Potensi bakteri amilolitik sebagai agen bioremediasi limbah cair industri pengolahan mi lethek

Widya Ningsih Ramli, Ika Afifah Nugraheni*, Arif Bimantara

Program Studi S1 Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
* Email: ikaafifah@unisayogya.ac.id

Abstrak

Limbah cair yang dihasilkan dari industri pengolahan mi lethek mengandung bahan organik tinggi yang dapat mencemari lingkungan jika dibuang langsung ke badan air. Pada penelitian sebelumnya telah berhasil didapatkan enam isolat bakteri amilolitik asal limbah cair mi lethek. Penelitian ini bertujuan mengetahui potensi bakteri amilolitik sebagai agen bioremediasi limbah cair industri pengolahan mi lethek. Tiga isolat bakteri dengan aktivitas amilolitik terbaik dari hasil isolasi pada penelitian sebelumnya yaitu isolat AM1, AM3 dan AM7. Penelitian dilakukan secara eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu kontrol (tanpa penambahan bakteri), penambahan bakteri AM1, AM3, AM7, dan campuran ketiga isolat bakteri. Parameter uji yang diukur meliputi COD, BOD, protein dan karbohidrat. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA. Potensi keefektifan setiap isolat bakteri dalam mendegradasi limbah dihitung berdasarkan rerata efisiensi degradasi. Hasil penelitian menunjukan isolat AM1 mampu menurunkan COD sebesar 28,37%, BOD 35,19%, protein 24,61% dan karbohidrat 86,06%. Isolat AM3 mampu menurunkan COD sebesar 28,37%, BOD 34,19%, protein 27,79% dan karbohidrat 85,76%. Isolat AM7 mampu menurunkan COD sebesar 28,01%, BOD 35,04%, protein 38,88% dan karbohidrat 85,36%. Sedangkan campuran ketiga isolat mampu menurunkan COD sebesar 60,28%, BOD 47,86%, protein 41,55% dan karbohidrat 90,39%. Perlakuan dengan campuran semua isolat bakteri menunjukkan hasil terbaik pada seluruh parameter yang diuji. Untuk parameter BOD hasilnya telah memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Gubernur DIY No.7 Tahun 2016. Namun, nilai COD masih melebihi batas maksimum baku mutu yang ditetapkan. Sehingga perlunya waktu kontak yang lebih lama untuk mencapai standar baku mutu yang ditetapkan.

Kata kunci : bakteri amilolitik; limbah cair; mi lethek

Potential Of Amylolytic Bacteria As Bioremediation Liquid Waste Agents From Lethek Noodle Processing Industry

Abstract

Liquid waste produced from the lethek noodle processing industry contains high organic matter that can pollute the environment if discharged directly into water streams. In previous studies, six isolates of amylolytic bacteria from lethek noodle liquid waste have been successfully obtained. This study aims to determine the potential of amylolytic bacteria as bioremediation agents for lethek noodle liquid waste. Three bacterial isolates with the best amylolytic activity from the results of previous studies were AM1, AM3 and AM7 isolates. The study was conducted experimentally using a Completely Randomized Design (CRD) with five treatments and three replications. The treatments given were control (without adding bacteria), adding AM1, AM3, AM7 bacteria, and a mixture of the three bacterial isolates. The test parameters measured included COD, BOD, protein and carbohydrates. The data obtained were analyzed using ANOVA. The potential effectiveness of each bacterial isolate in degrading waste was calculated based on the average degradation efficiency. The results showed that isolate AM1 was able to reduce COD by 28.37%, BOD 35.19%, protein 24.61% and carbohydrates 86.06%. Isolate AM3 was able to reduce COD by 28.37%, BOD 34.19%, protein 27.79% and carbohydrates 85.76%. AM7 isolate was able to reduce COD by 28.01%, BOD by 35.04%, protein by 38.88% and carbohydrate by 85.36%. While the mixture of the three isolates was able to reduce COD by 60.28%, BOD by 47.86%, protein by 41.55% and carbohydrate by 90.39%. Treatment with a mixture of all bacterial isolates showed the best results for all parameters tested. For the BOD parameter, the results have met the quality standards set in the

Yogyakarta Special Province Governor's Regulation No. 7 of 2016. However, the COD value still exceeds the maximum limit of the set quality standards. So that the need for longer contact time to achieve the set quality standards.

Keywords: *amylolytic bacteria; liquid waste; lethek noodle*

1. Pendahuluan

Perkembangan industri membawa banyak manfaat bagi masyarakat. Namun di sisi lain, kemajuan ini juga menimbulkan masalah lingkungan karena semakin banyaknya limbah yang dihasilkan dari berbagai kegiatan industri. Salah satu industri yang saat ini berkembang pesat adalah industri mi, karena tingginya tingkat konsumsi. Semakin tinggi konsumsi, maka semakin besar pula produksi yang dihasilkan, yang pada akhirnya berujung pada peningkatan volume buangan air limbah dari industri tersebut (Situmeang *et al*., 2019).

Limbah cair yang dihasilkan dari proses pengolahan mi lethek adalah limbah cair organik yang berbahan dasar olahan pertanian, berupa tepung yang mengandung karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral (Zein *et al*., 2016). Jika limbah ini tidak diolah terlebih dahulu dan langsung dibuang ke sungai maka dapat mengakibatkan pencemaran air sungai yang dapat merugikan masyarakat. Pencemaran tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya hasil pertanian, menurunnya hasil tambak, atau berkurangnya ketersediaan air sungai oleh penduduk (Situmeang *et al*., 2019).

Salah satu industri pangan rumahan populer di Daerah Istimewa Yogyakarta adalah mi lethek. Limbah yang dihasilkan dari produksi mi lethek umumnya langsung dialirkan ke badan sungai tanpa adanya pengolahan lebih lanjut. Pengolahan limbah secara biologis sering dipilih sebagai metode alternatif yang paling efisien dan ekonomis. Salah satu teknik yang dapat diterapkan adalah bioremediasi (Divya *et al*., 2015).

Bioremediasi adalah proses pengolahan limbah yang dilakukan oleh organisme hidup dalam kondisi yang terkontrol, sehingga menghasilkan bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasi yang berada di bawah standar mutu yang telah ditetapkan. Salah satu agen bioremediasi yang dapat dimanfaatkan adalah bakteri (Divya *et al*., 2015). Bakteri yang berpotensi untuk dimanfaatkan adalah bakteri amilolitik, yaitu bakteri yang mampu menghasilkan enzim amilase. Enzim amilase ini berfungsi untuk menghidrolisis pati menjadi senyawa yang lebih sederhana (Novitasari *et al*., 2021).

Beberapa penelitian sebelumnya telah berhasil mengisolasi bakteri amilolitik dari limbah yang mengandung amilum. Penelitian Akinde *et al*., (2019) berhasil mengisolasi bakteri amilolitik *Myroides odoratimimus* BY-F1, *Enterobacter asburiae* YP-F1 dan *Bacillus cereus* CP-A4 dari limbah cair pengolahan singkong. Selain itu, Suprapto *et al*., (2014) juga mengisolasi bakteri amilolitik *Bacillus cereus* dan *Bacillus subtilis* asal limbah industri tepung sagu yang memiliki aktivitas enzim amilase. Penelitian lainnya yang telah dilakukan oleh Putri *et al*., (2021) menunjukan bahwa isolat bakteri amilolitik yang diisolasi dari sedimen ekosistem mangrove terbukti mampu mendegradasi bahan organik melalui proses hidrolisis pati yang ditemukan pada serasah mangrove.

Bakteri amilolitik dapat ditemukan pada beberapa media yang memiliki kandungan pati atau amilum dengan kadar yang tinggi (Wulandari & Desi, 2019). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nurlatifa (2023) didapatkan enam isolat bakteri amilolitik yang diisolasi dari limbah cair industri pengolahan mi lethek. Keenam isolat tersebut mampu memproduksi enzim amilase yang di tandai dengan pembentukan zona bening pada area sekitar koloni. Namun, penelitian mengenai kemampuan bakteri amilolitik dalam mengurai amilum yang terdapat pada limbah cair pengolahan mi lethek belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri amilolitik sebagai agen bioremediasi limbah cair industri pengolahan mi lethek. Bakteri amilolitik diharapkan dapat menguraikan amilum yang terdapat pada limbah cair pengolahan mi lethek menjadi senyawa yang lebih sederhana.

2. Metode

2.1. Rancangan Penelitian

Tahapan penelitian meliputi peremajaan isolat bakteri, pengambilan sampel, fermentasi limbah cair mi lethek, dan penentuan parameter limbah seperti *Chemical Oxygen Demand* (COD), *Biological Oxygen Demand* (BOD), protein, dan karbohidrat, yang dilanjutkan dengan analisis data. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri yang telah diisolasi dari limbah cair industri pengolahan mi lethek dengan merk Busur Panah yang berlokasi di Dusun Nengahan, Desa Trimurti, Srandakan, Bantul, DIY, dan telah diidentifikasi secara fenotipik dan biokimia berdasarkan penelitian sebelumnya. Isolat yang digunakan adalah isolat dengan aktivitas amilolitik terbaik yaitu AM1 (*Gluconobacter* sp), AM3 (*Brevibacterium* sp), dan AM7 (*Shigella* sp). Penelitian ini menggunakan RAL dengan lima perlakuan dan tiga ulangan. Perlakuan terdiri dari kontrol (tanpa penambahan bakteri), perlakuan A (penambahan bakteri AM1), perlakuan B (penambahan bakteri AM3), perlakuan C (penambahan bakteri AM7), dan perlakuan D (gabungan bakteri AM1, AM3, AM7).

2.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi cawan petri, erlenmeyer, gelas *beaker*, jarum ose, bunsen, lemari pendingin, *magnetic stirrer*, mikropipet, botol kaca steril, botol winkler, tabung reaksi, *cool box*, *hotplate*, autoklaf, inkubator, timbangan analitik, buret, *shaker*, vortex, gelas ukur, pipet ukur, *waterbath*, sentrifugasi, dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi isolat bakteri amilolitik AM1, AM3, dan AM7, akuades, kapas, kertas label, *Nutrient agar* (NA), *Nutrient broth* (NB), alkohol 70%, NaCl 0,9%, H_2SO_4 6N, $K_2Cr_2O_7$ 0,25N, larutan KI 0,5N, indikator feroin, fosfat penyangga, $MgSO_4$, $CaCl_2$ 0,18M, $FeCl_3$ 10%, alkali iodida azida, $MnSO_4$ 10%, $Na_2S_2O_3$ 0,1N, indikator amilum, larutan biuret, *Bovine Serum Albumin* (BSA), glukosa dan Fenol 5%.

2.3. Pembuatan Media

2.3.1. Pembuatan Media NA

Sebanyak 2,8 g media NA ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Larutan kemudian dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen. Setelah itu, larutan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media dapat dituang secara aseptik ke dalam cawan petri steril untuk digunakan. Sebelum dituang, media ditunggu hingga suhu mencapai sekitar 40-45°C, kemudian didiamkan pada suhu ruang hingga media memadat sempurna sebelum digunakan (Rosmania & Fitri, 2020).

2.3.2. Pembuatan Media NB

Sebanyak 2 g bubuk NB dilarutkan dengan 100 mL akuades dalam erlenmeyer, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Selanjutnya larutan dipipet ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL, kemudian ditutup dengan kapas yang dibungkus aluminium foil. Setelah itu tabung reaksi disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, media didiamkan beberapa menit hingga suhu media menjadi 40-45°C sebelum digunakan (Rosmania & Fitri, 2020).

2.4. Peremajaan Isolat Bakteri Amilolitik

Isolat bakteri amilolitik disubkulturkan pada media NA dengan digores ulang pada media NA di cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Ningtyas *et al*., 2023).

2.5. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari industri mi lethek yang berlokasi di Dusun Polosiyo, Kelurahan Poncosari,

Kecamatan Srandakan, Bantul, DIY. Pengambilan sampel limbah cair dilakukan di saluran pembuangan yang mengalir ke sungai. Sampel limbah cair ini diambil sebanyak 1.500 mL menggunakan jerigen steril yang berukuran 2 L. Air limbah dibiarkan mengalir terlebih dahulu selama 2-3 menit sebelum dilakukan pengambilan sampel. Bagian tepi wadah penampung dan tepi saluran disterilkan dengan cara dilewatkan dengan korek api untuk menjaga kondisi aseptik. Air limbah yang mengalir dari pipa ditampung dengan cara memposisikan mulut jerigen menghadap arah aliran limbah. Setelah terisi jerigen ditutup hingga rapat. Untuk menjaga kestabilan sampel, wadah sampel dimasukkan ke dalam *cool box* dan dibawa ke laboratorium untuk proses pengujian selanjutnya (Lipinwati *et al*., 2016).

2.6. Persiapan Isolat Bakteri Amilolitik

1 ose kultur bakteri amilolitik yang telah diremajakan pada media NA selama 48 jam disuspensikan ke dalam tabung yang berisi medium NB. Suspensi kemudian di inkubasi pada *shaker*, 120 rpm pada suhu ruang. Kemudian diukur nilai Absorbansi nya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm (Rosmania & Fitri, 2020).

2.7. Perhitungan Jumlah Koloni

Suspensi bakteri uji diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-6} menggunakan NaCl 0,9%. Selanjutnya, diambil seri pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-6} masing-masing diambil 100 µL dengan mikropipet dimasukan ke dalam cawan petri. Kemudian media NA steril yang suhunya ± 40^{o}C dituangkan dan homogenkan dengan cara memutar cawan diatas meja secara perlahan dengan gerakan seperti angka delapan. Setelah didiamkan selama sekitar 15 menit, cawan dibungkus dengan kertas dan diinkubasi secara terbalik dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, dilakukan pengamatan pertumbuhan bakteri (Rosmania & Fitri, 2020). Jumlah sel bakteri dinyatakan dengan satuan CFU/mL, yang dihitung menggunakan rumus (Putri *et al*., 2021):

CFU/mL= Jumlah koloni x (1/FP)
Keterangan:
FP = faktor pengenceran
CFU = *Colony Forming Units*

2.8. Fermentasi Limbah Cair Mi Lethek

Limbah cair mi lethek diambil sebanyak 75 mL dimasukan ke dalam erlenmeyer 250 mL dan di inokulasikan dengan 1 mL isolat bakteri dari pengenceran 10^{-5} pada masing-masing perlakuan. Untuk perlakuan D yang menggunakan campuran tiga isolat bakteri, volume inokulum dibagi secara proporsional yaitu 0,33 mL untuk setiap isolat. Selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu ruang di dalam *shaker* dengan kecepatan 160 rpm selama 7 hari (Utomo *et al*., 2022). Setelah itu dilakukan pengukuran nilai COD, BOD, protein dan karbohidrat pada hari ke-7. Pengukuran dilakukan sebelum dan setelah perlakuan.

2.9. Penentuan Parameter Limbah

2.9.1. Penentuan Nilai COD

Sampel limbah cair mi lethek sebanyak 2 mL diencerkan dengan 8 mL akuades. Kemudian diambil 5 mL sampel yang telah diencerkan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan H_2SO_4 6N sebanyak 5 mL dan $K_2Cr_2O_7$ 0,25N sebanyak 20 mL ke dalam sampel lalu dikocok. Selanjutnya, sampel dipanaskan menggunakan *waterbath* selama 10 menit. Setelah itu, larutan sampel didinginkan hingga mencapai suhu ruang (25°C). Kemudian, ditambahkan larutan KI sebanyak 10 mL. Larutan kemudian dititrasi dengan $Na_2S_2O_3$ 0,1 N (Na-tiosulfat) hingga terbentuk warna kuning jerami, lalu ditambahkan 10 tetes indikator feroin dan dititrasi hingga terjadi perubahan warna dari biru kehijauan menjadi merah bata. Selanjutnya dilakukan perhitungan kadar COD limbah cair yang telah mendapat perlakuan dan blanko. Perhitungan

dilakukan dengan rumus berikut (Listyaningrum, 2022):

$$COD = \frac{(A-B) \times N\ Na_2S_2O_3 \times 8.000 \times P}{V\ Sampel}$$

Keterangan:
A: Blanko (mL)
B: Sampel (mL)
P: Pengenceran
N: Normalitas $Na_2S_2O_3$
8.000: berat mili ekuivalen oksigen x 1.000

2.9.2. Penentuan Nilai BOD

Analisis BOD dilakukan dengan menggunakan metode titrasi Winkler.

2.9.2.1. Analisis DO_0 (*Dissolved Oxygen* 0 hari)

Sampel sebanyak 50 mL diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian ditambahkan masing-masing 1 mL fosfat penyangga, $MgSO_4$, $CaCl_2$ 0,18M dan $FeCl_3$ 10%, dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas. Selanjutnya dipindah ke *beaker glass* lalu diaerasi selama 15 menit. Setelah itu, dimasukan ke dalam botol Winkler dan ditutup, ditambahkan masing-masing 1 mL alkali iodida azida dan $MnSO_4$ 10%, ditutup lalu dikocok dengan membalik-balikan botol Winkler. Larutan dibiarkan selama 10 menit lalu dipindah ke Erlenmeyer, kemudian ditambah 1 mL H_2SO_4 6N dan dikocok. Larutan kemudian dititrasi dengan $Na_2S_2O_3$ 0,1 N (Na-tiosulfat) hingga kuning pucat. Selanjutnya ditambah beberapa tetes indikator amilum dan dititrasi sampai warna biru hilang (Andika *et al*., 2020).

2.9.2.2. Analisis DO_5 (*Dissolved Oxygen* 5 hari)

Sampel yang telah diaerasi pada pengukuran DO_0 dimasukkan ke dalam botol Winkler dan ditutup rapat tanpa ada gelembung udara. Sampel diinkubasi selama 5 hari pada suhu 20°C. Setelah masa inkubasi selesai, sampel dititrasi dengan metode yang sama seperti pada pengukuran DO(0) untuk mengetahui kandungan oksigen terlarut. Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut pada hari ke nol dan hari ke lima. Untuk menghitung nilai BOD dari sampel yang diuji, terlebih dahulu perlu dihitung nilai DO yang dihasilkan dari masing-masing sampel. Nilai DO dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Andika *et al*., 2020):

$$\text{Kadar } O_2 \text{ (mg/L)} = \frac{A \times N \times 8.000}{V\ \text{sampel} - 2}$$

Keterangan :
A : volume titrasi
N : normalitas Na-tiosulfat
V : Volume sampel

Setelah nilai DO pada setiap sampel ditentukan, maka nilai BOD sampel uji dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Andika *et al*., 2020):

$BOD_5 = (A1 - A2) - (B1 - B2) \times P.$
Keterangan :
A_1 : nilai DO dari sampel uji sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L) A_2 : nilai DO dari sampel uji setelah inkubasi (5 hari) (mg/L) B_1 : nilai DO dari blanko sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L)

B_2 : nilai DO dari blanko setelah inkubasi (5 hari) (mg/L) P : pengenceran

2.9.3. Penentuan Kadar Protein

2.9.3.1. Pembuatan Kurva Standar Protein

Pengujian dilakukan dengan metode biuret menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Larutan BSA 100 ppm dibuat dengan cara menimbang BSA sebanyak 0,05 g, kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuades. Deret standar dibuat dengan konsentrasi 0, 1.000, 2.000, 3.000, 4.000, dan 5.000 ppm. Larutan BSA dengan volume 0, 200, 400, 600, 800, dan 1000 µL dipipet ke dalam masing-masing tabung reaksi. Setiap tabung kemudian ditambahkan akuades hingga mencapai volume total 1000 µL. Selanjutnya, larutan biuret sebanyak 4 mL ditambahkan ke dalam tabung dan dikocok hingga tercampur rata, kemudian didiamkan selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 550 nm (Amir *et al*., 2021).

2.9.3.2. Pengujian Kadar Protein

Sampel sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, endapan yang terbentuk diambil dan dicampur dengan larutan biuret sebanyak 4 mL. Campuran ini kemudian dihomogenkan dengan mengocoknya dengan kuat selama 1-2 menit atau menggunakan vortex selama 30-60 detik. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit atau pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah diinkubasi, sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit, dan supernatan yang dihasilkan diambil untuk dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh dari spektrofotometer kemudian diplotkan pada kurva standar BSA yang telah disiapkan (Amir *et al*., 2021).

2.9.4. Penentuan Kadar Karbohidrat

2.9.4.1. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Larutan standar glukosa 100 ppm dibuat dengan menimbang glukosa sebanyak 0,001 g kemudian dilarutkan dalam 10 mL akuades. Deret standar dibuat dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 ppm. Larutan glukosa dengan volume 0, 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 µL dipipet ke dalam tabung reaksi. Setiap tabung kemudian ditambah akuades hingga mencapai volume total 1000 µL. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL fenol 5% dan 2,5 mL H_2SO_4. Campuran tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 485 nm (Amir *et al*., 2021).

2.9.4.2. Pengujian Kadar Karbohidrat Sampel

Sampel diambil sebanyak 5 mL, kemudian disentrifugasi untuk memperoleh endapan. Endapan tersebut kemudian ditambahkan 500 µL fenol 5% dan di vortex, serta segera tambahkan 2,5 mL H_2SO_4 ke dalam campuran. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 485 nm. Hasil pengukuran ini kemudian diplotkan pada kurva standar yang telah disiapkan sebelumnya untuk menentukan konsentrasi karbohidrat dalam sampel (Amir *et al*., 2021).

2.10. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa parameter yang diuji dalam analisis air limbah yaitu nilai COD, BOD, protein, dan karbohidrat. Data yang diperoleh dianalisis secara statistika menggunakan SPSS dengan analisis sidik ragam (ANOVA). Apabila berbeda nyata maka dilakukan uji lanjut Duncan 5%. Potensi keefektifan setiap isolat bakteri dalam mendegradasi limbah dihitung berdasarkan rerata efisiensi degradasi, dengan rumus sebagai berikut (Fidiastuti *et al*., 2016):

$$\text{Presentase Degradasi} = \frac{\text{Kadar awal-Kadar akhir}}{\text{Kadar awal}} \times 100$$

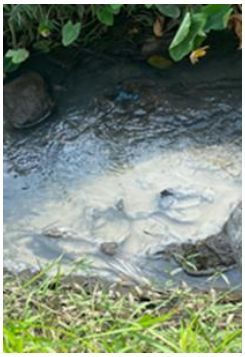
3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengambilan Sampel Air Limbah Mi Lethek

Industri mi lethek yang berlokasi di Dusun Polosiyo, Kelurahan Poncosari, Srandakan, ini masih dilakukan secara tradisional dengan memanfaatkan bahan baku utama tepung gaplek dan tepung tapioka. Proses pembuatan mi lethek diawali dengan tahap perendaman tepung gaplek selama 4 hari, di mana terjadi pergantian air sebanyak 4 kali sehari (Gambar 1). Setelah proses perendaman, tepung gaplek ditiriskan selama dua hari. Selanjutnya, tepung tersebut dicetak menjadi bentuk persegi panjang, lalu dikukus hingga matang, dan dicampur dengan tepung tapioka. Adonan yang telah tercampur sempurna kemudian dicetak menjadi helaian mi yang panjang dan dijemur di bawah sinar matahari (Puspitasari, 2019). Dalam proses pengolahan tepung gaplek, banyak air yang digunakan dan dibuang. Hal ini menghasilkan limbah cair dalam jumlah besar. Saat ini, industri tersebut belum memiliki sistem pengolahan limbah yang memadai, sehingga limbah cair yang dihasilkan langsung dialirkan ke sungai.

Gambar 1. Perendaman tepung gaplek dalam proses pembuatan mi lethek

Dalam penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan di lokasi pembuangan limbah cair yang langsung mengalir ke badan air. Di titik ini, sampel limbah cair dapat diambil sebelum mengalami pengenceran atau pencampuran dengan air sungai, sehingga dapat menggambarkan kondisi sebenarnya limbah cair yang akan masuk ke badan air. Selain itu, lokasi ini juga memungkinkan pengambilan sampel dilakukan secara aseptik. Gambar 2 menunjukkan kondisi sungai yang berfungsi sebagai lokasi pembuangan akhir air limbah.



Gambar 2. Sungai tempat pembuangan limbah cair mi lethek

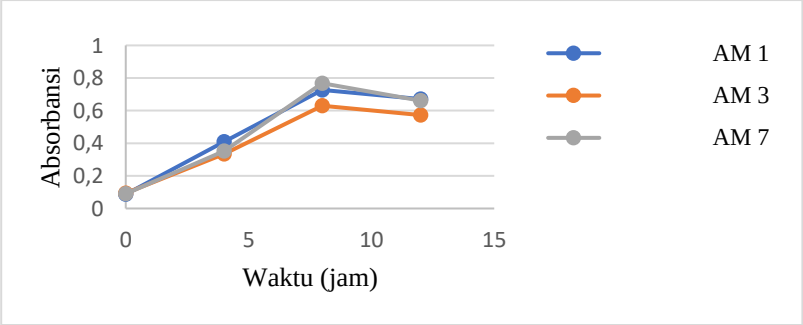
Berdasarkan observasi pada Gambar 3, limbah cair industri mi lethek memiliki karakteristik fisik yang dapat diamati dari dua aspek utama yaitu warna dan aroma. Secara visual, cairan limbah berwarna

putih keruh kecoklatan. Sementara itu pada aspek aroma, tercium bau yang menyengat dengan karakteristik asam yang mirip dengan bau singkong yang telah membusuk. Aroma yang tercium sangat tajam dan memiliki ciri khas dari proses pengolahan tepung gaplek, sehingga memberikan sensasi yang kurang nyaman pada indra penciuman.

Gambar 3. Sampel limbah cair mi lethek

3.2. Perhitungan Laju Pertumbuhan Bakteri Amilolitik

Perhitungan laju pertumbuhan isolat bakteri amilolitik dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Pada panjang gelombang tersebut, nilai absorbansi yang dihasilkan berkisar antara 0,08 hingga 0,13 (Rosmania & Fitri, 2020). Analisis kurva dilakukan dengan mengamati kekeruhan suspensi ketiga isolat tersebut selama 12 jam, dengan pengamatan dilakukan setiap empat jam sekali (Gambar 4).



Gambar 4. Kurva pertumbuhan bakteri amilolitik

Pada Gambar 4, fase eksponensial pada semua isolat berlangsung hingga jam ke-8. Pada fase ini, bakteri mengalami pertumbuhan yang cepat karena aktivitas metabolisme yang tinggi. Setelah jam ke-8 hingga jam ke-12, bakteri memasuki fase stasioner yang ditandai dengan penurunan laju pertumbuhan. Pada penelitian ini tidak terdapat fase lag, hal ini disebabkan karena frekuensi pengamatan yang dilakukan terlalu lama yaitu setiap 4 jam sekali, sedangkan fase lag biasanya terjadi pada dua jam pertama pertumbuhan bakteri (Nurhajati *et al*., 2016). Fase lag merupakan fase dimana mikroba yang diinokulasikan akan beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang baru (Abna *et al*., 2023). Pada penelitian Nurhajati *et al*., (2016), fase lag ini terjadi pada dua jam pertama pada masa pertumbuhan awal, setelah itu pada dua jam berikutnya telah terjadi fase eksponensial. Fase eksponensial merupakan fase pembelahan sel yang berlangsung secara cepat karena adanya peningkatan aktivitas metabolisme, sehingga pada fase ini sel berkembang secara optimal. Sedangkan pada fase stasioner laju metabolisme bakteri mulai menurun karena berkurangnya jumlah nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan (Novanti & Enny, 2018).

Berdasarkan pada penelitian ini, fase eksponensial bakteri terjadi pada jam ke-8. Menurut Abna *et al*., (2023), fase eksponensial ini merupakan fase yang tepat untuk memindahkan bakteri ke media fermentasi

dengan volume yang lebih besar. Penggunaan kultur bakteri yang sedang berada dalam fase aksponensial dapat mengoptimalkan dan mempercepat proses fermentasi. Pada fase ini sel-sel mengalami pembelahan dengan cepat karena tersedianya enzim dan senyawa metabolit untuk pembelahan sel, yang ditandai dengan tingginya tingkat penyerapan CO_2 dan laju pembentukan biomassa (Prayitno, 2016). Hal ini sesuai dengan pendapat Sari *et al*., (2024) bahwa pada fase eksponensial terdapat nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme dengan cepat sehingga meningkatkan jumlah sel pada substrat.

3.3. Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) Koloni Bakteri Amilolitik

Pengujian TPC digunakan untuk menghitung jumlah total sel bakteri yang hidup dalam sampel dengan mengamati koloni yang tumbuh pada media agar. Metode TPC dipilih karena memiliki akurasi yang tinggi dalam menghitung sel-sel viable (hidup dan mampu membelah), sehingga memberikan data yang akurat tentang populasi bakteri aktif. Prinsip dasar metode ini adalah memanfaatkan kemampuan sel mikroba untuk membentuk koloni yang dapat diamati secara langsung tanpa mikroskop (Yunita *et al*., 2015). Hasil nilai rata-rata TPC bakteri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan TPC bakteri amilolitik

No	Isolat	Pengenceran			TPC CFU/mL
		10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
1	AM 1	*Spreader**	$7{,}25 \times 10^{5}$	$3{,}0 \times 10^{6}$	$1{,}86 \times 10^{6}$
2	AM 3	TBUD*	TBUD*	$4{,}1 \times 10^{6}$	$4{,}1 \times 10^{6}$
3	AM 7	*Spreader**	$1{,}99 \times 10^{6}$	$3{,}1 \times 10^{6}$	$2{,}55 \times 10^{6}$

Keterangan : "TBUD" = Terlalu banyak untuk dihitung

Tabel 1 menunjukan hasil perhitungan TPC untuk ketiga isolat bakteri amilolitik, yaitu AM1, AM3 dan AM7. Perhitungan TPC dilakukan pada seri pengenceran 10^{-3}, 10^{-4}, dan 10^{-5}. Nilai rata-rata TPC untuk isolat AM1 adalah $1{,}86 \times 10^{6}$ CFU/mL, untuk isolat AM3 adalah $4{,}1 \times 10^{6}$ CFU/mL dan untuk isolat AM7 adalah $2{,}55 \times 10^{6}$ CFU/mL. Hal ini menunjukan bahwa AM1, AM3 dan AM7 mampu tumbuh dengan baik pada seri pengenceran 10^{-5}.

Dalam penelitian ini, terdapat variasi nilai TPC pada masing-masing isolat bakteri. Perbedaan ini dipengaruhi oleh sejumlah faktor yang berperan terhadap pertumbuhan dan kemampuan reproduksi bakteri. Faktor-faktor tersebut meliputi kondisi lingkungan pertumbuhan (seperti suhu, pH, dan ketersediaan nutrisi), serta perbedaan kemampuan metabolisme masing-masing isolat dalam memanfaatkan sumber karbon dan energi (Mumtaz, 2024).

Menurut Laili *et al*., (2022), semakin banyak pengenceran maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Pada prinsipnya, sel-sel bakteri tersebar secara homogen dalam sampel setelah dilakukan pengenceran bertingkat. Pengenceran ini dilakukan untuk menumbuhkan koloni bakteri dalam media terbatas yang tidak mungkin dilakukan penghitungan bakteri yang jumlahnya puluhan ribu.

3.4. Pengujian Limbah Mi Lethek

3.4.1. Pengujian COD

Chemical Oxygen Demand (COD) adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan dalam proses oksidasi atau dekomposisi kimia bahan organik. Pengukuran COD dilakukan untuk mengetahui jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik menjadi CO_2 dan H_2O yang terkandung dalam limbah cair (Haerun *et al*., 2018). Kemampuan bakteri amilolitik dalam menurunan kadar COD pada limbah cair mi lethek disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Konsentrasi COD pada biodegradasi limbah cair mi lethek

Perlakuan	Kadar Awal (mg/L)	COD (mg/L)	Efisiensi (%)	Standar max Peraturan Gubernur DIY No 7 Tahun 2016
Kontrol		3.546,67[a]	5,67	
A		2.693,33[b]	28,37	
B	3.760	2.693,33[b]	28,37	250 mg/L
C		2.706,67[b]	28,01	
D		1.493,33[c]	60,28	

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Tabel 2 menunjukan bahwa pada perlakuan kontrol, kadar COD tercatat sebesar 3.546,67 mg/L dengan efisiensi degradasi 5,67%. Untuk perlakuan A dan B menghasilkan kadar COD sebesar 2.693,33 dengan efisiensi degradasi 28,37%. Perlakuan C menghasilkan kadar COD sebesar 2.706,67 mg/L dengan efisiensi degradasi 28,01%. Sementara itu, perlakuan D menunjukan hasil terbaik dengan kadar terendah yaitu 1.493,33 mg/L dengan efisiensi degradasi 60,28%.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan, ditunjukkan dengan nilai P < 0,05. Hasil uji Duncan menunjukan kontrol berbeda nyata dengan seluruh perlakuan (A, B, C dan D). Perlakuan A, B, dan C memiliki kemampuan yang setara dalam menurunkan kadar COD. Sementara itu, perlakuan D yang menggunakan kombinasi semua isolat, menunjukan kemampuan terbaik dalam menurunkan kadar COD dibandingkan perlakuan lainnya (Lampiran 15).

Kadar COD pada pengolahan ini masih menunjukkan hasil yang melebihi batas maksimal baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Gubernur Daerah Istimewa Yogyakarta No.7 Tahun 2016. Tingginya kadar COD yang masih melebihi baku mutu tersebut terjadi karena kandungan organik dalam limbah terlalu tinggi dibandingkan dengan kemampuan penguraian oleh bakteri. Sehingga meskipun terjadi penurunan, proses degradasi memerlukan waktu kontak yang lebih lama untuk mencapai baku mutu yang ditetapkan (Haerun *et al*., 2018).

3.4.2. Pengujian BOD

Biological Oxygen Demand (BOD) adalah jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk memecah atau mengoksidasi bahan organik yang terdapat dilingkungan perairan (Deffy *et al*., 2020). Kemampuan bakteri amilolitik dalam menurunan kadar BOD pada limbah cair mi lethek disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi BOD pada biodegradasi limbah cair mi lethek

Perlakuan	Kadar Awal (mg/L)	BOD (mg/L)	Efisiensi (%)	Standar max Peraturan Gubernur DIY No 7 Tahun 2016
Kontrol		124,15[a]	6,89	
A		83,33[b]	37,51	
B	133,34	85,55[b]	35,84	125 mg/L
C		84,45[b]	36,67	
D		67,78[c]	49,17	

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Seperti yang terlihat pada tabel 3, pada perlakuan A menghasilkan kadar BOD sebesar 83,33 mg/L dengan efisiensi degradasi 37,51%, perlakuan B menghasilkan kadar BOD sebesar 85,55 mg/L dengan efisiensi degradasi 35,84%, perlakuan C menghasilkan kadar BOD sebesar 84,45 mg/L dengan efisiensi degradasi 36,67%, dan perlakuan D menunjukan hasil terbaik dengan kadar BOD 67,78 mg/L dengan

efisiensi degradasi 49,17%. Sementara itu, kontrol hanya menghasilkan kadar BOD sebesar 124,15 mg/L dengan efisiensi degradasi 6,89%.

Hasil analisis ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan, ditunjukkan dengan nilai P < 0,05. Hasil uji Duncan menunjukan kontrol berbeda nyata dengan seluruh perlakuan (A, B, C dan D). Perlakuan A, B, dan C memiliki kemampuan yang setara dalam menurunkan kadar BOD. Sementara itu, perlakuan D yang menggunakan kombinasi semua isolat, menunjukan kemampuan terbaik dalam menurunkan kadar BOD dibandingkan perlakuan lainnya (Lampiran 15).

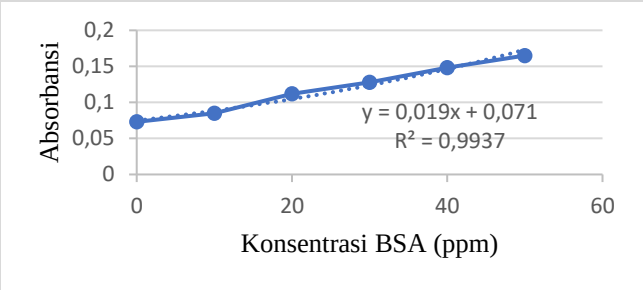
Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar BOD sudah berada di bawah batas maksimal baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Gubernur Daerah Istimewa Yogyakarta No.7 Tahun 2016. Menurut Deffy *et al*., (2020) Penurunan kadar BOD dapat terjadi karena lamanya waktu proses pengolahan, semakin lama waktu pengolahan maka semakin besar zat organik yang didegradasi oleh mikroba dan dapat menurunkan konsentrasi kadar BOD. Namun pada penelitian ini perlakuan kontrol juga menunjukkan kadar BOD di bawah batas maksimal. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya mikroorganisme alami pada limbah cair mi lethek yang mampu melakukan biodegradasi dan menurunkan kadar BOD secara alami, meskipun membutuhkan waktu yang lebih lama (Paramita *et al*., 2012).

Menurut Haerun *et al*., 2018) nilai BOD umumnya akan selalu lebih rendah dibandingkan dengan COD. Hal ini dikarenakan pengukuran BOD hanya melibatkan proses degradasi biologis bahan organik dengan menggunakan mikroorganisme yang memiliki keterbatasan kemampuan dalam menguraikan senyawa organik dan memerlukan waktu yang lebih lama. Sementara itu, pengukuran COD menggunakan proses oksidasi kimia yang mampu menguraikan hampir semua jenis senyawa organik dalam air, termasuk senyawa yang sulit diuraikan secara biologis. Dengan kata lain, proses degradasi kimia memiliki kemampuan yang lebih kuat dan menyeluruh dalam mengoksidasi senyawa organik dibandingkan dengan proses degradasi biologis, sehingga menghasilkan nilai COD yang lebih tinggi.

Kadar COD dan BOD yang aman yaitu harus berada di bawah batas maksimal baku mutu yang di tetapkan dalam Peraturan Gubernur Daerah Istimewa Yogyakarta No.7 Tahun 2016. Penelitian yang dilakukan oleh Fidiastuti *et al*., (2016) menunjukkan bahwa proses biodegradasi dengan menggunakan bakteri indigen dapat menurunkan kadar BOD sebesar 35,45% dan COD sebesar 69,61% pada limbah cair pabrik kulit dalam waktu inkubasi 7 hari. Sementara itu, dalam penelitian Waranares *et al*. (2022) menunjukkan bahwa penggunaan *Effective Microorganism*-4 (EM4) dapat menurunkan kadar BOD sebesar 98,14% dan COD sebesar 85,81% pada limbah cair industri tahu dalam waktu inkubasi 21 hari. Hal ini terlihat bahwa lamanya waktu inkubasi memiliki pengaruh signifikan terhadap efektivitas pengolahan limbah cair.

3.4.2.1. Kurva Standar Protein

Analisis protein dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode Biuret. Prinsip metode ini adalah terbentuknya warna ungu sebagai hasil reaksi antara protein dengan reagen biuret, yang kemudian diukur serapan cahayanya. Dalam kondisi basa, protein berinteraksi dengan ion Cu2+ membentuk kompleks berwarna ungu, yang absorbansinya dapat diukur pada panjang gelombang 550 nm menggunakan spektrofotometer UV (Amir *et al*., 2021). Kurva kalibrasi larutan standar protein dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva kalibrasi larutan standar protein

Setelah diperoleh absorbansi larutan standar, data tersebut dibuat dalam bentuk kurva kalibrasi sehingga diperoleh persamaan linear $y = 0{,}019x + 0{,}071$ dengan nilai $R^2 = 0{,}9937$. Kurva standar BSA dibuat untuk mengukur konsentrasi protein dalam larutan. Kurva ini menghubungkan antara konsentrasi dengan nilai absorbansinya. Selanjutnya, kurva standar ini digunakan untuk menghitung konsentrasi sampel yang belum diketahui.

3.4.2.2. Hasil Uji Protein

Setelah diperoleh kurva kalibrasi dan persamaan linear larutan standar, dilakukan pengujian absorbansi terhadap protein pada limbah cair mi lethek, sehingga didapat kadar protein seperti yang terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Konsentrasi protein pada biodegradasi limbah cair mi lethek

Perlakuan	Kadar Awal (mg/L)	Protein (mg/L)	Efisiensi (%)
Kontrol		2,824[a]	12,02
A		2,421[b]	24,61
B	3,210	2,316[b]	27,79
C		1,965[c]	38,88
D		1,877[c]	41,55

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P<0{,}05$).

Sebagaimana yang terlihat pada Tabel 4, perlakuan A menghasilkan nilai 2,421 mg/L dengan efisiensi degradasi 24,61%. Perlakuan B menghasilkan nilai 2,316 mg/L dengan efisiensi degradasi 27,79%. Perlakuan C menghasilkan nilai 1,965 mg/L dengan efisiensi dengradasi 38,88%. Perlakuan D menghasilkan nilai 1,877 mg/L dengan efisiensi degradasi 41,55% dan kontrol memperoleh nilai 2,824 mg/L dengan efisiensi degradasi 12,02%.

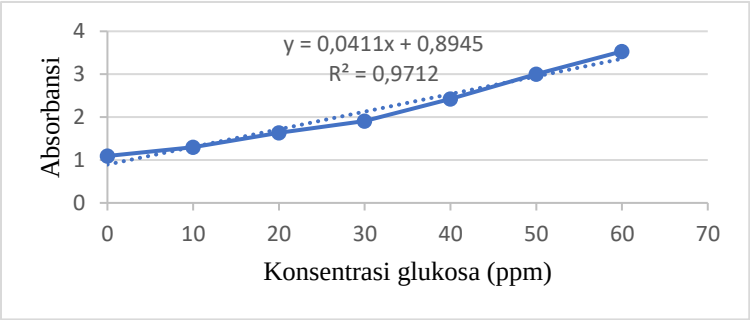
Hasil analisis ANOVA menunjukan adanya perbedaan signifikan dalam penurunan kadar protein pada semua perlakuan, yang ditunjukan oleh nilai $P<0{,}05$. Hasil dari uji lanjut Duncan menunjukan bahwa kontrol berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (A, B, C, dan D). Perlakuan A, dan B, menunjukkan efektivitas yang setara dalam menurunkan kadar protein. Sementara itu, perlakuan C dan D juga menunjukan hasil yang setara dalam penurunan kadar protein (Lampiran 15).

Dalam penelitian ini, penurunan kadar protein pada limbah cair mi lethek disebabkan karena bakteri amilolitik menggunakan protein sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan dan sintesis biomassa sel. Ketika bakteri mengurai amilum menjadi senyawa sederhana dan berfungsi sebagai sumber karbon dan energi mereka juga mengonsumsi protein yang terkandung dalam limbah untuk memenuhi kebutuhan nitrogen dalam proses metabolisme dan pembentukan sel baru (Purnawan *et al*., 2015).

3.4.3. Pengujian Karbohidrat

3.4.3.1. Kurva Standar Karbohidrat

Analisis karbohidrat dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode fenol-sulfat. Metode ini bertujuan untuk menghitung total glukosa, dimana fenol berperan dalam mendeteksi gula sederhana yang merupakan bagian dari karbohidrat. Penambahan sulfat pekat akan menghasilkan warna jingga kekuningan yang absorbansinya dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 485 nm (Amir *et al.*, 2021). Kurva kalibrasi larutan standar karbohidrat dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Kurva kalibrasi larutan standar karbohidrat

Setelah diperoleh absorbansi larutan standar, data tersebut dibuat dalam bentuk kurva kalibrasi sehingga diperoleh persamaan linear y = 0,0411x + 0,8945 dengan nilai R^2 = 0,9712. Pembuatan kurva standar bertujuan untuk memperoleh persamaan linear yang menghubungkan absorbansi dengan konsentrasi. Persamaan yang dihasilkan dari kurva standar kemudian digunakan untuk menghitung kadar dalam sampel.

3.4.3.2. Hasil Uji Karbohidrat

Setelah diperoleh kurva kalibrasi dan persamaan linear larutan standar, dilakukan pengujian absorbansi terhadap karbohidrat pada limbah cair mi lethek, sehingga didapat kadar karbohidrat seperti yang terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Konsentrasi karbohidrat pada biodegradasi limbah cair mi lethek

Perlakuan	Kadar Awal (mg/L)	Karbohidrat (mg/L)	Efisiensi (%)
Kontrol	48,07	34,067[a]	29,14
A		6,703[b]	86,06
B		6,843[b]	85,76
C		7,037[b]	85,36
D		4,620[c]	90,39

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05).

Seperti yang terlihat pada Tabel 5, hasil dari perhitungan kadar karbohidrat pada limbah cair mi lethek menunjukan perlakuan A menghasilkan nilai sebesar 6,703 mg/L dengan efisiensi degradasi 86,06%. Perlakuan B menghasilkan nilai 6,843 mg/L dengan efisiensi degradasi 85,76%. Perlakuan C menghasilkan nilai 7,037 mg/L dengan efisiensi degradasi 85,36%. Untuk perlakuan D menunjukan hasil terbaik yaitu 4,620 dengan efisiensi degradasi 90,39%. Sementara itu, kontrol hanya memperoleh nilai 34,067 mg/L dengan efisiensi degradasi 29,14%.

Hasil uji analisis ANOVA menunjukan adanya perbedaan signifikan dalam penurunan kadar karbohidrat pada semua perlakuan, yang ditunjukan oleh nilai P<0,05. Hasil dari uji lanjut Duncan menunjukan bahwa kontrol berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (A, B, C, dan D). Perlakuan A, B, dan C menunjukkan efektivitas yang setara dalam mendegradasi kadar karbohidrat. Sementara itu, perlakuan D yang menggunakan kombinasi semua isolat, menunjukan kemampuan terbaik dalam mendegradasi kadar karbohidrat dibandingkan perlakuan lainnya (Lampiran 15).

Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mengolah polutan organik dan mengubahnya menjadi karbon dioksida, air, dan energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan reproduksi. Penambahan inokulum dari campuran kultur bakteri dapat mempercepat proses dekomposisi, karena dekomposisi berlangsung lebih lama tanpa inokulum. Penggunaan semua isolat bakteri terbukti jauh lebih efektif. Hal ini disebabkan oleh adanya sinergis antara berbagai kemampuan degradasi dari masing-masing isolat bakteri yang saling melengkapi. Interaksi antara berbagai jenis mikroba memungkinkan penggunaan sumber nutrisi secara maksimal, di mana produk metabolisme dari satu mikroba dapat dimanfaatkan oleh mikroba lainnya. Keberadaan substrat yang mendukung memfasilitasi hubungan simbiosis ini, sehingga proses penguraian nutrisi dapat berlangsung dengan lebih efisien dan berkelanjutan (Fidiastuti *et al*., 2016).

Bakteri amilolitik berperan penting dalam proses degradasi karbohidrat kompleks, seperti amilum yang terdapat dalam limbah cair mi lethek. Melalui aktivitas enzim amilase yang dihasilkan, bakteri ini mampu mengubah amilum menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti glukosa (Hanzen *et al*., 2017). Salah satu faktor yang mempengaruhi proses penguraian adalah aerasi yang berlangsung selama proses fermentasi dalam *shaker*, di mana bakteri amilolitik memperoleh pasokan oksigen yang cukup. Kondisi ini mendukung bakteri untuk melakukan metabolisme, berkembang biak, dan produksi enzim amilase secara optimal. Enzim amilase yang dihasilkan menjadi lebih efisien dalam menghidrolisis pati yang terdapat dalam limbah cair mi lethek. Selain itu, proses degradasi karbohidrat oleh bakteri amilolitik juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lain, seperti pH, suhu, dan ketersediaan nutrisi (Widyawati *et al*., 2015).

4. Kesimpulan

Penambahan isolat bakteri amilolitik berperan efektif dalam menurunkan kadar COD, BOD, protein, dan karbohidrat pada limbah cair mi lethek dibandingkan tanpa penambahan inokulum. Perlakuan D yang melibatkan campuran seluruh isolat bakteri menunjukkan hasil terbaik pada seluruh parameter yang diuji. Namun, untuk parameter COD nilai yang diperoleh masih melebihi batas maksimum baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Gubernur DIY No. 7 Tahun 2016, sehingga perlunya waktu kontak yang lebih lama dan optimalisasi proses degradasi untuk mencapai baku mutu yang ditetapan.

5. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah menyediakan fasilitas untuk mendukung penelitian ini.

Daftar Pustaka

Abna, I. M., Fauzi, E., & Harizal, H. (2023). Pemanfaatan Limbah Batang Pohon Pisang Untuk Produksi Asam Laktat Secara Fermentasi Dengan Variasi Konsentrasi Inokulum *Lactobacillus Acidophilus*. *Journal Of Pharmacopolium*, *6*(1), 36–45.

Adlina, S., Rahmawati, L. R., Yuliana, A., Farmasi Stikes Bakti Tunas Husada, P., & Barat, J. (2021). Penggunaan Limbah Tahu Sebagai Nutrisi Subsitusi Pada Media Pertumbuhan Staphylococcus Aureus. *Journal Of Pharmacopolium*, *4*(2), 57–66.

Akinde, S. B., Deborah, A. O., & Janet Olubukola, O. (2019). Detection of Amylolytic Bacteria from Starch-Based Agro Wastes and Optimisation of Culture Conditions for Enhanced Production of Extracellular Amylase. *Nigeria Journal of Mikrobiology*, 33(1), 4344–4356.

Amir, M., Agustini, W. S., & Caesar, Q. F. (2019). Analisis Protein, Karbohidrat, Lemak, dan Pigmen

Fikobiliprotein Mikroalga Spirulina platensis yang Dikultivasi pada Media Limbah Cair Pembuatan Tempe. *Sainstech Farma*, *6*(2), 21–29.

Andika, B,, Wahyuningsih, P,, & Fajri, R, (2020), Penentuan Nilai BOD dan COD Sebagai Parameter Pencemaran Air dan Baku Mutu Air Limbah di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan, *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, *2*(1), 14–22,

Deffy, T., Nilandita, W., & Munfarida, I. (2020). Jurnal Presipitasi Bioremediasi Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan. *Jurnal Presipitasi*, *17*(3), 233–241.

Divya, M., S, Aanand., A, Srinivasan., & B, Ahilan. (2015). Bioremediation – An eco-friendly tool for effluent treatment: A Review. *International Journal of Appl Ied Research*, 1(12), 530– 537.

Fidiastuti., Rachman, H., Prasetyo., & Aji, N. (2016). Kajian Biodegradasi Secara *In Vitro* Menggunakan Bakteri Indigen Lipolitik. *Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek*, 341–346.

Haerun, R., Mallongi, A., Fajaruddin Natsir, M., Kesehatan Lingkungan, D., & Kesehatan Masyarakat, F. (2018). Efisiensi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu Menggunakan Biofilter Sistem Upflow Dengan Penambahan Efektif Mikroorganisme 4. *Jurnal Nasional Ilmu Kesehatan (Jnik) Lp2m Unhas*, *1*, 1–11.

Hanzen, W, F, E., Utami, S, H., Suparno, P, M., Putri, M. A. A dan Febriani, S. A. N. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Amilolitik dari Tanah yang Tercampur Limbah Kulit Ubi Kayu di Bondowoso, Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional III*, 259-262.

Jubaidah, S., Nurhasnawati, H., & Wijaya, H. (2016). Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (*Zea mays* L.) Dengan Kombinasi Kedelai (*Glycine max* (L.) Merill) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *2*(1), 111–119.

Laili, N. H., Abida, I. W., & Junaedi, A. S. (2022). Nilai Total Plate Count (TPC) dan Jumlah Jenis Bakteri Air Limbah Cucian Garam (Bittern) dari Tambak Garam Desa Banyuajuh Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil:Jurnal Ilmiah Kelautan dan Perikanan*, *3*(1), 26–31.

Lipinwati., Armaidi, D., Erni, K., & Maria, E. K. (2016). Uji Kualitas Air Minum Isi Ulang di Kota Jambi. *JMJ*, 4(2), 203-210.

Mumtaz, A. F. (2024). Analisis Mikrobiologis Total Cemaran Bakteri Coliform dan *Escherichia coli* Terhadap Kualitas Air di Tiga Depot Air Minum Isi Ulang Sekitar Kampus Satu Uin Malang. *Skripsi*, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Ningtyas, N., Nisa, R. M., & Mulyorini, R. (2023). Penapisan dan Karakterisasi Amilase dari Bakteri Asal Ekoenzim. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, *28*(3), 441–448.

Novanti, R., & Zulaika Enny. (2018). Pola Pertumbuhan Bakteri Ureolitik Pada Medium *Calcium Carbonat Precipitation* (CCP). *Jurnal Sains dan Seni* , *7*(2), 34–35.

Novitasari, D. T., Pujianto, W. P., Oktavianto, E. J., Diah, A., & Anindita, A. (2021). Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase Dari Sedimen Tambak Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei)*. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(2), 297-303.

Nurlatifa, R. T. (2023). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Amilolitik Asal Limbah Cair Industri Pengolahan Mi Lethek. *Skripsi*, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah: Yogyakarta.

Paramita, P., Shovitri, M., & Kuswytasari, N, D. (2012). Biodegradasi Limbah Organik Pasar dengan Menggunakan Mikroorganisme Alami Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, *1*(1), 23–26.

Purnawan, A., Capriyanti, Y., Kurniatin, P., Rahmani, N., & Yopi. (2015). Optimasi Produksi Enzim Amilase dari Bakteri Laut Jakarta (*Arthrobacter arilaitensis*). *Jurnal Biologi Indonesia*, *11*, 215–224.

Purkan, P., Sri, S., & Afaf, B. (2014). Eskplorasi Bakteri Kitinolitik Dari Sampah Organik: Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase. *Molekul*, 9(2), 128-135.

Putri, R. A., Nursyirwani., & Feliatra, F. (2021). Ability of Amilolytic Bacteria (*Bacillus paramycoides* and *Enterobacter cloacae*) In Degrading Organic Materials of Mangrove Little. *Asian Journal of*

Aquatic Sciences, *4*(2), 98–105.

Puspitasari, R, I. (2019). Perubahan Sifat Mikrobiologis dan Kimiawi Tepung Gaplek Selama Fermentasi Spontan Sebagai Bahan Baku Mi Lethek. *Skripsi*, Kementrian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, Universitas Jember.

Ramayanti, D., & Ulil, A. (2019). Analisis parameter COD (*Chemical Oxygen Demand*) dan pH (*potential Hydrogen*) limbah cair di PT. Pupuk Iskandar Muda (PT. PIM) Lhokseumawe. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan*, 1(1), 16–21.

Rosmania., Fitri, Y. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, *22*(2), 76- 86.

Sari, A. H., Marlina, E. T., & Hidayati, Y. A. (2024). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dan Total Asam Organik Ekoenzim Asal Filtrat Feses Sapi Potong dan Jerami Padi Pada Lama Fermentasi yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, *5*(1), 109–120.

Situmeang, Y. Ferdian., Sampe, H., & Eko, P. (2019). *The Effectiveness of Anaerob-Aerob Biofilters and Phytoremediation Using Pistia Stratiotes For Reducing TSS and Amoniak Content In Noodle Industry Liquid Waste*. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau, Pekanbaru.

Suprapto., Tri, G dan Basa, T. R. (2014). Aktivitas Enzim Amilase Isolat Bakteri Amilolitik Dari Tepung Sagu Basah dan Lingkungan Tempat Penyediaannya Secara Tradisional di Jayapura. *Jurnal Biologi Papua*, 6(2), 47-52.

Utomo, M. A. P., Sitoresmi, P., Mardiana, L., Aghits, L. R., Fika, C. L., Nadila, S. Z., & Nano, R. P. (2022). Perbandingan Kemampuan Effective Microorganisms (EM4) dan *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Cair Tahu pada Kondisi Aerob. *Jurnal Ilmu Hayat*, *6*(1), 42-52.

Waraneres, S. A., Budi, K., & Ahmad, T. Y. (2022). Bioremediation of Tofu Industry Liquid Waste Using Effective. *ASEAN Journal of System Engineering*, *6(1)*, 21–26.

Widyawati, Y, R., Putra Manuaba, I., & Dwi Adhi Suastuti, N. (2015). Efektivitas Lumpur Aktif Dalam Menurunkan Nilai BOD (*Biological Oxygen Demand*) dan COD (*Chemical Oxygen Demand*) Pada Limbah Cair UPT Lab, Analitik Universitas Udayana. *Jurnal Kimia*, *9*(1), 1–6.

Wulandari, D dan Desi, P. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik Pada Umbi *Colocasia esculenta* L. Secara Morfologi, Biokimia, dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2): 247-258.

Yunita, M., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R., Keteknikan, J., Fakultas, P., & Kunci, K. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood* ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, *3*(3), 237–248.

Zein, R., Zilfa, Syukrya, N., Lidya, N., Neneng, S., Mukhlis, & Heric, N. (2016). Treatment of Waste Water Noodle Industry With a Multi-Soil-Layering (MSL) System, *Research Journal of Pharmaceutical. Biological and Chemical Sciences*, *7*(6), 88–94.