

Isolasi Fungi Asal Rawa Lebak Untuk Bioremediasi Air Rawa Tercemar Bahan Organik

Isolation of Lowland Fungi for Bioremediation in Swamp Water Combined Organic Matter

Ade Bayu Saputra¹, Marini Wijayanti^{1*}, Dade Jubaedah¹

¹PS.Akuakultur Fakultas Pertanian UNSRI

Kampus Indralaya Jl. Raya Palembang Prabumulih KM 32 Ogan Ilir Telp. 0711 7728874

*Korespondensi email : mariniwijayanti@fp.unsri.ac.id

ABSTRACT

Aquaculture sometimes only depends on water absorption without water exchange therefore the accumulation of organic material give impact on water quality in aquaculture and cause illness and death of fish. Fungi have many variations in water that can be selected by isolation and identification to maintain water quality swamp cultured. This research aims to get swamp fungi isolates as candidate bioremediator of swamp water contaminated with organic matter. Research was conducted from December 2016 to April 2017 in Laboratory of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science and Mathematics, Sriwijaya University and Basic Laboratory of Fisheries, Department of Aquaculture, Faculty of Agriculture, University of Sriwijaya. The methods of research started from isolation and selection of fungi, analysis of isolates capability to improve the quality of black water, and observations of swamp water quality. This research method started from isolation and selection lipolytic, cellulolytic, proteolytic fungi, the test isolates ability to improve swamp water quality and observation of water swamp quality. Monitoring of water quality done at the sampling time, beginning and end of the research, including pH, temperature, ammonia and TDS. The results showed that the best fungi growth rate in contaminated swamp water of organic matter was 93%.day⁻¹. Fungi isolates are able to play a role in the ammonification of bioremediation process.

Key words : *Bioremediation, Fungi, Isolation, Selection*

PENDAHULUAN

Rawa merupakan ekosistem yang sangat kaya akan sumberdaya hayati. Lahan rawa merupakan salah satu ekosistem yang sangat potensial untuk pengembangan perikanan. Rawa banjir mempunyai sistem ekologi termasuk

karakteristik fisika-kimia yang khas terkait musim maupun habitat dan sub habitat yang ada di ekosistem ini. Saat ini rawa sudah banyak berubah peruntukannya, mulai dari perkebunan, perindustrian hingga perumahan. Belum lagi air limpasan baik dari rumah tangga maupun industri seperti pabrik tahu

makin memperburuk kualitas air rawa yang ada. Limbah industri tahu yang dihasilkan dapat berupa limbah padat dan cair, tetapi limbah cair memiliki tingkat pencemaran lebih besar dari pada limbah padat (Rahayu *et al.*, 2012).

Limbah organik cair dari industri tahu biasanya banyak mengandung protein dan karbohidrat tinggi sehingga pembusukan oleh mikroorganisme pembusuk sangat mudah terjadi. Hal tersebut mampu menyebabkan terjadinya penurunan oksigen terlarut secara drastis (*anoksia*) dan peningkatan karbon organik terlarut mampu menyebabkan kondisi hipoksia pada kolom air. Kondisi tersebut membuat perairan rawa sulit dijadikan sebagai media budidaya ikan. Remediasi rawa dari pencemaran bahan organik diharapkan dapat membuat lahan rawa layak digunakan untuk kegiatan budidaya perikanan.

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Mikroorganisme pada tanah rawa beranekaragam dan memiliki peranan penting sebagai dekomposer. Fungi merupakan salah satu mikroba yang handal dalam meremediasi air tercemar bahan organik. Enzim-enzim yang dihasilkan oleh fungi dapat berperan

dalam merombak atau mengurai bahan organik yang terdapat di perairan menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga tidak berbahaya bagi organisme yang ada di dalamnya (Gerardi, 2006). Penelitian ini bertujuan untuk untuk mendapatkan isolat fungi rawa sebagai kandidat bioremediator air rawa tercemar bahan organik. Sehingga nantinya diharapkan mampu memperbaiki air rawa yang tercemar bahan organik menjadi media budidaya ikan ekonomis penting di lahan rawa.

BAHAN DAN METODA

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 – April 2017 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya dan Laboratorium Dasar Perikanan, Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian antara lain spidol, lemari es, *autoclave*, timbangan digital, batang pengaduk, *turbidity* meter, plankton net, botol film, cawan petri, jarum ose, bunsen, laminar airflow, erlenmeyer,

mikroskop, pH indikator, TDS meter, spektrofotometer, *beaker glass*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, pipet tetes, mikro pipet, batang penggores, tabung reaksi, dan gelas ukur.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *olive oil*, susu skim, *carboxyl metil cellulose* (CMC), rhodamin B, air sampel, aquades, alkohol 70 %, spirtus, *Potato Dextrose Agar* (PDA), tetrasiklin, asam sulfat, aluminium foil, natrium hidroksida, NaCl fisiologis, tisu, dan reagen ammonia.

Metoda

Penelitian ini meliputi empat tahapan, yaitu pengambilan sampel, pembuatan media agar, isolasi dan seleksi fungi, perbanyakan kultur fungi, uji kemampuan isolat untuk memperbaiki kualitas air cemaran bahan organik dan analisis data.

Cara Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat dan sampel air rawa tercemar bahan organik diambil dengan cara metode *Cluster Random Sampling* (Sugiyono, 2010). Pengambilan sampel dilakukan di desa Lebung Karang, Kabupaten Ogan Ilir, Indralaya. Sampel

yang diambil ialah sampel air, dan sampel sedimen. Setelah sampel diambil, disimpan di *coolbox* dengan ditambahkan *gel ice*. Sementara sampel air rawa yang tercemar bahan organik diambil di perairan organik di Way Hitam, Bukit Lama, Ilir Barat I, Palembang. Sampel air digunakan untuk analisa kualitas air dan isolasi fungi. Sampel air dianalisis untuk parameter suhu, pH, DO, TDS, dan amonia.

Pembuatan Media Agar

PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditimbang sebanyak 2 gram untuk akuades sebanyak 400 mL. PDA dan akuades dihomogenkan dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* yang dipanaskan di atas *hot plate*. Larutan PDA dituang ke dalam cawan petri dengan permukaan tipis.

Isolasi dan Seleksi Fungi

Isolasi dilakukan dengan mengambil sampel air dan sedimen rawa dari Sumatera Selatan secara aseptik. Sampel sedimen sebanyak 1 mL dicampurkan dengan NaCl fisiologis sebanyak 9 mL, kemudian dilakukan pengenceran hingga 10^{-5} . Pada masing-masing pengenceran diambil menggunakan mikropipet sebanyak 100

μl dan disebar ke permukaan cawan petri yang berisi media PDA + *Olive Oil* sebanyak 2,5 % + tetracycline 40 mg.L⁻¹, PDA + susu skim sebanyak 3 %, dan PDA + CMC sebanyak 1 % dan diinkubasi pada suhu 27 – 30 °C selama 3-5 hari. Koloni fungi yang tumbuh diamati dan dihitung jumlah koloninya setiap hari mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-5 (Pangestu, 2009).

Perbanyak Kultur Fungi

Isolat fungi diperbanyak dengan memindahkan koloni tunggal hasil pemurnian ke dalam medium PDA miring. Isolat fungi selanjutnya dibagi menjadi 2 yaitu disimpan sebagai stok dan digunakan untuk uji ke air rawa tercemar bahan organik. Isolat yang digunakan sebagai stok disimpan pada suhu 10 °C sedangkan isolat untuk uji disimpan pada suhu 27-30 °C (Pangestu, 2009). Isolat untuk uji diperbanyak dalam media cair yaitu dengan menggunakan media PDB (*Potato Dextrose Broth*) (Modifikasi Haryo dan Saskiawan, 2013). Isolat fungi sebanyak 100 mL dalam media cair diperbanyak untuk menjadi starter remediator air rawa tercemar bahan organik. Pengamatan dilakukan setelah 14 hari pemeliharaan.

Uji Kemampuan Isolat untuk Memperbaiki Kualitas Air Cemaran Bahan Organik

Tahapan ini dilakukan dengan mengujikan isolat fungi sebanyak 1 gram ke dalam tabung reaksi berisi air rawa tercemar bahan organik yang sudah di *autoklaf* dan didinginkan sebanyak 9 mL yang dilakukan tiga kali ulangan. Kontrol yang digunakan adalah air rawa tercemar bahan organik tanpa penambahan isolat. Parameter yang diamati adalah kepadatan maksimal fungi (g.L⁻¹) dan laju pertumbuhan spesifik fungi (%.hari⁻¹). Parameter kualitas air suhu dan pH diukur pada awal sampling air tercemar bahan organik dan akhir pengujian isolat. TDS (*total dissolved solids*) dan ammonia diukur pada awal sampling air tercemar bahan organik, awal dan akhir pengujian isolat.

Analisis Data

Kepadatan Maksimal Fungi

Kepadatan maksimal fungi diukur berdasarkan berat kering dari biomassa yang dioven sebanyak 1 ml setiap hari selama 5 hari. Berat kering biomassa sel (g.L⁻¹) yang tertinggi menjadi nilai kepadatan maksimal sel.

Laju Pertumbuhan Spesifik Fungi

Laju pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan persamaan yang dikembangkan oleh Becker (1994) sebagai berikut :

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{\Delta t} \times 100\%$$

Keterangan :

- μ = Laju pertumbuhan spesifik (%.hari⁻¹)
 N_t = Kepadatan tertinggi selama kultur (g.L⁻¹)
 N_0 = Kepadatan awal kultur (g.L⁻¹)
 t = Waktu yang diperlukan untuk mencapai kepadatan tertinggi (hari)

Kualitas Air

Pengambilan sampel kualitas air meliputi pH, oksigen terlarut, amonia, dan suhu dilakukan pada 3 titik di setiap lokasi pengambilan sampel air dan sedimen. Parameter pH diukur menggunakan pH meter, oksigen terlarut (mg.L⁻¹) menggunakan DO meter, amonia menggunakan spektrofotometer, dan suhu (°C) diukur menggunakan termometer. Pengukuran dilakukan pada saat sampling (lapangan) dan saat tahap

aplikasi pada air rawa tercemar bahan organik. Pengamatan parameter kimia saat uji Fungi pada air rawa yang telah diberi isolat fungi dilakukan pada awal dan akhir.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi Fungi

Hasil isolasi fungi dari air rawa diperoleh koloni yang tumbuh pada media selektif sebanyak 5 isolat proteolitik, 2 isolat selulolitik dan 1 isolat lipolitik. Sedangkan hasil isolasi fungi dari kolam budidaya diperoleh sebanyak 4 isolat proteolitik, 1 isolat selulolitik dan 2 isolat lipolitik (Tabel 4.1). Selanjutnya hasil dari isolasi tersebut diseleksi kembali dengan metode gores kuadran dan diperbanyak pada kultur cair hingga didapatkan hasil isolat terseleksi untuk uji ke air rawa tercemar bahan organik sebanyak masing-masing 1 isolat di media proteolitik yang berasal dari kolam (KP), 1 isolat di media selulolitik yang berasal dari kolam (KS), dan 1 isolat di media lipolitik yang berasal dari rawa (RL).

Tabel 1. Hasil isolasi dan seleksi fungi yang berasal dari sedimen rawa dan kolam

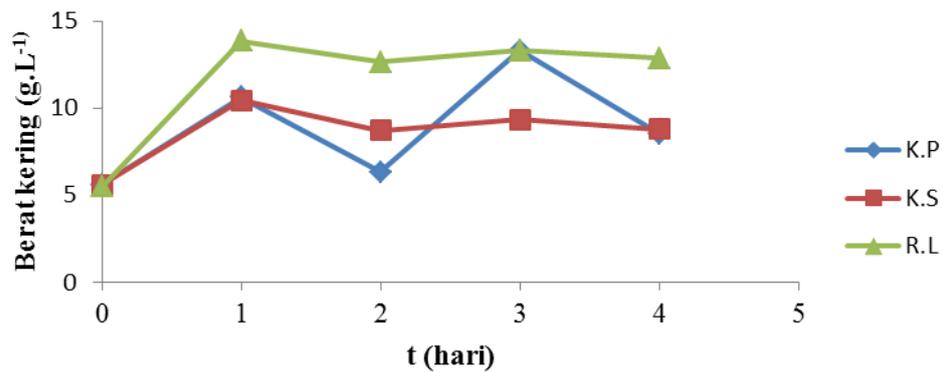
No	Asal	Media Selektif	Jumlah koloni yang tumbuh	Jumlah jenis isolat yang diseleksi	Kode isolat
1.	Rawa	Proteolitik	5	-	-
		Selulolitik	2	-	-
		Lipolitik	1	1	R.L
2.	Kolam Budidaya	Proteolitik	4	1	K.P
		Selulolitik	1	1	K.S
		Lipolitik	2	-	-

Berdasarkan Tabel 1, masing-masing isolat fungi berdasarkan asalnya terdapat dua isolat fungi yang dapat dikultur pada media cair yaitu masing-masing 1 isolat fungi yang berasal dari rawa dan 2 isolat fungi yang berasal dari kolam budidaya. Dari hasil penelitian yang dilakukan didapat bahwa fungi asal rawa yang terseleksi dimedia padat hanya 1 isolat fungi yang dapat dikultur pada media cair yaitu dari media selektif lipolitik. Sedangkan pada fungi asal kolam budidaya yang terseleksi dimedia padat terdapat 2 isolat fungi yang dapat dikultur pada media cair yaitu masing-masing 1 isolat dari media selektif proteolitik dan 1 isolat dari media selulolitik. Hal ini diduga bahwa isolat fungi proteolitik

dan selulolitik asal rawa dan isolat fungi lipolitik asal kolam budidaya tidak dapat tumbuh dalam media cair dan tanpa substrat. Menurut *Pelczar et al.* (2006), fungi merupakan organisme heterotrofik (parasit) yang membutuhkan substrat sebagai nutrisinya. Hal ini diduga disebabkan karena isolat fungi proteolitik dan selulolitik dari rawa dan isolat fungi lipolitik dari kolam budidaya merupakan jenis fungi yang membutuhkan substrat dan kadar air yang sedikit.

Kepadatan Maksimal Fungi

Pertumbuhan fungi yang diuji dengan air rawa tercemar bahan organik disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Pola Pertumbuhan Fungi

Berdasarkan grafik pola pertumbuhan fungi yang ditunjukkan oleh tiga isolat hasil isolasi dan seleksi pada Gambar 1, kepadatan awal fungi pada hari ke-1 rata-rata berkisar dari 5,48-5,59 g.L⁻¹. Pola pertumbuhan dari ketiga isolat fungi mengalami fase yang berbeda-beda. Isolat fungi K.P mengalami dua kali fase lag yaitu pada hari ke 1 dan hari ke 3 sedangkan isolat fungi K.S dan R.L hanya mengalami satu kali fase lag yaitu pada hari pertama. Menurut Wang *et al* (1979) dalam Mangunwidjaja *et al* (1994), waktu penggandaan fungi adalah 3 jam. Kesesuaian substrat dan nutrisi menentukan cepat lambatnya waktu penggandaan sel dan pertumbuhan fungi.

Kepadatan isolat K.P, K.S, dan R.L pada hari ke-2 berada pada fase lag, sedangkan isolat K.P, K.S, dan R.L

berada pada fase eksponensial berada pada hari ke-3. Sedangkan di hari ke-4 isolat K.P, K.S, dan R.L berada di fase stasioner. Hal ini dikarenakan asupan nutrisi pada media sudah mulai berkurang karena habis dimanfaatkan oleh fungi untuk pertumbuhannya. Pada isolat K.P kepadatan berkisar antara 5,58 - 13,32 g.L⁻¹, pada isolat K.S kepadatan berkisar antara 5,59 - 10,43 g.L⁻¹ dan pada isolat R.L kepadatan berkisar antara 5,48-13,85 g.L⁻¹. Besarnya kepadatan masing-masing fungi menunjukkan bahwa kepadatan optimal fungi rata-rata terjadi pada hari ke-4 dengan kepadatan optimal rata-rata berkisar 9,35-13,32 g.L⁻¹. Terjadinya pertambahan kepadatan fungi menunjukkan bahwa fungi bertambah populasinya setiap hari sampai nutrisi pada media habis. Ketika nutrisi habis maka kepadatan fungi

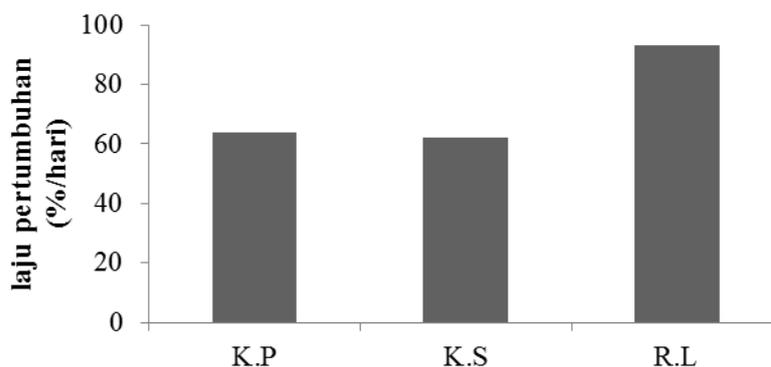
semakin menurun akibat tidak adanya asupan nutrisi lagi bagi fungi tersebut.

Selain itu, fungi juga merupakan organisme heterotrofik yang memerlukan senyawa organik sebagai nutrisi yang bersifat saprofit atau parasit yang berfungsi sebagai substrat. Nutrien-nutrien baru dapat dimanfaatkan sesudah fungi mengekskresi enzim-enzim ekstraseluler yang dapat mengurai senyawa-senyawa kompleks dari substrat tersebut menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Fungi

yang tidak dapat menghasilkan enzim sesuai komposisi substrat dengan sendirinya tidak dapat memanfaatkan nutrien dalam substrat karena fungi merupakan organisme heterotrofik dimana mereka memerlukan senyawa organik untuk nutrisinya (Pelczar *et al.*, 2006).

Laju pertumbuhan spesifik fungi

Gambar laju pertumbuhan spesifik fungi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik laju pertumbuhan fungi yang diuji dengan air rawa tercemar bahan organik

Berdasarkan Gambar 2, laju pertumbuhan spesifik fungi pada yang diuji dengan air rawa tercemar bahan organik berkisar 62-93 %. hari^{-1} . Laju pertumbuhan fungi menunjukkan kemampuan pertumbuhan fungi pada media dalam kurun waktu tertentu.

Menurut Wang *et al* (1979) dalam Mangunwidjaja *et al* (1994), laju pertumbuhan spesifik fungi adalah 5,52%. hari^{-1} . Laju pertumbuhan fungi pada media lipolitik (R.L) jauh lebih tinggi dibandingkan pertumbuhan fungi pada media proteolitik (K.P) dan media

selulolitik (K.S). Hal ini berkaitan dengan kemampuan fungi dalam memanfaatkan nutrisi dari komposisi yang ada pada media tumbuh fungi. Menurut Pelczar *et al.*, (2006), semua mikroorganisme membutuhkan nutrisi yang diperlukan dalam pertumbuhannya.

Suhu dan pH

Data hasil pengukuran suhu dan pH awal sampling dan selama waktu pengujian isolat fungi ke air yang tercemar bahan organik disajikan Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran suhu dan pH air uji yang diujikan isolat fungi

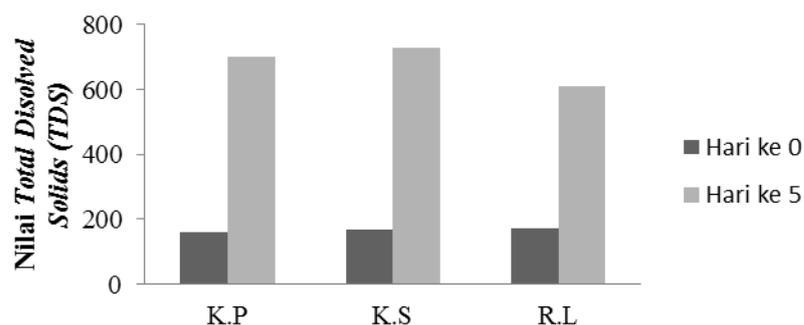
Parameter	Pengukuran saat sampling	Setelah di uji dengan isolat			Standar baku mutu air untuk kegiatan budidaya ikan*
		K.P	K.S	R.L	
Suhu	27 °C	26-27 °C	26-27 °C	26-27 °C	26-30 °C
pH	5,65	6-7	6	5-6	6-9

Pada Tabel 2, menunjukkan bahwa suhu dan pH setelah di uji dengan isolat fungi berada dalam rentang suhu dan pH optimum air untuk kegiatan budidaya ikan. Menurut Priadie *et al.*, (2012), suhu dan pH lingkungan media yang optimum sangat mempengaruhi proses pengolahan limbah secara biologis, secara umum mikroorganisme memerlukan suhu antara 26-29 °C dan pH antara 6,5-9,0. Terjadinya perubahan suhu dan pH air uji menunjukkan aktivitas sel fungi berjalan dengan baik. Suhu dan pH air uji akhir yang diuji dengan

menggunakan fungi masih layak dan memenuhi baku mutu untuk digunakan dalam kegiatan perikanan. Menurut Effendi (2003), suhu yang baik untuk kegiatan budidaya ikan air tawar berkisar antara 26-30 °C, sedangkan pH berkisar antara 6-9.

Total Dissolved Solid (TDS)

Data hasil pengukuran TDS air rawa tercemar bahan organik sebelum dan sesudah ditambahkan isolat fungi disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Nilai TDS air rawa tercemar bahan organik sebelum dan sesudah diuji isolat fungi

Berdasarkan Gambar 3., menunjukkan bahwa fungi mampu meningkatkan TDS pada air rawa tercemar bahan organik. Hal ini menandakan bahwa banyak garam-garam terlarut yang terionisasi oleh fungi dari air uji. Nilai TDS awal pada isolat K.P sebesar 160 mg.L⁻¹, setelah diujikan dengan isolat fungi naik menjadi 700 mg.L⁻¹. Nilai TDS awal pada isolat K.S sebesar 168 mg.L⁻¹, setelah diujikan dengan isolat fungi naik menjadi 692 mg.L⁻¹. Nilai TDS awal pada isolat R.L sebesar 174 mg.L⁻¹, setelah diujikan dengan isolat fungi naik menjadi 610 mg.L⁻¹. Peningkatan konsentrasi TDS dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme pada air. Menurut PP No.82 nilai TDS yang

masih diperbolehkan sebesar ≤ 1000 mg.L⁻¹ dan TDS akhir pada penelitian ini bernilai 610-700 mg.L⁻¹. Disimpulkan bahwa berdasarkan standar baku mutu air TDS akhir air uji masih layak dan memenuhi baku mutu untuk digunakan pada kegiatan perikanan budidaya perikanan. Data lengkap hasil pengukuran TDS dapat dilihat pada Lampiran 5.

Amonia

Hasil pengukuran ammonia sesudah di autoklaf dan sesudah pengujian isolat fungi ke air yang tercemar bahan organik disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai amonia air rawa tercemar bahan organik sebelum dan sesudah diuji isolat fungi

Perlakuan	Hari ke-	
	0	4
K.P	0,09 mg.L ⁻¹	2,22 mg.L ⁻¹
K.S	0,09 mg.L ⁻¹	1,71 mg.L ⁻¹
R.L	0,09 mg.L ⁻¹	1,92 mg.L ⁻¹

Hasil pengukuran amonia selama waktu pengujian isolat fungi ke air yang tercemar bahan organik mengalami peningkatan. Hal ini terjadi dikarenakan fungi melakukan proses amonifikasi. Menurut Effendi (2003), amonifikasi nitrogen organik untuk menghasilkan amonia selama proses dekomposisi bahan organik. Asam amino yang berasal dari air rawa tercemar bahan organik dikonversi oleh fungi menjadi amonia (NH₃) sehingga nilai amonia yang didapat dari penelitian ini tinggi. Menurut Effendi (2003), pada pH 7 atau kurang, sebagian besar amonia akan mengalami ionisasi, sehingga efek toksisitasnya berkurang.

Peningkatan jumlah nilai amonia pada isolat K.P hingga 11,10 mg.L⁻¹, sampel K.S hingga 8,55 mg.L⁻¹ dan sampel R.L hingga 9,60 mg.L⁻¹. Nilai amonia pada awal pengujian yaitu sebesar 0,09 mg.L⁻¹. Nilai amonia tersebut tidak dapat ditoleransi untuk kegiatan budidaya ikan. Menurut Tatangidatu *et al.* (2013), kadar amonia

yang baik bagi kehidupan ikan air tawar ≤ 1 mg.L⁻¹ dan batas maksimum amonia untuk kegiatan perikanan bagi ikan yang peka $\leq 0,02$ mg.L⁻¹. Hal ini menunjukkan bahwa isolat fungi tidak dapat digunakan dalam budidaya ikan air tawar secara langsung dan sendiri. Konsorsium mikrob diperlukan untuk pemanfaatan fungi di bioremediasi air tercemar bahan organik dan budidaya perairan, terutama konsorsium dengan pengonsumsi amonia seperti bakteri nitrifikasi atau sianobakteri (Efendi, 2003).

KESIMPULAN

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan fungi terbaik pada air rawa tercemar bahan organik ialah yang berasal dari rawa yaitu 93 % .hari⁻¹. Isolat fungi asal rawa mampu berperan dalam proses amonifikasi pada lingkungan air yang tercemar bahan organik.

Saran

Penggunaan mikrob fungi untuk bioremediasi air rawa tercemar bahan organik perlu dilakukan konsorsium dengan mikrob-mikrob lainnya terutama bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Effendi, H., 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Gerardi, M.H., 2006. Wastewater Bacteria. New Jersey. John Willey dalam Bambang priadi. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* [online], Volume 10, 38-48.
- Kordi, H., Tanjung, B.A. dan Ghufron, M., 2007. *Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Mangunwidjaja, D, Suryani, A. dan Said, G.E., 1994. *Teknologi Bioproses*. Jakarta: PT Penebar Swadaya.
- Rahayu, S.S, Budiarti, V.S.A. dan Supriyanto, E., 2012. Rekayasa Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dan Tempe dalam Upaya Mendapatkan Sumber Energi Pedesaan. *TEKNIS* [online], Volume 7, 129-139.
- Pangestu, D., 2009. *Isolasi, identifikasi, dinamika dan skrining pertumbuhan fungi dari biokonversi palm kernel meal*. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Pelczar, M.J, Chan, E.C.S, dan Pelczar, M.F., 2006. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*. Diterjemakan oleh Hadioetomo, R.S, Imas, T, Tjitrosomo, S.T, Angka, S.L. Jakarta: UI-Press.
- Pemerintah Republik Indonesia. 2013. Peraturan Pemerintah No. 73 Tahun 2013 tentang rawa. Jakarta.
- Pemerintah Republik Indonesia. 2001. Peraturan Pemerintah No. 82 Tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air. Jakarta.
- Sugiyono. 2010. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan RND*. Bandung: Alfabeta.
- Tatangindatu, F., Kalesaran, O. dan Rompas, R., 2013. Studi parameter fisika kimia air pada areal budidaya ikan di Danau Tondano, Desa Paleloan, Kabupaten Minahasa. *Jurnal Budidaya Perairan* [online], Volume 1, 8-19.