

## Perbandingan Kemampuan *Effective Microorganisms* (EM4) dan *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Cair Tahu pada Kondisi Aerob

Muhammad Andry Prio Utomo<sup>1\*</sup>, Sitoresmi Prabaningtyas<sup>1</sup>, Mardiana Leilitawati<sup>1</sup>, Aghits Laily Rizqiyah<sup>1</sup>, Fika Cahya Lovely<sup>1</sup>, Nadila Sekar Zahidah<sup>1</sup>, Nano Rizki Pratama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang  
Jl. Semarang no. 5, Malang

\*E-mail: muh.andry.utomo.fmipa@um.ac.id

**Abstrak.** Limbah cair industri tahu kaya akan bahan organik dan apabila langsung dibuang ke lingkungan dapat berpotensi sebagai pencemar. Limbah cair tahu pada lingkungan perairan mudah terdekomposisi, sehingga membuat daya dukung lingkungan terhadap kehidupan perairan semakin berkurang. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan kultur campuran *effective microorganisms* (EM4) dan kultur tunggal *B. subtilis* dari natto dalam bioremediasi limbah tahu. Bioremediasi dilakukan secara aerob, perbandingan jumlah inoculum mikroorganisme dan limbah tahu adalah 1:20 dan waktu inkubasi yang digunakan adalah selama 8 hari. Parameter yang dihitung dalam penelitian adalah TDS, pH, suhu dan bau. Perlakuan EM4 dan *B. subtilis* mampu menurunkan TDS dengan prosentase penurunan berturut-turut adalah 29,3% dan 84,6%. pH hasil inkubasi menunjukkan kenaikan menjadi 6,5 pada perlakuan EM4 dan 7,6 pada perlakuan *B. subtilis* dari pH awal limbah 4,3. Suhu akhir limbah tahu dengan perlakuan EM4 turun menjadi 27,6°C dan perlakuan dengan *B. subtilis* menjadi 25,8°C dari suhu awal limbah tahu 29,5°C. Pengukuran bau menunjukkan hanya EM4 yang mampu merubah bau limbah menjadi tidak menyengat. Perlakuan limbah tahu dengan EM4 selama 8 hari mempengaruhi nilai TDS, pH, suhu dan bau limbah tahu sehingga memenuhi persyaratan limbah golongan II.

**Kata kunci:** Bioremediasi; limbah cair tahu; EM4; *B. subtilis*.

**Abstract.** Liquid waste from tofu industry is rich in organic matter and if it is directly discharged into the environment, it potentially become pollutant. Tofu liquid waste in aquatic environment is easily decomposed, thereby it can decrease the environmental carrying capacity for aquatic life. The objective of this study was to determine the ability of consortium culture of effective microorganisms (EM4) and single culture of *B. subtilis* from natto in bioremediation of tofu waste. Bioremediation was carried out aerobically, the ratio of the inoculum of microorganisms and tofu waste was 1:20 and the incubation period was 8 days. The parameters which measured in this study were TDS, pH, temperature and odor. EM4 and *B. subtilis* treatments were able to reduce TDS with the percentages of 29.3% and 84.6%, respectively. The pH of the incubation showed an increase to 6.5 in EM4 treatment and 7.6 in *B. subtilis* treatment from the initial pH is 4.3. The final temperature of tofu waste with EM4 treatment decreased to 27.6°C and treatment with *B. subtilis* to 25.8°C from the initial temperature of tofu waste which was 29.5°C. Odor measurements showed that only EM4 was able to lowers odor of waste to be less pungent. Treatment of tofu waste with EM4 for 8 days decreased the TDS value, pH, temperature and odor of tofu waste that it meets the requirements for group II of liquid waste.

**Keywords:** Bioremediation, liquid tofu waste, EM4, *B. subtilis*.

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara agraris dimana sebagian besar penduduknya memiliki pekerjaan sebagai petani. Jumlah penduduk Indonesia yang bekerja sebagai petani merupakan yang terbesar

ketiga di Asia setelah Cina dan India (Tambunan, 2012). Salah satu komoditas pangan yang diunggulkan dari pertanian di Indonesia adalah kedelai. Kedelai merupakan sumber protein yang penting bagi penduduk Indonesia karena harganya yang murah dan kandungan protein pada kedelai diketahui cukup tinggi yaitu diatas 40% (Sharma dkk., 2014). Hasil penelitian Kularni (2007) menyebutkan bahwa kedelai kaya akan asam amino essensial bagi tubuh manusia yaitu glisin, triptopan dan lisin, serat, mineral dan vitamin penting, serta senyawa antioksidan seperti fitosterol dan asam lemak omega tiga. Berdasarkan kandungan tersebut kedelai dapat dijadikan sumber protein nabati untuk substitusi protein hewani seperti susu, telur, daging sapi dan daging ayam (Akubor, 2005). Sebelum dikonsumsi biasanya kedelai diolah terlebih dahulu menjadi makanan olahan seperti susu kedelai, tempe, kecap, tauco dan tahu yang penting untuk pola konsumsi masyarakat Indonesia.

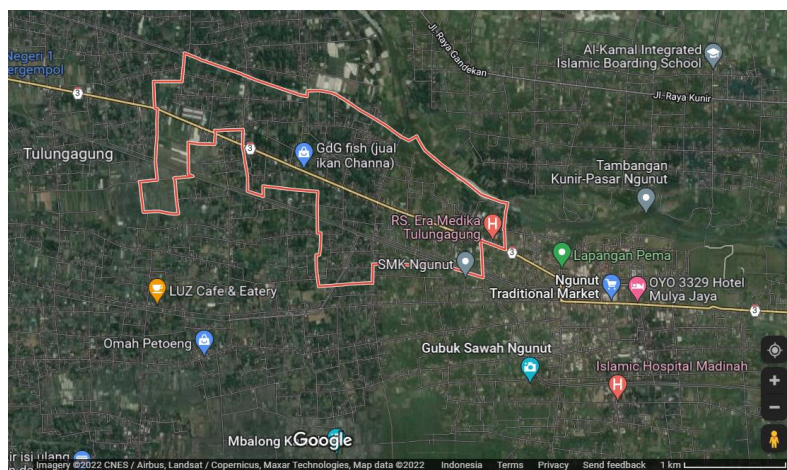
Tahu adalah salah satu produk pangan yang banyak digemari oleh hampir seluruh kalangan masyarakat di Indonesia. Oleh karena itu menjadikan industri tahu sebagai salah satu industri makanan olahan kedelai yang berkembang pesat di Indonesia, bahkan telah diakui oleh dunia (Rothenberg dkk., 2016). Dalam proses pengolahannya, industri tahu menghasilkan limbah padat maupun cair. Limbah cair tahu yang dihasilkan dari proses pencucian kedelai, perendaman dan pencetakan tahu merupakan yang paling berpotensi mencemari perairan (Pagoray dkk., 2021). Limbah cair tahu memiliki derajat keasaman yang rendah yaitu sekitar 4-5, berbau menyengat dan memiliki kandungan karbon organik yang tinggi, sehingga tidak memenuhi baku mutu limbah menurut Permen LH nomor 5 tahun 2014 dan apabila tidak diolah dengan baik akan menurunkan daya dukung lingkungan untuk kehidupan biota perairan (Astuti & Ayu, 2019; Faisal, dkk., 2016; Pagoray dkk., 2021).

Berdasarkan permasalahan diatas diperlukan solusi dalam pengolahan limbah cair tahu supaya memenuhi persyaratan baku mutu limbah menurut Permen LH nomor 5 tahun 2014 sebelum dibuang ke lingkungan perairan. Salah satu alternatif pengolahan limbah yang mudah, cepat, aman dan murah adalah dengan proses bioremediasi yang memanfaatkan mikroorganisme. Dalam proses bioremediasi dapat menggunakan kultur campuran mikroorganisme (konsorsium) atau kultur tunggal. Konsorsium mikroorganisme (EM4) dilaporkan mampu menurunkan BOD dan pada limbah rumah sakit hingga lebih dari 90% (Pitriani dkk., 2015). Sedangkan, bioremediasi dengan kultur tunggal *Bacillus subtilis* diketahui mampu menurunkan BOD pada limbah batik (Fidiastuti dkk., 2022). Penelitian ini akan mengkaji dan membandingkan potensi konsorsium mikroorganisme EM4 dan kultur tunggal mikroorganisme *B. subtilis* dalam bioremediasi limbah cair tahu melalui pengukuran karakteristik fisika limbah (TDS, suhu dan bau) dan karakteristik kimia limbah (pH) selama 8 hari inkubasi secara aerobik.

## MATERIAL DAN METODE

### Pengambilan Sampel Limbah Tahu

Sampel limbah tahu yang digunakan diambil dari semua industri tahu skala rumah tangga di desa Pulosari, Kabupaten Tulungagung, Jawa Timur. Teknik pengambilan sampel berupa simple random sampling. Peta lokasi desa Pulosari terdapat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Gambar lokasi Desa Pulosari (dikelilingi oleh garis merah).**

\*Keterangan: Gambar didapatkan dengan menggunakan aplikasi Google Earth.

### Aktivasi EM4 dan Kultur *Bacillus subtilis*

Aktivasi EM4 dilakukan dengan metode pada penelitian Nurfitriani dkk. (2014), dengan modifikasi. Sebanyak 100 ml EM4 dicampur dengan 1000 ml larutan molase. Larutan molase yang digunakan merupakan hasil pencampuran akuades dan molase dengan perbandingan volume 2:1 kemudian dipanaskan dan diaduk supaya panasnya merata. Campuran EM4 dan molase kemudian ditempatkan dalam wadah tertutup dan diinkubasi selama 6 hari. Campuran EM4 dan molase dikocok setiap hari supaya sel EM4 tidak terpresipitasi di bawah wadah. Selama masa inkubasi tutup wadah dibuka tiga hari sekali untuk mengeluarkan gas yang dihasilkan dari fermentasi mikroorganisme.

Kultur *Bacillus subtilis* didapatkan dari natto makanan fermentasi kedelai Jepang. Lendir pada natto dipisahkan dari butir kedelai dengan menggunakan stik steril. Setelah dipisahkan lendir natto kemudian ditempatkan pada wadah steril dan ditimbang secara aseptis masing-masing 50 gram untuk perlakuan limbah tahu dengan menggunakan *B. subtilis*. Lendir natto kemudian disimpan dalam refrigerator suhu 4°C sebelum digunakan.

### Uji Bioremediasi

Wadah botol dengan volume 1,5 liter disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%. Limbah tahu sebanyak 1 liter kemudian dipindahkan secara aseptis ke dalam wadah botol steril. Pada

penelitian ini menggunakan perbandingan antara kultur mikroorganisme dan limbah tahu adalah 1:20, sehingga dibutuhkan EM4 teraktivasi sebanyak 50 ml dan kultur *B. subtilis* sebanyak 50 gr per botolnya. Kultur mikroorganisme diinokulasikan secara aseptis ke dalam limbah tahu. Kultur mikroorganisme dan limbah tahu kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan stik steril. Kultur mikroorganisme dan limbah tahu diinkubasi secara aerob selama 8 hari. Setiap perlakuan masing-masing diulang sebanyak 3 kali. Pada saat inkubasi masing-masing botol diberi aerator supaya kadar oksigen terlarut tetap melimpah dan kultur mikroorganisme dapat tercampur dengan limbah tahu.

#### **Pengukuran Karakteristik Fisika**

Karakteristik fisika yang diukur dalam penelitian ini adalah kandungan TDS, suhu dan bau. Setiap harinya sebanyak 25 ml limbah tahu per perlakuan diambil untuk dilakukan pengukuran karakteristik fisika dan kimianya. Pengukuran kadar zat padat terlarut dilakukan dengan menggunakan TDS meter portable. Pengukuran suhu dilakukan dengan thermometer portable. Bau limbah tahu diketahui dengan membau dan dibagi ke dalam tiga tingkatan yaitu sangat menyengat, menyengat dan tidak menyengat.

#### **Pengukuran Karakteristik Kimia**

Karakteristik kimiawi limbah yang diukur adalah pH limbah. Pengukuran pH limbah dilakukan dengan pH meter portable.

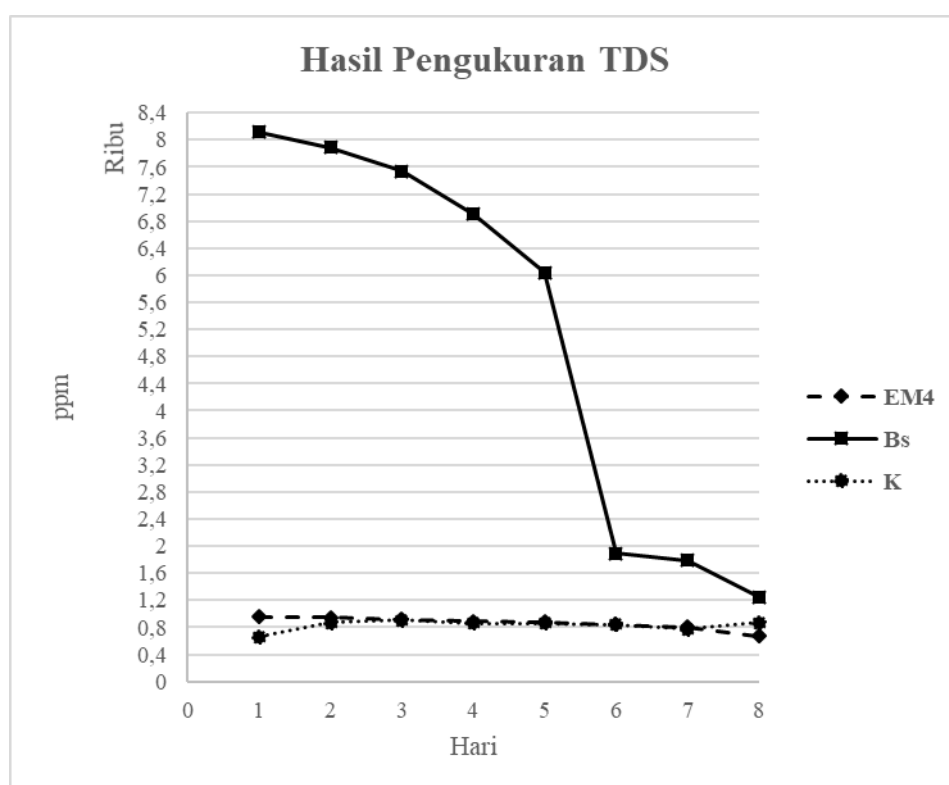
#### **Pengumpulan Data dan Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis secara statistis dengan perhitungan ANOVA ganda dalam RAL, kemudian dianalisis deskriptif dengan membandingkan kadar pH, zat padat terlarut (TDS), temperatur, dan bau. Data yang diperoleh, kemudian dibandingkan dengan standar baku mutu limbah cair untuk kegiatan industri golongan II KEP 51/MENLH/10/1995 dalam Permen LH Nomor 5 Tahun 2014 untuk mengetahui perubahan pH, zat padat terlarut (TDS) temperatur, dan bau yang baik antara perlakuan yang diberi agen bioremediator *Bacillus subtilis* dan EM4.

## HASIL

### Total Padatan Terlarut (TDS)

Hasil Pengukuran total padatan terlarut (TDS) limbah tahu selama 8 hari inkubasi menunjukkan bahwa TDS pada perlakuan EM4 dan Bs mengalami penurunan. Namun terjadi kenaikan jumlah padatan terlarut terjadi pada perlakuan K (Gambar 2). Nilai TDS pada perlakuan EM4 pada hari ke 1 adalah 950 ppm dan turun menjadi 672 ppm pada hari ke 8 dengan prosentase penurunan 29,3%. Kandungan TDS pada perlakuan Bs memiliki nilai 8116 ppm pada hari ke 1 dan 1250 pada hari ke 8 dengan prosentase penurunan 84,6%. Berdasarkan perhitungan ANOVA ganda dalam RAL mendata bahwa interaksi EM4, Bs dan K tidak mempengaruhi TDS pada limbah. Namun banyaknya ulangan dapat mempengaruhi nilai TDS dalam limbah cair tahu. Hal itu dibuktikan dengan nilai F-hitung (2,58) lebih kecil dari F-tabel 5% (3,74).

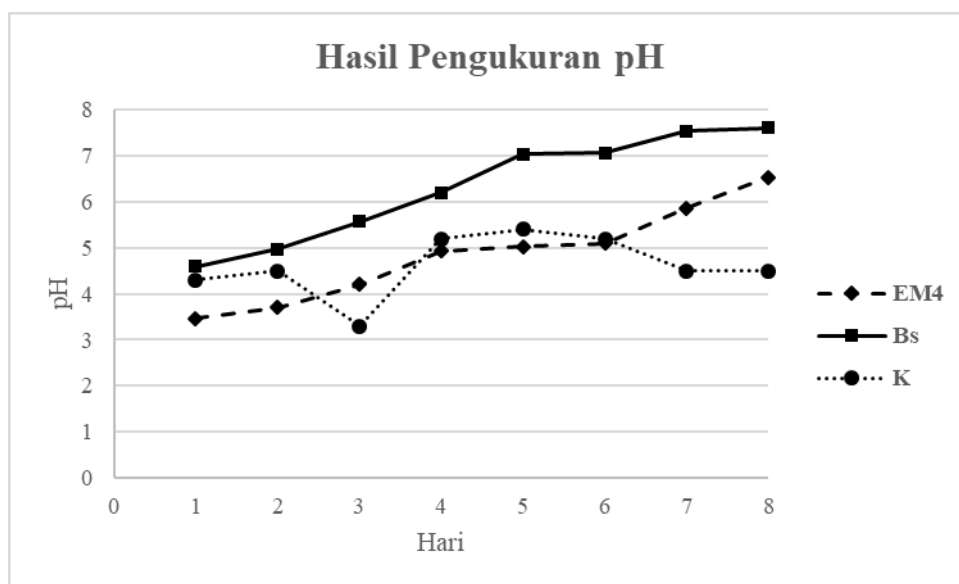


Gambar 2. Hasil Pengukuran TDS Limbah Tahu. Keterangan: EM4: *Effective Microorganisms* 4, Bs: *B. subtilis* dan K: Kontrol.

### pH

Hasil pengukuran limbah pH tahu selama 8 hari terdapat pada Gambar 3 dibawah ini. pH awal limbah tahu berdasarkan perhitungan pH dari hari 1 adalah berkisar antara 3,5 hingga 4,5. pH limbah tahu dengan perlakuan EM4 memiliki nilai 3,5 pada hari 1 pengukuran dan naik menjadi 6,5 pada hari ke 8. Perlakuan Bs menunjukkan pH awal adalah 4,6 dan pada hari ke 8 naik menjadi

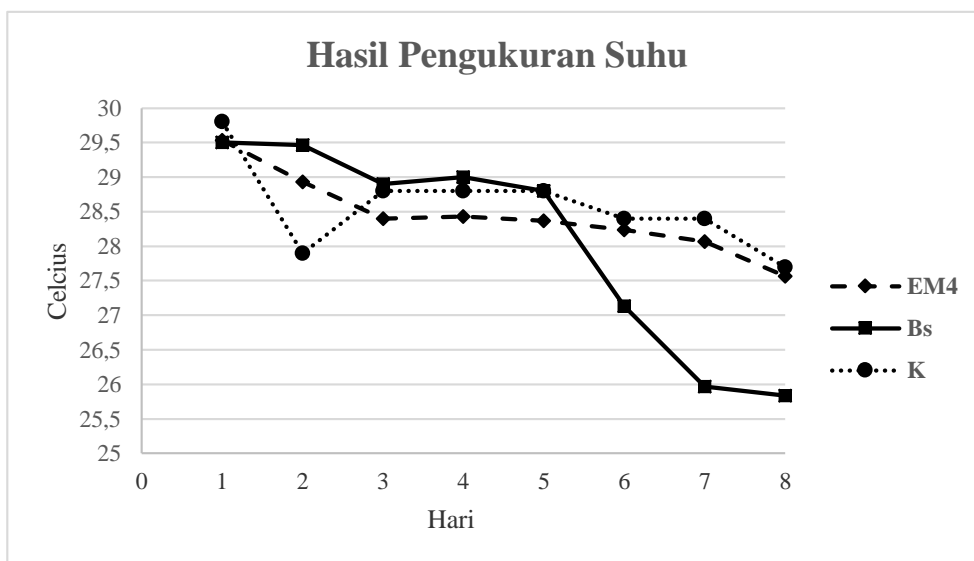
7,6. Perlakuan EM4 dan Bs sama-sama menghasilkan kenaikan pH sejumlah 3. pH perlakuan kontrol tanpa penambahan agen bioremediator menunjukkan pH yang cenderung stabil yaitu 4,5 pada hari 1 dan hari 8 pengukuran. Perhitungan ANOVA ganda dalam RAL terkait pH limbah cair tahu, didapatkan data bahwa interaksi antara kombinasi EM4 dan Bs sangat nyata mempengaruhi pH dari limbah cair tahu. Hal itu diperoleh dari nilai F- hitung (0,2107) lebih kecil dari F-tabel 5% (2,70).



**Gambar 3. Hasil Pengukuran pH Limbah Tahu. Keterangan: EM4: *Effective Microorganisms 4*, Bs: *B. subtilis* dan K: Kontrol.**

### Suhu

Hasil pengukuran suhu limbah tahu selama 8 hari inkubasi menunjukkan bahwa semua perlakuan menghasilkan penurunan suhu dari hari ke 1 hingga ke 8 perlakuan (Gambar 4). Penurunan suhu paling tinggi terjadi pada perlakuan dengan menggunakan Bs karena berhasilkan menurunkan suhu limbah tahu sebesar 3,7°C, suhu awal 29,5°C menjadi 25,8°C. Suhu limbah tahu pada perlakuan EM4 menurun menjadi 27,6°C dengan besar derajat penurunan adalah 1,9°C. Sedangkan nilai perununan suhu terendah ditunjukkan oleh perlakuan kontrol yaitu 1,8°C, suhu awal 29,5°C menjadi 27,7°C pada akhir waktu inkubasi. Perhitungan ANOVA ganda dalam RAL menyebutkan bahwa interaksi Perlakuan, interaksi EM4, Bs dan EM4-Bs sangat nyata, sehingga pengaruh ulangan dapat diabaikan. Hal itu dibuktikan dengan nilai F-hitung Perlakuan (0,13) lebih kecil dari F-tabel 5% (2,42), Lalu F-hitung EM4 (0,064) lebih kecil dari F-tabel 5% (4,60), kemudian nilai F-hitung Bs (0,098) lebih kecil dari F-tabel 5% (2,76) dan nilai F-hitung EM4-Bs (0,15) lebih kecil dari F-tabel 5% (2,70).



Gambar 4. Hasil Pengukuran Suhu Limbah Tahu. Keterangan: EM4: *Effective Microorganisms* 4, Bs: *B. subtilis* dan K: Kontrol.

### Bau

Hasil pengukuran bau limbah tahu pada setiap perlakuan tersaji pada Tabel 1. Hasil pengukuran bau menunjukkan perlakuan EM4 dan Kontrol dapat menurunkan bau awal limbah tahu yang sangat menyengat menjadi tidak menyengat. Sedangkan perlakuan Bs tidak dapat menurunkan bau limbah tahu yang sangat menyengat. Pada perlakuan EM4 penurunan bau sangat menyengat menjadi menyengat terjadi pada hari ke 2 inkubasi dan penurunan bau dari menyengat menjadi tidak menyengat terjadi pada hari ke 7. Sedangkan pada perlakuan K penurunan bau dari sangat menyengat menjadi tidak menyengat terjadi pada hari ke 3 dan penurunan dari menyengat menjadi tidak menyengat terjadi pada hari yang sama dengan perlakuan EM4 yaitu pada hari ke 7.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Bau Limbah Tahu.

Perlakuan	Hari	Bau	Perlakuan	Hari	Bau	Perlakuan	Hari	Bau
EM4	1	***	Bs	1	***	K	1	***
	2	**		2	***		2	***
	3	**		3	***		3	**
	4	**		4	***		4	**
	5	**		5	***		5	**
	6	**		6	***		6	**
	7	*		7	***		7	*
	8	*		8	***		8	*

Catatan: EM4: *Effective Microorganisms* 4, Bs: *B. subtilis* dan K: Kontrol.

## PEMBAHASAN

Limbah tahu merupakan limbah yang banyak mengandung bahan organik dari jenis protein yang persentasenya mencapai 60% (Herlambang, 2002). Tingginya jumlah produksi tahu meningkatkan jumlah limbah tahu yang banyak mengandung protein, sehingga berpotensi untuk mencemari lingkungan. Protein yang dikandung dalam limbah tahu mudah terurai oleh mikroorganisme pada kolom perairan dan menghasilkan ammonia (NH<sub>3</sub>), karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dan gas hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) sebagai sisa metabolismenya (Ulupi dkk., 2015). Sisa metabolisme tersebut dapat mengganggu kehidupan biota perairan (Pagoray et al., 2021). Sebelum dibuang ke lingkungan limbah tahu harus diolah terlebih dahulu supaya dapat menurunkan kadar bahan organiknya. Konsorsium mikroorganisme dan kultur tunggal dapat dijadikan alternatif agen bioremediasi. EM4 merupakan konsorsium mikroorganisme yang mengandung bakteri fotosintetik (*Rhodospirillum rubrum* dan *Rhodospirillum rubrum*), bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*, *L. casei* dan *Streptococcus lactis*), khamir (*Saccharomyces* sp.) dan aktinomisetes (*Streptomyces* spp.) (Javaid & Bajwa, 2011). Konsorsium mikroorganisme tersebut dilaporkan menghasilkan enzim untuk dekomposisi bahan organik yang terdapat dalam tanah (Higa, 2000). Sedangkan agen bioremediasi kultur tunggal yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *B. subtilis* dari makanan fermentasi natto. *B. subtilis* dilaporkan mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler mendekomposisi bahan organik pada tanah (Yang dkk., 2000; Perez-Perez dkk., 2018).

Pengukuran TDS pada hari ke 8 menunjukkan bahwa nilai TDS pada perlakuan dengan EM4 dan *B. subtilis* mengalami penurunan dengan nilai berturut-turut adalah 29,3% dan 84,6%. Menurunnya nilai TDS dipengaruhi oleh kemampuan mikroorganisme untuk menghasilkan enzim ekstraseluler untuk mendekomposisi bahan organik yang ukuran molekulnya tergolong besar. Enzim ekstraseluler akan mendepolimerisasi senyawa organik berukuran besar yang tidak larut menjadi senyawa organik oligomerik yang berukuran kecil larut dalam air dan monomer yang dikenali oleh reseptor pada dinding sel bakteri dan ditranspor masuk ke dalam sitoplasma untuk metabolisme (Wallenstein & Burns, 2011). Bahan organik tersebut dapat dimanfaatkan sel untuk bahan baku pembuatan organel sel baru dan produksi energi (Kallenbach dkk., 2016). Pemanfaatan bahan organik tidak larut oleh sel mikroorganisme tersebut menyebabkan penurunan nilai TDS. Perbedaan nilai TDS yang besar antara perlakuan EM4 dan K dengan Bs dipengaruhi oleh kandungan bahan organik yang terdapat dalam slime yang dihasilkan *B. subtilis* saat fermentasi natto. Pada fermentasi natto, menggunakan bahan baku biji kedelai yang direbus dan inoculum *B. subtilis*. *B. subtilis* selama fermentasi akan mengsekresikan enzim protease ekstraseluler untuk mendekomposisi protein pada kedelai (Nishito dkk., 2010). Protein tersebut digunakan *B. subtilis* untuk menghasilkan biomassa dan eksopolisakarida (Dave dkk., 2016). Eksopolisakarida berupa

slime yang menyebabkan nilai TDS pada perlakuan Bs jauh lebih tinggi daripada perlakuan EM4 dan K.

Pada pengukuran pH terjadi penurunan pH pada hari ke 1 dan ke 8 inkubasi pada pemaparan limbah tahu dengan EM4 dan *B. subtilis*. Perlakuan dengan menggunakan sel mikroorganisme tersebut meningkatkan pH limbah tahu hingga pada kisaran 6,5-7,6. Sel mikroorganisme akan menghasilkan protease dan mendekomposisi protein yang terkandung dalam limbah tahu. Salah satu hasil dekomposisi protein yang paling melimpah adalah ammonia (Ulupi dkk., 2015). Ammonia dihasilkan melalui proses deamonifikasi asam amino oleh protease. Ammonia pada lingkungan air akan terkonversi menjadi ammonium dengan mengikat gugus hidroksi sehingga dapat meningkatkan pH limbah tahu (Mohammed-Nour dkk., 2019). Produksi ammonium tersebut membuat pH limbah tahu menjadi masuk dalam kisaran limbah yang dapat dibuang ke lingkungan menurut KEP 51/MENLH/10/1995 karena baku mutu yang disyaratkan adalah pH 6-9 (Menteri Lingkungan Hidup RI, 2014).

Perlakuan EM4, Bs dan K menyebabkan suhu limbah tahu menurun dari awal inkubasi. Temperatur limbah tahu dipengaruhi oleh konsentrasi oksigen yang terlarut didalam air. Semakin tinggi suhu suatu larutan maka kandungan oksigen terlarutnya akan semakin berkurang (Rosyidah, 2017). Aerasi dengan menggunakan aerator dapat meningkatkan kandungan oksigen terlarut dalam limbah tahu sehingga suhu limbah tahu cenderung menurun. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pH limbah tahu setelah 8 hari inkubasi memenuhi baku mutu limbah cair golongan II untuk kegiatan industri KEP 51/MENLH/10/1995 yaitu berada dibawah 38-40°C (Menteri Lingkungan Hidup RI, 2014). Bau limbah tahu juga dipengaruhi oleh kandungan oksigen dalam larutan. Perlakuan EM4 dan K menunjukkan penurunan bau pada hari kedua inkubasi. Aerasi menggunakan aerator mencegah metabolisme oleh mikroorganisme secara anaerob yang menghasilkan gas yang berbau menyengat (Rosyidah, 2017). Pada perlakuan Bs bau limbah tahu tetap sangat menyengat meskipun telah diaerasi. Hal tersebut disebabkan oleh selama fermentasi protein, *B. subtilis* menghasilkan asam-asam sehingga menghasilkan bau asam yang menyengat. Asam-asam organik yang dihasilkan selama fermentasi protein adalah asam isovalerat dan asam isobutirat yang menghasilkan bau asam yang menyengat (Kada dkk., 2008). Limbah tahu hasil perlakuan Bs tidak memenuhi persyaratan KEP 51/MENLH/10/1995 mengenai baku mutu limbah cair golongan II untuk kegiatan industri, karena seharusnya limbah industri yang dibuang tidak berbau (Menteri Lingkungan Hidup RI, 2014).

## KESIMPULAN

Bioremediasi limbah tahu secara aerob dengan menggunakan agen EM4 dan Bs selama 8 hari waktu inkubasi dapat menurunkan kadar TDS, suhu dan pH limbah, sehingga dapat memenuhi

persyaratan limbah golongan II menurut KEP 51/MENLH/10/1995. Percobaan bau limbah diketahui bahwa perlakuan EM4 dan K mampu menurunkan bau limbah yang sangat menyengat, tetapi pada perlakuan Bs bau limbah masih tetap menyengat karena *B. subtilis* menghasilkan asam-asam organik selama proses fermentasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akubor, P. I. (2005). Functional properties of soybean-corn-carrot flour blends for cookie production. *Journal of Food Science and Technology*, 42(4), 303-307.
- Astuti, A. D. & Ayu, D. I. (2019). Treatment of Tofu Industry Wastewater Using Bioreactor Anaerobic-Aerobic and Bioball As Media with Variation of Hydraulic Retention Time. *Reaktor*, 19(1): 18–25.
- Dave, S.R., Vaishnav, A.M., Upadhyay, K.H., & Tipre, D.R. (2016) Microbial exopolysaccharide. An inevitable product for living beings and environment. *J. Bacteriol. Mycol.*, 2(4), 34–37.
- Faisal, M., Gani, A., Mulana, F. & Daimon, H. (2016). Treatment and Utilization of Industrial Tofu Waste in Indonesia. *Asian Journal of Chemistry*, 28(3), 501– 507.
- Fidiastuti, H.R., Amin, M., & Sari, N.K. (2022). Biodegradation of batik wastewater: Study of isolation & characterization indigenous bacteria in Tulungagung, East Java Province, Indonesia. *Jurnal Biologi Indonesia*, 18(1), 1-9.
- Herlambang. (2002). *Teknologi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu*, Samarinda, Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan (BPPT) dan Badan Pengendalian Dampak Lingkungan Samarinda.
- Higa, T. (2000). What is EM technology?. *EM World Journal*, 1, 1-6.
- Javaid, A. & Bajwa, R. (2011). Field evaluation of effective microorganisms (EM) application for growth, nodulation, and nutrition of mung bean. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 35, 443-452.
- Kada, S., Yabusaki, M., Kaga, T., Ashida, H., & Yoshida, K. (2008) Identification of Two Major Ammonia-Releasing Reactions Involved in Secondary Natto Fermentation. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 72, 1869-1876.
- Kallenbach, C.M., Frey, S.D., & Grandy, A.S. (2016) Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls. *Nature Communications* 7, 1-10.
- Kulkarni, S. D. (2007). Soy based bakery products. *Processed food industry paper*, 2007, 40-47.
- Menteri Lingkungan Hidup RI. (2014). *Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia Nomor 5 Tahun 2014 tentang Baku Mutu Air Limbah Golongan II*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Mohammed-Nour, A., Al-Sewailem, M., & El-Nagggar, A.H. (2019) The Influence of Alkalization and Temperature on Ammonia Recovery from Cow Manure and the Chemical Properties of the Effluents. *Sustainability*, 11 (2441), 1-16.
- Nurfitriani, L., Suminto, & Hutabarat, J. (2014). Pengaruh Penambahan Kotoran Ayam, Ampas Tahu Dan Silase Ikan Rucuh Dalam Media Kultur Terhadap Biomassa, Populasi dan Kandungan Nutrisi Cacing Sutera (*Tubifex* sp.). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 3 (4), 109-117.
- Nishito, Y., Osana, Y., Hachiya, T., Pependorf, K., Toyoda, A., & Fujiyama, A. (2010). Whole genome assembly of a natto production strain *Bacillus subtilis* natto from very short read data. *BMC Genomics*, 11 (243), 1-12.
- Pagoray, H., Sulistyawati, & Fitriyani. (2021). Limbah Cair Industri Tahu dan Dampaknya Terhadap Kualitas Air dan Biota Perairan. *Jurnal Pertanian Terpadu*, 9(1), 1-13.
- Perez-Perez, J.A., Espinosa-Victoria, D., Silva-Rojas, H., & Lopez-Reyes, L. (2018). Diversity of Culturable Bacterial Microbiota of The *Eisenia foetida* Digestive Tract. *Rev. Fitotec. Mex.*, 41(3), 255 – 264.

- Pitriani, Natsir, M.F., & Daud, A. (2015). The Effectiveness of EM4 Addition into Anaerob-Aerob Biofilter in the Processing of Wastewater at Hasanuddin University Hospital, Makassar Indonesia. *International Journal of Sciences, Basic and Applied Research*, 22(1), 178-187.
- Rosyidah, M. (2017). Analisis Kualitas Air Sungai Ogan sebagai Sumber Air Baku Kota Palembang. *Jurnal Redoks*, 2(1), 48-52.
- Rothenberg, A.D., Gaduh, A., Burger, N.E., Chazali, C., Tjandraningsih, I., Radikun, R., Sutera, C. & Weilant, S. (2016). Rethinking Indonesia's Informal Sector. *World Development*, 80, 96–113.
- Sharma, D., Gupta, R. & Joshi, I. (2014). Nutrient Analysis of Raw and Processed Soybean and Development of Value Added Soybean Noodles. *Inventi Rapid: Life Style*, 2014(1), 1-5.
- Tambunan, T.T.H. (2012). *A Survey of Business Models for Agricultural Investment in Indonesia*. TKN Report, International Institute of Sustainable Development.
- Ulupi, N., Margisuci, D., Hidayatun, R., Sugiarto, B. (2015) Growth Performance and Production of Ammonia and Hydrogen Sulfide in Excreta of Broiler Chickens Fed Basil (*Ocimum basilicum*) Flour in Feed, *International Journal of Poultry Science* 14 (2), 112-116.
- Wallenstein, M.D., & Burns, R.G. (2011). Ecology of Extracellular Enzyme Activities and Organic Matter Degradation in Soil: A Complex Community-Driven Process. Dalam: Dick, R. P., *Methods of Soil Enzymology*, Volume 9. Wiley.
- Yang, J.K., Shih, I.L., Tzeng, Y.M., & Wang, S.L. (2000) Production and purification of protease from a *Bacillus subtilis* that can deproteinize crustacean wastes. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(2000), 406–413.