

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Cair Tahu

Daerah di Indonesia sudah banyak dijumpai industri tahu. Produk tahu yang dihasilkan oleh pabrik tahu berawal dari proses pembentukan dadih susu kedelai yang dikenal dengan proses koagulasi (Syah *et al.*, 2015 ; Nurfadilah *et al.*, 2020). Industri tahu dalam proses produksinya biasa dilakukan secara tradisional dengan limbah sebagai hasil sampingnya. Pangestu *et al* (2021) menyatakan kandungan yang terdapat pada air buangan tahu terdapat komponen seperti protein dengan kadar tinggi berkisar 40-60%, karbohidrat sebesar 25-60%, 10% lemak, kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) 7500-14000 mg/L, pH 5-6, serta BOD yang mencapai 6000-8000 mg/L. Industri tahu dalam perkembangannya berdampak positif terhadap ketersediaan bahan pangan nabati kaya protein serta adanya pertumbuhan ekonomi bagi masyarakat, akan tetapi terdapat pula dampak negatif dari aktivitas industri tahu apabila tidak dikelola dengan baik oleh para pelaku usaha industri tahu yang akan berbahaya bagi lingkungan (Sjafruddin *et al.*, 2024).

Aktivitas dari kegiatan industri tahu menghasilkan tiga jenis limbah diantaranya limbah padatan, cair dan gas. Sjafruddin *et al.*, (2024) menyatakan bahwa saat proses pembuatan stem menghasilkan limbah gas, proses pencucian, perebusan, pengepresan maupun percetakan menghasilkan limbah cair, sedangkan ampas kacang kedelai yang sudah tidak terpakai dibuang tanpa pengolahan lebih lanjut yaitu menghasilkan limbah padat. Dari ketiga jenis limbah tersebut, limbah yang paling banyak dihasilkan dan dominan mencemari lingkungan yaitu limbah cair yang dapat dikategorikan sebagai pencemar lingkungan sangat berbahaya (Sjafruddin *et al.*, 2024).

Salah satu dampak bahaya utama dari limbah cair tahu adalah penurunan oksigen terlarut di air akibat pertumbuhan bakteri aerobik yang berkembang pesat untuk menguraikan bahan organik, sehingga menyebabkan hipoksia atau anoksia yang dapat membunuh ikan, invertebrata, dan

mikroorganisme lainnya, serta mengganggu rantai makanan. Selain itu, nutrisi berlebih seperti nitrogen dan fosfor dalam limbah ini memicu eutrofikasi menyebabkan pertumbuhan alga hijau biru yang berlebihan menghasilkan toksin berbahaya, mengakibatkan kematian massal ikan saat alga mati dan terurai. Limbah tahu juga dapat mengubah pH sehingga air dapat berubah asam atau basa, serta menghasilkan senyawa toksik seperti amonia dan sulfida yang merusak organ organisme akuatik. Secara jangka panjang, pencemaran kronis ini mengurangi biodiversitas, merusak habitat perairan, dan meningkatkan risiko kesehatan manusia melalui kontaminasi sumber air minum atau rantai pangan, seperti keracunan toksin alga atau penyakit menular (Santoso *et al.*, 2013).

Pengelolaan pencemaran limbah dapat dilakukan dengan pengurangan sumber (*source reduction*), penggunaan kembali (*reuse*), pemanfaatan (*recycling*) dan pengolahan (*treatment*) merupakan jenis pengelolaan limbah yang umum dilakukan (Pradana *et al.*, 2018). *Reuse* adalah penggunaan limbah sebagai bahan yang dapat digunakan untuk isolasi bakteri proteolitik. Pada penelitian Nasution *et al* (2021), menemukan bahwa pertumbuhan *Bacillus* yang paling efektif adalah dengan menggunakan media limbah cair tahu ditambah dengan susu skim. *Bacillus* termasuk kelompok genus bakteri proteolitik yang memiliki kemampuan untuk membuat enzim protease secara ekstraseluler. Menurut Oktavia *et al* (2022), protease bekerja dengan cara menghancurkan protein yang ada di dalam sel tersebut dan melepaskannya keluar sel. BAL selain sebagai penghasil asam laktat melalui fermentasi karbohidrat, juga memiliki aktivitas proteolitik dengan menguraikan protein menjadi peptide dan asam amino. Sistem ini terdiri dari proteinase ekstraseluler, transporter peptide dan peptidase intraseluler (Liu *et al.*, 2010 ; Praharyawan, 2020). Mikroorganisme BAL yang memiliki aktivitas proteolitik seperti *Lactobacillus plantarum* (Ounis *et al.*, 2008), *Lactobacillus brevis* (Praharyawan, 2020), *Lactobacillus fermentum* (Faridah *et al.*, 2017), serta *Pediococcus pentosaceus* (Wulan *et al.*, 2017; Nurlaela *et al.*, 2017) yang dapat tumbuh pada media limbah cair tahu.

Limbah cair tahu dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi untuk mikroorganisme seperti golongan BAL, sehingga prosesnya bersifat "*self-remediation*" atau menggunakan limbah sebagai bioremediator. Mekanismenya yaitu limbah tahu menyediakan nutrisi seperti karbon organik, nitrogen, dan fosfor, selain itu juga sebagai bahan pertumbuhan mikroorganisme penghasil biosurfaktan seperti *Bacillus subtilis*. Mikroorganisme tersebut menghasilkan biosurfaktan (surfaktan alami) yang membantu melarutkan dan mengemulsikan protein dan lemak yang terdapat pada limbah cair tahu. Biosurfaktan ini meningkatkan aksesibilitas polutan untuk degradasi. Selain itu, enzim seperti protease (untuk protein) dan lipase (untuk lemak) diproduksi untuk memecah senyawa kompleks menjadi molekul sederhana (Kusumasari *et al.*, 2023).

2.2 Limbah Kulit Singkong

Makanan pokok ketiga yang dikonsumsi masyarakat Indonesia selain padi dan jagung adalah singkong yang dikenal juga sebagai *cassava*. Singkong memiliki ciri khas pertumbuhan dapat beradaptasi pada jenis tanah sehingga tumbuh di wilayah tropis sepanjang tahun. Singkong dikenal kaya akan nutrisi karena terdapat kandungan karbohidrat, lemak, protein, serat pangan, vitamin (B1, C), mineral (Fe, F, Ca), zat non gizi tanin serta air (Wikanastri, 2012). Jenis tanaman seperti singkong banyak dibudidayakan masyarakat Indonesia dan dapat dibuktikan dengan adanya peningkatan produksi panen petani singkong di Indonesia. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Indonesia (2024), produksi singkong di Indonesia pada tahun 2023 mencapai 16-17 ton.

Limbah kulit singkong di Indonesia sangat berlimpah. Namun kulit singkong mudah diuraikan di alam sehingga harus cepat diolah setelah pengupasan untuk mencegah pembusukan karena kulit singkong tinggi kandungan airnya sehingga menunjang pertumbuhan mikroorganisme dan mempercepat proses pembusukan (Akanbi, 2007). Meskipun demikian, kulit singkong memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi, yaitu sekitar 72,49%-85,99%, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam pakan ternak (Indriyati *et al.*, 2022). Selain sebagai pakan ternak, karbohidrat yang

tinggi dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bagi bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus sp.*. Karbohidrat digunakan sebagai sumber energi utama dalam produksi asam laktat melalui fermentasi (Saeed *et al.*, 2013).

Berdasarkan Wahyuni (2019), bakteri probiotik dapat menghasilkan glukosa dengan memanfaatkan kulit singkong. Selain bakteri probiotik, mikroorganisme lain seperti kapang, khamir dan bakteri (Farmawan, 2015) serta yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Wachid dan Mutia, 2019) juga dapat tumbuh pada media kulit singkong, bahkan dalam bentuk pati singkong (Dabai *et al.*, 2005 ; Kwoseh *et al.*, 2012). Penelitian terdahulu oleh Wahyudi *et al* (2021) menghasilkan *Lactobacillus bulgaricus* efektif dapat tumbuh pada formulasi kulit singkong dan kulit pisang (75:25) disertai penambahan urea sebesar 1,5%. Selain optimal bagi pertumbuhan mikroba tersebut, juga dapat dijadikan alternatif pengganti media selektif MRS (*de Man, Rogosa and Sharpe*).

Kulit singkong mendukung pertumbuhan bakteri dengan dihidrolisis menjadi glukosa. Pada fermentasi glukosa dimanfaatkan sebagai sumber energi utama bagi bakteri probiotik. Pada proses fermentasi glukosa akan diubah menjadi asam laktat oleh *Lactobacillus*. Penggunaan kulit singkong sebagai sumber energi dapat meningkatkan viabilitas dan pertumbuhan sehingga mengurangi ketergantungan pada media sintesis seperti MRS. Kulit singkong efektif untuk mendukung pertumbuhan yeast seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan dapat dijadikan sebagai sumber makanan bagi banyak mikroorganisme lain sehingga kulit singkong sebagai media universal untuk mikroorganisme (Wachid dan Mutia., 2019).

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi berasal dari kata "bio" dan "remediasi", sehingga secara harfiah berarti upaya pemulihan kesehatan lingkungan yang telah rusak atau tercemar dengan memanfaatkan organisme hidup. Bioremediasi bertujuan agar zat pencemar dapat didegradasi menjadi bahan yang tidak beracun. Menurut Putra *et al* (2023), bioremediasi memiliki manfaat yang sangat signifikan dalam menangani berbagai masalah lingkungan. Tingkat oksigen, nutrisi, suhu,

pH, dan berbagai faktor abiotik lainnya menjadi penentu keberhasilan proses bioremediasi. Teknik bioremediasi terbagi menjadi *eks situ* dan *in situ* apabila ditinjau dari lokasi penerapannya.

Pendekatan teknik bioremediasi *in situ* pada umumnya lebih banyak diaplikasikan karena pengolahan polutan langsung di lokasi yang terkontaminasi sehingga dinilai lebih efisien dibandingkan *eks situ*. Faktor seperti status akseptor elektron, tingkat kelembaban, ketersediaan nutrisi, pH, dan suhu menjadi penentu efektivitas bioremediasi *in situ* (Philp *et al.*, 2005). Beberapa metode dalam bioremediasi *in situ* meliputi *natural attenuation* (pemulihan alami) serta teknik yang diperkuat seperti fitoremediasi, *bioventing*, *bioaugmentation*, dan *biosparging*. Sementara itu, teknik bioremediasi *eks situ* mencakup penggalian polutan dari lokasi terkontaminasi untuk dipindahkan ke tempat lain guna dilakukan proses remediasi. Bioreaktor, *landfarming*, dan *vermicomposting* merupakan beberapa contoh penerapan teknik bioremediasi *eks situ* (Philp *et al.*, 2005 ; Perez *et al.*, 2024).

Konsep bioremediasi didasarkan pada prinsip biodegradasi yaitu mikroorganisme (bakteri, jamur, atau alga) menggunakan polutan sebagai sumber energi atau nutrisi, mengubahnya melalui reaksi enzimatik (Vidali, 2001 ; Bhandari *et al.*, 2021). Bioremediasi menggunakan mikroorganisme sebagai agen untuk menguraikan polutan ini. Agen utama adalah bakteri (seperti *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus sp* atau *Bacillus*) dan ragi (*Saccharomyces*), yang melakukan fermentasi atau degradasi aerobik/anaerobik. Enzim merupakan protein yang dihasilkan oleh mikroorganisme untuk mempercepat reaksi kimia saat mendegradasi polutan. Di bidang bioremediasi, enzim bekerja sebagai katalisator yang memecah molekul kompleks menjadi zat sederhana. Beberapa enzim utama meliputi sitokrom P₄₅₀, protease, lipase, dehalogenase, oksigenase, dehidrogenase, hidrolase, peroksidase, dan ligninase (Bhandari *et al.*, 2021).

Bioremediasi selain menggunakan mikroba juga dapat dilakukan dengan memanfaatkan ekoenzim. Studi Penmatsa (2019) menunjukkan bahwa dengan pemberian ekoenzim secara rutin setiap bulan selama tiga bulan pada

badan badan air tawar yang tercemar limbah sampah dinilai efektif dalam penurunan COD dan BOD. Meskipun demikian, pemberian ekoenzim hanya meningkatkan sedikit kuantitas air yang layak dikonsumsi, sehingga tidak sepenuhnya mengubah air tidak layak menjadi air layak dikonsumsi.

Proses *anaerobic digestion* atau biodegradasi anaerobik merupakan proses penguraian bahan organik oleh mikroorganisme dalam kondisi tidak dapat atau sangat sedikit oksigen terlarut (anaerob). Dalam bioremediasi, proses ini dimanfaatkan untuk mengolah limbah organik melalui aktivitas mikroorganisme yang mampu mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dan ramah lingkungan. Oleh karena itu, biodegradasi anaerobik berperan penting dalam mengurangi akumulasi limbah organik, termasuk limbah pertanian dan agroindustri, serta mendukung pemulihan kualitas lingkungan secara biologis (Li *et al.*, 2025).

Proses penguraian anaerobik terdiri dari empat fase yaitu fase hidrolisis, asidogenesis, pembentukan asam tahap pembentukan asetat (asetogenesis), serta pembentukan gas metana atau metanogenesis (Indriyati, 2018 ; Silalahi *et al.*, 2018). Aktivitas bakteri hidrolitik dalam mendegradasi senyawa kompleks menjadi sederhana merupakan pengertian dari fase hidrolisis. Kelompok bakteri yang terlibat pada tahap ini antara lain *Clostridium sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Bacteroides sp.*, (Menzel *et al.*, 2020). Proses hidrolisis biasanya berlangsung selama 3 hari (Meegoda *et al.*, 2018). Tahap kedua asidogenesis dimana terjadi pembentukan VFA atau *Volatil Fatty Acids* (asam asetat, asam propionat, asam butirat), CO₂, asam lemak rantai pendek serta alkohol dari proses perombakan monomer dan oligomer yang melibatkan bakteri *Lactobacillus sp.*, *Enterobacter sp.*, dan *Escherichia coli* (Kim *et al.*, 2003 ; Menzel *et al.*, 2020). Fase ini umumnya berlangsung pada hari ke-2 sampai 5 (Meegoda *et al.*, 2018).

Tahap ketiga asetogenesis yang juga menghasilkan asam asetat, CO₂, dan H₂. Bakteri pada proses ini adalah *Syntrophomonas sp.* dan *Syntrobacter sp.* (Pan *et al.*, 2021). Bakteri asetogenik bekerja di hari ke 5-sampai 10 (Meegoda *et al.*, 2018). Selanjutnya metanogenesis merupakan tahap akhir proses

anaerobik dimana senyawa organik yang telah terdegradasi dikonversi menjadi gas metana (CH_4) dan CO_2 (Gijzen, 1987 ; Silalahi *et al.*, 2018). Pada proses metanogenesis bakteri yang terlibat diantaranya *Methanobacterium sp.*, *Methanosaeta sp.*, dan *Methanosarcina sp.* (Amin *et al.*, 2021). Bakteri metanogen membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan mikroba lain di fase sebelumnya karena pertumbuhan metanogen lambat, sensitif terhadap perubahan pH dan beban organik tinggi sehingga biasanya membutuhkan waktu 10-20 hari lebih bahkan bisa sampai 40 hari (Meegoda *et al.*, 2018).

2.4 Ekoenzim

Proses metabolisme yang melibatkan mikroorganisme seperti bakteri atau ragi mengubah karbohidrat, terutama glukosa, menjadi produk sampingan seperti alkohol, asam laktat, atau gas merupakan definisi fermentasi. Proses ini menghasilkan energi dalam bentuk ATP (Adenosin Trifosfat) melalui glikolisis, tetapi tidak melibatkan siklus Krebs atau rantai transpor elektron seperti respirasi aerobik. Secara biokimia, fermentasi melibatkan degradasi glukosa menjadi piruvat melalui glikolisis, diikuti oleh konversi piruvat menjadi produk akhir tanpa oksigen (Campbell *et al.*, 2017).

Jenis fermentasi ada 2 macam yaitu anaerob dan aerob. Fermentasi anaerobik adalah jenis fermentasi klasik, di mana mikroorganisme seperti bakteri atau ragi melakukan metabolisme tanpa oksigen. Proses ini melibatkan glikolisis untuk menghasilkan ATP, disertai konversi piruvat dengan etanol atau asam laktat sebagai produk akhir untuk meregenerasi NAD^+ . Proses ini terjadi dalam kondisi anaerobik (tanpa oksigen) dan menghasilkan energi lebih sedikit dibandingkan respirasi aerobik. Fermentasi aerob melibatkan oksigen pada proses degradasi bahan organik dengan memanfaatkan bantuan dari mikroorganisme. Pada proses ini, oksigen berperan sebagai penerima elektron terakhir sehingga hasil akhir fermentasi lebih efisien dan menghasilkan energi (ATP) dalam jumlah lebih banyak dibanding fermentasi anaerob. Contoh bakteri anaerob seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Clostridium butyricum* dan *Bifidobacterium sp.*, sedangkan contoh bakteri aerob yaitu *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* (Campbell *et al.*, 2017).

Ekoenzim adalah produk fermentasi anaerob dari molase dan air yang dicampur dengan bahan organik seperti kulit buah atau sayur (Hemalatha *et al.*, 2020). Ekoenzim menghasilkan banyak senyawa organik yang diperoleh dari asam organik dan garam mineral yang berperan sebagai katalisator (Tang *et al.*, 2011). Mikroorganisme melakukan metabolisme untuk berbagai tujuan, termasuk sintesis enzim, memperbaiki sel yang rusak, pertumbuhan dan perbanyakan, penyerapan hara dan ekskresi senyawa yang tidak diperlukan, dan motilitas sel (Utami *et al.*, 2023). Menurut Wibawa (2021), ekoenzim yang baik memiliki karakteristik pH 4,0 dan aroma segar yang khas fermentasi.

Prinsip dalam pembuatan ekoenzim sama halnya dengan pembuatan kompos dengan perbandingan molase (1) : sampah organik (3) : air (10) serta lama fermentasi selama 3 bulan (Verma *et al.*, 2019). Karakteristik bahan yang dapat digunakan untuk ekoenzim meliputi jenis air seperti air sumur, air buangan dari pendingin udara (AC), air galon, air PAM, serta berbagai jenis air lainnya. Adapun kulit sayuran yang sesuai harus memenuhi kriteria belum dimasak, direbus, atau ditumis, serta tidak busuk, berulat, atau berjamur (Suprayogi *et al.*, 2022). Sementara itu, kulit buah yang dapat digunakan harus tidak keras, tidak kering, dan tidak mengandung banyak getah. Hal ini penting untuk mencegah gangguan pada proses fermentasi yang dapat berujung pada pembusukan dan kegagalan fermentasi. Jenis buah yang tidak direkomendasikan meliputi durian, sawo, manggis, salak, nangka, dan kelengkeng (Pebriani *et al.*, 2022).

Gula aren, gula kelapa, gula lontar, molase cair, dan molase kering merupakan jenis gula yang biasanya digunakan dalam pembuatan ekoenzim. Gula pasir tidak disarankan menjadi campuran ekoenzim karena tinggi zat kimia, volume ekoenzim yang dihasilkan sedikit serta memiliki kadar alkohol yang berbeda. Kandungan sukrosa lebih tinggi gula merah sebesar 84%, berbeda jauh dengan gula pasir yang hanya 20% kandungan sukrosanya. Dengan presentasi tersebut, maka berdasarkan Pebriani *et al* (2022), yang mampu menyediakan energi yang lebih tinggi yaitu gula merah. Sementara itu, molase berfungsi sebagai sumber karbon (Rijal *et al.*, 2021). Ekoenzim dapat

menghilangkan atau mencegah kuman, virus atau bakteri karena mengandung enzim lipase, tripsin, dan amilase (Rochyani *et al.*, 2020).

Produk fermentasi ekoenzim ini dapat diterapkan di berbagai sektor. Fungsi ekoenzim meliputi penguraian, penyusunan, pengubahan, dan pengkatalisan. Produk ekoenzim dapat berupa pembersih lantai karena sifat asamnya. Selain itu, ekoenzim berperan dalam pemurnian udara, penghilangan bau, serta pengurangan udara beracun yang terlarut. Adanya kandungan asam propionat pada ekoenzim bermanfaat dalam menghambat pertumbuhan mikroba sehingga ekoenzim memiliki fungsi sebagai bahan pengawet makanan (Rochyani *et al.*, 2020). Selain itu, ekoenzim dapat dijadikan insektisida dan pestisida karena terdapat kandungan asam asetat. Hubungannya adalah asam asetat dapat menciptakan kondisi yang tidak menguntungkan bagi beberapa serangga atau hama (Nazim *et al.*, 2013). Dari beberapa manfaat ekoenzim tersebut, menurut Budiyanto *et al.*, (2022) menyatakan bahwa ekoenzim juga berfungsi dalam bioremediasi.

Fungsi mikroorganisme dalam ekoenzim antara lain bakteri asam laktat memproduksi asam laktat dari gula, menghambat mikroorganisme berbahaya seperti *Fusarium*, mempercepat dekomposisi bahan organik, serta menguraikan lignin dan selulosa melalui fermentasi tanpa dampak negatif. Ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae* berperan dalam meningkatkan aktivitas mikroba dan merangsang pertumbuhan akar tanaman. *Actinomyces* menghasilkan senyawa antimikroba dari pemanfaatan asam amino dan bahan organik selama fermentasi. Selain itu, proses fermentasi menghasilkan alkohol dan ester yang dapat mengurangi bau serta membantu mencegah serangan serangga (Samriti *et al.*, 2019).

2.5 Parameter Kualitas Lingkungan

Parameter kualitas lingkungan terdiri dari :

2.5.1 Biochemical Oxygen Demand (BOD)

Biochemical Oxygen Demand (BOD) merupakan parameter yang biasa digunakan pada kondisi anaerob untuk mengukur jumlah oksigen yang diperlukan oleh organisme dalam mendegradasi bahan organik. Tingkatan

pencemaran dapat dinilai dari nilai BOD yang diuji. Apabila sungai memiliki kadar BOD yang tinggi, maka sungai tersebut terdapat penumpukan bahan pencemar yang membuat sungai sulit memulihkan diri atau *self purification* (Ardiatma *et al.*, 2023). Faktor yang memengaruhi nilai BOD tinggi meliputi aktivitas mikroorganisme (Pitalokasari *et al.*, 2021), suhu, kekeruhan, salinitas, pH (Daroini *et al.*, 2020) serta konsentrasi bahan organik (Afwa *et al.*, 2021). Aktivitas mikroorganisme erat kaitannya dengan tingginya jumlah mikroorganisme dalam air limbah. Menurut Hera *et al.*, (2019), saat jumlah mikroorganisme yang terkandung dalam air limbah tinggi, maka terjadi penurunan atau rendahnya nilai oksigen terlarut (DO) yang akibatnya kadar BOD naik (Khairunnisa *et al.*, 2024).

Rendahnya nilai DO berdampak pada kinerja mikroorganisme yang kurang optimal sehingga dapat terjadi kondisi anaerob dan menjadi penyebab mikroorganisme tersebut mati (Fisma & Bhayu, 2020). Sugianti (2019) pada penelitiannya menjelaskan kandungan bahan organik pada industri tahu pada umumnya melebihi baku mutu yang ditetapkan ditandai dengan kulit limbah dengan suhu tinggi dan pH rendah sehingga dapat merusak ekosistem dan menurunkan kualitas perairan (Adack, 2013). Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan (Permen LHK) Nomor 5 tahun 2014 tentang baku mutu air pengolahan kedelai (tahu) yang telah diperbarui dengan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 mensyaratkan kadar baku mutu yang diperbolehkan untuk parameter BOD 150 mg/L.

Suhu yang tinggi berkaitan dengan mikroorganisme dikarenakan apabila terdapat kenaikan suhu maka otomatis kinerja dari mikroorganisme akan semakin meningkat sehingga kebutuhan oksigen yang diperlukan mikroorganisme untuk degradasi juga tinggi (Ulvi & Harmawan, 2022 ; Della Safitri, 2025). Konsentrasi bahan organik dalam jumlah banyak juga memengaruhi nilai BOD tinggi sehingga mikroorganisme membutuhkan

banyak oksigen yang dikonsumsi selama penguraian berlangsung (Nugroho *et al.*, 2014 ; Khairunnisa *et al.*, 2024).

Prinsip dasar pengukuran BOD relatif sederhana, yakni dengan mengukur kadar oksigen terlarut awal (DO_1) dari sampel segera setelah pengambilan contoh, kemudian mengukur kadar oksigen terlarut pada sampel yang telah diinkubasi selama lima hari dalam kondisi gelap dan suhu konstan ($20^{\circ}C$), yang dikenal sebagai DO_5 . Selisih antara DO_1 dan DO_5 menghasilkan nilai BOD akhir. Metode analitik titrasi (Winkler atau iodometri) serta alat DO meter digunakan dalam mengukur oksigen terlarut (Atima, 2015). Metode Winkler bekerja dengan menambah oksigen ke sampel yang mengoksidasi $MnSO_4$ ke dalam larutan pada kondisi alkalis. Akibatnya, endapan MnO_2 terbentuk. Dengan menambah asam sulfat dan kalium iodida, jumlah iodin yang dilepaskan setara dengan jumlah oksigen terlarut. Selanjutnya, iodin yang dilepaskan tersebut dianalisis dengan menggunakan metode titrasi iodometri menggunakan larutan tiosulfat dan indikator amilum yang biasa digunakan (Septiawan *et al.*, 2014).

Pencegahan fotosintesis yang menghasilkan oksigen dilakukan dengan inkubasi BOD pada kondisi gelap dan suhu yang stabil selama lima hari memungkinkan mikroorganisme hanya mengonsumsi oksigen (yang diukur sebagai DO_5). Nilai BOD tidak dapat ditentukan apabila DO_5 habis sehingga penting dengan memastikan bahwa masih ada oksigen tersisa pada DO_5 . Pada uji BOD penting dilakukan penetralan pH, pengenceran atau aerasi atau penambahan populasi bakteri karena setiap sampel memiliki kondisi sampel yang berbeda pula (Atima, 2015).

2.5.2 *Potential of Hydrogen (pH)*

Nilai pH air, atau tingkat keasamannya, menunjukkan jumlah ion hidrogen (H^+) yang terdapat dalam sampel air. pH meter dan kertas indikator pH dapat digunakan untuk menentukan nilai pH. Nilai pH biasanya diperlukan untuk memenuhi standar kualitas air, termasuk air minum, air sanitasi, air pemandian umum, air limbah domestik, dan limbah industri, yang biasanya berkisar antara 6 hingga 9. Kondisi perairan dianggap

tercemar apabila memiliki pH di bawah 6. Dalam beberapa situasi, kehidupan biota laut menjadi sulit di perairan dengan pH rendah, yang berdampak pada ekosistem. Air dengan pH rendah dapat membahayakan kesehatan, terutama untuk air minum atau air sanitasi. Air dengan pH di atas 8 biasanya mengandung padatan terlarut yang tinggi (Fikri *et al.*, 2023).

Pengukuran tingkat keasaman pada limbah cair memainkan peran krusial dalam menentukan kualitas suatu limbah. Limbah dengan pH asam cenderung mudah menguap, sehingga menimbulkan bau tidak sedap. Limbah yang memiliki pH di luar standar akan menyebabkan perubahan pH perairan. Perubahan pH yang drastis pada perairan dapat mengakibatkan kematian organisme akuatik dan secara tidak langsung meningkatkan toksisitas zat-zat yang terdapat dalam air. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor 5 tahun 2014 tentang baku mutu air pengolahan kedelai (tahu) yang telah diperbarui dengan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 mensyaratkan kadar baku mutu yang diperbolehkan untuk parameter pH 6-9.

2.5.3 Suhu

Suhu dapat memengaruhi laju reaksi kimia dalam air, baik di lingkungan eksternal maupun internal (tubuh hewan). Reaksi kimia yang terjadi akan semakin cepat jika suhu mengalami kenaikan, akan tetapi dapat terjadi penurunan oksigen (Lesmana, 2011; Kareliasari, 2021). Fauna yang tinggal dalam sungai dengan suhu yang terlampaui tinggi dapat menyebabkan fauna tersebut mati. Pada dasarnya, kisaran 13-14°C merupakan suhu untuk air limbah. Penggunaan oksigen akan mengalami kenaikan sebesar 10% apabila temperatur meningkat sebesar 1°C (Effendi, 2003). Menurut Sugianti (2019), suhu dalam limbah cair tahu tidak boleh tinggi karena dapat mengganggu kehidupan biotik, menurunkan kualitas air perairan, merusak ekosistem perairan serta membahayakan kesehatan manusia (Adack, 2013).

2.6 Penelitian Terdahulu

Hasil penelitian terdahulu yang relevan perlu disajikan untuk mendukung penelitian dalam memberikan gambaran mengenai penggunaan limbah organik sebagai agen bioremediasi limbah cair tahu. Ringkasan hasil penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.1 berikut.

Tabel 2.1 Penelitian Terdahulu

No	Peneliti	Judul	Hasil	Persamaan	Perbedaan
1.	Ryan Renanda Putra (2022)	Evaluasi nutrisi kulit singkong fermentasi <i>eco enzyme</i> pada pakan ternak	Perlakuan yang terbaik adalah P3 (kulit singkong dengan fermentasi ekoenzim sebanyak 30 ml)	Fokus pada ekoenzim dari kulit singkong	Sebagai pakan ternak, tidak ada penambahan limbah tahu dan bukan sebagai agen bioremediasi.
2.	Elisabet Marian, Sumiyati Tuhuteru (2019)	Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Sebagai Pupuk Organik Cair Pada Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Sawi Putih (<i>Brasica pekinensis</i>)	Konsentrasi terbaik 10 % dan 20 % meningkatkan tinggi tanaman & jumlah daun. Sedangkan, konsentrasi terbaik produksi konsentrasi 30 % dengan rerata bobot segar tanaman sebesar 13,57 gr.	Fokus pada pemanfaatan limbah cair tahu.	Digunakan sebagai POC
3.	Nurrisma Ramadhana (2023)	Efektivitas Bioremediasi Dengan Menggunakan Ekoenzim Terhadap Penyisihan Parameter Pencemar Dalam Limbah Cair Rumah	Nilai efektivitas tertinggi terdapat pada hari kedelapan untuk konsentrasi 10% maupun 5%.	Pembuatan ekoenzim untuk bioremediasi	Ekoenzim limbah buah dan bioremediasi limbah rumah potong hewan

		Potong Hewan (Rph)			
4.	Amira Falah Siregar, Rasyidah, Rizki Amelia Nasution (2024)	Pengujian Kadar BOD, COD Dan Isolasi Bakteri Hasil Remediasi Air Limbah Lindi Dengan Menggunakan Ekoenzim Kulit Buah Pepaya (Carica Papaya L.)	Pemberian ekoenzim pada limbah air lindi tidak menurunkan kadar BOD dan COD; kontrol: BOD 186 mg/L (hari 0) ke 398 mg/L (hari 10), COD 614 mg/L ke 1314 mg/L; ekoenzim: BOD 484 mg/L ke 538 mg/L, COD 1599 mg/L ke 1778 mg/L,	Pembuatan ekoenzim untuk bioremediasi dan Paramater BOD	Ekoenzim limbah kulit pepaya untuk bioremediasi limbah lindi, isolasi bakteri hasil remediasi, dam tidak ada penambahan limbah cair tahu.
5.	Wahyu Safira Wulandari, Winarsih (2024).	Pengaruh Ekoenzim Berbagai Limbah Kulit Buah terhadap Penurunan Konsentrasi Surfaktan pada Air Limbah Laundry	Kadar surfaktan dari tinggi ke rendah dengan perlakuan ekoenzim 0% (30,36 mg/L), 1% (13,60 mg/L), 3% (6,15 mg/L), 7% (4,84 mg/L), dan 5% (2,94 mg/L). Konsentransi 5% yang paling optimal.	Pembuatan ekoenzim untuk bioremediasi	Ekoenzim dari kulit buah dan parameter yang diuji adalah surfaktan.
6.	Eliza Khairunnisa, Rasyidah, Rizki Amelia Nasution (2024)	Pengaruh Bakteri Pseudomonas Aeruginosa Dengan Penambahan Ekoenzim Kulit Nanas Terhadap Konsentrasi COD dan BOD	Bakteri Pseudomonas aeruginosa menurunkan COD dan BOD pada limbah cair RPH, namun uji ANOVA menunjukkan hasil tidak signifikan	Ekoenzim untuk bioremediasi dan pparameter yang diuji BOD.	Penambahan bakteri Pseudomonas aeruginosa, ada parameter COD dan dari limbah kulit nanas. Bioremediasi untuk limbah

		Limbah Cair Rumah Potong Hewan	(>0.05). kombinasi bakteri dengan ekoenzim menurunkan COD, tapi meningkatkan BOD.		cair potong hewan.
7	Verda Cantika Putri (2024)	Pengaplikasian Eco-Enzyme Untuk Menurunkan Kadar Nitrat Dalam Pengolahan Air Limbah Industri Tahu Di Yogyakarta	penambahan koagulan eco-enzyme yang dapat menurunkan kadar Nitrat yang ada di air limbah, dalam konsentrasi 9% , 17% dan 23% dalam jangka waktu 0 hingga 15 hari. 23% yang paling efektif.	Ekoenzim untuk bioremediasi, penggunaan limbah industri tahu.	Ekoenzim dari limbah kulit nanas dan jeruk, parameter uji nitrat, tidak ada penambahan limbah cair tahu untuk ekoenzim.
8	Millenia Mawar Indah Purwaning Utami, Andari Puji Astuti, Endang Tri Wahyuni Maharani (2020)	Manfaat Ekoenzim Dari Limbah Organik Rumah Tangga Sebagai Pengawet Buah Tomat Cherry	ekoenzim yang paling efektif diproduksi guna untuk pengawetan buah tomat cherry adalah ekoenzim variabel I dengan bahan dasar bayam.	Pembuatan ekoenzim	Dari limbah sayuran untuk pengawet tomat cherry.
9	Ni Luh Widyasari, I Gusti Ngurah Made Wiratama (2021)	Studi Teknik Bioremediasi Tanah Tercemar Logam Berat Dengan Menggunakan Eco-Enzyme	Produk eco-enzyme dapat digunakan sebagai agen bioremediasi karena mengandung enzim hidrolitik yang mampu meningkatkan kesuburan tanah.	Pembuatan ekoenzim untuk bioremediasi	Dari limbah kulit buah dan perlakuan bioremediasi untuk tanah yang tercemar logam berat

2.7 Hipotesis

Berdasarkan tinjauan pustaka dan penelitian terdahulu, maka dapat dirumuskan hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. H_0 : Ekoenzim berbasis limbah kulit singkong tidak efektif dan tidak berpengaruh signifikan sebagai bioremediasi limbah cair tahu.
2. H_1 : Ekoenzim berbasis limbah kulit singkong efektif dan berpengaruh signifikan sebagai bioremediasi limbah cair tahu.

