

ISOLASI DAN PEMANFAATAN BAKTERI PROTEOLITIK UNTUK MEMPERBAIKI KUALITAS LIMBAH CAIR PENGOLAHAN BANDENG PRESTO
(Isolation and Utilization of Proteolytic Bacteria to Improve The Quality of Milkfish Presto Processing Wastewater)

Riky Paskandani, Ustadi dan Amir Husni*

Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora Gedung A4 Bulaksumur Yogyakarta 55281.

*Penulis korespondensi. Email: a-husni@ugm.ac.id.

Diterima: 12 September 2014

Disetujui: 2 Oktober 2014

Abstrak

Industri pengolahan ikan menghasilkan limbah dengan kadar protein tinggi. Penambahan bakteri proteolitik diharapkan dapat membantu mendegradasi limbah berprotein tinggi. Pada penelitian ini, isolasi bakteri proteolitik dilakukan untuk mendapatkan isolat dengan aktivitas proteolitik tinggi. Isolat terbaik diuji kemampuan hidup dan aktivitasnya pada berbagai konsentrasi NaCl dan pH. Kemampuan isolat meningkatkan kualitas limbah juga diuji pada limbah pengolahan bandeng presto. Hasil penelitian diperoleh 36 isolat bakteri proteolitik dari limbah cair pencucian ikan Pasar Kranggan Yogyakarta. Dari ke-36 isolat tersebut, isolat D61 merupakan isolat dengan aktivitas proteolitik tertinggi dengan zone diameter 20,5 mm. Isolat tersebut mampu hidup pada NaCl 0-10% dan kisaran pH 5-10, namun aktivitas proteolitik tertingginya pada NaCl 0-2% dan kisaran pH 7-8 dan pH 10. Berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimianya, isolate D61 memiliki kemiripan 93,93% dengan *Bacillus soli*. Hasil ujicoba pada limbah cair pengolahan bandeng presto ternyata isolat D61 tidak mampu memperbaiki kualitas limbah tersebut.

Kata kunci: *Bacillus soli*, bakteri proteolitik, bandeng presto, limbah cair, pengolahan limbah.

Abstract

*In this research, isolation of proteolytic bacteria was performed to obtain isolates with high proteolytic activity based on their ability to degrade the protein. The best isolate was examined for their growth ability and proteolytic activity in different concentrations of NaCl and degree of acidity (pH). Furthermore, the isolate ability to improve wastewater quality was observed in milkfish presto processing wastewater. Thirty-six proteolytic bacteria were isolated from fish washing wastewater of Kranggan Market, Yogyakarta. Isolate D61 has the highest proteolytic activity with activity about 20,5 mm. Isolate D61 was able to grow at a concentration of 0-10% NaCl with the highest proteolytic activity at the concentration of 0-2% NaCl. Isolate D61 was also able to live at pH 5-10 with the highest proteolytic activity at pH 7-8 and pH 10. Based on morphology and biochemical characteristics, D61 has 93.93% similarity with *Bacillus soli*. However, isolate D61 was not able to improve the quality of milkfish presto processing wastewater.*

Keywords : *Bacillus soli*, milkfish presto, Proteolytic bacteria, wastewater, water treatment.

PENDAHULUAN

Industri pengolahan bandeng presto merupakan industri pengolahan ikan yang cukup berkembang di Daerah Istimewa Yogyakarta. Industri ini menghasilkan limbah cair yang berasal dari pencucian ikan dan perebusan bandeng. Limbah pengolahan bandeng ini mengandung protein yang cukup tinggi. Limbah pengolahan bandeng saat ini hanya dibuang begitu saja ke lingkungan. Upaya penanganan limbah cair yang masih minim ini perlu mendapatkan perhatian agar tidak mencemari lingkungan.

Penambahan kultur spesifik yang memiliki kemampuan fisiologis maupun metabolik untuk

mendegradasi (bioaugmentasi) mampu memperbaiki kualitas limbah (Boopathy, 2000). Bioaugmentasi bakteri proteolitik dengan aktivitas tinggi diketahui lebih efektif mendegradasi limbah berprotein tinggi pada sistem pengolahan limbah (Loperena dkk., 2007; Loperena dkk., 2009). Bakteri proteolitik untuk penanganan limbah dapat ditemukan di berbagai sumber di antaranya lumpur aktif penanganan limbah makanan, limbah cair dan lumpur aktif penanganan limbah cair industri ternak, *aerobic lagoon* dari penanganan limbah cair industri ternak, penanganan limbah cair pengolahan ayam, dan saluran pembuangan limbah pengalangan ikan (Fong dan Tan, 2000; Loperena

dkk., 2007; Loperena dkk., 2009; Tarntip dan Sirichom, 2011; Urano dkk., 2002).

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan isolasi bakteri proteolitik dari limbah pencucian ikan dari saluran pembuangan di Pasar Kranggan, Yogyakarta. Melalui penelitian ini diharapkan mendapat bakteri dengan aktivitas proteolitik yang tinggi, mampu hidup pada rentang pH dan kadar NaCl yang luas, dan mampu mendegradasi limbah pengolahan ikan.

METODE PENELITIAN

Isolasi Bakteri Proteolitik

Limbah cair hasil pencucian ikan diambil dari saluran pembuangan Pasar Kranggan. Limbah yang diambil berupa lapisan biofilm. Isolasi bakteri proteolitik dilakukan pada medium *skim milk agar* (SMA). Medium kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Bakteri proteolitik ditandai dengan pembentukan zona bening di sekeliling koloni bakteri yang tumbuh.

Uji Aktivitas Proteolitik

Uji aktivitas proteolitik dilakukan pada medium SMA. Isolat diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30 °C. Aktivitas proteolitik ditentukan dari ukuran zona jernih yang terbentuk dari aktivitas degradasi kasein pada susu skim. Aktivitas pembentukan zona bening dihitung dari selisih diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri (Isnansetyo dan Kamei, 2009).

Uji Pengaruh Kadar NaCl dan Derajat Keasaman pada Aktivitas Proteolitik

Pengaruh kadar pH pada aktivitas proteolitik dilakukan dengan menanam isolat pada medium SMA dua lapis (SMADL) (Sizemore dan Stevenson, 1970). Lapis pertama mengandung SMA. Lapis kedua mengandung agar 1,5% yang dilarutkan dalam air yang telah diubah pH-nya menjadi 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 menggunakan 1 N HCl dan 1 N NaOH.

Pengaruh NaCl pada aktivitas proteolitik dilakukan menggunakan metode yang sama namun menggunakan lapisan kedua yang berbeda. Lapis kedua mengandung agar 1,5% yang ditambah berbagai variasi kadar NaCl, yaitu 0 %, 2 %, 4%, 6%, 8%, dan 10% yang dilarutkan menggunakan akuades dengan pH optimum pada pengujian sebelumnya (Kim dkk., 2010).

Identifikasi Isolat

Identifikasi isolat dilakukan berdasarkan karakteristik morfologi dan biokimia. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan sifat morfologi

dan biokimia yang didapat dengan sifat bakteri pada literatur (De Vos dkk., 2009).

Uji Biodegradasi Limbah

Uji biodegradasi limbah dilakukan menggunakan limbah perebusan bandeng. Limbah diambil dari industri rumah tangga pengolahan bandeng presto di Ganchan 7, Sidomulyo, Godean, Sleman. Limbah cair diencerkan menjadi COD~4000 ppm. Nilai COD~4000 ppm merupakan beban organik optimal untuk pertumbuhan bakteri starter (Tarntip dan Sirichom, 2011). Derajat keasaman limbah diatur pada pH optimum sesuai hasil pengujian pH optimum aktivitas proteolitik pada pengujian sebelumnya.

Inokulum dibuat menggunakan medium limbah steril. Medium limbah disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Isolat terpilih diinokulasikan dari medium TSA miring sebanyak 1 ose ke medium limbah steril. Inokulum diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu inkubasi 30 °C dan kecepatan putaran 100 rpm.

Uji biodegradasi limbah dilakukan dengan membandingkan antara dengan penambahan isolat dan tanpa penambahan isolat. Uji dilakukan dengan tiga ulangan. Uji biodegradasi dilakukan menggunakan limbah tanpa disterilisasi. Limbah sebanyak 100 mL ditempatkan dalam erlenmeyer 250 mL. Isolat bakteri sebanyak 1×10^6 cfu/mL diinokulasikan pada limbah. Uji dilakukan pada *waterbath shaker* dengan suhu inkubasi 30 °C dan kecepatan 100 rpm selama 48 jam (Loperena dkk., 2009).

Sampling dilakukan pada saat sebelum inokulasi dan setelah inkubasi 48 jam. Sampel limbah di *sentrifuge* pada 9400 x g selama 15 menit. Supernatan diambil untuk diuji konsentrasi protein terlarut COD, BOD, dan pH awal dan akhir (Loperena dkk., 2009). Metode uji yang digunakan antara lain yaitu protein terlarut : Folin Phenol Reagen (Lowry dkk., 1951), COD : *Section 5220-C* (Anonim, 2005), BOD : *section 5210-B, section 4500-OG* (Anonim, 2005), dan pH : SNI 06-6989.11-2004 (Anonim, 2004). Jumlah bakteri awal dan akhir juga diamati dari limbah tanpa di *sentrifuge* menggunakan angka lempeng total metode SNI No. 01-2332.3.2006 (Anonim, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Zona jernih dihasilkan oleh 36 isolat bakteri. Aktivitas proteolitik tertinggi diperoleh dari isolat D61 dengan aktivitas proteolitik sebesar 20,5 mm (Tabel 1). Aktivitas proteolitik ini lebih rendah jika dibandingkan dengan aktivitas proteolitik pada isolat *Bacillus* TN69 yang memiliki aktivitas proteolitik sebesar 22,67 mm pada penelitian

Dajanta dkk. (2009). Menurut Muchtadi dan Betty (1983), kemampuan mikroba untuk menguraikan protein (*proteolytic ability*) berbeda antara satu spesies dengan spesies lainnya. Setiap mikroba menghasilkan enzim yang berbeda sehingga aktivitas yang dihasilkan juga berbeda.

Isolat D61 mampu hidup pada semua kondisi derajat keasaman tetapi mengalami perubahan aktivitas proteolitik pada rentang pH tertentu. Aktivitas proteolitik tertinggi terdapat pada perlakuan derajat keasaman 7, 8, dan 10 (Gambar 1). Penurunan aktivitas proteolitik diduga disebabkan oleh penurunan aktivitas enzim (ukuran koloni bakteri yang relatif sama). Nelson dan Cox (2004) menyatakan aktivitas enzim akan menurun jika enzim ditempatkan pada lingkungan di bawah atau di atas pH optimumnya.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas proteolitik pada medium *skim milk agar* pH 7, dengan suhu inkubasi 30 °C selama 48 jam.

No.	Kode isolat	Aktivitas proteolitik (mm)
1	A51	13,5
2	A61	14,5
3	B51	13,0
4	B52	14,0
5	B53	12,0
6	B54	15,5
7	B61	14,0
8	B62	16,5
9	B63	16,5
10	B64	15,0
11	B641	19,0
12	B642	13,5
13	B65	16,0
14	B66	17,0
15	C52	18,0
16	D51	13,5
17	D51	17,5
18	D52	14,0
19	D53	17,5
20	D55	17,5
21	D56	17,5
22	D57	18,0
23	D61*	20,5
24	D62	15,5
25	D63	20,0
26	D64	14,5
27	D65	16,5
28	E51	16,5
29	E52	17,0
30	E53	17,5
31	E61	13,0
32	E62	17,5
33	E63	17,0
34	E651	16,0
35	E66	16,0
36	E67	13,5

Keterangan :

* : isolat dengan aktivitas proteolitik tertinggi

Aktivitas proteolitik optimum isolat D61 dihasilkan pada dua titik pH, yaitu pada pH 7-8 dan pH 10. Hal ini mungkin terjadi karena isolat D61 menghasilkan enzim yang berbeda pada pH 7-8 dan pH 10. Menurut St Leger dkk. (1998), pH lingkungan sangat berpengaruh terhadap produksi enzim. Enzim tertentu hanya diproduksi pada pH dimana enzim tersebut dapat berfungsi efektif.

Tabel 2. Perbedaan karakteristik antara isolat D61 dan bakteri dengan kemiripan fenotip terdekat.

Karakteristik	Isolat D61	<i>Bacillus soli</i>	<i>Bacillus novelis</i>
Warna koloni	Putih/ Creamy	Putih/ Creamy	Putih/ Creamy
Gram	+	+	+
Bentuk sel	Basil	<i>Basil</i>	<i>Basil</i>
Pembentukan spora	+	+	+
Motilitas	+	+	+
Pembentukan indol	-	-	-
Dekarboksilasi ornitin	-	-	-
Hidrolisis gelatin	+	+	+
Hidrolisis kasein	+	+	+
Penggunaan sitrat	-	-	-
Dekarboksilasi lisin	-	-	-
Pembentukan H ₂ S	-	-	-
VP	+	-	-
Reduksi nitrat	+	+	+
Pertumbuhan anaerob	+	+	+
Asam dari karbohidrat			
- Glukosa	+	w	+
- Manitol	-	-	v
- Laktosa	+	+	-
- Pati	-	-	w
- L-Xylose	-	-	-
- Ramnose	+	w	+
- Trehalose	-	-	-
Tumbuh pada pH			
- 5	+	+	+
- 6	+	+	+
- 7	+	+	+
- 8	+	+	+
- 9	+	+	+
- 10	+	-	+
Membutuhkan NaCl	-	-	-
Tumbuh pada suhu			
- 30 °C	+	+	+
- 40 °C	+	+	+
- 50 °C	-	-	+
Kemiripan		93,93%	87,87%

Keterangan :

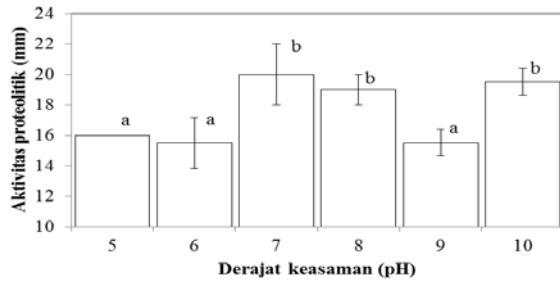
+

w : reaksi positif > 85%

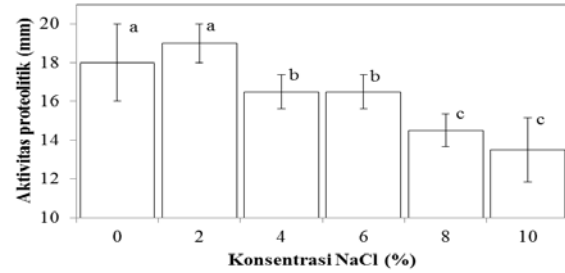
v : reaksi lemah

- : bervariasi antar strain

- : reaksi positif 0-15%



Gambar 1. Aktivitas proteolitik isolat D61 pada berbagai derajat keasaman dengan suhu inkubasi 30 °C selama 48 jam.



Gambar 2. Aktivitas proteolitik isolat D61 pada berbagai konsentrasi NaCl, pH 7, dan suhu inkubasi 30 °C selama 48 jam.

Tabel 3. Perubahan parameter limbah pengolahan bandeng presto setelah diinkubasi pada suhu 30 °C, kecepatan putaran 100 rpm, selama 48 jam.

Perlakuan	Parameter limbah (%)				
	pH*	Protein terlarut*	COD*	BOD ₅ *	Log TPC**
Tanpa penambahan <i>B. soli</i>	0,95±0,67	63,58±3,17	50,00±0,00	49,11±1,26	75,78 ± 17,97
Penambahan <i>B. soli</i>	0,46±1,76	61,12±3,14	47,62±3,37	46,41±5,08	68,98 ± 6,05

Keterangan : Semua parameter menunjukkan tidak beda nyata pada $\alpha_{0,05}$.

* : Persentase parameter mengalami penurunan setelah diinkubasi 48 jam

** : Persentase parameter mengalami kenaikan setelah diinkubasi 48 jam

Aktivitas proteolitik tertinggi perlakuan berbagai variasi kadar garam (NaCl) terjadi pada kadar garam 0% dan 2% (berbeda signifikan dengan NaCl 4-10% pada tingkat kepercayaan 95%) (Gambar 2). Penurunan aktivitas proteolitik isolat D61 diduga karena penurunan jumlah bakteri yang mampu hidup ketika kadar NaCl ditingkatkan karena ukuran koloni bakteri yang relatif lebih kecil pada kadar NaCl yang lebih besar. Menurut Gardini dkk. (2001), peningkatan kadar NaCl berefek negatif pada jumlah sel bakteri yang berkurang dan atau terjadinya gangguan membran sel mikroba. Penggunaan *B. soli* masih cukup relevan untuk digunakan dalam penanganan limbah pengolahan ikan karena kadar ion klorida dalam limbah pengolahan ikan umumnya tertinggi hanya mencapai 8000 ppm (0,8%) (Chowdhury dkk., 2010).

Berdasarkan hasil perbandingan karakteristik morfologi dan biokimia, isolat D61 memiliki kemiripan fenotip tertinggi dengan *B. soli* sebesar 93,93% (Tabel 2). *B. soli* merupakan bakteri Gram positif, bersifat fakultatif anaerob, motil, berbentuk batang (diameter antara 0,6-1,2 μm), terkadang bengkok, terlihat dalam sel tunggal, berpasangan, dan atau membentuk rantai. Endospora diproduksi dan berbentuk *ellipsoidal*, terletak di paracentral, dan dapat menggembungkan sporangia. Koloni pada medium TSA berbentuk *butyrous*, berwarna cream, elevasi *low* dan agak *umbonate*, tepian *entire*, dan tekstur permukaan *glossy* atau seperti cangkang telur. Suhu tumbuh optimum pada 30 °C dan suhu maksimum pertumbuhan antara 40-45 °C. Derajat keasaman minimum untuk tumbuh di antara

4-5 dengan pH optimum pada kisaran 7-8, dan maksimum pada pH 9-9,5. *B. soli* diisolasi dari tanah *Drentse a agricultural research area*, Belanda (Heyrman dkk., 2004).

Penelitian ini menggunakan bakteri starter yang dipanen pada fase eksponensial. Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) fase eksponensial atau logaritmik ditandai oleh kecepatan pembelahan maksimum yang konstan. Kecepatan pembelahan diri sepanjang fase log bersifat spesifik untuk tiap jenis bakteri dan tergantung lingkungan. Menurut Xia dan Wu (2012) inokulum dari pertengahan fase eksponensial diketahui mampu beradaptasi lebih cepat dan menghasilkan fase adaptasi yang lebih pendek di medium baru. Penggunaan limbah cair steril juga diharapkan agar enzim yang sesuai telah dibentuk untuk mendegradasi limbah yang sebenarnya. Menurut Watanabe dkk. (2000), pengenalan substrat pada saat pembuatan inokulan mampu meningkatkan kemampuan bertahan hidup inokulan setelah inokulasi.

Penambahan isolat pada limbah pengolahan bandeng tidak memberikan pengaruh yang nyata dibandingkan dengan tanpa penambahan isolat *B. soli* pada semua parameter (Tabel 3). Tidak terdapat data yang cukup untuk memastikan apakah *B. soli* ikut berperan dalam proses perbaikan kualitas limbah cair bandeng presto. Yu dan Mohn (2002) mensyaratkan mikroorganisme yang digunakan untuk bioaugmentasi selain dapat mendegradasi target polutan, mikroorganisme tersebut juga harus kompetitif dan mampu bertahan setelah inokulasi, kompatibel dengan komunitas mikroba lokal, melengkapi dan atau bersinergi

dengan komunitas mikroba dalam mendegradasi bahan spesifik pada limbah tersebut. Diduga *B. soli* tidak mampu memenuhi syarat-syarat tersebut sehingga tidak terjadi peningkatan perbaikan kualitas limbah pengolahan bandeng presto.

Derajat keasaman limbah bukan merupakan kontaminan dalam limbah tetapi menjadi parameter karakter limbah yang penting karena dapat menunjukkan kontaminasi perlunya koreksi sebelum penanganan limbah dilakukan (Gonzalez, 1996). Derajat keasaman limbah pada uji biodegradasi relatif tidak mengalami perubahan signifikan pada pH 7. Menurut Mohan dkk. (2008), *Bacillus* spp. menghasilkan protease dan lipase selama penanganan limbah pada pH netral. Gonzalez (1996) menjelaskan bahwa pH limbah industri pengolahan ikan jarang bersifat asam dan biasanya mendekati 7 atau alkalis. Nilai ini umumnya disebabkan oleh dekomposisi protein dan emisi senyawa amonia. Derajat keasaman ini sangat mendukung aktivitas proteolitik dari isolat *B. soli*. Tetapi pH limbah yang sesuai tidak cukup mampu untuk menurunkan jumlah protein lebih baik dibandingkan tanpa penambahan isolat *B. soli*.

Kandungan protein dalam limbah cair dapat mencapai 6 persen dari total limbah cair yang dihasilkan (Carawan, 1991). Penggunaan bakteri proteolitik dapat menurunkan kandungan protein dalam limbah. Penurunan kadar protein terlarut dengan penambahan isolat *B. soli* tidak berbeda nyata dengan tanpa penambahan *B. soli*. Hal ini terjadi diduga karena adanya bakteri lain pada limbah yang memiliki aktivitas proteolitik yang sama dengan *B. soli* sehingga terjadi kompetisi penggunaan protein. Menurut Prescott dkk. (2002), kompetisi meningkat ketika mikroorganisme yang berbeda dalam satu komunitas menggunakan sumber daya yang sama. Kompetisi ini menyebabkan salah satu mikroba tereliminasi dari komunitas tersebut.

Penambahan isolat *B. soli* tidak membuat penurunan bahan organik (BOD₅ dan COD) dalam limbah pengolahan bandeng menjadi lebih baik (tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%). Penggunaan isolat *B. soli* hanya didasarkan pada kemampuannya mendegradasi protein. Diketahui *B. soli* memiliki keterbatasan dalam penggunaan asam amino hasil hidrolisis protein. Menurut Heyrman dkk. (2004), *B. soli* menghasilkan hasil negatif pada uji *arginine dihidrolase*, *lysine decarboxylase*, *ornithine decarboxylase*, *hydrogen sulfide production*, *tryptophan deaminase*, dan produksi indol. Hal ini menunjukkan bahwa *B. soli* tidak dapat menggunakan asam amino arginin, lisin, ornitin, sistein, methionin, dan triptofan sebagai nutrisinya.

Peningkatan logaritmik jumlah bakteri sebesar $68,98 \pm 6,05\%$ (tanpa penambahan sebesar $75,78 \pm 17,97\%$). Terjadi peningkatan jumlah populasi bakteri pada perlakuan tanpa penambahan *B. soli*. Hal ini terjadi karena limbah pada uji biodegradasi tidak disterilisasi, sehingga ada bakteri yang tumbuh pada limbah tersebut. Jumlah bakteri awal pada perlakuan penambahan isolat *B. soli* yang lebih besar (1×10^6 cfu/mL) dibandingkan tanpa penambahan isolat *B. soli* ($1,5 \times 10^5$ cfu/mL) tidak cukup untuk memperbaiki kualitas limbah. Hal-hal yang diduga menyebabkan tidak efektifnya perbaikan kualitas limbah oleh *B. soli* yaitu adanya kompetisi *B. soli* dengan mikroba lokal yang telah ada pada limbah, minimnya penggunaan asam amino hasil hidrolisis protein oleh *B. soli*, dan kurang berperannya *B. soli* dalam mendegradasi bahan organik pada limbah.

KESIMPULAN

Bakteri proteolitik yang berhasil diisolasi dari limbah cair pencucian ikan yang berasal dari saluran pembuangan bagian penjualan ikan Pasar Kraggan, Yogyakarta terdapat 36 jenis. Aktivitas proteolitik tertinggi didapat dari isolat D61 yang mampu hidup pada rentang pH uji 5 hingga 10 dan kadar NaCl 0-10%. Aktivitas proteolitik isolat D61 dipengaruhi oleh derajat keasaman (pH) dan kadar NaCl. Isolat D61 teridentifikasi sebagai bakteri *Bacillus soli* dengan kemiripan fenotip sebesar 93,93%. Dalam uji biodegradasi, isolat *B. soli* ternyata tidak mampu memperbaiki kualitas limbah pengolahan bandeng presto yang diinkubasi selama 48 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas pendanaan oleh Subdirektorat Peningkatan Pertumbuhan Kepemimpinan Berkualitas (PPKB), Universitas Gadjah Mada. Penulis juga mengucapkan terima kasih pada staf dari industri pengolahan bandeng presto atas sampel limbahnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2004. *SNI No. 06-6989.11-2004: Air dan Air Limbah - Bagian 11 - Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dengan Menggunakan Alat pH Meter*. Badan Standarisasi Nasional (BSN). Jakarta.
- Anonim, 2005. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. 21th edition. American Public Health Association. New York. p. 1368

- Anonim, 2006. *SNI No. 01-2332.3.2006: Cara Uji Mikrobiologi-Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standarisasi Nasional (BSN). Jakarta.
- Boopathy, R., 2000. Review Paper: Factor Limiting Bioremediation Technologies. *Biores. Technol.* 75:63-67.
- Carawan, R.E., 1991. Processing Plant Waste Management Guidelines for Aquatic Fishery Products. Food and the Environment. Website : <http://www.p2pays.org/ref/02/01796.pdf>. Diakses pada 30 September 2012.
- Chowdhury, P., Viraraghavan, T., dan Srinivasan, A., 2010. Biological Treatment Processes for Fish Processing Wastewater – A Review. *Biores. Technol.* 101:439-449.
- Dajanta, K., Wongkham, S., Thirach, P., Baophoeng, P., Apichartsrangkoon, A., Santithum, P., dan Chukeatirote, E., 2009. Comparative Study of Proteolytic Activity of Protease-Producing Bacteria Isolated from Thua nao. Maejo. *Int. J. Sci. & Technol.* 3(02):269-276.
- De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H., dan Whitman, W.B., 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Ed.. Vol. 3 : Firmicutes. Springer. Washington DC.
- Fong, K.P.Y., dan Tan, H.M., 2000. Isolation of a Microbial Consortium from Activated Sludge for the Biological Treatment of Food Waste. *World J. Microb. & Biotechnol.* 16:441-443.
- Gardini, F., Martuscelli, M., Caruso, M.C., Galgano, F., Crudele, M.A., Favati, F., Guerzoni, M.E., dan Suzzi, G., 2001. Effects of pH, Temperature and NaCl Concentration on the Growth Kinetics, Proteolytic Activity and Biogenic Amine Production of *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microb.* 64:105-117.
- Gonzalez, J.F., 1996. *Wastewater Treatment in the Fishery Industry*. FAO Fisheries Technical Paper – 355. Food and Agriculture Organization. Amerika.
- Heyrman, J., Vanparys, B., Logan, N.A., Balcaen, A., Rodriguez-Diaz, M., Felske, A., dan De Vos, P., 2004. *Bacillus novalis* sp. nov., *Bacillus vireti* sp. nov., *Bacillus soli* sp. nov., *Bacillus bataviensis* sp. nov. and *Bacillus drentensis* sp. nov., from the Drentse A Grasslands. *Int. J. Systematic & Evolutionary Microb.* 54:47-57.
- Isnansetyo, A., dan Kamei, Y., 2009. Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Activity of MC21-B, an Antibacterial Compound Produced by the Marine Bacterium *Pseudoalteromonas phenolica* O-BC30T. *Int. J. Antimicrobial Agents* 34(2):131-135.
- Kim, J.K., Dao, V.T., Kong, I.S., dan Lee, H.H., 2010. Identification and Characterization of Microorganisms from Earthworm Viscera for the Conversion of Fish Wastes into Liquid Fertilizer. *Biores. Technol.* 101:5131-5136.
- Loperena, L., Ferrari, M.D., Saravia, V., Murro, D., Lima, C., Ferrando, L., Fernández, A., dan Lareo, C., 2007. Performance of a Commercial Inoculum for the Aerobic Biodegradation of a High Fat Content Dairy Wastewater. *Biores. Technol.* 98:1045–1051.
- Loperena, L., Ferrari, M.D., Diaz, A.L., Ingold, G., Perez, L.V., Carvallo, F., Travers, D., Menes, R.J., dan Lareo, C., 2009. Isolation and Selection of Native Microorganisms for the Aerobic Treatment of Simulated Dairy Wastewater. *Biores. Technol.* 100:1762-1766.
- Mohan, T.S., Polavedam, A., dan Immanuel, G., 2008. Isolation and Characterization of Lipase-producing *Bacillus* strains from Oil Mill Waste. *Afr. J. Biotechnol.* 15:2728-2735.
- Muchtadi, D. dan Betty, S.L., 1983. *Petunjuk Praktek Mikrobiologi Hasil Perikanan 2*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Nelson, D.L., dan Cox, M.M., 2004. *Lehninger's Principles of Biochemistry*, 4th Edition. W. H. Freeman and Company, New York.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., dan Klein, D.A., 2002. *Microbiology*. 5th Edition. McGraw-Hill. London.
- Schlegel, H.G. dan Schmidt, K., 1994. *Mikrobiologi Umum*. Edisi keenam. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sizemore, R.K., dan Stevenson, L.H. 1970. Method for the Isolation of Proteolytic Marine Bacteria. *Appl. Microb.* 20(6):991-992.
- St Leger, R.J., Joshi, L., dan Roberts, D., 1998. Ambient pH is a Major Determinant in the Expression of Cuticle-degrading Enzymes and Hydrophobin by *Metarhizium nisopliae*. *Appl. & Env. Microb.* 64:709-713.
- Tarntip, R., dan Sirichom, T., 2011. Isolation of Proteolytic, Lipolytic, and Bioemulsifying Bacteria for Improvement of the Aerobic Treatment of Poultry Processing Wastewater. *Afr. J. Microb. Res.* 5(30):5493-5497.
- Urano, N., Sasaki, E., Ueno, R., Namba, H., dan Shida, Y., 2002. Bioremediation of Fish Cannery Wastewater with Yeast Isolated from a Drainage Canal. *Marine Biotechnol.* 4:559-564.
- Watanabe, K., Miyashita, M., dan Harayamam, S., 2000. Starvation Improves Survival of Bacteria

- Introduced into Activated Sludge. *Appl. & Env. Microb.* 66(9):3905-3910.
- Xia, Z., dan Wu, S., 2012. Cell Number as an Important Variable in Optimising Inoculum Age and Size in Yeast Cultivation. *Afr. J. Biotechnol.* 11(4):919-922.
- Yu, Z., dan Mohn, W.W., 2002. Bioaugmentation with Resin Acid-degrading Bacterium *Zoolea resiniphila* DhA-35 to Counteract pH Stress in an Aerated Lagoon Treating Pulp and Paper Mill Effluent. *Water Resource* 36:2793-2801.