prosiding SENADIMAS*. 191–96.

- Azkiyah, S. Z. (2020). Pengaruh uji antibakteri ekstrak rimpang jahe terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in vitro. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2): 71-80.
- Baehaki A., Rinto dan A. Budiman. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa indralaya, sumatera selatan. *J. Teknol dan Industri Pangan*. 22 (1) :40-45.
- Bizuye, A., Sago, A., Admasu, G., Getachew, H., Kassa, P., dan Amsaya, M. 2014. Isolation, Optimization and Characterization of Protease Producing Bacteria from Soil and Water in Gondar town, North West Ethiopia. *International Journal of Bacteriology, Virology and Immunology* 1(3): 020-024.
- Cotter, P. D., Ross, R. P., and Hill, C. (2013). Bacteriocins a viable alternative to antibiotics *Nature. Reviews Microbiology*, 11(2): 95-105.
- De Souza, P. M., de Assis Bittencourt, M. L., Caprara, C. C., de Freitas, M., de Almeida, R. P. C., Silveira, D., Fonseca, Y. M., Filho, E. X. F., Junior, A. P., Magalhães, P. O. (2015). A biotechnology perspective of fungal proteases. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 337–346.
- Efendi, Yempita, *et al.* "Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus Subtilis* sebagai Sumber Enzim Protease." *Jurnal Akuatika Indonesia*, vol. 2, no. 1, 2017, pp. 87-94.
- Fadiyah, R., Izzah, Z., dan Nasution, N. E. (2014). Aktivitas antibakteri kombinasi probiotik (*Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus acidophilus*) dengan infus daun jambu biji (*Psidium guajava*). *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 3(2): 16-22.
- 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.
- Faizah, A. N., B. Setiawan., A. L. Saputro., S. H. Warsito., R. N. Praja., dan F. Fikri. (2023). Isolasi dan Identifikasi serta Faktor Risiko Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Susu Kambing Perah Penderita Mastitis Subklinis di Kecamatan Siliragung Kabupaten Banyuwangi. *Journal of Basic Medical Veterinary*, 12(2): 68-72.
- 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.
- Fidiastuti, H. R., E. Suarsini. (2017). Potensi bakteri indigen dalam mendegradasi limbah cair pabrik kulit secara in vitro. *Bioeksperimen J.* 3(1): 1

- Gupta, R., Q. K. Beg and P. Lorenz. 2002. Bacterial alkaline proteases : molekular approaches and industrial applications. *Applied Microbial Biotechnology*. 59: 15-32.
- Hasriyani, H., A. Z. Pramananda., dan I. R. Islamaeni. (2023). Pengaruh konsentrasi ekstrak etanol buah parioto (*medinilla speciosa blume*) pada sediaan krim terhadap aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi cakram. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 8(2): 72-83.
- Hidayah, M., Hazmi, M. 2017. Isolasi Dan Uji Aktivitas Enzim Selulase Pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop*, 15(2): 293 – 308.
- Hidayati, S. C. (2016). Pertumbuhan *Escherichia Coli* Yang Diisolasi Dari Feses Anak Ayam Broiler Terhadap Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* [Wight.] Walp.) 10 (2).
- Indrayani, L. (2018). Pengolahan Limbah Cair Industri Batik Sebagai Salah Satu Percontohan Ipal Batik Di Yogyakarta. *ECOTROPHIC : Jurnal Ilmu Lingkungan*, 12(2): 173.
- 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.
- 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.
- Khalila, R., & Suhartono, S. 2020. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria as Cellulolytic Enzyme Producer from The Hot Spring of Ie Seuum Aceh Besar, Indonesia. *Microbiology Indonesia*. 14(1): 4-4.
- 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.
- Kurniasih, T., Widanarni, Mulyasari, I. Melati., Z. I. Azwar dan A. M. Lusiastuti. 2013. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri dari saluran pencernaan ikan lele sebagai kandidat probiotik. *J. Ris. Akuakultur*. 8 (2): 277-286.
- Kurniawan, E. 2022. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Cairan Rumen Sapi Lokal. Master Thesis, Universitas Jenderal Soedirman.
- Kuswiyanto. (2016). *Bakteriologi 2*. Jakarta: Buku Kedokteran. 140 hlm.
- Maharani, A. (2015). *Penyakit Kulit (perawatan, pencegahan dan pengobatan)*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.

- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali, S. 2016. Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31–42.
- Marhayuni, Y., dan M. N. Faizi. (2022). Pembuatan IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) Bersistem ABR (*Aerobic Baffled Reactor*) untuk Mengatasi Limbah Domestik sebagai Pengamalan Q.S. Al A'Raf Ayat 56, Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam dan Sains. 4(1): 34–38.
- Muthmainnah, A. (2019). Antibacterial potention of zinc sulphide nanoparticle reduced by *Escherichia coli* on planktonic cell and bacterial biofilm. Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin.
- Nurhayati, E., Salim, M., Syari, J. P., dan Irine, R. 2022. Cemarkan Mikroba Pada Suhu Dingin dalam Kulkas Rumah Tangga. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 8(1): 69-63.
- Olivianti, A., J. Abidjulu., dan H. S. J. Koleangan. Dampak Limbah Peternakan Ayam Terhadap Kualitas Air Sungai Sawangan Di Desa Sawangan Kecamatan Tombulu Kabupaten Minahasa. *Chem. Prog.* 9(2): 45-49.
- Peraturan Pemerintah No. 16 Tahun (2005) tentang Pengembangan Sistem Penyediaan Air Minum.
- Poernomo, A.T., Isnaeni, Sugianto, D.A. Purwanto, A.C. Dewi, D. Suryagama. 2017. Pengaruh nutrisi pada produksi dan karakterisasi protease dari bakteri termofilik isolat LS-1 lumpur Sidoarjo. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 4 (2):52-59.
- Pratiwi, I. Y., F. Nisak., dan B. Gunawan. (2019). Peningkatan Manfaat Pupuk Organik Cair Urine Sapi. *Uwais Inspirasi Indonesia*, Ponorogo.
- 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.
- Rahayu, A.G., Yuli, H., Fifi, P., 2014. Uji Aktivitas Selulolitik Dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus*.sp. *Jurnal Jom Fmipa*. 1(2): 33-36.
- Rameshkumar, N., Govindarajan, R. K., Krishnan, M., & Kayalvizhi, N. (2016). Scope of Bacteriocins as a Viable Alternative to the Traditional Antibiotics. *Adv. Plants Agric. Res*, 5, 1-3.
- Reygaert, W.C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*. 4(3): 482–501.
- Rizali, A., dan N. Sari. (2023). Daya antagonisme *Trichoderma* spp. terhadap patogen *fusarium oxysporum* fo penyebab penyakit layu pada bawang merah. In prosiding seminar nasional lingkungan lahan basah, 8(2): 204-210.

- Riedel, S., Morse, S. A., Mietzner, T., & Miller, S. (2019). Jawetz, Melnick, & Adelbergs Medical Microbiology (28th Ed.). New York: McGraw-Hill.
- 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.
- Ryanita, P. K. Y., I. N. Arsana., dan N. K. A. Juliasih.(2020). Fitoremediadi dengan Tanaman Air untuk Mengolah Air Limbah Domestik. *Jurnal Widya Biologi*, 11(02): 1-4.
- Sahlan, dan A. Razak (2019) Sistem Pengolahan Air Limbah Pada Pembangkit Listrik Tenaga Uap (PLTU) : Studi Kasus PLTU Muara Karang, *Jurnal Power Plant*, (ISSN No :2356-1513).
- Saidan, S. A., Jarboui, R., Alsharari, S. S., & Azab, M. S. 2024. Characterization and Identification of Thermophilic Bacteria Isolated from Different Sites Located in Al-Jouf Region, Saudi Arabia. *Journal of Pure & Applied Microbiology*. 18(1):243-256.
- Sakr, A., F. Bregeon., J. L. Mege., J. M. Rolain., dan O. Blin. (2018). *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization: An Update on Mechanisms, Epidemiology, Risk Factors, and Subsequent Infections. *Frontiers in Microbiology*.
- Sari E, D, A. 2018. Kandungan Limbah Cair Berdasarkan Parameter Kimia di Inlet dan Outlet Rumah Pematangan Hewan, Kecamatan Kali Wates Jember. Skripsi. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Jember.
- Sholihati, A. M., M. Baharuddin dan Santi. 2013. Produksi dan uji aktivitas enzim selulase dari bakteri *Bacillus subtilis*. *Al Kimia*. 78-90.
- Sila, Nurlia, A. B. Birawida., dan M. F. Natsir. (2022). Keberadaan Bakteri Pengurai Bahan Pencemar Organik Pada Air Limbah Domestik Pulau Kodingareng. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan*, 4(3): 44–51.
- Simanjuntak, E., M. Wahyuningsih., L. S. Baskoro., dan T. Aramanda. (2015). Lessons Learned Pola Investasi Infrastruktur Bidang Pekerjaan Umum Berbasis Komunitas. Pusat Kajian Strategis Kementerian Pekerjaan Umum. Jakarta.
- Sjofjan, O. (2021). Pengolahan Kotoran Ternak Sebagai Sumber Pupuk dan Nilai Tambah Ekonomi Masyarakat Dimasa Pandemi. Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal. Universitas Sriwijaya (UNSRI). Palembang

- 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.
- Susanti, E. 2011. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Sistem Selulase dari *Bacillus circulans* strain Lokal dengan Induser Avicel. Jurnal Ilmu Dasar. Volume 12, Nomor 1: 40 – 49.
- Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator Pencemar, Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Oseana*, 41(4): 63–71.
- Tarigan, L. R. W. B. T., Muharni., dan M. Verawaty. (2019). Uji *Coliform* dan Resistensi *Escherichia coli* Terhadap Beberapa Antibiotik pada Sampel Air Sungai Sekanak di Kota Palembang. Prosiding Seminar Nasional Hari Air Dunia.
- Vieco-Saiz, N., Belguesmia, Y., Raspoet, R., Auclair, E., Gancel, F., Kempf, I., and Drider, D. 2019. Benefits and inputs from lactic acid bacteria and their bacteriocins as alternatives to antibiotic growth promoters during food anima production. *Frontiers in microbiology*, 10: 57.
- Wicaksono, A. R. (2017). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella* sp. Pada Cilok yang Dijual di Lingkungan SD Negeri di Kelurahan Cirendeu, Pisangan, dan Cempaka putih.
- Yang, D. C.m Blair, K. M., & Salama, N. R. 2016. Staying in Shape: The Impact of Cell Shape on Bacterial Survival in Diverse Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(1): 187-203.
- Yempita, E., Yusra dan V. O. Efendi. 2017. Optimasi potensi bakteri *Bacillus subtilis* sebagai sumber enzim protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*. 2 (1): 87-94.
- Yi, L., Dang, J., Zhang, L., Wu, Y., Liu, B., and Lü, X. (2016). Purification, characterization and bactericidal mechanism of a broad spectrum bacteriocin with antimicrobial activity against multidrug-resistant strain produced by *Lactobacillus coryniformis* XN8. *Food Control*, 67: 53-62.
- 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.
- Yuniati, R., T. T Nugroho dan F. Puspita. 2015. Uji aktivitas enzim protease dari isolat *bacillus* sp. Galur lokal riau. *Jom FMIPA*. 1 (2): 116-122.
- Yunus, SP., J.M.L. Umboh, dan O. Pinontoan. (2015). Hubungan Personal Higiene dan Fasilitas Sanitas dengan Kontaminasi *Escherisia Coli* Pada

Maknan di Rumah Makan Padang Kota manado Dan Kota Padang.
JIKMU. 5(2): 210-220.

Zusfahair, P. Lestari dan A. Asnani. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease alkalin dari isolat bakteri limbah ternak di *exfarm* Fakultas Peternakan Unsoed. *Molekul*. 6 (1): 46 – 56.