

# OPTIMASI JUMLAH INOKULUM DAN LAJU ALIRAN TERHADAP PERSENTASE PENURUNAN DETERJEN, LIPID, BOD DAN COD PADA SISTEM BIOFILTER KERIKIL HORIZONTAL

Optimization of Inoculum Concentration and Influent Rate on Decreasing Percentage of Detergent, Lipid, BOD and COD on Horizontal Gravel Biofilter

Nur Hidayat<sup>1</sup>, Sri Kumalaningsih<sup>1</sup>, Noorhamdani<sup>2</sup>, Susinggih Wijana<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Jl. Veteran Malang 65145

<sup>2</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Jl. Veteran Malang 65145

E-mail: nhidayat2003@yahoo.com

## ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh laju aliran limbah dan jumlah inokulum terhadap perbaikan kualitas limbah menggunakan biofilter kerikil horizontal. Penelitian dilakukan dengan biofilter kerikil horizontal kontinyu. Bahan limbah diperoleh dari kuah mie instan yang diencerkan sepuluh kali dan ditambah deterjen 1,0 g/l. Rancangan percobaan yang digunakan adalah *response surface methodology* dengan dua faktor yaitu jumlah inokulum dan laju aliran limbah. Pelaksanaan percobaan dengan biofilter dilakukan selama 2 bulan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai optimal yang diperoleh adalah jumlah inokulum 6,83 % dengan laju aliran 1,44 l/hari yang menghasilkan penurunan BOD sebesar 87,08 %, COD 85,41 %, LAS 96,22 %, dan lipid 81,88 %.

**Kata kunci:** Biofilter, inokulum, laju aliran, limbah

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of flow rate of waste and the amount of inoculum to improve the quality of wastewater using a horizontal gravel biofilter. The research was conducted with continuous horizontal gravel biofilter. Waste materials were derived from the instant noodle soup which had diluted ten times and added with detergent 1.0 g/l. The experimental design used in this research was response surface methodology within two factors: the amount of inoculum and the flow rate of waste. Implementation of the biofilter experiments conducted over 2 months. The results showed that the optimal value obtained were 6.83% inoculum and flow rate of 1.44 l/day which resulted in decreasing of BOD to 87.08 %, COD to 85.41%, LAS to 96.22 % and lipid to 81.88 %

**Keywords:** Biofilter, flow rate, inoculum, waste water

## PENDUHLUAN

Perkembangan industri kecil dan pariwisata di Indonesia dari tahun ke tahun terus menunjukkan peningkatan, keberadaan hotel dan rumah makan juga menunjukkan andil yang tidak kecil. Keberadaan industri kecil, hotel dan rumah makan yang bukan skala besar mempunyai satu permasalahan klasik yaitu penanganan limbah. Limbah ini umumnya dibuang ke lingkungan dan menyebabkan polusi karena nilai BOD dan COD yang tinggi yaitu untuk *fast food/Burger*

sebesar 176 – 2.137 mg/l dan 367 – 6.290 mg/l, rumah makan cina sebesar 626 – 4.100 mg/l dan 1.250 – 7.540 mg/l, *steak house* 433 – 116 mg/l dan 99 – 1.942 mg/l dan untuk rumah makan *sea food* sebesar 55 - 1.180 mg/l dan 185 – 1.630 mg/l (Blount, 2006).

Penyaring kerikil telah banyak digunakan dalam sistem pengolahan limbah. Ukuran partikel diseragamkan menggunakan ayakan. Kerikil umum digunakan dalam proses pengolahan limbah *trickling filter*. Penggunaan kerikil pada bak pengolahan limbah tapioka dengan aliran horizontal

mampu menurunkan COD dan BOD hingga 90 % dengan waktu retensi 5 hari (Suhartini dkk., 2009). Penggunaan penyaring kerikil untuk limbah ternak (angsa) secara anaerob mampu menurunkan COD sebesar 54 % (Szogi dkk., 1997). *Trickling filter* dengan bakteri *Bacillus cereus* N-09 juga berhasil digunakan untuk mengatasi limbah rumah tangga (Hidayat dkk., 2011).

Biofilter kerikil dikembangkan sebagai alternatif pengganti pasir yang sering mengalami penyumbatan. Biofilter yang telah diteliti adalah filter kerikil vertikal dengan sirkulasi ulang bagi limbah cair dari komunitas kecil (Newton dan Wilson, 2008). Ruiz, dkk. (2006) melaporkan penggunaan penyaring kerikil vertikal setinggi 2,05 m dengan kerikil berdiameter 37 - 50 mm, 16 - 19 mm dan 9 - 12,5 mm dengan tiap lapisan dibatasi oleh geotekstil dan pada bagian ujung ditambahkan reaktor nitrifikasi dengan waktu tinggal 5 hari. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa COD akan turun sebesar 95 % dan setelah reaktor nitrifikasi sebesar 97 %. *Trickling filter* mampu menurunkan surfaktan linier alkylbenzene sulfonate (LAS) sebesar 72,2 - 98,6 % sedang pada skala pilot hanya sebesar 19 - 58 % (Venhuis dan Mehrvar, 2004).

Biofilter horizontal merupakan model matrik penjerap bakteri yang mampu menahan bakteri dengan cara memberikan tempat bagi bakteri untuk menempel pada permukaan kerikil yang digunakan sebagai media penyangga (Hidayat dkk., 2010b). Adanya bakteri yang menempel pada permukaan kerikil yang dilewati oleh limbah cair, mengakibatkan nutrisi pada limbah akan dimetabolisme oleh bakteri sehingga limbah yang keluar dari biofilter akan memiliki kualitas efluen yang baik. Banyak bakteri yang diketahui mampu menempel pada permukaan media karena kemampuannya membentuk biofilm misalnya *Bacillus subtilis* yang mampu membentuk eksopolisakarida (Romero dkk., 2010).

Laju aliran yang sering digunakan untuk pengolahan limbah dengan resirkulasi adalah 3 - 10 gal/ft<sup>2</sup>/hari (Zhou dan Mancl, 2007). Penggunaan *Bacillus coagulans* pada limbah rumah tangga menunjukkan laju aliran yang optimal adalah 4,32 l/hari (Hidayat dkk., 2010a).

Jumlah inokulum merupakan faktor yang penting dalam proses mikrobiologis termasuk dalam penanganan limbah secara biologis. Hasil - hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah inokulum yang normal digunakan adalah antara 3 dan 10 % dari volume medium meskipun dapat mencapai 20 %. Semakin tinggi jumlah inokulum yang digunakan maka akan mempersingkat fase lag dan produksi biomass dalam fermentor (Anonim, 2005a). Penggunaan aktinomisetes *Amycolatopsis mediterranei* DSM 43304 menunjukkan aktivitas paling tinggi jika ukuran inokulum sebesar 10 % (v/v) (Dheeman dkk., 2007).

*Bacillus cereus* N-09 merupakan bakteri yang mampu merombak lipid dan surfaktan serta menurunkan BOD dan COD (Hidayat dkk., 2011) namun belum diketahui kondisi optimalnya sehingga penelitian tentang optimasi jumlah inokulum dan laju aliran perlu diteliti agar diperoleh kondisi optimum yang diinginkan. Metode permukaan respon digunakan dalam penelitian ini karena kemampuannya untuk menentukan titik optimum diantara titik perlakuan yang kita gunakan sehingga diharapkan dapat diperoleh nilai yang lebih pasti.

## METODE PENELITIAN

### Bahan Percobaan

Limbah cair yang digunakan dibuat dari kuah mie instan yang dibuat dengan cara mie instan 70 g direbus dengan air 400 ml hingga mendidih kemudian dimasukkan semua bumbu yang ada dan perebusan dilanjutkan selama 10 menit. Rebusan setelah agak dingin kemudian disaring. Kuah yang diperoleh diencerkan sepuluh kali dan ditambah deterjen dengan bahan aktif LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate) sebanyak 1,5 g/L dan direbus hingga mendidih selama 30 menit.

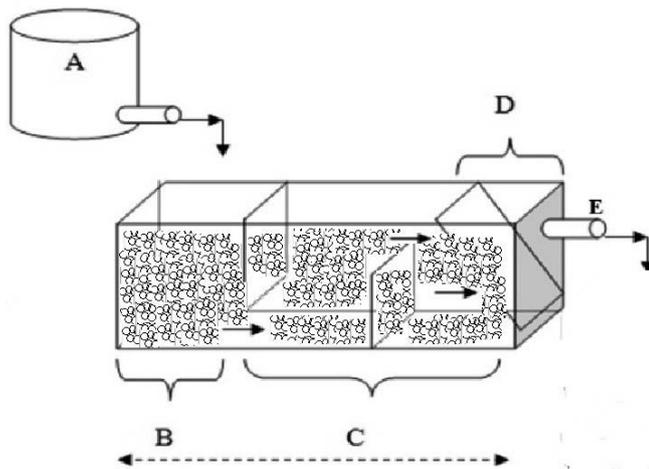
Deterjen yang digunakan adalah deterjen yang diketahui positif mengandung surfaktan LAS (Daia). Deterjen ditimbang sebanyak 1,5 g untuk setiap liter limbah yang digunakan sedangkan minyak nabati yang digunakan adalah minyak nabati yang terdapat dalam kemasan mie instan (Mie Sedap).

Bakteri yang digunakan adalah *Bacillus cereus* N-09 yang memiliki kemampuan merombak lipid dan surfaktan secara simultan (Hidayat dkk., 2011). Bakteri dari Nutrient Agar miring umur 24 jam ditumbuhkan pada Nutrien Cair sebanyak 100 ml dan dilakukan penggojogan 140 rpm selama 24 jam kemudian dimasukkan dalam medium Nutrien Cair sebanyak 900 ml dan diinkubasi lagi selama 24 jam. Tiap hari dilakukan pemindahan 10 % dari inokulum ke dalam medium baru untuk mempertahankan persediaan inokulum selama penelitian. Jumlah inokulum yang dipakai adalah yang memiliki jumlah bakteri  $10^6 - 10^8$  cfu/ml. Inokulum kemudian dicampurkan dengan limbah yang akan digunakan dalam percobaan dengan jumlah sesuai perlakuan.

### Biofilter Pengolah Limbah Cair

Percobaan dilakukan dengan kolom biofilter horisontal dengan dimensi panjang 60 cm, lebar 30 cm dan tinggi 40 cm diisi dengan kerikil berdiameter 0.5 - 1,0 cm (Gambar 1) dan diisi dengan kerikil dengan diameter 1 - 2 cm hingga penuh. Sebelum digunakan bak biofilter diisi dengan medium

*minimal salt agar* yang tersusun atas  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,48 g (Merck),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,12 g (Merck), dan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2,0 g (Merck). Secara terpisah ditambahkan  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,1 g/l) sebanyak 1 ml. (Shabtai, 1991). Sumber karbon yang digunakan adalah deterjen komersial 1 g/l dan minyak nabati 15 ml/l. Setelah diisi kerikil maka diukur volume limbah yang tertampung dan "working volume" ini diatur pada jumlah 20 liter. Media yang telah dicampur dengan inokulum dan diaduk selama 1 hari dimasukkan dalam kolom biofilter dan diinkubasi selama 5 hari agar bakteri tumbuh optimal dan diukur jumlah bakteri awal yang ada pada efluen. Bahan limbah cair (pada bak A) dimasukkan ke dalam biofilter dengan laju aliran sesuai perlakuan menggunakan kran yang diatur terlebih dahulu kecepatan alirnya sesuai perlakuan yang telah ditentukan. Besarnya laju aliran limbah sama dengan besar laju limbah yang keluar dari biofilter.



Gambar 1. Skematik pelaksanaan percobaan 4. A. bak penampung limbah, B. bak pengolah limbah 1 berisi kerikil, C. bak pengolah limbah 2 berisi kerikil, D. bak penjernih dan E. efluen

**Rancangan Percobaan**

Proses optimasi dilakukan dengan menggunakan Rancangan Komposit Terpusat seperti dapat dilihat pada Tabel 1. Faktor yang diteliti dalam penelitian ini adalah persentase inokulum ( $X_1$ ) yang terdiri dari tiga level (aras) yaitu 2 %, 5% dan 8 % dan laju aliran ( $X_2$ ) yang terdiri dari tiga aras yaitu 1,44 l/hari, 4,32 l/hari dan 7,20 l/hari. Respon yang dioptimasi adalah persentase penurunan LAS dengan metode MBAS SNI 06 – 6989 – 51 – 2005 (Anonim, 2005b), lipid secara gravimetri SNI 06 – 6989.10. 2004 (Anonim, 2004), BOD (Suhardi, 1991) dan COD (Suhardi, 1991). Tiga taraf faktor yang digunakan mendasarkan pada percobaan biofilter dengan limbah tapioka (Suhartini dkk., 2009). Analisis data dilakukan menggunakan program statistika *Design Expert DX 7.1.5*.

Tabel 1. Rancangan komposit terpusat ordo kedua dengan tiga faktor

Run	Inokulum (% v/v)	laju aliran (l/hari)	BOD (mg/l)	COD (mg/l)	LAS (mg/l)	Lipid (mg/l)
1	2.00	1.44				
2	8.00	1.44				
⋮	⋮	⋮				
12	0.76	4.32				
13	5.00	8.39				

**Analisis Solusi Optimal**

Metode permukaan respon (Gasperz, 1995) digunakan untuk menentukan model yang sesuai untuk memprediksi respon. Model yang diperoleh digunakan untuk memprediksi respon persentase penurunan LAS, lipid, BOD dan COD.

Model matematis yang digunakan adalah:  $Y_p = a + bX_1 + cX_2 + dX_1X_2 + eX_1^2 + fX_2^2$ . ( $Y_1$  : persentase penurunan LAS,  $Y_2$  : persentase penurunan lipid,  $Y_3$  : persentase penurunan BOD,  $Y_4$  : persentase penurunan COD,  $X_1$  : konsentrasi inokulum, dan  $X_2$  : laju aliran).

Model yang diperoleh digunakan untuk melakukan analisis optimal dengan menentukan titik optimalnya berdasarkan nilai *Desirability* yang paling besar dengan nilai konsentrasi inokulum dan laju aliran maksimum. Nilai optimum untuk respon LAS, lipid, BOD dan COD dalam batas terendah 60 % dan tertinggi 100 %.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Komposisi awal limbah yang dimasukkan dalam unit biofilter adalah BOD 2.157 mg/l, COD 6.438 mg/l, LAS 158,3 mg/l, lipid 100 mg/l, pH 6,6 dan TSS 102,1 mg/l.

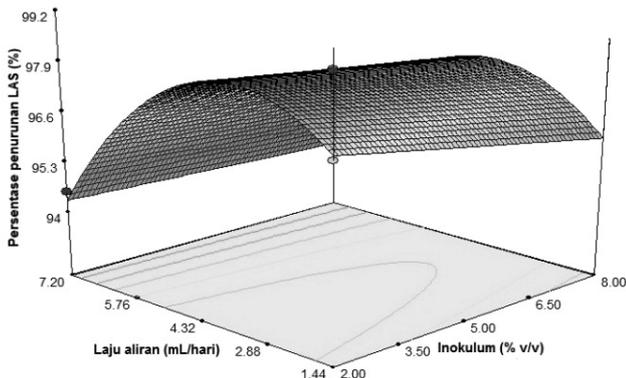
**Persentase Penurunan LAS**

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa besarnya degradasi LAS berkisar antara 91 – 99 % Model matematis yang dihasilkan adalah:  $Y_1 = +95,68 - 0,27X_1 + 1,85X_2 + 0,03X_1X_2 - 0,28X_2^2$  dengan  $R^2: 0,66$

Semakin tinggi laju aliran akan terjadi peningkatan jumlah LAS yang dirombak hingga laju aliran mencapai 3,39 l/hari kemudian mengalami penurunan (Gambar 2). Hal ini disebabkan pada laju aliran yang lambat terjadi kontak yang efektif antara substrat dengan mikroorganisme sedang pada laju aliran yang tinggi maka lama kontak antara substrat dengan bakteri lebih pendek sehingga masih ada substrat yang belum terombak ikut keluar dari sistem.

Tabel 2. Analisis ragam persentase penurunan BOD, COD, LAS dan Lipid

Run	Inokulum (% v/v)	laju aliran (l/hari)	BOD (%)	COD (%)	LAS (%)	Lipid (%)
1	2.00	1.44	72.02	73.30	99.20	90.00
2	8.00	1.44	85.53	85.46	98.58	90.00
3	9.24	4.32	80.89	79.35	96.86	65.00
4	5.00	4.32	82.76	82.27	98.38	90.00
5	2.00	7.20	86.70	86.86	94.54	75.00
6	5.00	4.32	82.87	83.96	97.58	73.00
7	5.00	4.32	87.39	87.13	97.72	70.00
8	5.00	4.32	89.76	90.07	95.37	73.00
9	5.00	4.32	91.73	91.15	96.39	78.20
10	8.00	7.20	76.60	77.92	95.01	68.00
11	5.00	0.25	80.60	79.14	92.21	78.00
12	0.76	4.32	71.64	73.76	99.03	76.00
13	5.00	8.39	85.65	83.32	91.08	60.61



Gambar 2. Pengaruh jumlah inokulum dan laju aliran terhadap persentase penurunan LAS dalam biofilter kerikil horizontal.

Jumlah inokulum yang diberikan tidak mempengaruhi jumlah LAS yang dirombak. Hal ini disebabkan pertumbuhan bakteri mengikuti jumlah substrat yang tersedia. Dalam proses biofilter bakteri tidak tercampur secara homogen namun sebagian besar menempel pada media penyangga sehingga meskipun laju aliran ditingkatkan tidak semua bakteri akan terlepas, akibatnya jumlah bakteri akan stabil dan tetap dapat melakukan aktivitas metabolisme. Hasil akan berbeda jika perombakan dilakukan dalam kultur kontinu berbentuk kolam. Dalam pengolahan limbah sistem kolam dengan pengadukan aktif maka semakin tinggi aliran limbah akan semakin banyak pula bakteri yang keluar dari sistem. Oleh

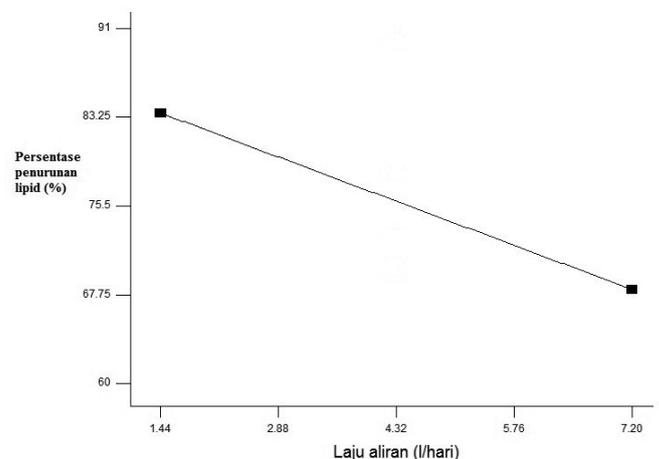
sebab itu, dalam kolam teraduk sempurna sering dilakukan pengembalian sebagian lumpur sesuai dengan jumlah bakteri yang tercuci keluar (Ruiz dkk., 2006). Dalam sistem biofilter, hal sebaliknya harus dilakukan. Jika laju aliran lebih lambat dari laju pertumbuhan bakteri maka akan terjadi penyumbatan, akibatnya sistem memerlukan periode pengurusan yang lebih cepat atau dilakukan pengadukan media untuk mengurangi jumlah bakteri yang menyebabkan penyumbatan.

Jumlah surfaktan LAS yang dapat dirombak mencapai 98,38 %. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan kemampuan *Bacillus cereus* yang digunakan untuk mendegradasi minyak bumi yaitu 62,17 % (Parnadi dkk., 2007) dan sebesar 95 % dari *Bacillus coagulans* (Hidayat dkk., 2010b).

**Persentase Penurunan Lipid**

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa persentase penurunan lipid berkisar dari 60 hingga 90 %. Model regresi yang diperoleh adalah:  $Y_2 = 92,18 - 0,93X_1 - 2,67X_2$  dengan  $R^2 = 0,50$ .

Semakin tinggi laju aliran akan cenderung semakin rendah lipid yang dirombak (Gambar 3). Hal ini disebabkan dengan semakin besarnya laju aliran limbah maka waktu retensi limbah pada sistem akan makin singkat sehingga kemungkinan kontak antara limbah dengan bakteri juga makin singkat. Laju aliran yang cepat juga akan mengakibatkan sebagian besar bakteri ikut terbawa ke luar sistem bersamaan dengan efluen (Medsen, 2008).

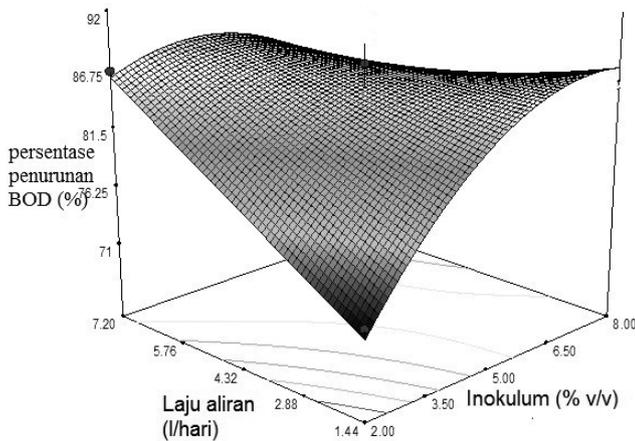


Gambar 3. Pengaruh laju aliran terhadap persentase penurunan lipid.

**Persentase Penurunan BOD**

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa persentase penurunan BOD berkisar dari 71 hingga 91 %. Model regresi yang diperoleh adalah:  $Y_3 = 52,25 + 8,82X_1 + 4,31X_2 - 0,34 X_1X_2 - 0,65 X_1^2$  dengan  $R^2 = 0,74$ .

Peningkatan jumlah inokulum akan meningkatkan persentase penurunan BOD sampai jumlah inokulum 6% yang kemudian relatif stabil dan cenderung turun (Gambar 4). Hal ini menunjukkan bahwa dengan semakin banyaknya inokulum maka mikroorganisme akan lebih cepat beradaptasi dan tumbuh dengan baik sehingga jumlah BOD yang dirombak akan semakin banyak. Pada konsentrasi inokulum yang optimum, laju aliran limbah tidak mempengaruhi kemampuan perombakan BOD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa reduksi BOD mencapai 87,08 % dan tidak berbeda dengan yang dilakukan oleh Prasad dan Munjunath (2011) menggunakan *P. aeruginosa* pada limbah sawit dan limbah rumah tangga dan juga pada limbah buatan dari mie instan (Hidayat dkk., 2010).



Gambar 4. Pengaruh jumlah inokulum *Bacillus cereus* N-09 dan laju aliran terhadap persentase penurunan BOD.

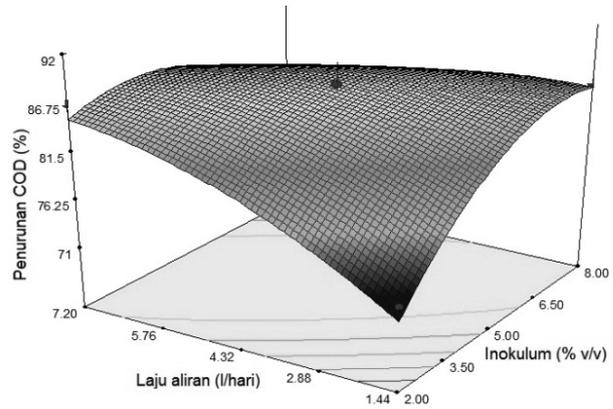
**Persentase Penurunan COD**

Hasil analisis ragam (Tabel 2) menunjukkan bahwa persentase penurunan COD sebesar 73 – 91 %. Model regresi yang diperoleh adalah:

$$Y_4 = 50,89 + 8,30X_1 + 6,01X_2 - 0,61X_1X_2 - 0,52X_1^2 - 0,28X_2^2 \text{ dengan } R^2 = 0,82$$

Peningkatan jumlah inokulum akan meningkatkan penurunan COD sampai jumlah inokulum 6% yang kemudian relatif stabil dan cenderung turun (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak inokulum maka semakin cepat bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan sehingga mempercepat perombakan bahan organik. Hasil ini mirip dengan penelitian Kumaresan, dkk (2009) yang menunjukkan bahwa semakin sedikit inokulum maka kemampuan mereduksi COD akan berkurang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju aliran yang optimum adalah 3,37 L/hari yang menghasilkan reduksi COD sebesar 86%. Hasil ini

lebih tinggi dari yang dilakukan oleh Srinivasan, dkk (2009) pada sistem anaerob yang menurunkan COD sebesar 70%.



Gambar 5. Pengaruh jumlah inokulum *Bacillus cereus* N-09 dan laju aliran terhadap persentase penurunan COD.

**Solusi Optimal Laju Aliran dan Jumlah Inokulum**

Hasil analisis solusi optimal laju aliran dan jumlah inokulum untuk semua parameter uji, diperoleh dua nilai (Tabel 3).

Tabel 3. Solusi optimal laju aliran dan jumlah inokulum

No	Ino- kulum	laju aliran	Persentase penurunan (%)					
			BOD	COD	LAS	LIPID	Desirability	
1	6.83	1.44	87.08	85.41	96.22	81.88	0.168	Selected
2	6.87	1.44	87.10	85.41	96.21	81.84	0.168	
3	6.79	1.44	87.05	85.38	96.23	81.92	0.168	
4	6.90	1.44	87.11	85.42	96.20	81.82	0.168	
5	6.73	1.44	87.00	85.36	96.24	81.96	0.168	
6	6.96	1.44	87.15	85.43	96.19	81.76	0.168	
7	7.76	1.44	87.19	85.25	96.01	81.01	0.166	
8	2.00	1.44	71.14	71.73	97.30	86.42	0.074	

Dari Tabel 3 dapat diketahui bahwa solusi optimal yang disarankan oleh program statistik *Design Expert DX 7.1.5* adalah jumlah inokulum 6,83% dan laju aliran 1,44 l/hari dengan persentase penurunan LAS sebesar 96,22 %, lipid 81,88 %, BOD 87,08 % dan COD 85,41%. Pemilihan ini didasarkan pada rerata persentase penurunan yang paling tinggi dari semua titik optimal terpilih. Hasil ini lebih tinggi dari penggunaan *Pseudomonas aeruginosa* pada limbah yang sama (Hidayat dkk., 2010a).

**KESIMPULAN**

Solusi optimal untuk degradasi LAS, lipid, BOD dan COD pada biofilter horisontal adalah jumlah inokulum 6,83%

dan laju aliran 1,44 l/hari dengan persentase penurunan LAS sebesar 96,22 %, lipid 81,88 %, BOD 87.08 %, dan COD 85,41 %.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim (2004). *Cara uji Kadar Surfaktan Anionik dengan Spektrofotometer Secara Biru Metilen (SNI 06 – 6989.10. 2004)*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Anonim (2005<sup>a</sup>). *An Introduction to Fermentation Technology*. Rai University Press. New Delhi.
- Anonim (2005b). *Cara Uji Minyak dan lemak Secara Gravimetri SNI 06 – 6989 – 51 – 2005*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Arsawan, M., Suyasa, I. W.B. dan Suarna, W. (2007). Pemanfaatan Metode Aerasi dalam Pengolahan Limbah Berminyak, *Ecotrophic*. **2**: 1 – 9.
- Ayaz, S.C dan Akca, L. (2001). Treatment of wastewater by natural systems. *Environment International* **26**: 189 – 195.
- Blount, J.R. (2006). *Texas Restaurant Wastewater Analysis*. Paper on 11<sup>th</sup> Annual Texas On-site Wastewater Treatment Research Council Conference. Texas.
- Dheeman, D.S., J.M. Frias. dan G.T.M. Henehan (2007). Influence of cultivation conditions on the production of a thermostable extracellular lipase from *Amycolatopsis mediterranei* DSM 43304. *J. Ind. Microbiol Biotechnol.* **37**: 1 – 17.
- Gasperz, V. (1995). *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan 2*. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Hidayat, N., Kumalaningsih, S., Noorhamdani dan Wijana, S. (2010a). *Optimasi Proses Degradasi Lipida dan Deterjen dari Pseudomonas sp pada Limbah Cair*: Laporan Penelitian Hibah Penelitian Dalam Peningkatan Publikasi Ilmiah Internasional Program World Class University 2010. Universitas Brawijaya. Malang
- Hidayat, N., Kumalaningsih, S. Noorhamdani dan Wijana, S. (2010b). *Pengaruh Laju Aliran Limbah pada Saringan Kerikil dengan Inokulum Bacillus coagulans UB-9 terhadap Kualitas Limbah Cair yang Dhasilkan*. Seminar Nasional APTA, Yogyakarta. 16 Desember 2010.
- Hidayat, N., Kumalaningsih, S. Noorhamdani dan Wijana, S. (2011). *Aplikasi Biofilter Kerikili Horisontal pada Industri Skala Rumah Tangga*. Seminar Nasional Pemberdayaan Ekonomi Wanita Tani. Malang, 6 – 7 Juni 2011.
- Korkusuz, E.A., Beklioglu, M. dan Demirer, G.N. (2004). Treatment Efficiencies of the Vertical Flow Pilot-Scale Constructed Wetlands for Domestic Wastewater Treatment. *Turkish J. Eng. Env. Sci.* 333 – 344.
- Kotay, S.M. dan Das, D. (2006). Feasibility of biohydrogen production from sewage sludge using defined microbial consortium. WHEC 16 / 13-16 June 2006 – Lyon France. [http://www.cder.dz/A2H2/Medias/Download/ProcPDF/posters/\[GIII\]BioHydrogen/195.pdf](http://www.cder.dz/A2H2/Medias/Download/ProcPDF/posters/[GIII]BioHydrogen/195.pdf) [7 Desember 2010]
- Kumaresan, R., Ramakrishnan, N.S. dan Premalatha, C. (2009). Aerobic Treatment of Distillery Wastewater in a Three Phase Fluidized Bed Biofilm Reactor. *Int. J. Chem. Eng. Res.* **1**: 13 – 20.
- Medsen, E.L. (2008). *Environmental Microbiology*. Blackwell Publishing. Malden.
- Ménoret, C., Boutin, C. Molle, P., Liénard, A. dan Brissaud. F. (2000). *Concentrated Effluent Treatment By Attached-Growth Cultures On Gravel Dan Pozzolana: Experimental Study*. 1<sup>er</sup> Congrès mondial de l’IWA, Paris, 3-7 juillet 2000.
- Newton, C dan Wilson. J. P. (2008). Recirculating gravel filters: high-performance treatment at low cost for two small communities. *Water Sciences & Technology* **58**: 1245 – 1252.
- Oh, S.E., Ginkel, S.V. dan Logan, B.E. (2003). The relatif effectiveness of pH control dan heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environ. Sci. Technol.* **37**: 5186–5190.
- Ojo, O.A dan Oso, B.A. (2009). Biodegradation of synthetic detergents in wastewater. *Afr. J. Biotechnol.* **8**: 1090 – 1109.
- Parnadi, P.S., Kardena, E., Ratnaningsih, E. dan Wisjnuaprpto. (2007). Improving the Effectiveness of Crude-oil Hydrocarbon Biodegradation Employing *Azotobacter chroococcum* as Co Inoculant. *Microbiology Indonesia.* **1**: 5 – 10.
- Robinson, T.P., Wimpenny, J.W.T. dan Earnshaw, R.G. (1991). pH gradients through colonies of *Bacillus cereus* dan the surrounding agar. *J. Gen. Microbiol.* **137**: 2885 – 2889.
- Romero, D., Aguilar, C., Losick, R. dan Kolter, R. (2010). Amyloid fibers provide structural integrity to *Bacillus subtilis* biofilms. *PNAS.* **107**: 2230 – 2234.

- Ruiz, E., Fleming, I.R. dan Putz, G.J. (2006). Passive treatment of municipal landfill leachate in a granular drainage layer. *J. Environ. Eng. Sci.* **5**: 417 – 427.
- Shabtai, Y. (1991). Isolation and Characterization of a Lipolytic Bacterium Capable of Growing In a Low-Water-Content Oil-Water Emulsion. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 1740-1745.
- Sharifuddin, S.S., Yusoff, M.K. dan Halimoon, N. (2010). Preliminary Study on Bioremediation Potential of Agro-Based Mixed Culture (ABMC) for Public Market Wastewater Treatment. *European Journal of Scientific Research* **47**: 064 – 073.
- Siripornadulsil, S dan Labteephanao, W. (2008). The Efficiency of Effective Microorganisms (EM) on Oil and Grease Treatment of Food Debris Wastewater. *KKU Sci. J.* **36(Supplement)**: 27-35.
- Srinivasan, G., Subramaniam, R. dan Kumar, V.N. (2009). A Study on Dairy Wastewater Using Fixed-Film Fixed Bed Anaerobic Diphasic Digester. *American-Eurasian Journal of Scientific Research* **4**: 89 – 92.
- Suhardi (1991). *Petunjuk Laboratorium Analisa Air dan Penanganan Limbah*. PAU Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Suhartini, S., Hidayat, N. dan Rahadi, B. (2009). *Teknologi Produksi Bio-Energi Dan Air Bersih Melalui Pengolahan Limbah Cair Tapioka*. Laporan Penelitian Hibah Strategis Batch I. Universitas Brawijaya.
- Szogi, A.A., Humenik, F.J., Rice, J.M. dan Hunt, P.G. (1997). Swine Waste Water Treatment By Media Filtration. *J. Environ. Sci. Health* **33**: 831-843.
- Venhuis, S.H. dan Hehrvar, M. (2004). Health effects, environmental impacts, dan photochemical degradation of selected surfactants in water. *Int. J. Photoenergy* **6**: 115 – 125.
- Wang, X., Ren, Y. dan Qiang, T. (2011). Study on the Biodegradability of Oxidized Sulfiting Rapeseed Oil Fatliquor. <http://www.ocedanocs.org/bitstream/1834/820/1/Nweke,C.O.293-295.pdf> [5 Februari 2011].