

BIOREMEDIASI LIMBAH TAMBAK UDANG
MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI LIPOLITIK

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Mencapai Derajat Sarjana S-1



Oleh:

Dita Ayu Juniananta

17106030039

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

2021

**SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Persetujuan Skripsi / Tugas Akhir

Lamp :-

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Dita Ayu Juniananta

NIM : 17106030039

Judul Skripsi : Bioremediasi Limbah Tambak Udang Menggunakan Isolat Bakteri Lipopolitik

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Kimia.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqasyahkan. Atas perhatiannya kami ucapan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 21 Juli 2021

Pembimbing

Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si.

NIP. 19760830 200312 2 001



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : NOTA DINAS KONSULTASI SKRIPSI

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

Di Yogyakarta

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk, dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku konsultan berpendapat bahwa skripsi saudara:

Nama : Dita Ayu Juniananta

NIM : 17106030039

Judul Skripsi : Bioremediasi Limbah Tambak Udang Menggunakan Isolat Bakteri Lipopolitik

sudah dapat mengajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Strata Satu dalam Bidang Kimia.

Yogyakarta, 19 Agustus 2021

Konsultan,

Dr. Arifah Khushuryani, S.Si., M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 001



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : NOTA DINAS KONSULTASI SKRIPSI

Lamp :-

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
Di Yogyakarta

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk, dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku konsultan berpendapat bahwa skripsi saudara:

Nama : Dita Ayu Juniananta

NIM : 17106030039

Judul Skripsi : Bioremediasi Limbah Tambak Udang Menggunakan Isolat Bakteri Lipolitik

sudah dapat mengajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Strata Satu dalam Bidang Kimia.

Yogyakarta, 19 Agustus 2021

Konsultan,


Karmanto, S.Si., M.Sc.
NIP.19820504 200912 1 005

SURAT KETERANGAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dita Ayu Juniananta

NIM : 17106030039

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**Bioremediasi Limbah Tambak Udang Menggunakan Isolat Bakteri Lipolitik**" merupakan hasil penelitian saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya, tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 21 Juli 2021

Penulis,


Dita Ayu Juniananta
17106030039





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1532/Un.02/DST/PP.00.9/08/2021

Tugas Akhir dengan judul : BIOREMEDIASI LIMBAH TAMBAK UDANG MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI LIPOLITIK

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : DITA AYU JUNIANANTA
Nomor Induk Mahasiswa : 17106030039
Telah diujikan pada : Rabu, 04 Agustus 2021
Nilai ujian Tugas Akhir : A

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Ketua Sidang

Dr. Esti Wahyu Widowati, M.Si
SIGNED

Valid ID: 611e02f2c25d2



Penguji I

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED

Valid ID: 611d775308e41



Penguji II

Karmanto, S.Si., M.Sc.
SIGNED

Valid ID: 611df09cc3b39



Yogyakarta, 04 Agustus 2021

UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

Valid ID: 611f623d4cf5

MOTTO

“Berhenti berenang di kolam yang tidak ada airnya. Itu hanya membuat hatimu terasa kosong dan juga sia-sia. Kelilingi dirimu dengan orang-orang positif, yang memahamimu dan percaya dengan kekuatanmu.”

-Dita Ayu Juniananta-



HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk Almamater UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta,
keluarga tercinta terutama ibuk dan kakak, serta almarhum papah.



KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah, dan inayah-Nya yang telah memberikan pertolongan dan kemudahan bagi setiap hamba-Nya, sehingga memperkenankan penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Bioremediasi Limbah Tambak Udang Menggunakan Isolat Bakteri Lipopolitik” sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si). Sholawat dan salam semoga tercurah kepada baginda Rasul Muhammada SAW, lentera hati yang tidak mudah padam, menerangi jalan kehidupan menuju tempat kembali, diharapkan Allah SWT yang maha suci beserta para sahabat, keluarga, dan seluruh kaum muslim yang mengikuti-Nya hingga akhir zaman.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari semua pihak yang telah memberikan bimbingan, bantuan, saran, dan nasihat. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Phil. Al Makin, S.Ag., M.A. selaku Rektor UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Dr. Khurul Wardati, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi dan Dr. Imelda Fajriati, M.Si selaku Ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
3. Dr. rer.medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech. selaku dosen pembimbing skripsi yang senantiasa dengan kesabarannya telah memberikan bimbingan dan arahannya dari mulai penelitian sampai menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan baik.

4. Bapak Endaruji Setiadi, M.Si selaku dosen pembimbing akademik bimbingan selama masa studi.
5. Bapak dan Ibu dosen Program Studi Kimia yang telah memberikan ilmunya.
6. Dr. Isma Kurniatanty, S.Si., M.Si. selaku Kepala Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta atas perizinannya untuk melakukan penelitian.
7. Ibu Ethik Susiawati Purnomo, S.Si., Ibu Anif Yuni Muallifah, S.Pd.I, Bapak Dony Eko Saputro, S.Pd.I., dan Bapak Sutriyono, S.Si., selaku PLP di Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta atas bantuan dan arahannya selama penelitian.
8. Semua pihak BBTKLPP Yogyakarta atas bantuannya dalam menganalisis sampel uji penelitian.
9. Ibu, kakak, serta seluruh keluarga atas dukungan dan kasih sayangnya.
10. Teman-teman penelitian di Laboratorium Biologi Citra Nandy, Hanifah Aryani, dan Amir atas kerjasama, kepeduliannya, dan bantuannya selama penelitian berlangsung.
11. Teman-teman satu tema penelitian Amalia Ginanti, Sri Raehanty, Yethi Anindi, dan Lia Amalia atas semangatnya.
12. Sahabat-sahabatku Eka Wahyanti, Dian Akmalia, Isna Rokhimah, Winda Iksantia, Nisa Farah, Alfiya Ilfa, Rizka Puspita, Elva Endang, Dewi Siti, dan Aji Bayu atas dukungan, semangat, bantuan, tenaga, dan waktunya dalam menyelesaikan skripsi ini.

13. Keluarga besar kimia terutama teman-teman kimia angkatan 2017 yang sama-sama berjuang untuk meraih gelar S1 ini.
14. Dan semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung yang belum disebutkan dalam membantu menyelesaikan skripsi ini.

Semoga amal baik dan segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis mendapatkan balasan dari Allah SWT. Akhir kata, penulis mohon maaf apabila dalam penyusunan skripsi ini terdapat kesalahan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca sekalian.

Yogyakarta, 21 Juli 2021

Penulis,

Dita Ayu Juniananta



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	.i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
MOTTO	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xivv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
ABSTRAK	xviii
ABSTRACT	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Batasan Masalah	3
C. Rumusan Masalah.....	4
D. Tujuan Penelitian	4
E. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	6
A. Tinjauan Pustaka.....	6
B. Landasan Teori	7
1. Penyamakan Kulit Hewan	7
2. Limbah Tambak Udang.....	8
3. Lipase untuk Bioremediasi.....	8
4. Aktivitas Enzim Lipase	10
5. Kebutuhan Oksigen Biologi (<i>Biochemiical Oxygen Demand/BOD</i>)	11
6. Kebutuhan Oksigen Kimia (<i>Chemiycal Oxygen Demand/COD</i>)	12
7. Padatan Tersuspensi Total (<i>Total Suspended Solid /TSS</i>)	12
C. Hipotesis	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	14
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
B. Lokasi Pengambilan Sampel.....	14

C. Alat Penelitian	14
D. Bahan Penelitian	14
E. Prosedur Penelitian	15
1. Pengambilan Sampel Limbah Penyamakan Kulit	15
2. Sterilisasi Alat	15
3. Preparasi Media Isolasi	16
4. Isolasi Bakteri Penghasil Lipase	17
5. Karakterisasi Isolat Bakteri	17
6. Produksi dan Ekstraksi Enzim Lipase	20
7. Uji Aktivitas Enzim Lipase	20
8. Penentuan pH Optimum	22
9. Penentuan Suhu Optimum.....	22
10. Bioremediasi <i>ex-situ</i> Limbah Tambak Udang.....	22
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
A. Isolasi Bakteri Lipopolitik dari Limbah Industri Penyamakan Kulit	24
B. Karakterisasi Isolat Bakteri Lipopolitik	25
1. Pengamatan Mikroskopik dan Makroskopik Isolat Bakteri	25
2. Uji Biokimia Isolat Bakteri Lipopolitik	27
C. Uji Aktivitas Enzim Lipase	31
D. Optimasi pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Enzim Lipase	32
1. Optimasi pH (Derajat Keasaman)	32
2. Optimasi Suhu	33
E. Bioremediasi <i>Ex-Situ</i> Limbah Tambak Udang	34
1. Uji Hidrolisis Lemak.....	34
2. Penentuan Nilai Biological Oxygen Demand (BOD) dan Chemical Oxygen Demand (COD) pada Limbah Tambak Udang	36
3. Parameter Total Suspended Solid (TSS).....	39
PENUTUP	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas lipase; meliputi bentuk, elevasi, <i>margin</i> , warna, jenis gram, dan bentuk sel.....	25
Tabel 4.2. Pengamatan uji biokimia pada isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas lipase; meliputi uji katalase, reduksi nitrat, indol, motilitas, urease, hidrolisis pati, dan fermentasi karbohidrat (laktosa, glukosa, sukrosa, dan manitol)	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Reaksi Hidrolisis Trigliserida oleh Lipase menjadi Gliserol dan Asam Lemak	9
Gambar 2.2. Reaksi penentuan aktivitas enzim lipase menggunakan metode Kwon dan Rhee, Tahap 1. Reaksi hidrolisis substrat minyak zaitun oleh enzim lipase menghasilkan asam lemak dan gliserol; Tahap 2. Reaksi asam lemak dengan reagen tembaga (II) asetat piridin menghasilkan produk yang digunakan untuk menentukan aktivitas lipase secara spektrometri	11
Gambar 4.1.Isolasi bakteri lipopolitik dari limbah penyamakan kulit yang ditumbuhkan pada media rhodamin-b: a. Isolat PK1.1.2; b. Isolat PK1.2.2; c. Isolat SK3.2; d. Isolat SK3.4 membentuk pendaran berwarna jingga disekitar koloni ketika diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 365 nm	24
Gambar 4.2. Pengamatan mikroskopik isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas lipase pada perbesaran 400-1000x dengan pewarnaan gram: (a. Isolat PK1.1.2); (b. Isolat PK1.2.2); (c. Isolat SK3.2); (d. Isolat SK3.4).....	25
Gambar 4.3 Reaksi penguraian hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen dengan bantuan enzim katalase	28
Gambar 4.4 Reaksi reduksi nitrat menjadi nitrit disertai pembentukan azocompound	28
Gambar 4.5 Reaksi air dan <i>tryptophan</i> menghasilkan indol, asam piruvat, dan amonia yang dibantu oleh enzim <i>tryptophanase</i>	29
Gambar 4.6. Reaksi hidrolisis urea menjadi amonia dan karbon dioksida	30
Gambar 4.7. Reaksi hidrolisis pati menghasilkan maltosa lalu glukosa.....	30
Gambar 4.8 Diagram aktivitas lipase dengan waktu reaksi enzimatis 30 menit, suhu 37°C, pH 7, minyak zaitun sebagai substrat dalam inkubator bergoyang kecepatan 120 rpm menggunakan ekstrak enzim kasar isolat PK1.1.2; PK1.2.2; SK3.2; dan SK3.4.....	31
Gambar 4.9. Diagram pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim lipase; rentang pH 6-10 dilakukan pada suhu inkubasi bergoyang 37°C selama 30 menit	32
Gambar 4.10.Diagram pengaruh variasi suhu pada aktivitas enzim lipase; rentang suhu inkubasi bergoyang 35-50°C dilakukan pada pH optimum masing-masing isolat	33
Gambar 4.11.Uji hidrolisis lemak pada media agar yang mengandung limbah tambak udang dan minyak zaitun, goresan isolat bakteri lipopolitik a. PK1.1.2; b. PK1.2.2; c. SK3.2; d. SK3.4 menghasilkan warna hijau ketika ditetesi CuSO ₄ jenuh	34

Gambar 4.12.Diagram nilai parameter BOD pada limbah tambak udang dengan penambahan isolat PK1.1.2; PK1.2.2; SK3.2; dan SK3.4 serta kontrol yang dilakukan tanpa penambahan isolat. Metode uji yang digunakan yaitu SNI 6989.72-2009. Sumber analisis BBTKLPP Yogyakarta 36

Gambar 4.13.Diagram nilai parameter COD pada limbah tambak udang dengan penambahan isolat PK1.1.2; PK1.2.2; SK3.2; dan SK3.4 serta kontrol yang dilakukan tanpa penambahan isolat. Metode uji yang digunakan yaitu SNI 6989.2-2019. Sumber analisis BBTKLPP Yogyakarta ... 37

Gambar 4.14.Diagram nilai parameter TSS pada limbah tambak udang penambahan isolat PK1.1.2; PK1.2.2; SK3.2; dan SK3.4 serta kontrol yang dilakukan tanpa penambahan isolat. Metode uji yang digunakan yaitu SNI 06-6989.26-2005. Sumber analisis BBTKLPP Yogyakarta..... 39



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengamatan Uji Biokimia Isolat Bakteri	47
Lampiran 2. Pengukuran Aktivitas Enzim Lipase	50
Lampiran 3. Pengukuran Optimasi pH pada Aktivitas Enzim Lipase	51
Lampiran 4. Pengukuran Optimasi Suhu pada Aktivitas Enzim Lipase	53
Lampiran 5. Hasil Uji <i>Total Suspended Solid</i> (TSS)	55



ABSTRAK

BIOREMEDIASI LIMBAH TAMBAK UDANG MENGGUNAKAN ISOLAT BAKTERI LIPOLITIK

Oleh :
Dita Ayu Juniananta
17106030039

Dosen Pembimbing :
Dr. rer. medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

Limbah budi daya tambak udang mengandung bahan organik dalam jumlah tinggi yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan perairan. Limbah dari budi daya tambak udang terdiri dari residu pakan, feses udang, dan koloni bakteri patogen, sehingga dapat mengganggu kelangsungan hidup udang itu sendiri maupun badan air yang akan dilewatinya. Mengatasi pencemaran lingkungan tersebut diperlukan pengolahan limbah yang ramah lingkungan, salah satunya bioremediasi. Bioremediasi dapat dilakukan menggunakan bakteri untuk merombak bahan pencemar dalam limbah.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri lipolitik dari limbah penyamakan kulit serta potensinya sebagai agen bioremediasi limbah tambak udang. Hasil isolasi didapatkan 2 isolat yang berasal dari limbah padat dengan kode PK1.1.2 dan PK1.2.2 serta 2 isolat yang berasal dari limbah cair dengan kode SK3.2 dan SK3.4. Degradasi bahan pencemar pada limbah tambak udang diukur dengan parameter *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) yang pengukurannya dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-7, serta parameter *Total Suspended Solid* (TSS) yang pengukurannya dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-5.

Penurunan BOD terbesar terjadi pada limbah tambak udang yang telah ditambahkan oleh isolat SK3.4, yaitu dari kadar awal sebelum dilakukan bioremediasi 130,9 mg/L menjadi 109,4 mg/L. Penurunan COD terbesar juga terjadi pada limbah tambak udang yang telah ditambahkan oleh isolat SK3.4, yaitu dari kadar awal sebelum dilakukan bioremediasi 253,2 mg/L menjadi 202,3 mg/L. Sedangkan penurunan TSS terbesar terjadi pada limbah tambak udang yang telah ditambahkan oleh isolat PK1.1.2, yaitu dari kadar awal sebelum dilakukan bioremediasi 25,333 mg/L menjadi 21,1 mg/L

Kata Kunci : Bakteri Lipolitik, Bioremediasi, BOD, COD, TSS

ABSTRACT

BIOREMEDIATION OF SHRIMP TAMED WASTE USING LIPOLITIC BACTERIAL

Oleh :
Dita Ayu Juniananta
17106030039

Dosen Pembimbing :
Dr. rer. medic. Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech

Shrimp aquaculture waste contains high amounts of organic matter which can cause pollution to the aquatic environment. Waste from shrimp farming consists of feed residues, shrimp feces, and colonies of pathogenic bacteria, so that it can interfere with the survival of the shrimp itself and the water body it will pass through. Overcoming environmental pollution requires environmentally friendly waste treatment, one of which is bioremediation. Bioremediation can be done using bacteria to break down pollutants in waste.

This study aims to obtain lipolytic bacteria from tannery waste and its potential as a bioremediation agent for shrimp pond waste. The isolation results obtained 2 isolates from solid waste with codes PK1.1.2 and PK1.2.2 and 2 isolates from liquid waste with codes SK3.2 and SK3.4. Degradation of pollutants in shrimp pond waste was measured by parameters Biological Oxygen Demand (BOD) and Chemical Oxygen Demand (COD) which were measured on day 0 and day 7, and Total Suspended Solid (TSS) parameter which was measured on day 0 and day 5.

The biggest decrease in BOD occurred in shrimp pond waste that had been added by isolate SK3.4, from the initial level before bioremediation was carried out at 130.9 mg/L to 109.4 mg/L. The largest decrease in COD also occurred in shrimp pond waste that had been added by isolate SK3.4, from the initial level before bioremediation was 253.2 mg/L to 202.3 mg/L. While the largest decrease in TSS occurred in shrimp pond waste that had been added by isolate PK1.1.2, from the initial level before bioremediation was 25.333 mg/L to 21.1 mg/L.

Keywords: *Bioremediation, Lipolytic Bacteria, BOD, COD, TSS*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Budi daya tambak udang merupakan salah satu mata pencaharian penduduk pesisir pantai Indonesia. Kegagalan utama produksi udang dari budi daya tambak umumnya disebabkan oleh serangan penyakit dan kualitas air yang buruk akibat pencemaran limbah tambak udang itu sendiri. Pencemaran oleh limbah tersebut terjadi dikarenakan tidak adanya pengolahan terlebih dahulu sebelum terbuang ke lingkungan (Huda, 2018). Limbah tersebut akan menyebabkan sedimentasi atau pendangkalan di muara tambak dan persebaran penyakit udang di alam (Ramadhan dkk., 2019). Limbah cair tambak udang juga mengeluarkan bau tidak sedap sehingga dapat mengganggu kesehatan masyarakat baik sistem pernapasan, penyakit kulit, maupun sistem pencernaan bagi masyarakat yang mengonsumsi air sungai yang terhubung dengan muara tambak (Huda, 2018).

Pengolahan limbah tambak udang sebaiknya dilakukan selama budi daya berlangsung maupun setelah panen (Zulfikar, 2020). Pengolahan limbah tambak dapat dilakukan secara fisika, kimia maupun biologi. Pengolahan secara fisika dan kimia selain memerlukan biaya yang mahal, dapat berdampak negatif bagi lingkungan. Sedangkan cara yang aman dan murah adalah pengolahan secara biologi (Slamet dan Titah, 2004). Pengolahan limbah secara biologi salah satunya dengan cara bioremediasi. Bioremediasi merupakan pendekatan yang paling efektif dalam proses pembersihan lingkungan dari bahan-bahan pencemar secara biologis oleh agen biologi, terutama mikroorganisme (Subagiyo dkk, 2012). Seiring berjalanannya waktu, upaya pemulihan lingkungan tercemar dengan metode

bioremediasi telah menjadi metode yang ramah lingkungan dan diterima oleh masyarakat luas. Proses penguraian terjadi melalui proses metabolisme, yaitu mengurai polutan (substrat) menjadi CO_2 dan H_2O (produk) melalui reaksi organik (Siregar dan Hidayat, 2017).

Penelitian ini berfokus pada pengolahan bahan pencemar organik dan hidrolisis lemak limbah tambak udang. Sifat dari lemak secara umum tidak larut dalam air, sehingga lemak pada limbah yang terdapat dalam badan air tersebut mempunyai dampak buruk terhadap ekosistem perairan (Darmayasa, 2008). Selain itu, limbah yang mengandung lemak jika dibiarkan mengalir dalam saluran drainase lingkungan dapat mencemari sumber air lingkungan karena dalam limbah tersebut terdapat polutan yang cukup berbahaya dan menjadikan sumber perkembangbiakan bakteri patogen yang dapat mengurangi kandungan oksigen dalam perairan. Bila limbah tersebut masuk ke tanah akan menutup pori-pori tanah dan mengganggu daya serap air dalam tanah (Ganefati, 2011; Hakim, 2017).

Agen bioremediasi yang dapat digunakan sebagai pengurai lemak pada limbah salah satunya adalah bakteri lipolitik. Bakteri lipolitik merupakan bakteri yang membutuhkan konsentrasi lemak minimal untuk pertumbuhannya dan memproduksi enzim lipase (Fardiaz, 1992). Menurut Nurhasanah dan Dian (2008), enzim lipase yang terdapat dalam bakteri lipolitik dapat membantu menguraikan bahan organik berupa lemak secara cepat melalui pemutusan ikatan ester dari trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air.

Bakteri lipolitik dapat tumbuh pada habitat yang mengandung lemak, salah satunya yaitu limbah penyamakan kulit. Limbah penyamakan kulit merupakan limbah cair maupun padat hasil dari industri penyamakan kulit hewan (Droste, 1997). Limbah penyamakan

kulit ini memiliki kandungan lemak, protein, dan air yang tinggi, sehingga limbah tersebut berpotensi besar menumbuhkan bakteri lipopolitik (Droste, 1997; Likadja dan Said, 2012).

Berdasarkan latar belakang yang telah disebutkan, pada penelitian ini akan dilakukan proses isolasi bakteri lipopolitik yang berasal dari limbah penyamakan kulit yang terletak di Kawasan Industri Piyungan, Bantul, Yogyakarta. Selain itu akan dilakukan bioremediasi pada limbah tambak udang yang terletak di Kawasan Pesisir Pantai Selatan, Bantul, Yogyakarta oleh isolat bakteri lipopolitik yang akan diperoleh. Parameter uji bioremediasi yang akan dilakukan yaitu uji BOD, COD, TSS, dan uji hidrolisis lemak .

B. Batasan Masalah

Agar penelitian ini dapat berjalan sesuai dengan yang diinginkan sehingga tidak terjadi penyimpangan, maka diperlukan batasan masalah penelitian, yaitu :

1. Penelitian bioremediasi limbah tambak udang ini dilakukan secara *ex situ* yaitu skala laboratorium.
2. Karakterisasi isolat bakteri lipopolitik yang dilakukan meliputi pengamatan mikroskopik dan makroskopik serta uji biokimia. Pengamatan mikroskopik dan makroskopik meliputi pewarnaan gram, pengamatan bentuk sel dan bentuk koloni. Sedangkan uji biokimia yang dilakukan meliputi uji katalase, motilitas, indol, reduksi nitrat, urease, hidrolisis pati, dan fermentasi karbohidrat.
3. Penentuan pH dan suhu optimum dilakukan pada produksi lipase menggunakan isolat bakteri lipopolitik terpilih.
4. Penentuan aktivitas enzim lipase dari bakteri lipopolitik diukur menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* dengan reagen *cupric acetate-pyridine* serta substrat *olive oil*.

5. Parameter yang diuji untuk mengetahui keberhasilan bioremediasi limbah tambak udang adalah penurunan uji BOD, COD, TSS dan uji hidrolisis lemak
6. Sampel limbah untuk bioremediasi diambil dari tambak udang Banaran, Galur, Kulon Progo, Yogyakarta.
7. Sumber bakteri/agen bioremediasi diambil dari limbah penyamakan kulit di Kawasan Industri Piyungan, Bantul, Yogyakarta.

C. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini :

1. Bagaimana hasil isolasi dan karakterisasi bakteri lipopolitik dari limbah penyamakan kulit hewan?
2. Bagaimana hasil parameter uji BOD, COD, TSS, dan uji hidrolisis lemak pada limbah tambak udang sebelum dan setelah di remediasi oleh isolat bakteri lipopolitik dari limbah penyamakan kulit yang telah diisolasi?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini :

1. Mengetahui hasil isolasi dan karakterisasi bakteri lipopolitik yang berasal dari limbah penyamakan kulit hewan.
2. Mengetahui hasil penurunan parameter uji BOD, COD, TSS, dan uji hidrolisis lemak,pada limbah tambak udang oleh isolat bakteri lipopolitik dari limbah penyamakan kulit.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi hasil isolasi dan karakterisasi bakteri lipolitik penghasil lipase dari limbah penyamakan kulit.
2. Memberikan informasi hasil penurunan parameter uji BOD, COD, TSS, dan uji hidrolisis lemak pada limbah tambak udang oleh isolat bakteri lipolitik dari limbah penyamakan kulit.



PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil isolasi bakteri lipolitik didapatkan 4 isolat yang berpendar berwarna jingga saat diamati dibawah lampu UV λ 365 nm ketika isolat tersebut ditumbuhkan pada media agar yang mengandung rhodamin-b. Karakterisasi isolat bakteri lipolitik diperoleh gram positif pada isolat PK1.2.2 serta gram negatif pada isolat PK1.1.2; SK3.2; dan SK3.4
2. Pada uji hidrolisis lemak, keempat isolat bakteri memberikan reaksi positif. Penurunan BOD terbesar terjadi pada isolat SK3.4, yaitu dari kadar awal sebelum dilakukan bioremediasi 133,8 mg/L menjadi 109,4 mg/L. Untuk penurunan COD terbesar terjadi pada isolat SK3.4, yaitu dari 253,2 mg/L menjadi 202,3 mg/L. Sedangkan penurunan TSS terbesar terjadi pada isolat PK1.1.2, yaitu dari 25,333 mg/L menjadi 21,1 mg/L

B. Saran

Adapun saran untuk penelitian selanjutnya :

1. Uji variasi substrat untuk mengetahui pengaruhnya terhadap aktivitas lipase
2. Karakterisasi biokimia diperbanyak lagi ujinya agar bisa menentukan genus secara pasti dari isolat bakteri lipolitik yang didapatkan.
3. Dilakukan uji kadar lemak agar dapat diketahui secara pasti berapa banyak lemak pada limbah tambak udang yang dapat di hidrolisis oleh bakteri.
4. Dilakukan karakterisasi limbah tambak udangterlebih dahulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Antriana, Nur. 2014. *Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (Macrotermes sp.)*. Jurnal Universitas Jember Fakultas FMIPA
- Ariningrum, A., Hidayat, N., dan Wignyanto. 2009. *Bioremediasi Limbah Cair Sentra Industri Tempe Sanan serta Perencanaan Unit Pengolahannya (Kajian Pengaturan Kecepatan Aerasi dan Waktu Inkubasi)*. Jurnal Teknologi Industri Pertanian, Fak. Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya
- Arsawan, M., Suyasa, I. W, B., dan Suarna, W. 2007. *Pemanfaatan Metode Aerasi Dalam Pengolahan Limbah Berminyak*. Jurnal Ecotrophic 2 (2) : 1-9.
- Atima, W. 2015. *BOD dan COD sebagai Parameter Pencemaran Air dan Baku Mutu Air Limbah*. Ambon : Jurnal Biology Science & Education
- Benson. 2001. *Microbiological Application*. New York : Mc. Graw Hill Publisher
- Bestari, N.C. dan Suharjono, S. 2016. *Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipopolitik dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Muncar, Banyuwangi*. Biotropika: Journal of Tropical Biology, 3(3)
- Chairunnisa. 2018. *Isolasi dan Uji Bakteri Lipopolitik dalam Mendegradasi Minyak pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat Pematang Siantar*. Sripsi : Universitas Medan Area
- Citrapancayudha, D. R. dan Soetarto, E. S. 2016. *Biodegradasi Residu Wax dari Limbah Industri Batik oleh Bakteri*. Proceeding Biology Education Conderence 13 (1) : 800-806
- Darmayanti, S.C. Komala, Oom. dan Effendi, E.M. 2018. *Identifikasi Bakteri dari Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi*. Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup. Vol. 18 No. 2. Hlm. 63-71
- Darmayasa, I.B.G. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lupid (Lemak) pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari DAM Denpasar*. Jurnal Bumi Lestari Vol. 8 No. 2 hlm 122-127
- Droste, M.K. 1997. *Isolation and Characteristic of Tannery Waste*. Jurnal of Veterinary Medicine Vol. 2 No. 8 : 113-120
- Ethica, S.N., Muchlissin, S.I., Saptaningtyas, R. dan Sabdono, A. 2017. *Sampling Mikrobiologi Limbah Biomedis Rumah Sakit di Kota Semarang Jawa Tengah*. Jurnal Prosiding Seminar Nasional & Internasional Vol. 1 No. 1
- Falony, G., J. C. Armas, J. C. D. Mendoza and J. L. M. Hernández. 2006. *Production of Extracellular Lipase from Aspergillus niger by Solid-State Fermentation*. Food Technol. Biotechnol. 44 (2) 235–240

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Fidiastuti, Hasminar Rachman. 2014. *Potensi Bakteri Indigen dalam Biodegradasi Air Sungai*. Jember : Jurnal Saintifika Vol. 16 No. 1
- Fitri, Lenni dan Yasmin, Yekki. 2011. *Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik*. Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi. Vol. 3, No. 2, Hlm 20-25
- Ganefati, Sri. 2011. *Pengaruh Perasan Blimbing Wuluh (Averrhoa Blimbi) Terhadap Penurunan Kadar lemak dan Angka Kuman dalam Pengolahan Limbah Cair Dapur*. Poltekkes Kemenkes Yogyakarta
- Gupta, Y.K., dan M.H.V. Kumar. 2003. *Effect of Centella asiatica on Cognition and Oxidative Stress In An Intracerebroventricular Streptozotocin Model of Alzheimer's Disease in Rats*, *Clin Exp. Pharmacol. Physiol.*, 30 : 336-342.
- Hadiotomo. 2001. *Identifikasi Bakteri dari Tinja Pasien Diare di Rumah Sakit Islam Klaten*. Jurnal Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Hakim, Ahmad. 2017. *Pengaruh Lemak pada Stabilitas dan Daya Serap Tanah*. Jurnal Ekologi Unviersitas Negeri Jember Vol 21 No. 6
- Hameed, A., Ghori, M.I., and Iqbal, M.J. 2011. *Characterization of a novel lipase from Bacillus sp. isolated from tannery wastes*. Jurnal of Environmental Microbiology Vol. 42 No. 1
- Hardianti, N., Sayuti, I., dan Yustina. 2016. *Isolation and Identification of Bacteria Market Organic Waste Pekanbaru City and Potential as Student Worksheet Desain Biology SMA*. Biology Education University of Riau
- Harrigan, F.W. 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Bridgend: Academic Press
- Helen, T., De Oliveira, D., Mazutti, M.A., Di Luccio M., and Oliveira, J.V. 2010. *A Review on Microbial Lipase Production*. *Food Bioproc Technol* 3:182-196
- Huda, Nurul. 2018. *Analisis Dampak Keberadaan Tambak Udang Intensif Terhadap Kondisi Fisik dan Sosial Ekonomi Pekerja Tambak Kecamatan Kwannyar Kabupaten Bangkalan-Madura*. Skripsi Program Studi Pendidikan Geografi fakultas Ilmu Sosial dan Hukum Universitas Negeri Surabaya.
- Kristanto, P. 2002. *Ekologi Industri*. ANDI, Yogyakarta.
- Kwon Y.D., and Rhee J.S. 1986. *A Simple and Rapid Colorimetric Method for Determination of Free Fatty Acids for Lipase Assay*. *JAOCs* 63:89-92
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Rajawali Press. Jakarta
- Lehninger, A.L. 1995. *Dasar-Dasar Biokimia*. Erlangga : Jakarta.

- Likadja, J.C. dan Said, M.I. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Penghasil Enzim Protease pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria Abadi (ASA)* Yogyakarta. Skripsi Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Manfaati, Rintis. 2010. *Kinetika dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat dengan Media Campuran Tepung Tapioka dan Limbah Cair Tahu oleh Rhizopus oryzae*. Universitas Diponegoro Semarang
- Munawar, M., Elyza, F., dan Gofar, N. 2015. *Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri Lipopolitik Limbah SBE (Spent Bleaching Earth) sebagai Agen Bioremediasi*. Jurnal Ilmu Lingkungan Vol. 13 No. 1
- Nainggolan, Ganda D. 2010. *Pola Pelepasan Nitrogen dari Pupuk Tersedia Lambat (Slow Release Fertilizer)*. Bogor: Skripsi Institut Pertanian. Bogor.
- Nurhasanah dan Dian H. 2008. *Pemurnian Enzim Lipase dari Bakteri Lokal dan Aplikasinya dalam Reaksi Esterifikasi*. Jurnal Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II. Universitas Lampung.
- Peraturan Daerah (PERDA) Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta No. 7 Tahun 2016 Tentang *Baku Mutu Air Limbah*
- Peraturan Gubernur (PERGUB) Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta No. 20 Tahun 2008 Tentang *Bauku Mutu Air di Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta*
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 82 Tahun 2001 Tentang *Pengolahan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*
- Piotrowska, A. 2005. *Application of enzymes for bioremediation*. Jurnal Oxidoreductases Part 1. Ekologi Technika, 13(6) hlm. 259-265
- Prayitno. 2010. *Kajian Penerapan Bioteknologi Pengolahan Kulit untuk Mengurangi Limbah*. Yogyakarta : Majalah Kulit, Karet, dan Plastik Vol. 26 No. 1
- Priadie, Bambang. 2012. *Teknik Bioremediasi sebagai Alternatif dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air*. Jurnal Ilmu Lingkungan Vol. 10, Issue 1
- Ramadhan, G., Rizky, M.N., dan Farisi, G. Y. 2019. *Pembuatan Edible Coating Kitosan dari Hasil Samping (Limbah) Tambak Udang untuk Menjaga Kelestarian Gumuk Pasir Parangtritis*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa. Institut Pertanian Bogor
- Reiss, Errol. 2011. *Fundamental Medical Mycology*. New Jersey: Wiley-Blackwell
- Retnowati Y., Bialangi Nurhayati dan Posangi Nona Wingti. 2011. *Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (Andrographis paniculata)*. Jurnal Saintek FMIPA Universitas Negeri Gorontalo. Vol. 6, No. 2
- Rohaeti, E. 2007. *Pencegahan Pencemaran Lingkungan oleh Logam Berat Krom Limbah Cair Penyamakan Kulit (Studi Kasus di Kabupaten Bogor)*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Ronald, A., Sacher, R.A, dan Mc Pherson. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Labboratorium*. Jakarta: EGC
- Rostinawati, T. 2008. *Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali*. Jurnal Penelitian Mandiri. Universitas Padjadjaran Jatinangor Fakultas Farmasi
- Santos, Jose A.L, Teles, Fernando R.R, dan Cabral, Joaquim M.S. 2001. *Enzymatic Degreasing of A Solid Waste from The Leather Industry by Lipases*. Jurnal Biotechnology Letter 23, 119-1163.
- Sastrawidana, I D., K. 2009. *Isolasi Bakteri Dari Lumpur Limbah Tekstil Dan Aplikasinya Untuk Pengolahan Limbah Tekstil Menggunakan Sistem Kombinasi Anaerob-Aerob*. Disertasi. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Shu, Zhengyu, Lin, R., Liang, H., Zhang, Y., and Huang, J. 2009. *A Rapid and Efficient Method fr Directed Screening of Lipase Producing Burkholderia cepacia Complex Strains with Organic Solvent Tolerance from Rhizosphere*. Journal Bioscience Bioengineering. 107. 658-661
- Siregar, Chairil Anwar dan Hidayat, Asep. 2017. *Telaah Mendalam tentang Bioremediasi : Teori dan Aplikasinya dalam paya Konservasi Tanah dan Air*. Bogor : IPB Press
- Slamet, Agus dan Titah, Harmin Sulistiyaning. 2004. *Studi Penurunan Nitrogen Amonium Limbah Tambak Udang Intensif dengan Menggunakan Roughing Biofilter Horisontal*. Jurnal Purifikasi Vol. 5 No. 1 : 25-30
- Suarsini, Endang dan Fidiastuti, H.R. 2017. *Potensi Bakteri Indigen dalam Mendegradasi limbah Cair Pabrik Kulit secara In Vitro*. Malang: Jurnal Bioeksperimen Vol. 3 No.1
- Subagiyo, Djarad, M.S.R., dan Setyati, W.A. 2012. *Potensi Ekosistem Mangrove sebagai Sumber Bakteri untuk Produksi Protease, Amilase, dan Selulase*. Jurnal Kelautan Tropis Vol. 20(2):106-111
- Sudarmo dan Ranoemihardjo. 2016. *Fluktuasi Kandungan Amonia dan Beban Cemaran Lingkungan Tambak Udang Vaname Intensif dengan Teknik Panen Parsial dan Panen Total*. Jurnal Saintek Perikanan Vol. 11 No. 2
- Sunna A., Hunter L., Hutton C.A., dan Bergquist P.L. 2002. *Biochemical Characterization of A Recombinant Thermoalkalophilic Lipase and Assessment of Its Substrate Enantioselectivity*. Enzyme Microb Technol, 31: 472-476
- Supriyatna, A., Jauhari, A. A., dan Holydaziah, D. 2015. *Aktivitas Enzim Amilase, Lipase, dan Protease dari Larva Hermetia Illucens yang Diberi Pakan Jerami Padi*. Jurnal Istek, 9(2).
- Susilo, F. A. P., Suharto, B. dan Susanawati, L. D. 2013. *Pengaruh Variasi Waktu Tinggal Terhadap Kadar BOD dan COD Limbah Tapioka dengan Metode Rotating Biological Contactor*. Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan 2 (1) L 21-26.

- Susilo, F. A. P., Suharto, B. dan Susanawati, L. D. 2013. *Pengaruh Variasi Waktu Tinggal Terhadap Kadar BOD dan COD Limbah Tapioka dengan Metode Rotating Biological Contactor*. Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan 2 (1) L 21-26.
- Suwoyo, H.S., Tahe, S dan Fahrur, M., 2015. *Karakterisasi Limbah Sedimen Tambak Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) Super Intensif Dengan Kepadatan Berbeda*. Jurnal Prossiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. Hal 901-913.
- Suyanto, E., Soetarto E.S., Cahyanto M.N. 2015. *Produksi Lipase Kapang Lipolitik Pada Limbah Ampas Kelapa*. Jurnal Bioeskperimen, Vol. 1 No. 1
- Telussa, Ivonne. 2013. *Isolasi Bakteri Penghasil Enzim Lipase dari Coco Butter Substitute dan Karakterisasi Lipasenya*. Jurnal Kimia FMIPA Universitas Pattimura. ISBN : 978-602-97522-0-5
- Valentina, Elysa Putri Eka. 2015. *Bioremediasi Limbah Cair Pengolahan Kulit Menggunakan Bakteri Lipolitik Indigen sebagai Bahan untuk Penyusunan Buku Ajar Biodegradasi pada Matakuliah Mikrobiologi*. Jurnal Pendidikan Biologi. Universitas Negeri Malang.
- Vanto, Dimas W. M. 2016. *Pengaruh Limbah Tambak Udang Terhadap Pertumbuhan Semai Tumbuhan Bakau Jenis Avicennia sp di Pantai Indrak Ilo Kabupaten Pacitan sebagai Sumber Belajar Biologi*. Malang : Skripsi Universitas Muhammadiyah Malang
- Wahyuni, Sri. Kirami, M.W. dan Khaeruni, Andi. 2014. *Karakterisasi Sifat Biokimia Isolat Bakteri Kinolitik Asal Tambak Udang*. Jurnal Ilmiah : Biologi Eksperimen dan Keanekaragaman Hayati. Vol. 2 No. 2. Hlm. 50-55
- Widigdo, B. dan Pribadi, J. 2005. *Biosecurity as A Management Tool to Control Viral Diseases and to Improve Production in Shrimp Industry*. Abstract Text. Meeting at World Aquaculture Society (WAS). Bali
- Wiseman, A. 1975. *Enzyme Induction Organism Catalyse the Hydrolysis of Esters Other than Acylglycerols*. Plenum Press; New York (USA)
- Yuneta, R., dan Putra, S.R. 2010. *Pengaruh Suhu pada Lipase dari Bakteri Bacillus subtilis*. Prosiding Kimia FMIPA. Surabaya: Institut Teknologi Sepuluh November
- Zulfikar, W.G. 2020. *Tambak Udang Berpotensi Mencemari Lingkungan*. https://app.jala.tech/kabar_udang/tambak-udang-berpotensi-mencemari-lingkungan?redirect=https%3A%2F%2Fapp.jala.tech%2Fkabar_udang Diakses pada 27 April 2020