

Isolasi dan Identifikasi Mikroba Berpotensi Pendegradasi Limbah Cair Laboratorium Kesehatan STIKes Maharani Malang

Isolation and Identification Waste Water Degradation Potential Microbes of Maharani Health College Laboratory

Erni Yohani Mahtuti ^{*)}, Farahdita Devi Masyitoh ^{**)}

¹STIKes Maharani Malang/ DIII Analis Kesehatan, Malang, Indonesia

ABSTRAK

Limbah laboratorium menghasilkan karakteristik yang unik, kontras dengan limbah yang dihasilkan oleh kegiatan industri. Limbah bahan yang berasal dari laboratorium memiliki jenis sampah yang lebih banyak, meskipun jumlah bahan yang dibuang tidak banyak. Tujuan penelitian adalah untuk memperoleh isolat bakteri yang mampu bertahan hidup di dalam limbah laboratorium sebagai bakteri pengurai limbah potensial. Metode penelitian adalah observasional laboratorium dengan melakukan tes reaksi isolat untuk mengetahui kemampuan degradasi pati, selulosa, protein dan senyawa non-organik. Teknik pengambilan sampel adalah *purposive sampling*. Tahapan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua yaitu pertama, pembuatan kultur murni dari inokulan yang sebelumnya diencerkan, kemudian pengamatan mikroskopis. Kedua, identifikasi dan uji biokimia sesuai dengan Manual Penentuan Bakteriologi Bergey. Bakteri diremajakan pada nutrisi sedang sehingga isolat diperoleh dalam dua puluh empat jam. Uji pemeriksaan adalah pewarnaan Gram. Selanjutnya uji enzimatis amilase, protease, dan selulosa, dan uji biokimia untuk mengidentifikasi mikroba yang mendegradasi senyawa kimia meliputi; uji oksidase, motilitas, nitrat, lisin, ornithine, H₂O, Glukosa, Mannitol, xilosa, ONPG, Indole, urease, V-P, sitrat, TDA. Hasil penelitian ditemukan *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Isolat yang memiliki indeks amilolitik adalah C1, C2 dan O7 yaitu *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Indeks yang dihasilkan adalah C1 = 0,45, C2 = 0,65 dan O7 = 0,87.

Kata kunci: Isolasi dan identifikasi mikroba, Limbah cair laboratorium, mikroba pendegradasi limbah

ABSTRACT

Laboratory waste produced unique characteristics, contrast to waste produced by industrial activities. Material waste that comes from the laboratory has greater variety of waste types; although the amount of material discarded is not many. The research objective was to obtain bacterial isolates that were able to survive in laboratory waste as potential waste-degrading bacteria. Research method is observational laboratory with isolate reaction testing that was detected by the ability to degrade starch, cellulose, proteins and non-organic compounds. The sampling method was purposive sampling. The stages in this study were divided into two; first, the manufacture of pure cultures from the inoculants previously diluted, then microscopic observations. The second, identification and biochemical test according to Bergey's Manual of Bacteriology Determination. Bacteria were rejuvenated on medium nutrient so that the isolates were obtained twenty four hours old. Then an examination was carried out include Gram staining. Enzymatic test of amylase, protease, and cellulose, and biochemical test to identify microbes that degrade chemical compounds includes; oxidase test, motility, nitrate, lysine, ornithine, H₂O, Glucose, Mannitol, xylose, ONPG, Indole, urease, V-P, citrate, TDA. The results of the study were found *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Isolates that have an amyolytic index are C1, C2 and O7 namely *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The resulting index was C1 = 0.45, C2 = 0.65 and O7 = 0.87.

Keywords: Isolation, identification, laboratory liquid waste, waste degradation microbes

^{*)} Erni Yohani Mahtuti, STIKes Maharani Malang/ DIII Analis Kesehatan, Jl. Akordion Selatan 8B Malang, *handphone* 085755573579, yohanierni@gmail.com

^{**)} Farahdita Devi Masyitoh, STIKes Maharani Malang/ DIII Analis Kesehatan, Jl. Akordion Selatab 8B Malang, *handphone* 085646621674, *email:* farahditadevi@gmail.com

Diterima Tanggal 13 September 2018 dan Publikasi Tanggal 25 Agustus 2019

Pendahuluan

Laboratorium adalah tempat untuk penelitian ilmiah, eksperimen, pengukuran atau pelatihan ilmiah. Selain itu, laboratorium adalah infrastruktur yang sangat mendukung dalam proses belajar mengajar bagi lembaga pendidikan. Ini karena, siswa dapat belajar untuk mengasah dan meningkatkan keterampilan mereka sebagai analis kesehatan. Dalam proses pelaksanaan di laboratorium, sering menggunakan berbagai bahan kimia atau mikroba sebagai contoh untuk melakukan pemeriksaan. Sampel yang digunakan juga beragam, serta; sampel dari pasien rumah sakit, sampel makanan dan minuman, sampel dari lingkungan dan sebagainya. Percobaan dan praktikum di laboratorium meliputi berbagai bidang ilmu dalam program studi analis kesehatan yaitu; bakteriologi, parasitologi, hematologi, kimia klinis, phlebotomy, biokimia, analisis makanan minuman dan sebagainya. Dari berbagai kegiatan ini, pasti mereka akan menghasilkan limbah. Limbah tidak diizinkan untuk dibuang secara langsung ke lingkungan atau ke badan air. Ini karena limbah adalah bahan berbahaya yang harus dirawat terlebih dahulu sebelum dibuang ke lingkungan, sehingga aman bagi lingkungan. Limbah adalah sesuatu yang tidak digunakan, atau sesuatu yang dibuang, yang berasal dari aktivitas manusia dan tidak terjadi dengan sendirinya.

Sampah atau sampah adalah benda padat yang terjadi karena berkaitan dengan aktivitas manusia yang tidak lagi digunakan dan dibuang dengan cara saniter kecuali limbah dari tubuh manusia [1]. Limbah juga dapat diartikan sebagai bahan berbahaya dan beracun, dalam bentuk sisa aktivitas yang mengandung bahan berbahaya / karena sifat atau konsentrasi atau jumlah, baik secara langsung maupun tidak langsung. Itu dapat mencemari atau merusak lingkungan hidup dan makhluk hidup lainnya. Sedangkan limbah cair adalah semua bahan limbah cair yang kemungkinan mengandung mikroorganisme patogen, bahan kimia beracun dan radioaktivitas. Limbah medis terdiri atas limbah infeksius, limbah radiologi, limbah sitotoksik dan limbah laboratorium [2]. Air limbah atau limbah cair yang segera dibuang di lingkungan akan menyebabkan masalah kesehatan. Jadi pengolahan limbah perlu dilakukan untuk menetralkan limbah sehingga aman bagi lingkungan. Metode pengolahan limbah yang dapat dilakukan meliputi: pengenceran, pengolahan awal, sedimentasi limbah, filtrasi, lumpur aktif, kolam stabilisasi, desinfeksi, pembuangan lumpur [3].

Dalam kegiatan laboratorium, limbah yang dihasilkan memiliki karakteristik yang unik dan berbeda dari limbah yang dihasilkan oleh kegiatan industri. Di dalam bahan limbah yang berasal dari laboratorium memiliki variasi jenis sampah yang lebih besar meskipun setiap jenis material yang dibuang tidak banyak. Limbah laboratorium dapat berasal dari bahan mentah kadaluarsa, bahan habis pakai seperti media benih yang tidak digunakan, produk proses di laboratorium seperti sisa spesimen dan produk penanganan limbah seperti jarum suntik sekali pakai setelah autoklaf [4].

Limbah berbahaya memiliki sifat seperti; mudah terbakar, korosif, reaktif dan beracun. Bahan yang paling penting yang dapat terurai, senyawa organik yang mudah menguap, sulit untuk menguraikan senyawa organik (bandel), logam berat beracun, padatan tersuspensi, nutrisi (nitrogen dan fosfor), mikroba dan parasit patogen [5]. Sampah akan memberi efek dan mengganggu lingkungan baik dari industri, limbah rumah tangga atau limbah lembaga kesehatan. Dalam limbah laboratorium adalah mungkin untuk menemukan mikroba yang mampu bertahan hidup dan hidup dalam limbah. Sehingga, mikroba memiliki kemampuan untuk mendegradasi sampah secara biologis. Berdasarkan latar belakang ini, peneliti ingin melakukan penelitian dengan mengisolasi, mengidentifikasi mikroba dalam limbah laboratorium Kesehatan sebagai upaya untuk memperoleh isolat mikroba yang mampu mendegradasi limbah laboratorium.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain: Nutrien agar, Mc. Conkey Agar, Skim Milk Agar, transport box (*ice box*), limbah cair laboratorium, Amilum agar, Iodin, CMC media, larutan congo red 0.1%, NaCl 1%, kapas, kertas coklat pembungkus. Sedangkan alat yang digunakan adalah cawan petri disk, Erlenmeyer, Beaker Glass, ose, tabung reaksi, pengaduk kaca, neraca analitik, otoklaf, inkubator, sterilisator “Corona ZTP 80A-7”

Metode

Jenis penelitian adalah penelitian observasional observasional laboratorium, untuk menentukan pengambilan sampel limbah cair laboratorium sehingga diperoleh isolat mikroba. Pendekatan observasional laboratorium dilakukan di laboratorium Maharani *Health College of Analyst*, untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi morfologi mikroba, dan melakukan tes reaksi isolat untuk mengetahui kemampuan degradasi pati, selulosa, protein dan senyawa non-organik. Teknik pengambilan sampel adalah purposive sampling [6]. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Kesehatan Maharani *Health College* dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Jenis sampel adalah limbah cair dari laboratorium Analisis Kesehatan dan digunakan 250 ml. Variabel penelitian adalah independen (isolasi dan identifikasi mikroba limbah cair) dan tergantung (limbah cair laboratorium Analisis Kesehatan)

Cara Kerja

Sub. prosedur 1: Pembuatan kultur murni dengan proses pemurnian sebelumnya (sumber inokulan yang sebelumnya dilakukan pengenceran dan penanaman pada media nutrisi sehingga diinkubasi pada 37 ° C selama 24 jam). Satu koloni bakteri diinkubasi pada suhu 37°C untuk pengenceran dan pengenceran media nutrisi kemudian diinkubasi pada 37°C selama 24 jam. Setelah semua melakukan makroskopik & pengamatan mikroskopis. Koloni yang tumbuh dimurnikan, satu koloni bakteri dari media pengenceran diambil, dikerok ke dalam media baru kemudian diinkubasi pada 37 ° C selama 24 jam. Ini dibuat 3 kali kemudian diamati makroskopik dan mikroskopik.

Sub-sub. Prosedur 1: Uji enzimatik untuk amilase dengan mengikis isolat pada media Agar Pati, sehingga bakteri diinkubasi selama 24-48 jam pada 37°C. Kemudian yodium Gram ditambahkan ke budaya dan mengamati zona bening terbentuk.

Sub. Prosedur 2: Identifikasi dan uji biokimia. Identifikasi dan karakterisasi menurut dikotomi dari Manual Penentuan Bakteriologi Bergey. Bakteri diremajakan kembali pada hara mediu sehingga isolat berumur 24 jam, kemudian diperiksa untuk pewarnaan Gram, tahan asam, dan endospora. Sedangkan untuk uji biokimia meliputi uji fermentasi glukosa, uji kebutuhan oksigen, uji katalase, uji Na + resistance dan uji oksidase. Bakteri yang diinokulasi diremajakan pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam. Sedangkan uji biokimia untuk mengidentifikasi mikroba yang mendegradasi senyawa kimia di samping senyawa organik, termasuk uji oksase, katalase, peleburan gelatin, sitrat, urase, metil merah, vapor poskauer, nitrat, indol, dan motilitas [7].

Sub-sub. Prosedur 2: Uji protease oleh bakteri ditumbuhkan pada media Agar Skim Milk dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Kemudian diamati zona bening yang terlihat.

Sub. prosedur 3: Tes enzimatik pada amilase, protease dan selulosa.

Sub-sub. Prosedur 3: Uji selulolitik dilakukan dengan menguji isolat bakteri dan menginokulasi pada media yang mengandung selulosa murni, metil selulosa karboksi (CMC) dan diinkubasi selama 48 jam pada 37°C. Lalu dicuci dengan 0,1% larutan congo red selama 10 menit dan dibilas dengan NaCl 1%, hasilnya akan muncul zona bening di sekitar koloni. Indeks hasil sebagai berikut:

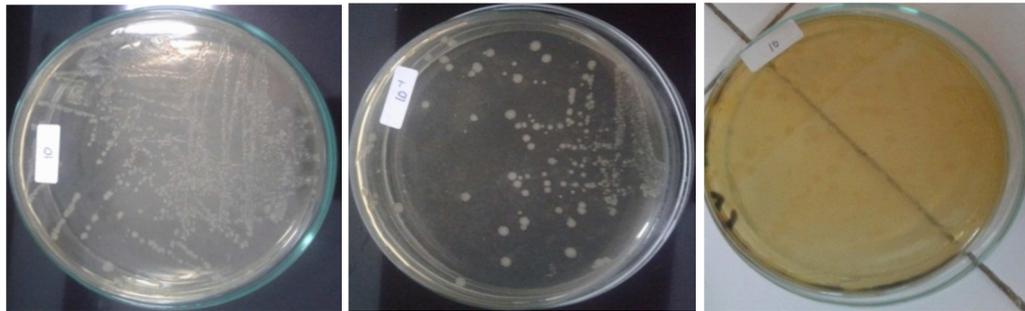
$$IA/IS/IP = \frac{X1 - X2}{X2}$$

IA/IS/IP = Indeks aktivitas amilolitik, selulolitik, proteolitik
X1 = Rata-rata diameter zona bening
X2 = Rata-rata diameter koloni (Astriani, 2017)

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil isolasi bakteri serta identifikasi bakteri pada limbah cair laboratorium Kesehatan di STIKes Maharani Malang maka didapatkan hasil sebagai berikut seperti pada Gambar 1. merupakan isolasi bakteri pada media NA dan Mc. Conkey.



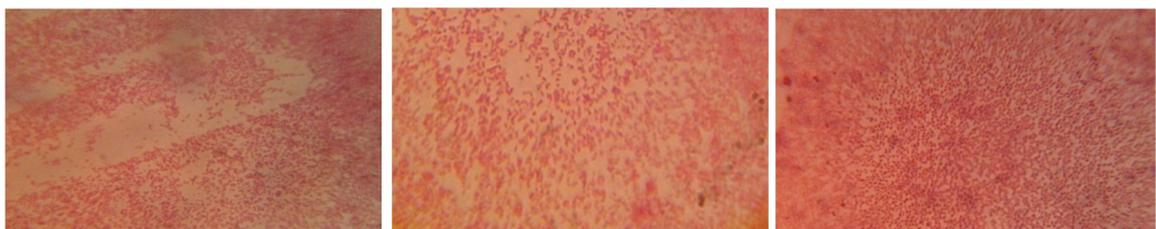
Gambar 1. Isolat bakteri limbah cair pada media nutrient agar dan Mc. Conkey

Pada hasil isolasi limbah cair laboratorium, setelah dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°C dan dilakukan pewarnaan serta penanaman pada media miring maka dihasilkan karakteristik pada Tabel 1 dan isolat mikroba (Tabel 2).

Tabel 1. Isolat Bakteri Limbah Laboratorium Kesehatan STIKes Maharani

| No. | Isolat | Gram |
|-----|--------|------|
| 1 | C1 | - |
| 2 | C2 | - |
| 3 | C3 | - |
| 4 | C4 | - |
| 5 | C5 | - |
| 6 | C6 | - |
| 7 | O7 | - |
| 8 | O8 | - |
| 9 | O9 | - |
| 10 | O10 | - |

Berdasarkan identifikasi pada proses uji pewarnaan didapatkan hasil seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil uji pewarnaan, isolat C1, C2, O7 Gram (-) berbentuk batang

Setelah didapatkan isolat langkah selanjutnya adalah melakukan uji biokimia yang meliputi: uji fermentasi glukosa, uji kebutuhan oksigen, uji katalase, uji ketahanan Na^+ dan uji oksidase. Bakteri hasil inokulasi diremajakan pada medium NA dan diinkubasi selama 24 jam. Identifikasi mikroba dengan uji meliputi uji oksidase, katalase, pencairan gelatin, sitrat, urase, metil red, vages poskauer, nitrat, indol, serta motilitas dan didapatkan hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Spesies Hasil Identifikasi Limbah Laboratorium Kesehatan STIKes Maharani

| No. | Sampel | Hasil Identifikasi |
|-----|--------|-------------------------------|
| 1 | C1 | <i>Pseudomonas stutzeri</i> |
| 2 | C2 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 3 | C3 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 4 | C4 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 5 | O7 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| 6 | O9 | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 7 | B10 | <i>Proteus mirabilis</i> |

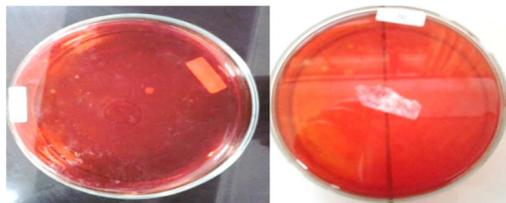
Sedangkan uji biokimiawi organik yang meliputi: uji enzimatik amylase, protease, dan selulolitik maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Uji Enzimatik Amylase: Uji enzimatik amylase digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi atau menguraikan limbah yang mengandung amilum.



Gambar 3. Hasil uji enzimatik amilase terhadap Isolat C1, C2, O7

Adapun indeks amylase rata-rata yang dihasilkan oleh C1=0,45, C2=0,65 dan O7=0,87.



Gambar 4. Hasil uji selulolitik isolat C1, O7

Uji Protease: Dari semua isolat yang dihasilkan tidak ada satupun isolat yang dapat membentuk zona bening pada media skim milk agar, setelah diinkubasi dan dilakukan dengan uji penguraian protein. Dalam hal ini membuktikan ternyata isolat tidak mempunyai kemampuan dalam mendegradasi senyawa yang terlarut dalam limbah laboratorium Analis Kesehatan yang mengandung protein.

Uji Selulolitik: Isolat yang telah diinkubasi 24 jam kemudian diinokulasi menggunakan media CMC Agar, dan diinkubasi pada suhu 30°C 2x 24 jam. Pada pengujian kemampuan selulolitik diuji dengan Gram's Iodin [8]. Bila terbentuk zona bening setelah diuji dengan Gram's iodine setelah dibiarkan 3-5 menit, maka aktivitas selulose terlihat antara perbandingan zona bening dengan diameter koloni

setelah ditambahkan congo red 1% . Tetapi untuk hasil penelitian ini tidak menunjukkan zona bening disekitar koloni. Maka menunjukkan bahwa isolat tidak mampu untuk menguraikan selulosa.

Pembahasan

Adanya mikroorganisme dalam cemaran menunjukkan mikroorganisme tersebut mampu melakukan degradasi terhadap senyawa larut dalam limbah. Potensi bakteri yang mempunyai kemampuan dalam mendegradasi diukur berdasarkan kemampuan amilolitik, selulolitik, dan proteolitik.

Potensi secara kualitatif dilakukan dengan menguji aktivitas bakteri dalam mendegradasi amilum dengan media starch agar [9]. Pada media yang ditambahkan Gram's iodine mordant akan terbentuk zona bening. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mempunyai enzim amilase ekstraseluler, yang dapat menghidrolisis pati yang terkandung dalam media starch agar tersebut. Amilum yang telah terdegradasi tidak dapat berikatan dengan iodine, sehingga terbentuk zona bening di daerah sekitar koloni bakteri. Seperti halnya dari hasil penelitian ini, yang dapat dilihat pada Gambar 3; dari limbah laboratorium kesehatan ternyata didapatkan isolat yang dapat membentuk zona bening disekitar koloni, yakni isolat C1, C2 dan O7 yang berdasarkan uji biokimia serta medium Mc-Conkey menunjukkan spesies tersebut adalah *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Akan tetapi pada medium susu skim (Skim Milk Agar) yang digunakan untuk mengetahui potensi bakteri dalam mendegradasi limbah yang mengandung protein, tidak menunjukkan zona bening. Hal ini membuktikan bahwa bakteri tidak mampu mensekresikan enzim protease. Apabila mampu membentuk zona bening, menunjukkan bahwa terjadi reaksi penguraian protein menjadi asam amino oleh enzim protease yang dihasilkan oleh bakteri pada media tersebut.

Sedangkan kemampuan selulolitik menunjukkan bahwa bakteri mampu mensekresikan enzim selulosa. Hal ini dapat diuji dengan mengukur indeks selulolitik yang terbentuk pada zona bening disekeliling bakteri pada media CMC (*Carboxy methyl cellulose*). Zona bening terlihat setelah ditambahkan congo Red 1%, dan dilunturkan dengan NaCl 1% untuk menghilangkan warna. Medium yang mengandung selulosa terlihat merah karena adanya ikatan dengan pewarna congo red 1% . Hasil penelitian belum menunjukkan hal ini, maka isolat yang ditemukan belum mampu atau tidak mampu mendegradasi selulosa. Apabila isolat yang ditemukan mempunyai kemampuan mendegradasi substrat yang mengandung selulosa, maka bakteri tersebut mampu mengubah selulosa menjadi gula sederhana, sehingga mampu digunakan sebagai sumber karbon dan energi bagi metabolisme pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat memproduksi enzim selulose yang merupakan biokatalisator pada proses hidrolisa selulosa menjadi selulosa yang rantainya lebih pendek ataupun oligosakarida yang selanjutnya akan diuraikan menjadi glukosa. Menurut Zhang and Zhang, selulose merupakan enzim-enzim yang saling bekerjasama secara sinergi sehingga mampu untuk menghidrolisa selulosa [10].

Inokulan yang ditemukan pada penelitian ini adalah *Pseudomonas stutzeri*, dan *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu mendegradasi limbah laboratorium untuk senyawa terlarut mengandung amilum. Berdasarkan beberapa penelitian, sebenarnya bakteri ini mempunyai kemampuan untuk mendegradasi amilum, protein, ataupun selulosa. Akan tetapi, aktivitas bakteri tersebut tidak tampak jelas, karena dari hasil penelitian isolat yang banyak ditemukan dalam limbah lebih banyak mengarah pada spesies *Proteus mirabilis*. Didalam proses pengolahan atau pendegradasian senyawa, terjadi simbiosis sinergisme, tetapi berdasarkan hasil penelitian banyak ditemukan spesies *Proteus mirabilis*, dimana bakteri ini bersifat patogen. Sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* berdasarkan penelitian Litaay, mampu menurunkan kadar fosfat dalam limbah cair rumah sakit hingga 5,17 mg/l dalam waktu 15 hari, dan penambahan bakteri ini mampu menurunkan kandungan fosfat dalam limbah sebesar 47,30% [11].

Kehadiran mikroorganisme pendegradasi cemaran, pada habitatnya akan mampu melakukan remediasi atau pemulihan, tetapi dalam jumlah populasinya yang rendah dan suplemen tertentu menyebabkan kemampuan remediasinya rendah. Keefektifan bioremediasi sangat ditentukan oleh konsentrasi mikroba pendegradasi cemaran, konsentrasi cemaran, faktor fisik dan kimia [12].

Kesimpulan

Identifikasi isolat bakteri dari limbah laboratorium Kesehatan STIKes Maharani ditemukan spesies *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Isolat yang mempunyai indeks amilolitik adalah C1 (0,45), C2 (0,65) dan O7 (0,87), yakni berdasarkan uji biokimia, dan juga McConkey antara lain; *Pseudomonas stutzeri*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Saran adalah melakukan uji bakteri yang ditemukan dalam limbah dengan berbagai kandungan kimia.

Ucapan Terima Kasih

DRPM KEMENRISTEKDIKTI yang telah memberikan bantuan dana berupa Hibah PDP dan RISBANGDIKTI yang telah memberikan dana penelitian, sehingga dapat menunaikan Tri Dharma Perguruan Tinggi, khususnya penelitian, dengan nomor kontrak 120/SP2H/LT/DRPM/2018

Daftar Pustaka

- [1] Kusnoputranto, Haryoto, 1986. *Kesehatan Lingkungan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- [2] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1997. Profil Kesehatan Indonesia.
- [3] Azwar, A., 1996. *Pengantar Ilmu Kesehatan Lingkungan*. Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- [4] Lestari Estu, Chairlain. 2011. *Pedoman teknik Dasar untuk Laboratorium kesehatan. (Manual of Basic Techniques for A Health Laboratory)* Alih Bahasa oleh Albertus Agung Mahode. Edisi 2. Penerbit EGC. Jakarta.
- [5] Waluyo, L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. UMM Press. Malang
- [6] Jutono. J. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian UGM. Yogyakarta.
- [7] Waluyo, L. 2008. *Teknik dan Metode Mikrobiologi*. UMM Press, Malang.
- [8] Azizah, N.S., Kahar M., dan Sattya Arimurni, 2014. *Screening of cellulolytic bacteria from vermicomposting empty fruit bunch of palm oil*. Jurusan Biologi. Fakultas MIPA. Universitas Jember.
- [9] Zahidah, D. dan Shovitri, M. 2013. *Isolasi, Karakterisasi dan Potensi Bakteri Aerob Sebagai Pendegradasi Limbah Organik* JURNAL SAINS DAN SENI POMITS Vol. 2. No.1:2337-3520.
- [10] Mulyasari, W., Suprayudi, M.A., Junior, M.Z. dan Sunarno, M.T. 2015. *Selection and Identification of cellulolytic bacteria degrading cassava leaf crude fiber (manihot esculenta) isolated from gourami fish (Osphronemus gouramy) digesting tract*. Program Studi Ilmu Akuakultur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- [11] Litaay, G.W. 2013. *Kemampuan Pseudomonas aeruginosa dalam Menurunkan Kandungan Fosfat Limbah Cair Rumah Sakit*. Program Studi Biologi. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atmajaya. Yogyakarta.
- [12] Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi "Menguak Dunia Mikroorganisme"*. Jilid 2. YRAMA WIDYA. Bandung.
- [13] Madigan, MT., Martinko, JM., and Parker, J. 2000. *Biology of microorganisms*. Prentice Hall. Inc., New Jersey