

## MICROBIAL FUEL CELL (MFC) MENGGUNAKAN BAKTERI BACILLUS SUBTILIS DENGAN SUBSTRAT LIMBAH SEPTIC TANK SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KUALITAS LIMBAH

Fitra Adi Prayogo<sup>1</sup>, Agung Suprihadi<sup>2</sup>, Budi Raharjo<sup>2</sup>

1. Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. H. Soedarto, SH,  
Semarang, 50275, Indonesia

2. Laboratorium Bioteknologi Departemen Biologi  
Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Jl. Prof. H. Soedarto, SH, Semarang, 50275, Indonesia  
E-mail : [fitra.adiii@gmail.com](mailto:fitra.adiii@gmail.com)

### Abstrak

Pembangkit listrik yang masih bergantung pada energi tak terbarukan menjadi salah satu faktor Indonesia dihadapkan pada permasalahan krisis energi listrik. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa *B. subtilis* dapat menghasilkan listrik melalui *Microbial Fuel Cell* (MFC). Tujuan dari penelitian ini yaitu mengukur nilai tegangan, arus, dan *power density* serta perubahan kualitas air limbah *septic tank*. Limbah di dapat dari jasa penyedot WC "Doremon Jaya", disterilisasi dan dihitung nilai kualitas limbahnya. Inokulum *B. subtilis* lalu diinokulasikan ke bioreaktor berisi limbah *septic tank* steril dengan 4 konsentrasi berbeda, yaitu 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v). Inokulum di inkubasi terlebih dahulu selama 12 jam sebelum dilakukan pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* dengan konsentrasi inokulum 3% (v/v) menghasilkan voltase paling besar, yaitu 299,70 mV pada jam ke-4 dengan kuat arus 0,2997 mA dan *power density* 8,98 mW/cm<sup>2</sup>. Nilai COD dapat diturunkan hingga 31,18% pada konsentrasi inokulum 3% (v/v), sedangkan nilai BOD diturunkan hingga 25,03% pada konsentrasi inokulum 3% (v/v). Nilai DO juga mengalami presentase penurunan hingga 34,25% atau turun menjadi 0,96 pada konsentrasi inokulum 2% (v/v). Nilai pH pada perlakuan konsentrasi inokulum 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v) mengalami penurunan setelah masa fermentasi yaitu berturut-turut 5,4; 4,8; 4,9; dan 4,2.

### Abstract

The power plant was still dependent on non-renewable energy is one factor in Indonesia fixed with the problems of electric energy crisis. Several lecturer have shown that *B. subtilis* can produced electricity through *Microbial Fuel Cell* (MFC). The purpose of this study is to measured the values of voltage, electric current, and power density as well as changes in the quality of waste water septic tank. Waste in a vacuum toilet can be of service "Doremon Jaya", sterilized and counted the value of the quality of wastes. *B. subtilis* inoculum was then inoculated into a bioreactor containing sterile waste septic tank with 4 different concentrations of 0%, 1%, 2% and 3% (v/v). Inoculum was incubated for 12 hours prior to observing. The result showed that *B. subtilis* with inoculum concentration of 3% (v/v) produced the greatest voltage, which is 299.70 mV on 4-hour with strong current and power density 0.2997 mA 8.98 mW / cm<sup>2</sup>. COD can reduced by up to 31.18% at the inoculum concentrations of 3% (v/v), while the value of BOD reduced by up to 25.03% at the inoculum concentrations of 3% (v/v). DO value also experienced the percentage decreased to 34.25% or decreased to 0.96 at the inoculum concentrations of 2% (v/v). pH value in the treatment of inoculum concentrations of 0%, 1%, 2% and 3% (v / v) decreased after the fermentation was consecutively 5.4, 4.8, 4.9, and 4.2

**Kata kunci :** *Bacillus subtilis*, *Microbial Fuel Cell*, *Septic tank*, *Wastewater quality*

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia sedang dihadapkan dengan masalah krisis energi listrik. Lembaga yang menangani permasalahan listrik di Indonesia yaitu Perusahaan Listrik Negara (PLN) masih merasa kesulitan dalam permasalahan penambahan pembangkit baru. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor, salah satunya karena pembangkit listrik di Indonesia sampai saat ini masih didominasi oleh penggunaan bahan bakar tak terbarukan (Sugiyono, 2014). Oleh karena itu, perlu adanya inovasi guna mencari potensi energi terbarukan untuk masa depan energi listrik Indonesia.

Beberapa peneliti telah membuktikan bahwa bakteri dapat menghasilkan listrik dalam sistem *Microbial Fuel Cell* (MFC) dengan memanfaatkan proses metabolisme pada bakteri tersebut. Jenis bakteri yang biasa digunakan para peneliti dalam sistem MFC adalah *Geobacteraceae sulfurreducens*, *Geobacter metallireducens* dan *Rhodospirillum rubrum* (Du *et al.*, 2007).

Bakteri *Bacillus subtilis* juga mempunyai potensi untuk menghasilkan listrik (Prihantoro dan Zulaika, 2015) Retnosari dan Shovitri (2013) telah mengkonfirmasi bahwa *B. subtilis* dapat ditemukan pada *septic tank*, hal tersebut dikarenakan *septic tank* merupakan tempat yang kaya akan bahan organik.

*Septic tank* merupakan tempat pembuangan ekskreta manusia yang banyak mengandung senyawa-senyawa organik. *B. subtilis* mampu mendegradasi bahan-bahan organik dengan cara melepaskan enzim. Proses degradasi ini akan melepaskan elektron. Elektron-elektron inilah yang nantinya bisa dimanfaatkan sebagai sumber energi listrik.

Sistem MFC juga dapat mengurangi tingkat pencemaran pada limbah *septic tank*. Yazdi (2015) menyatakan bahwa sistem MFC dapat mendegradasi limbah *septic tank* manusia hingga 95%. Adanya pemanfaatan bakteri *B. subtilis* sebagai bioaktivator dalam sistem MFC dengan substrat limbah *septic tank* memberikan banyak keuntungan, yaitu aman, emisi yang sangat rendah, efisiensi energi yang tinggi, dan kemudahan dalam operasi.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai teknologi MFC dengan memanfaatkan *B. subtilis* sebagai bioaktivator dan limbah *septic tank* sebagai substrat guna pengembangan energi alternatif jangka panjang. Output dari penelitian ini adalah nilai voltase, arus, dan *power density*. Nilai kualitas air limbah ditentukan melalui parameter-parameter yang diukur dalam penelitian ini yaitu seperti nilai COD, BOD, DO dan pH (Ghangrekar dan Shinde, 2006).

## 2. METODE PENELITIAN

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini yaitu : akrilik, mur-baut, obeng, *cutter* akrilik, mesin bor, multimeter *digital* HELES UX838TR, pH meter, oven, gelas ukur, cawan petri, ose, kabel, jepit buaya, inkubator, autoklaf, erlenmayer, pipet ukur, mikro pipet, *shaker*, pipet gondok, erlenmeyer tutup asah 250 mL, Buret 50 mL, penangas air, Botol semprot, dan DO meter.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu : alkohol, limbah *septic tank*, kultur *B. subtilis*, aquades, HCl 1M, NaOH 1M, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), MnSO<sub>4</sub> 10 %, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, Natrium Thiosulfat 0.1 N, Natrium thiosulfat 0.05 N, KMnO<sub>4</sub> 0.1 N, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6 M, dan KI 10 %.

Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini, yaitu :

### 2.1. Preparasi elektroda

Elektroda karbon dengan ukuran 4 x 2,5 cm direndam dalam HCl 1M selama 1 hari, selanjutnya direndam dalam NaOH 1M selama 1 hari. Setelah itu direndam dalam aquades hingga saat digunakan.

### 2.2. Preparasi bioreaktor

Bioreaktor dibuat dari bahan akrilik dengan ukuran 7 x 7 x 6 cm tanpa penutup dikedua sisinya. Penutup dibuat dengan ukuran 10 x 9 cm. Bagian ujung-ujung lapisan tutup bioreaktor dilubangi menggunakan mesin bor. Salah satu bagian penutup tabung dilubangi dengan ukuran 3,5 x 2 cm untuk tempat katoda.

### 2.3. Preparasi kultur *B. subtilis*

Kultur murni bakteri *B. subtilis* ditumbuhkan pada medium *nutrient broth* (NB) dan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C. Setelah itu, bakteri di kulturkan pada media Agar (NA) miring dan dijadikan sebagai kultur stok. Jumlah sel bakteri yang tumbuh pada medium NB dihitung. Jumlah bakteri yang diharapkan yaitu 10<sup>8</sup> per mL media pembawa (Rao, 1982 dalam Noviana dan Raharjo, 2009). Agar mendapatkan jumlah bakteri yang sesuai dengan apa yang diharapkan, maka dihitung dengan menggunakan rumus :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2 \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan :

- C<sub>1</sub> = Standart konsentrasi bakteri yang tersedia (CFU/mL)
- C<sub>2</sub> = Standart konsentrasi bakteri yang diinginkan (CFU/mL)
- V<sub>1</sub> = volum dari C<sub>1</sub> yang dibutuhkan untuk membuat konsentrasi bakteri baru (mL)
- V<sub>2</sub> = volum konsentrasi bakteri setelah diencerkan (mL)

### 2.4. Preparasi substrat

Substrat diperoleh dari jasa penyedot WC "Doremon Jaya" Kota Semarang, diambil sebanyak

5 liter, lalu ditampung dalam jeriken. Selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan autoklaf selama 15-20 menit. Substrat limbah *septic tank* dihitung nilai COD, BOD, pH, dan DO. Limbah dihitung kembali nilai COD, BOD, pH, dan DO-nya setelah diujikan pada sistem MFC.

### 2.5. Eksperimen *Microbial Fuel Cell*

Substrat dan inokulum yang ada di dalam bioreaktor diinkubasi terlebih dahulu selama 12 jam sebelum dilakukan pengamatan. Eksperimen dilakukan dengan cara mengamati tegangan (V) dan penghitungan jumlah sel bakteri *B. subtilis* setiap 2 jam sekali selama 18 jam perlakuan (Kristin, 2012). Alat multimeter disambungkan ke sistem MFC dengan penjepit buaya pada setiap variasi perlakuan. Selanjutnya *Power Density* (P) dihitung dengan menggunakan rumus :

$$P=I \times V/A \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan :

- P = *Power Density*
- I = Arus listrik
- V = voltase
- A = luas elektroda (anoda)

### 2.6. Analisa MFC

Data nilai voltase dan kualitas limbah dari penelitian ini dianalisis dengan metode statistik uji ANOVA pada taraf kepercayaan 95%. Data yang menunjukkan hasil yang signifikan kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji LSD.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Desain MFC



Gambar 1. Desain bioreaktor MFC *single chamber*

Desain bioreaktor dalam penelitian ini mengadopsi bentuk sistem MFC *single-chamber* dari bahan akrilik. Bioreaktor disterilasi terlebih dahulu secara kimiawi sebelum digunakan. Salah satu cara yang baik dalam sterilisasi bahan akrilik yaitu dengan cara perendaman alkohol 70% selama 15 menit.

Perendaman tersebut dapat membunuh mikroorganisme pada bahan (Smith, 2011).

Gambar 1. menjelaskan bahwa elektroda yang berupa anoda dan katoda berada dalam satu ruangan. Katoda merupakan tempat terjadinya proses reduksi, maka bagian katoda dikondisikan aerob dan dijepit oleh tutup bioreaktor. Bagian anoda merupakan tempat reaksi oksidasi terjadi, sehingga anoda tercelup pada substrat limbah *septic tank*.

### 3.2. Jumlah sel bakteri *B. subtilis*

Data rata-rata jumlah sel (CFU/mL) ditampilkan pada Tabel 1. :

Tabel 1. Data rata-rata jumlah sel *B. subtilis* (CFU/mL) dan nilai Log setelah 12 jam masa inkubasi suhu ruangan pada konsentrasi inokulum 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v).

Jam ke -	Konsentrasi Inokulum 0%		Konsentrasi Inokulum 1%		Konsentrasi Inokulum 2%		Konsentrasi Inokulum 3%	
	Jumlah sel	Log						
0	0	-	1,0x10 <sup>8</sup>	8,0000	1,9x10 <sup>8</sup>	8,2788	4,2x10 <sup>8</sup>	8,6232
2	0	-	1,1x10 <sup>8</sup>	9,0414	2,3x10 <sup>8</sup>	9,3617	6,7x10 <sup>8</sup>	9,8261
4	1,3x10 <sup>7</sup>	7,1129	3,1x10 <sup>8</sup>	9,4914	3,8x10 <sup>8</sup>	9,5798	6,2x10 <sup>8</sup>	9,7923
6	4,7x10 <sup>7</sup>	7,6720	2,1x10 <sup>8</sup>	9,3222	4,0x10 <sup>8</sup>	9,6021	2,8x10 <sup>8</sup>	9,4472
8	5,7x10 <sup>7</sup>	7,7558	1,6x10 <sup>8</sup>	9,2041	3,6x10 <sup>8</sup>	9,5563	1,1x10 <sup>8</sup>	9,0414
10	7,5x10 <sup>7</sup>	7,8750	1,2x10 <sup>8</sup>	9,0791	3,6x10 <sup>8</sup>	9,5563	2,8x10 <sup>8</sup>	8,4472
12	5,4x10 <sup>7</sup>	7,7232	1,4x10 <sup>8</sup>	9,1461	1,8x10 <sup>8</sup>	9,2553	6,5x10 <sup>8</sup>	8,8129
14	7,6x10 <sup>7</sup>	7,9294	1,2x10 <sup>8</sup>	9,0791	5,7x10 <sup>8</sup>	8,7559	6,3x10 <sup>8</sup>	8,7993
16	6,3x10 <sup>7</sup>	7,8808	6,4x10 <sup>8</sup>	8,8062	7,3x10 <sup>8</sup>	8,8633	5,9x10 <sup>8</sup>	8,7709
18	7,9x10 <sup>7</sup>	7,8976	6,8x10 <sup>8</sup>	8,8325	4,0x10 <sup>8</sup>	8,6021	6,6x10 <sup>8</sup>	8,8195

Berdasarkan data penelitian yang disajikan pada Tabel 4.1. menunjukkan bahwa rata-rata jumlah tertinggi bakteri yaitu pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) dengan rata-rata jumlah bakteri 6,7 x 10<sup>9</sup> CFU/mL pada jam ke-2 masa pengamatan, sedangkan yang paling rendah pada perlakuan tanpa inokulum yang terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-2 masa pengamatan. Rata-rata jumlah bakteri tertinggi yang terjadi pada konsentrasi inokulum 1% (v/v) yaitu sebesar 3,1 x 10<sup>9</sup> CFU/mL pada jam ke-4 masa pengamatan. Rata-rata jumlah bakteri tertinggi konsentrasi inokulum 2% (v/v) yaitu sebesar 4,0 x 10<sup>9</sup> CFU/mL pada jam ke-6 masa pengamatan.

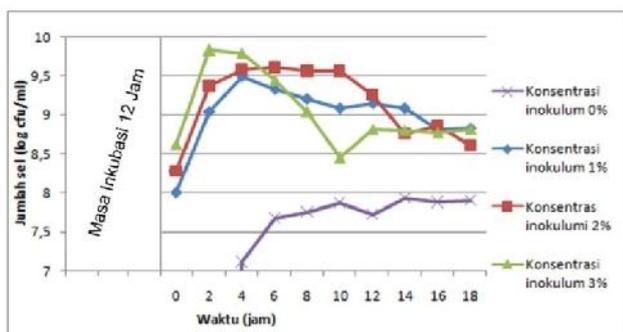
Berdasarkan orientasi penelitian sebelumnya, fase log dimulai setelah 12 jam inkubasi (Rahmawati, 2015). Oleh karena itu, perhitungan jumlah bakteri *B. subtilis* dilakukan setelah masa inkubasi selama 12 jam, sehingga data fase adaptasi tidak terekam pada kurva pertumbuhan. Fase log pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-2 masa pengamatan, perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-6 masa pengamatan, sedangkan perlakuan 1% (v/v) terjadi pada jam ke-0 sampai jam

ke-4 masa pengamatan. Fase tersebut ditandai dengan jumlah bakteri yang terus bertambah (Reiny, 2012).

Fase stasioner pada perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) paling lama dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi inokulum lain, yaitu terjadi pada jam ke-6 sampai jam ke-10 masa pengamatan. Menurut Reiny (2012) fase stasioner pertumbuhan bakteri menggambarkan beberapa bakteri yang mati dan zat hasil metabolisme mulai menumpuk pada media pertumbuhan.

Jumlah rata-rata bakteri perlakuan konsentrasi inokulum 1% dan 3% (v/v) menurun drastis setelah jam ke-4. Konsentrasi inokulum 3% (v/v) memiliki penurunan yang paling drastis dibandingkan konsentrasi inokulum lainnya. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi bakteri pada suatu substrat, maka proses degradasi substrat akan semakin cepat, sehingga ketersediaan nutrisi untuk bakteri pun juga akan lebih cepat habis (Reiny, 2012).

Fase kematian bakteri pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) terjadi mulai pada jam ke-4 masa pengamatan, perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) terjadi mulai jam ke-12 masa pengamatan, dan perlakuan konsentrasi inokulum 1% (v/v) terjadi mulai jam ke-8 masa pengamatan. Fase kematian ditandai dengan jumlah bakteri yang terus menurun. Hal itu terjadi karena penumpukan hasil metabolisme, nutrisi mulai habis, dan terjadi kompetisi nutrisi. Faktor pH juga berpengaruh terhadap turunnya jumlah bakteri (Reiny, 2012). Berikut kurva pertumbuhan sel *B. subtilis* pada Gambar 2 :



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *B. subtilis* setelah 12 jam masa inkubasi suhu ruangan pada konsentrasi inokulum 0%,1%,2%, dan 3% (v/v).

Gambar 2 menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan bakteri *B. subtilis* pada berbagai konsentrasi inokulum terlihat mengalami pertumbuhan fluktuatif. Konsentrasi inokulum 3% (v/v) mengalami *trend* kenaikan setelah sempat turun drastis yaitu pada jam ke-12 masa pengamatan,

konsentrasi inokulum 2% (v/v) mengalami *trend* kenaikan pada jam ke-16 masa pengamatan, dan konsentrasi inokulum 1% (v/v) mengalami *trend* kenaikan pada jam ke-14 masa pengamatan. Pertumbuhan yang fluktuatif disebabkan salah satunya karena pengaruh suhu ruangan yang berubah-ubah. Menurut Subagiyo *dkk* (2015) menyatakan bahwa suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel. Salah satu pengaruhnya yaitu terhadap reaksi dan stabilitas struktur kimia protein pada sel, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

Konsentrasi inokulum 0% (v/v) pada Gambar 2 menunjukkan bahwa jumlah bakteri semakin bertambah dengan seiring berjalannya waktu. Adanya mikroba pada perlakuan kontrol diduga karena bioreaktor tidak steril. Dugaan ini didasari bahwa substrat limbah *septic tank* telah disterilkan. Pembuktian dilakukan melalui uji sterilitas. Berdasarkan hasil uji sterilitas tersebut, limbah *septic tank* telah steril sebelum digunakan untuk penelitian. Berikut Gambar 3., hasil uji sterilitas substrat limbah *septic tank* pada penelitian ini :



Gambar 3. Hasil uji sterilitas limbah *septic tank* tidak memperlihatkan adanya koloni *B. subtilis* dan hanya terlihat warna kuning bening media NB

Menurut Sinta *dkk.* (2014) kontaminasi pada media kultur umumnya disebabkan karena kurang efektifnya proses sterilisasi sehingga menyebabkan masih adanya mikroba yang belum mati. Bakteri kontaminan yang muncul tersebut umumnya berasal dari genus *Bacillus* yang merupakan golongan bakteri gram positif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal sehingga tidak terpengaruh oleh perendaman alkohol 70%, berbeda dengan gram negatif yang memiliki dinding sel tipis dan mudah luruh oleh alkohol 70%.

### 3.3. Hasil Pengukuran Voltase

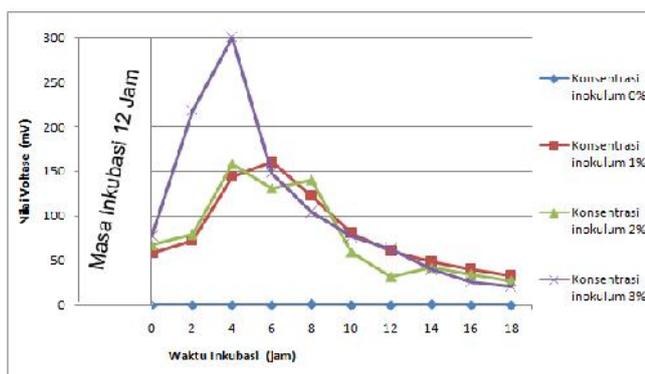
Hasil pengukuran energi listrik ini terdiri dari pengukuran nilai voltase, arus listrik, dan daya listrik.

Hasil pengukuran rata-rata voltase (mV) disajikan pada Tabel 2 :

Tabel 2. Hasil pengukuran rata-rata voltase (mV) sistem MFC *single chamber* menggunakan bakteri *B.subtilis* dan substrat limbah *septic tank*

Jam ke-	Konsentrasi Inokulum			
	0%	1%	2%	3%
0	0,00	58,10	67,20	77,20
2	0,00	72,30	79,10	217,80
4	0,03	144,30	158,00	299,70
6	0,03	160,10	131,20	148,00
8	0,40	122,60	140,70	104,10
10	0,02	80,90	59,60	76,90
12	0,02	60,40	31,90	62,30
14	0,40	48,30	43,00	39,80
16	0,30	40,00	33,90	25,90
18	0,20	33,20	26,90	21,00

Berdasarkan hasil penelitian yang disajikan pada Tabel 2., diketahui bahwa nilai voltase tertinggi yaitu pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) dengan nilai rata-rata voltase sebesar 299,7 mV pada jam ke-4 masa pengamatan dan paling rendah yaitu pada perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v) (kontrol) dengan nilai rata-rata voltase 0 mV. Perlakuan inokulum konsentrasi inokulum 0% (v/v) (kontrol) terdapat aktivitas mikroba, hal ini diketahui melalui uji TPC. Namun, pada perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v) (kontrol) hanya menghasilkan beda potensial yang sangat kecil, bahkan tidak sama sekali. Berikut Gambar 4., grafik nilai rata-rata voltase perlakuan konsentrasi inokulum 0%,1%, 2%, dan 3% (v/v).



Gambar 4. Grafik hasil pengukuran rata-rata voltase (mV) sistem MFC *single chamber* menggunakan bakteri *B.subtilis* dan substrat limbah *septic tank*

Perlakuan konsentrasi inokulum 1% (v/v) menghasilkan rata-rata voltase tertinggi yaitu 160,10 mV dan terendah yaitu 33,20 mV, sedangkan pada

perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) menghasilkan rata-rata voltase tertinggi 140,70 mV dan terendah 26,90 mV. Seiring berjalannya waktu, semua perlakuan konsentrasi inokulum mengalami penurunan. Konsentrasi inokulum 3% (v/v) mengalami penurunan pada jam ke-4 masa pengamatan, konsentrasi inokulum 1% (v/v) dan 2% (v/v) mengalami penurunan pada jam ke-5 masa pengamatan, sedangkan konsentrasi inokulum 0% (v/v) justru mengalami kenaikan secara perlahan seiring dengan tumbuhnya bakteri pada substrat limbah *septic tank*.

Apabila dihubungkan dengan jumlah sel bakteri, maka *trend* kenaikan dan penurunan besar nilai voltase umumnya mengikuti *trend* pergerakan grafik jumlah sel bakteri *B. subtilis*. Berdasarkan penelitian ini, rata-rata nilai voltase optimum pada jam ke-2 hingga jam ke-6 masa pengamatan. Jam ke-13 hingga jam ke-16 (jam ke-0 hingga ke-4 masa pengamatan) merupakan waktu dimana bakteri *B.subtilis* mengalami fase log (Rahmawati, 2015). Reiny (2012) menambahkan bahwa pada umumnya bakteri mempunyai titik puncak pertumbuhan sampai jam ke-18 (jam ke-6 masa pengamatan).

Konsentrasi inokulum 3% (v/v) merupakan penghasil voltase paling optimum pada penelitian ini. Menurut Lee (2010) dalam Siswanti dan Sanjaya (2013) menyatakan bahwa efisiensi transfer elektron dari bakteri ke elektroda sebanding dengan jumlah bakteri yang melakukan kontak dengan elektroda. Bakteri pada substrat akan mengoksidasi senyawa organik dan menghasilkan elektron yang nantinya akan ditransfer pada elektroda. Sehingga jika bakteri pada media substrat bisa berkembang dengan baik, maka jumlah konsentrasi bakteri yang paling banyaklah yang dapat menghasilkan nilai voltase paling optimum.

Hasil perhitungan *Power Density* tersaji pada Lampiran 3, nilai *Power Density* tertinggi yaitu ada pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) pada jam ke-4 masa pengamatan, yaitu sebesar 8,98 mW/m<sup>2</sup>. Nilai *Power Density* terendah telah dikonfirmasi pada perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v), yaitu sebesar 0 mW/m<sup>2</sup> pada jam ke-0 hingga jam ke-18 masa pengamatan. Konsentrasi inokulum 1% (v/v) menghasilkan *Power Density* paling tinggi pada jam ke-6 masa pengamatan yaitu sebesar 2,67 mW/cm<sup>2</sup>, sedangkan konsentrasi inokulum 2% (v/v) menghasilkan *Power Density* paling tinggi pada jam ke-4 masa pengamatan yaitu sebesar 2,49 mW/cm<sup>2</sup>.

Penelitian ini menghasilkan data nilai voltase yang optimum pada konsentrasi inokulum 3% (v/v)

jam ke-4 masa pengamatan. Berdasarkan hal tersebut, disajikan perhitungan statistik ANOVA pada Lampiran 5 mengenai hubungan nilai voltase antar konsentrasi inokulum pada taraf kepercayaan 95% pada jam ke-4 masa pengamatan. Hasil uji statistik ANOVA diperoleh nilai probabilitas (*p-value*) yaitu 0,000. Berdasarkan hasil uji ANOVA tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan nilai voltase antar konsentrasi inokulum ( $p < 0,05$ ).

Hasil uji statistik ANOVA yang diketahui signifikan kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui pengaruh antar konsentrasi inokulum yang digunakan. Data uji LSD jam ke-4 masa pengamatan pada Tabel 3. :

Tabel 3. Rata-rata hasil voltase jam ke-4 masa pengamatan

Konsentrasi inokulum (%)	Nilai Voltase (mV)
0	0,03 ± 0,05 <sup>a</sup>
1	144,30 ± 43,60 <sup>b</sup>
2	157,97 ± 43,36 <sup>b</sup>
3	299,70 ± 3,21 <sup>c</sup>

Ket : Angka rata – rata nilai voltase yang diikuti dengan superskrip tidak berbeda nyata pada uji LSD = 5 %

Hasil analisis LSD pada jam ke-4 masa pengamatan ini menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum 0% (v/v) berbeda nyata terhadap konsentrasi inokulum 1%, 2%, dan 3% (v/v). Konsentrasi inokulum 1% (v/v) berbeda nyata terhadap konsentrasi inokulum 0% dan 3% (v/v). Konsentrasi inokulum 2% (v/v) berbeda nyata terhadap konsentrasi inokulum 0% dan 3% (v/v). Konsentrasi inokulum 3% (v/v) berbeda nyata terhadap konsentrasi inokulum 0%, 1%, dan 2% (v/v). Berdasarkan data uji LSD tersebut, konsentrasi inokulum 3% (v/v) dianggap sebagai konsentrasi inokulum yang efisien untuk menghasilkan voltase paling optimum dibandingkan konsentrasi inokulum 0%, 1%, dan 2% (v/v).

Penelitian MFC dengan bakteri *B. subtilis* sebagai katalisator menjadi salah satu konsen beberapa peneliti akhir-akhir ini. Hal ini disebabkan karena bakteri ini mempunyai nilai *plus* tersendiri, yaitu bakteri ini tahan dengan berbagai kondisi lingkungan, menghasilkan zat antibiotik, dan sebagai biodegradator yang baik. Beberapa penelitian menyatakan bahwa bakteri *B. subtilis* dapat menghasilkan voltase hingga 691 mV (Yoganathan dan Ganesh, 2015), 433 mV (Nimje, 2012), dan 450 mV (Ismail dan Jaeel, 2013). Adanya perbedaan hasil

nilai voltase tersebut dikarenakan beberapa faktor, yaitu jenis bakteri, desain MFC, jenis substrat, dan jenis material elektroda (Sengodan dan Hays, 2012).

### 3.4. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Limbah

Hasil uji kualitas air limbah diperoleh nilai DO, BOD, COD, dan pH pada saat sebelum dilakukan proses fermentasi secara berturut-turut yaitu sebesar 0,73 mg/L, 518,34 mg/L, 1.579,12 mg/L, dan 8,9. Berdasarkan data tersebut, kualitas limbah yang digunakan pada penelitian ini belum sesuai dengan baku mutu limbah domestik yang ditetapkan dalam Permen Lingkungan Hidup No.1 Tahun 2010 Tentang Tata Laksana Pengendalian Pencemaran Air, yaitu nilai COD sebesar 250 mg/L dan nilai BOD 110 mg/L. Namun, nilai pH masih dalam taraf baku mutu limbah yaitu dengan nilai 6-9. Berikut data mengenai nilai kualitas air limbah yang disajikan pada Tabel 4 :

Tabel 4. Hasil perhitungan nilai kualitas air limbah *septic tank*

Parameter	Satuan	Karakteristik awal limbah	Perlakuan Konsentrasi Inokulum				Standar Permen LH no.1 th.2010
			0%	1%	2%	3%	
pH	-	8,90	5,00	4,80	4,70	4,30	6-9
COD	mg/l	1.479,12	1.236,40	1.439,55	1.228,21	1.151,28	250
BOD	mg/L	518,34	501,17	441,55	434,84	388,65	110
DO	mg/L	1,46	1,09	1,34	0,96	1,11	-

Data penelitian pada Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai pH limbah *septic tank* cenderung turun pada semua perlakuan konsentrasi inokulum. Hal ini membuat salah satu penyebab bakteri *B. subtilis* berkurang jumlahnya (Gambar 2.). Nilai pH terendah terjadi pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v), yaitu 4,3 sedangkan nilai pH tertinggi terjadi pada perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v) yaitu 5. Menurut Romayanto *dkk.* (2006) pada saat pengolahan air limbah baik secara aerobik dan anaerobik, bakteri umumnya menghasilkan asam-asam seperti HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> dari proses metabolismenya, sehingga hal tersebut membuat nilai pH limbah menjadi semakin turun.

Menurut Fangzhou *et al.* (2011) dalam suatu proses penelitian MFC, pH substrat akan mengalami penurunan. Hal ini terjadi karena adanya ion H<sup>+</sup> yang dihasilkan dari proses metabolisme bakteri terakumulasi pada lingkungan substrat (ruang anoda), sehingga diperoleh nilai pH setelah proses MFC pada konsentrasi inokulum 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v) menjadi turun. Nilai pH yang turun justru membuat bakteri *B. subtilis* tidak dapat bertahan hidup. Bakteri *B. subtilis* hanya optimum hidup pada pH 7-8. Oleh

karena itu, pada akhir pengamatan terlihat grafik pertumbuhan bakteri *B. subtilis* yang menurun.

Nilai DO dengan perlakuan penambahan inokulum berbagai konsentrasi cenderung lebih rendah dari pada data awal nilai DO. Adanya proses metabolisme oleh *B. subtilis* yang membutuhkan oksigen membuat nilai DO pada limbah semakin menurun. Menurut Salimin dan Rachmadetin (2011) dengan semakin lamanya waktu bakteri berkembang biak, maka biomasnya semakin meningkat dan kebutuhan akan oksigen juga meningkat. Oleh karena itu, nilai DO pada akhir penelitian ini mengalami penurunan setelah dilakukan *running* MFC.

Nilai DO pada perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) mempunyai presentase penurunan paling besar, yaitu 34,25% atau turun menjadi 0,96, konsentrasi inokulum 0% (v/v) mempunyai presentase penurunan 25,34% atau turun menjadi 1,09, konsentrasi inokulum 1% (v/v) mempunyai presentase penurunan sebesar 8,21% atau turun menjadi 1,34, dan konsentrasi inokulum 3% (v/v) mempunyai presentase penurunan sebesar 23,97% atau turun menjadi 1,11. Berdasarkan uji ANOVA pengaruh nilai DO antar konsentrasi inokulum diperoleh *p-value* yaitu 0,179 atau lebih tinggi dari nilai  $\alpha = 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar keempat perlakuan konsentrasi inokulum ( $p > 0,05$ ).

Menurut Suriani dan Muis (2016) bakteri *B. subtilis* merupakan jenis bakteri yang bersifat aerob sehingga membutuhkan oksigen didalam proses metabolismenya. Poole (2012) menambahkan bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri yang menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron eksternalnya. Elektron di transfer melalui membran-lokal kompleks protein dari donor yang tepat melalui dehidrogenase primer dan kuinon untuk oksidase terminal dan akhirnya ke akseptor tersebut (oksigen). Energi dari perbedaan potensial redoks mereka digunakan untuk proses translokasi proton ( $H^+$ ) melalui membran. Proton dihasilkan karena kekuatan yang mendorong ATP melalui ATP sintase.

Perbandingan nilai COD pada saat pengukuran awal dan akhir penelitian cenderung mengalami penurunan pada setiap perlakuan konsentrasi inokulum 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v). Perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v) mempunyai nilai COD paling rendah, yaitu 1.017,95 mg/L atau berkurang 31,18% dari nilai COD awal. Perlakuan konsentrasi inokulum 2% (v/v) berkurang 16,96%, perlakuan konsentrasi inokulum 1% (v/v) berkurang 0,42%, dan perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v) berkurang 16,40% dari nilai COD awal.

Menurut Susilo *et al.* (2013) penurunan nilai COD disebabkan karena adanya kontak antara limbah dengan mikroba. Apabila jumlah limbah semakin banyak, maka akan terjadi peningkatan suplai oksigen ke dalam air limbah. Ketika jumlah oksigen yang tersedia pada limbah meningkat, maka jumlah mikroba meningkat, sehingga kadar *toxic* pada limbah akan mengalami penurunan. Adanya penurunan kadar limbah tersebut membuat nilai COD-nya semakin turun juga. Berdasarkan uji ANOVA hubungan nilai COD antar konsentrasi inokulum diperoleh *p-value* yaitu 0,470 atau lebih tinggi dari nilai  $\alpha = 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar keempat perlakuan konsentrasi inokulum nilai COD ( $p > 0,05$ ).

Nilai BOD pada setiap perlakuan konsentrasi cenderung turun dari nilai BOD awal. Data pada Tabel 4, menyatakan bahwa nilai BOD tertinggi pada perlakuan konsentrasi inokulum 0% (v/v) yaitu 501,17 atau mengalami penurunan sebesar 3,31% dan terendah yaitu pada perlakuan konsentrasi inokulum 3% (v/v), yaitu 388,55 mg/L atau mengalami penurunan 25,03%. Nilai BOD perlakuan konsentrasi inokulum 1% (v/v), yaitu 441,55 mg/L atau mengalami penurunan sebesar 14,81% dan konsentrasi inokulum 2% (v/v) yaitu 434,84 atau mengalami penurunan sebesar 16,10%.

Menurut Romayanto *et al.* (2006) penurunan nilai BOD terjadi karena adanya proses dekomposisi bahan organik (substrat) yang terkandung dalam air limbah. Proses tersebut menguraikan bahan-bahan organik yang mudah terurai di didalam limbah *septic tank*. Ketika bahan-bahan organik tersebut sudah mulai terurai, maka permintaan suplai oksigen juga akan berkurang. Hal demikian membuat nilai BOD dalam limbah tersebut juga akan berkurang. Berdasarkan uji ANOVA hubungan nilai BOD antar konsentrasi inokulum diperoleh *p-value* yaitu 0,098 atau lebih tinggi dari nilai  $\alpha = 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan konsentrasi inokulum terhadap nilai BOD ( $p > 0,05$ ).

Data menunjukkan bahwa perlakuan inkubasi selama 18 jam dengan bakteri *B. subtilis* dapat mengurangi nilai BOD dan COD. Namun, hasil penelitian ini belum mampu mencapai baku mutu limbah domestik yang ditetapkan dalam Permen No.1 Tahun 2010 Tentang Tata Laksana Pengendalian Pencemaran Air, yaitu nilai COD sebesar 250 mg/L dan nilai BOD 110 mg/L. Menurut Fangzhou *et al.* (2011) limbah feses manusia mempunyai komposisi yang sangat kompleks, yaitu protein, lemak, selulosa,

dan makromolekul lainnya, sehingga menyebabkan *B. subtilis* tidak dapat melakukan metabolisme dengan mudah. Hal itu membuat prosentase efisiensi COD dan BOD rendah.

Kurangnya waktu pengamatan juga menjadi salah satu penyebab belum mampunya bakteri *B. subtilis* mengurai nilai BOD dan COD hingga mencapai baku mutu yang ditetapkan. Beberapa penelitian misalnya melakukan pengamatan selama 48 jam (Susilo *et al.*, 2013), selama 216 jam (Romayanto *et al.*, 2006), dan selama 2 bulan (Firdaus dan Muchlisin, 2010). Menurut Firdaus dan Muchlisin (2010) untuk menguraikan zat organik pada limbah memerlukan rata-rata waktu kurang lebih 2 hari untuk 50% reaksi, 5 hari untuk 75% reaksi tercapai dan 20 hari untuk 100% reaksi tercapai.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah diuraikan, diperoleh beberapa kesimpulan, yaitu :

1. Inokulum *B. subtilis* konsentrasi 3% (v/v) dapat menghasilkan voltase paling optimum dibandingkan konsentrasi inokulum 0%, 1%, dan 2% (v/v), yaitu dengan nilai voltase sebesar 299,70 mV, kuat arus 0,2997 mA, dan *power density* 8,98 mW/cm<sup>2</sup> pada jam ke-4.
2. Adanya sistem MFC berpengaruh terhadap parameter kualitas air limbah yaitu dapat menurunkan COD hingga 31,18% dan menurunkan BOD hingga 25,03%. Nilai DO juga mengalami presentase penurunan hingga 34,25% atau turun menjadi 0,96. Nilai pH pada perlakuan konsentrasi inokulum 0%, 1%, 2%, dan 3% (v/v) mengalami penurunan setelah masa fermentasi yaitu berturut-turut 5,4; 4,8; 4,9; dan 4,2.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Beecroft, N. 2010.** Development Of A Microbial Fuel Cell (MFC) And Analysis Of Microbial Community Dynamics. *Thesis*. Microbial Sciences Division. University of Surrey.
- Du, Z., H., Li, and T., Gu. 2007.** A State Of The Art Review on Microbial Fuel Cell; A Promising Technology for Wastewater Treatment and Bioenergy. *Journal Biotechnology Advances* 25. 464-482.
- Fangzhou, D., Zhenglong, L., Shaoqiang, Y., Beizhen, X., dan Hong, L. 2011.** Electricity generation directly using human feces wastewater for life support system. *Acta Astronautica* (68) :1537-1547.
- Firdaus dan Muchlisin. 2010.** Degradation Rate Of Sludge And Water Quality Of Septic Tank (Water Closed) By Using Starbio And Freshwater Catfish As Biodegradator. *Jurnal Natural*. Vol.10. No. 1.
- Ismail, Z. dan Jael, A.J. 2013.** Sustainable Power Generation in Continuous Flow Microbial Fuel Cell Treating Actual Wastewater : Influence of Biocatalyst Type on Electricity Production.
- Kristin, E. 2012.** Produksi Energi Listrik Melalui *Microbial Fuel Cell* Menggunakan Limbah Industri Tempe. *Skripsi*. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Nimje, V.R., Chen, C.C., Chen, H.R., Chen, C.Y., Tseng, M.J., Cheng, K.C., Shih, R.C., dan Chang, Y.F. 2012.** *Int. J. Mol. Sci.* (13) : 3933-3948.
- Noviana, L. dan Raharjo, B. 2009.** Viabilitas Rhizobakteri *Bacillus* sp. UCC-BR-K1.3 pada Media Pembawa Tanah Gambut Disubstitusikan dengan Padatan Limbah Cair Industri Rokok. *BIOMA*. Vol. 11, No. 1, Hal. 30-39.
- Poole, R.K. 2012.** *Advances in Microbial Physiology*. Vol. 61. Academic Press : Amsterdam, The Netherlands.
- Prihantoro, F.A. dan Zulaika, E. 2015.** Viabilitas *Bacillus* terhadap *Methylene Blue* yang Berpotensi untuk *Microbial Fuel Cell* (MFC). *Jurnal Sains Dan Seni ITS* Vol. 4, No.1.
- Rahmawati, M. 2015.** Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol dan Air Rimpang Pacing (*Costus spiralis*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, serta Fungi *Candida albicans*. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Reiny, S.S. 2012.** Potensi *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *Jurnal IJAS*, II(2) : 604-613.
- Retnosari, A.A. dan Shovitri, M. 2013.** Kemampuan Isolat *Bacillus* sp. dalam Mendegradasi Limbah Tangki Septik. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits* Vol.2, No.1. ITS, Surabaya.
- Romayanto, M.E.W., Wiryanto, dan Sajidan. 2006.** Pengolahan limbah domestik dengan aerasi dan penambahan bakteri *Pseudomonas putida*. *Jurnal Bioteknologi* 3 (2) : 42-49.
- Salimin, Z. dan Rachmadetin. 2011.** Denitrifikasi Limbah Radioaktif Cair yang Mengandung Asam Nitrat Dengan Proses Bioksidasi.

*Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX. BATAN.*

- Sengodan, P. dan Hays, D.B. 2012.** Microbial Fuel Cell. Working Document of the NPC Future Transportation Fuels Study. Department of Soil and Crop Sciences. Texas A&M University, Texas.
- Sinta, M.M., Riyadi, I., dan Sumaryono. 2014.** Identifikasi dan Pencegahan Kontaminasi Pada Kultur Cair Sistem Perendaman Sesaat. *Menara Perkebunan* 82(2) : 64-69.
- Siswanti, A.C. dan Sanjaya, I G.M. 2013.** Pengaruh Variasi *Optical Density* Bakteri *Bacillus subtilis* Terhadap Efisiensi Listrik *Microbial Fuel Cell*. *Unesa Journal Of Chemistry*. Vol 2. No 2.
- Subagiyo, Margino, S., Triyanto, dan Setyati, W.A. 2015.** Pengaruh pH, Suhu dan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Penaeid. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Vol 20(4) : 187-194.
- Smith, P.N., Palenik, C.J., Blanchard, S.B. 2011.** Microbial contamination and the sterilization/disinfection of surgical guides used in the placement of endosteal implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. (2) : 274-81.
- Sugiyono, A., Anindhita, Boedoyo, M.S., dan Adiarso. 2014.** Outlook Energi Indonesia 2014. Pusat Teknologi Pengembangan Sumberdaya Energi (PTPSE), Jakarta.
- Suriani dan Muis, A. 2016.** Prospek *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah Pada Tanaman Jagung. *J. Litbang Pert.* Vol. 35 No. 1 : 37-45.
- Susilo, F.A.P., Suharto, B., dan Susanawati, L.D. 2013.** Pengaruh Variasi Waktu Tinggal Terhadap Kadar BOD dan COD Limbah Tapioka dengan Metode *Rotating Biological Contactor*. *Jurnal Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. 2(1) : 21-26.
- Yazdi, H., L. Alzate-Gaviria, dan Z.J., Ren. 2015.** Pluggable Microbial Fuel Cell Stacks For Septic Wastewater Treatment And Electricity Production. *Bioresource Technology* 180 : 258–263.
- Yoganathan dan Ganesh. 2015.** Electrogenicity assessment of *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* using Microbial Fuel Cell technology. *International Journal of Applied Research*. 1 (13) : 435-438.

