

**POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI
KARBOHIDRAT DARI LIMBAH TAMBAK UDANG**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh:
ASEP FIQRI SHAHID
NIM. 0910852002



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI
KARBOHIDRAT DARI LIMBAH TAMBAK UDANG**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

**Oleh:
ASEP FIQRI SHAHID
NIM. 0910852002**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

SKRIPSI

POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI
KARBOHIDRAT DARI LIMBAH TAMBAK UDANG

Oleh:
ASEP FIQRI SHAHID
NIM. 0910852002

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 05 Agustus 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No. : _____

Tanggal : _____

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Ir. Maheno Sri Widodo, MS

Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D

Tanggal :

Tanggal :

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Ir. Heny Suprastyani, MS

Ir. Anik Martinah Hariati, M.Sc

Tanggal :

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

Tanggal :

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Kegunaan Penelitian.....	5
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Karakteristik dan Morfologi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	6
2.2 Tambak Udang	9
2.3 Limbah Tambak Udang	11
2.4 Karbohidrat	15
2.5. Bakteri Amilolitik	18
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Alat Penelitian	20
3.1.2 Bahan Penelitian.....	20
3.2 Metode Penelitian	21
3.3 Rancangan Percobaan	21
3.4 Prosedur Penelitian.....	22
3.4.1 Pengambilan Sampel Sedimen	22
3.4.2 Sterilisasi Alat	23
3.4.3 Kultur Stok <i>Bacillus subtilis</i>	23
3.4.4 Pewarnaan Gram.....	24
3.4.5 Pembuatan Inokulan	24
3.4.6 Persiapan dan Penanaman <i>Bacillus subtilis</i>	25
3.4.7 Uji Karbohidrat	26
3.4.8 Pengukuran Kualitas Air.....	26
3.4.9 Analisis Data.....	28
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	30
4.1. Pewarnaan Bakteri.....	30

4.2. Hasil Uji Karbohidrat	30
4.3. Kualitas Air.....	37
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan.....	41
5.2. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Karbohidrat (ppm)	31
2. Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per jam)	32
3. Analisis Keragaman Potensi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang	33
4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Potensi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> Mendegradasi Karbohidrat dalam Limbah Tambak Udang	33
5. Analisis Keragaman Regresi Potensi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang	34



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pemikiran.....	4
2. <i>Bacillus subtilis</i>	6
3. Tambak Udang	9
4. Rata-Rata dan Standart Deviasi Nilai Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat yang Didegradasi (ppm per 48 jam)	31
5. Hubungan Antara Kepadatan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dengan Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm/jam).....	35
6. Nilai Kualitas Air.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Persiapan dan Penanaman Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	48
2. Prosedur Pengenceran Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	49
3. Prosedur Uji Karbohidrat.....	50
4. Hasil Uji Karbohidrat Awal dan Akhir Selama Penelitian	51
5. Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per 48 jam)	52
6. Analisis Keragaman Regresi Potensi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang	55
7. Data Pengukuran Kualitas Air	58
8. Reagen TSA dan TSB	59
9. Photo-Photo Penelitian	60
10. Hasil Uji Biokimia	62



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budidaya udang adalah kegiatan atau usaha memelihara kultivan (udang) di tambak selama periode tertentu, serta memanennya dengan tujuan memperoleh keuntungan. Dengan batasan tersebut, maka keberhasilan kegiatan budidaya udang di tambak sangat dipengaruhi oleh ketepatan teknologi budidaya yang digunakan serta kelayakan lingkungan dimana tambak itu berada (Isdarmawan, 2005). Ini didukung dengan volume produksi budidaya tambak di Indonesia mengalami peningkatan dari tahun ke tahun yaitu 629.610 ton pada tahun 2006, 933.833 ton tahun 2007, 959.509 ton tahun 2008 dan 1.180.700 ton tahun 2009 (KKP, 2010). Dengan meningkatnya produksi tambak udang mengakibatkan peningkatan pemberian pakan sehingga menyebabkan menurunnya kualitas air.

Penurunan kualitas budidaya air payau (tambak) disebabkan oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal merupakan faktor yang bersumber dari kegiatan usaha budidaya udang itu sendiri, seperti tidak terkendalinya teknologi yang diterapkan atau tidak sesuai dengan daya dukung lahan (*carrying capacity*), misalnya padat penebaran terlalu tinggi sehingga pemberian pakan selama masa pemeliharaan juga sangat besar. Apabila terjadi pemberian pakan yang berlebihan (*over feeding*) pada udang, maka tidak seluruh pakan dimakan oleh udang. Sisa pakan akan terbuang dan membusuk di dasar tambak sehingga menyebabkan pencemaran (Amri dan Iskandar, 2008). Menurut Haliman dan Dian (2007), pemberian pakan berlebih bisa menimbulkan pencemaran air. Akibatnya, udang mudah stress sehingga pertumbuhan udang terhambat.

Limbah tambak yang terdiri dari sisa pakan (*uneaten feed*), kotoran udang (*feces*), dan pemupukan terakumulasi di dasar tambak maupun tersuspensi dalam air. Limbah ini terdegradasi melalui proses mikrobiologi dengan menghasilkan amonia, nitrit, nitrat, dan fosfat (Zelaya *et al.*, 2001 dalam Supono, 2008). Limbah yang dihasilkan umumnya mengandung konsentrasi bahan organik yang sangat tinggi yang terdiri dari lemak, karbohidrat, protein dan selulosa atau lignoselulosa (Darmayasa, 2008). Kordi (2010) menyatakan bahwa dengan FCR 1,1, 1,5 dan 2,5 berturut-turut adalah 500 kg, 875 kg, 1.625 kg untuk bahan-bahan organik, 26 kg, 56 kg, 117 kg untuk nitrogen dan 13 kg, 21 kg, 38 kg untuk fosfor.

Penguraian zat organik adalah peristiwa alamiah, apabila suatu badan air dicemari oleh zat organik, bakteri dapat menghabiskan oksigen terlarut dalam air selama proses oksidasi tersebut yang bisa mengakibatkan kematian ikan-ikan dalam air dan dapat menimbulkan bau busuk pada air tersebut. Beberapa zat organik maupun anorganik dapat bersifat racun misalnya sianida, tembaga, dan sebagainya, sehingga harus dikurangi sampai batas yang diinginkan (Alaerts dan Santika, 1984).

Bacillus spp merupakan salah satu bakteri yang mempunyai berbagai macam kemampuan yang dapat dikembangkan dalam skala industri. Hal ini dikarenakan mempunyai sifat-sifat seperti memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, kosmopolit, tahan terhadap senyawa-senyawa antiseptik, bersifat aerob atau fakultatif anaerob dan memiliki kemampuan enzimatik yang beragam (Atlas dan Bartha, 1987 dalam Hatmanti, 2000). Selain itu, beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraselluler seperti protease, lipase, amilase dan selulase (Wongsa dan Werukhamkul, 2007 dalam Umar, 2009). Menurut Anam (2010), amilase merupakan enzim yang

mengkatalisis reaksi hidrolisis pati menjadi gula-gula sederhana. Amilase mengubah karbohidrat yang merupakan polisakarida menjadi maltosa (alfa dan beta) ataupun glukosa (gluko amilase) .

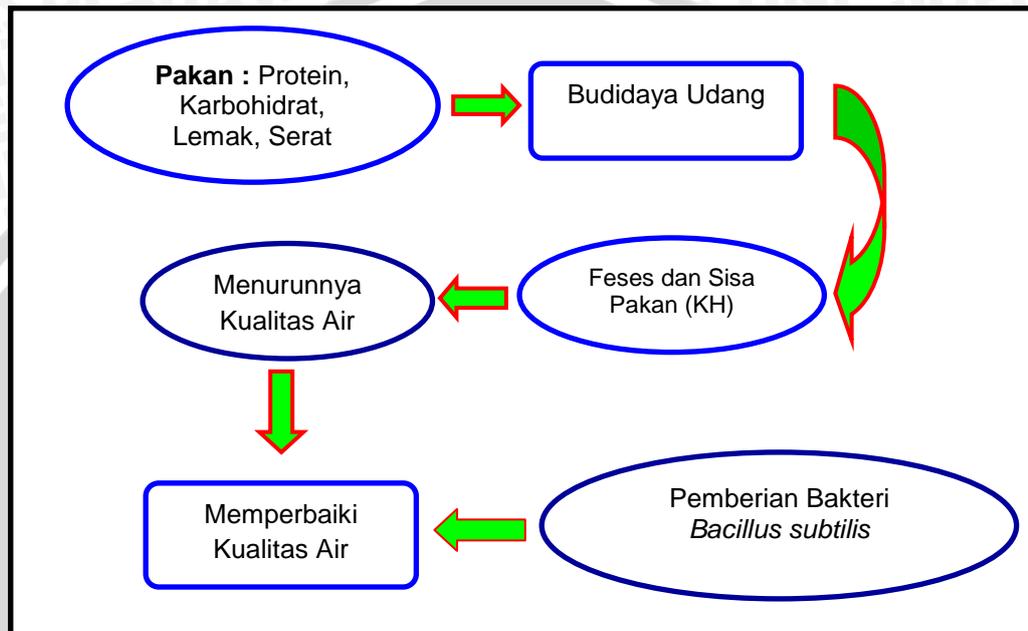
Untuk mengetahui kemampuan bakteri *Bacillus subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang pada budidaya intensif perlu dilakukan penelitian terhadap bakteri *B. subtilis*. Sehingga dengan penelitian ini dapat menjawab permasalahan tersebut.

1.2 Perumusan Masalah

Pencemaran bahan organik di tambak merangsang timbulnya penyakit udang. Kondisi ini telah terjadi pada tambak intensif dengan desain konvensional (Isdarmawan, 2005). Oleh karena itu, perlu dilakukan kajian terbaru dalam mengatasi permasalahan tersebut.

Pemberian pakan dalam budidaya udang secara intensif dapat menurunkan kualitas air. Hal ini dikarenakan pada budidaya secara intensif memiliki kepadatan tebar yang cukup tinggi dan membutuhkan pakan yang banyak. Pakan tersebut tidak semuanya dimakan oleh udang dan apabila dimakan akan mengeluarkan feses. Dalam feses dan sisa pakan masih terdapat karbohidrat karena udang tidak mampu mencerna karbohidrat dengan sempurna yang menyebabkan karbohidrat akan menjadi limbah. Limbah tersebut akan terakumulasi baik dengan air maupun dengan tanah dasar tambak. Lambat laun karbohidrat akan terdekomposisi oleh bakteri dan diubah menjadi beberapa unsur yaitu C, H dan O. Apabila bakteri tersebut aerobik maka akan membutuhkan oksigen sehingga akan mengurangi oksigen terlarut dalam tambak dan mengganggu kelangsungan hidup udang tersebut bahkan dapat menyebabkan timbulnya suatu penyakit karena air tersebut beracun akibat dari hidrogen sulfida

(H₂S). Berdasarkan kerangka pemikiran di atas diperlukan suatu pemecahan masalah supaya karbohidrat dari limbah tambak udang dapat disederhanakan sehingga dapat menurunkan konsentrasi karbohidrat dalam tambak udang. Untuk lebih jelasnya kerangka pemikiran ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Pemikiran

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan, yaitu ;

- Apakah bakteri *B. subtilis* mempunyai potensi dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang ?
- Berapa laju penurunan konsentrasi karbohidrat terbesar dari limbah tambak udang oleh bakteri *B. subtilis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

- Mengetahui potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang.

- Mendapatkan kepadatan optimum bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat limbah tambak udang.

1.4 Hipotesis

H₁ : Bakteri *B. subtilis* mampu mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang.

1.5 Kegunaan Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian ini diharapkan dapat diketahui potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang dan dapat diaplikasikan langsung pada budidaya udang di tambak serta dapat membantu para pembudidaya udang dalam penanganan karbohidrat yang berasal dari sisa pakan dan feses udang.

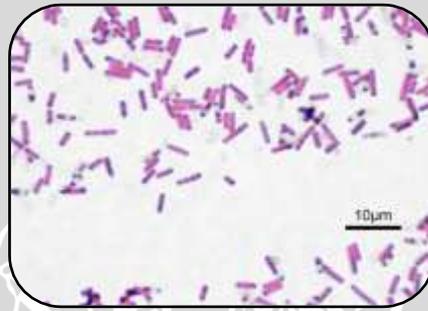
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 25 sampai 31 Maret 2011. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik dan Morfologi Bakteri *Bacillus subtilis*

Bacillus spp digolongkan ke dalam kelas bakteri heterotrofik, yaitu protista bersifat uniseluler, termasuk dalam golongan mikroorganisme redusen atau yang lazim disebut dengan dekomposer. Sebagian besar bakteri laut termasuk dalam kelompok bakteri bersifat heterotrofik dan saprofitik (Rheinheimer, 1980 dalam Hatmanti, 2000).



Gambar 2. *Bacillus subtilis* (Caray, 2009)

Klasifikasi bakteri *Bacillus* spp menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Editions* (Hadioetomo, 1985 dalam Hatmanti, 2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Procaryotae
Divisi	: Bacteria
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: Bacillus
Jenis	: <i>Bacillus</i> spp

Bacillus spp merupakan bakteri yang berbentuk batang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa enzim menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus* spp membentuk endospora, merupakan gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anerobik serta bersifat katalase positif (Pelczar *et al.*, 1976).

Bakteri golongan *Bacillus* merupakan bakteri golongan Gram positif, namun bakteri pembentuk spora ini menjadi golongan Gram negatif ketika memasuki fase stasioner dalam pertumbuhannya. Sebagian besar *Bacillus* merupakan bakteri mesofil yang tumbuh dengan temperatur optimal antara 30-45°C, meskipun ada beberapa yang termasuk golongan termofil dengan temperatur optimal pada 65°C (Todar, 2009).

Bakteri *Bacillus* spp merupakan bakteri penghasil antibiotik. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lain. Beberapa bakteri yang menghasilkan antibiotik adalah *Bacillus brevis* menghasilkan terotrisin, *Bacillus subtilis* menghasilkan basitrasin dan *Bacillus polymyxa* menghasilkan polimixin (Anonymous, 2010). Selain itu, *Bacillus subtilis* juga dapat digunakan sebagai pengolah limbah dengan membentuk *flock*. Prinsip kerja yang sama yang melibatkan PHA sebagai poli membentuk ikatan kompleks mikroorganisme dengan bahan organik dan anorganik adalah seperti pembentukan klekap di tambak dan mempunyai kemampuan untuk melarutkan posfat (Aiyushirota, 2010).

Species *Bacillus* sangat cocok untuk produksi enzim, kecuali *B. cerus* dan *B. anthracis*. Mikroba jenis *Bacillus* tidak menghasilkan toksin, mudah

ditumbuhkan, dan tidak memerlukan substrat yang mahal. Kemampuan *Bacillus* untuk bertahan pada temperatur tinggi, tidak adanya hasil samping metabolik, dan kemampuannya untuk menghasilkan sejumlah besar protein ekstrasel (Doi *et al.*, 1992 dalam Susanti, 2002).

Bakteri memperbanyak dirinya secara aseksual dengan cara pembelahan sel (biner melintang). Pembelahan sel bakteri ini akan menghasilkan dua sel anak. Selain dengan pembelahan sel, bakteri juga melakukan reproduksi dengan spora reproduktif dan fragmentasi pertumbuhan berfilamen (Pelczar dan Chan, 2005).

Bakteri yang ditumbuhkan dalam media tertentu akan mengalami empat fase dalam pertumbuhannya (Pelczar dan Chan, 2005), yaitu :

- Fase adaptasi (lag) adalah pada fase ini tidak ada penambahan populasi, sel bakteri melakukan penyesuaian diri terhadap keadaan lingkungan. Kurva pada fase ini umumnya mendatar.
- Fase logaritmik (eksponensial) adalah pada fase ini terjadi pertumbuhan yang sangat pesat, jumlah sel meningkat secara eksponensial, populasi menjadi dua kali lipat.
- Fase statis adalah pada fase ini populasi telah mencapai puncak pertumbuhan yang tidak dapat dilampaui lagi. Pengurangan sumber nutrisi serta penumpukan produk beracun menyebabkan beberapa sel mati, sedangkan jumlah sel hidup tetap. Biasanya bentuk kurva adalah mendatar.
- Fase penurunan (kematian) adalah sel yang mati bertambah lebih cepat dari yang terbentuk. Laju kematian semakin cepat menjadi eksponensial.

Bakteri pendegradasi bahan organik merupakan agen pengendali biologi yaitu memiliki kemampuan dalam memperbaiki kualitas air melalui perombakan atau pendegradasian bahan organik dalam perairan (Suarsini, 2006 dalam Prayogo, 2009). Komponen bahan organik yang merupakan sumber bahan pencemar kualitas air umumnya adalah bahan organik yang terdiri dari protein, lemak dan karbohidrat, sehingga dalam pendegradasian bahan organik tersebut diperlukan adanya bakteri dari golongan bakteri proteolitik, bakteri lipolitik dan bakteri amilolitik (Prayogo, 2009). Menurut Fardiaz (1992), mikroba menggunakan glukosa sebagai sumber energi yang diperoleh dari proses perombakan senyawa karbohidrat. Melalui proses glikolisis, glukosa akan diubah menjadi komponen lain untuk menghasilkan energi. Energi yang dihasilkan akan digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhan metabolisme senyawa organik pada fermentasi.

2.2 Tambak Udang

Tambak merupakan salah satu jenis habitat yang dipergunakan sebagai tempat untuk kegiatan budidaya air payau yang berlokasi di daerah pesisir Hermanto (2007). Secara umum tambak biasanya dikaitkan langsung dengan pemeliharaan udang windu, walaupun sebenarnya masih banyak spesies yang dapat dibudidayakan di tambak misalnya ikan bandeng, ikan nila, ikan kerapu, kakap putih dan sebagainya. Tetapi tambak lebih dominan digunakan untuk kegiatan budidaya udang windu.



Gambar 3. Tambak Udang

Menurut Hermanto (2007), limbah di areal pertambakan dapat berasal dari pabrik, sawah, pemukiman penduduk dan dari kegiatan budidaya itu sendiri seperti kotoran udang dan sisa pakan. Beberapa cara penanganan limbah tersebut antara lain adalah melalui :

- a) Penyaringan air saat dimasukkan ke tambak.
- b) Penggunaan petak perlakuan (tandon air).

Kemerosotan kualitas lingkungan perikanan budidaya udang banyak dijumpai di sepanjang Pantai Utara Jawa, baik disebabkan oleh kegiatan sektoral maupun kegiatan budidaya udang itu sendiri. Salah satu penyebab penurunan kualitas lingkungan perairan tambak adalah buangan limbah air budidaya selama operasional yang mengandung konsentrasi tinggi dari limbah organik dan nutrisi sebagai konsekuensi dari masukan akuinput dalam budidaya udang yang menghasilkan sisa pakan dan feces yang terlarut ke dalam air untuk kemudian dibuang ke perairan sekitarnya (Boyd dan Massaut, 1998). Semakin banyak tambak intensif di suatu wilayah, maka limbah pakan yang terbuang dan bahan kimia semakin besar. Lebih dari setengah pakan yang ditebar ditambak, tidak dikonsumsi oleh udang. Pakan ini akan membusuk didasar perairan dan mencemari perairan saat pergantian air. Berat pakan udang yang diberikan pada tambak intensif lebih berat dibandingkan hasil panen udang hingga 1,5 kali (Siregar dan Walhi, 2007).

Pada tambak semi-intensif dan tambak intensif sejalan dengan masa pemeliharaan jumlah bahan organik yang berasal dari kotoran sisa pakan dan jasad mati dapat terakumulasi di dasar tambak dari waktu ke waktu. Menumpuknya bahan organik secara berlebihan di dasar tambak (lumpur) akan menurunkan daya dukung lingkungan tambak (*carrying capacity*) dan dapat mengakibatkan terbentuknya kondisi anaerobik pada dasar tambak akibat aktivitas mikroorganisme, sehingga membahayakan kehidupan hewan-hewan makrobenthos dan udang yang hidup di dasar tambak. Bahan organik yang umumnya terdapat dalam tanah dasar tambak berkisar antara 0,18 – 7,2% dengan nilai rata-rata 1,4% (Boyd, 1982). Masukan bahan organik yang terbesar dikolam dan tambak berupa senyawa nitrogen, berasal dari pakan 93%, selebihnya dari pupuk 2% dan bahan lain yang terbawa air dan masuk ke petakan kolam/tambak sekitar 5% (Kordi, 2010).

Akumulasi bahan organik mengakibatkan aktifnya mikrobial dekomposisi, yang dapat menurunkan oksigen pada sedimen. Pada kondisi yang menurun, produk dekomposisi anaerobik seperti ammonia, nitrit dan sulfite sangat berbahaya bagi udang yang hidup di dasar tambak. Oleh karena itu kualitas sedimen merupakan faktor kunci dalam menentukan berhasilnya budidaya udang terutama pada system yang intensif (Hariati, 2010).

Konsentrasi bahan organik tertinggi di sedimen terdapat pada lapisan teratas hingga kedalaman 5 cm. Umumnya bahan organik pada lapisan ini masih baru dan peka terhadap dekomposisi cepat oleh mikroorganisme. Bahan organik pada lapisan yang lebih dalam dan tanah dasar tambak umumnya lebih tua dan sebagian sudah terdekomposisi, sehingga bahan organik di lapisan ini akan terurai lebih lambat (Agus, 2008).

2.3 Limbah Tambak Udang

Limbah adalah produk sisa yang hampir tidak digunakan dari suatu kegiatan pertanian (Judoamidjojo *et al.*, 1989). Secara umum, karakteristik limbah cair dapat dibedakan menjadi zat anorganik dan organik. Limbah cair yang tergolong dalam zat anorganik antara lain; pH, alkalinitas, logam dan gas sedangkan dalam zat organik yaitu protein, karbohidrat, lemak, minyak, pestisida dan deterjen atau surfaktan. Sedangkan menurut Mayanti dan Herto (2010), limbah merupakan produk buangan yang dihasilkan dari proses produksi maupun hasil dari proses pengolahan limbah baik skala industri maupun domestik. Bila ditinjau secara kimiawi, limbah terdiri atas dua macam, yaitu limbah organik dan anorganik. Keberadaan limbah dapat memberikan efek negatif bagi lingkungan dan kesehatan bila ada dalam konsentrasi tinggi dan tidak ditangani dengan benar.

Selama masa budidaya limbah organik yang ada di sedimen perlu diperlakukan supaya dapat menghilangkan racun dan bahan yang tidak diinginkan dalam limbah organik serta mengeliminasi mikroorganisme patogen. Beberapa indikasi penurunan produksi diduga karena intensifikasi yang berlebihan, melemahnya daya tahan udang, pencemaran diri karena tingginya limbah organik dan gangguan penyakit mikrobiologis. Sebagian besar dari kegagalan panen diakibatkan oleh kerusakan lingkungan dari pencemaran bahan organik (Hariati, 2010).

Limbah tambak yang terdiri dari sisa pakan (*uneaten feed*), kotoran udang (*feces*), dan pemupukan terakumulasi di dasar tambak maupun tersuspensi dalam air. Limbah ini terdegradasi melalui proses mikrobiologi dengan menghasilkan amonia, nitrit, nitrat, dan fosfat (Zelaya *et al.*, 2001 **dalam**

Supono, 2008). Besarnya polusi atau limbah yang dihasilkan setiap metrik ton (MT) pakan dengan FCR (*Feeding Conversion Ratio*) 2,1 adalah 1.250 kg bahan-bahan organik, 87 kg nitrogen dan 28 kg fosfor. Sedangkan untuk FCR 1,1, 1,5 dan 2,5 berturut-turut adalah 500 kg, 875 kg, 1.625 kg untuk bahan-bahan organik, 26 kg, 56 kg, 117 kg untuk nitrogen dan 13 kg, 21 kg, 38 kg untuk fosfor (Kordi, 2010).

Penguraian zat organik adalah peristiwa alamiah, apabila suatu badan air dicemari oleh zat organik, bakteri dapat menghabiskan oksigen terlarut dalam air selama proses oksidasi tersebut yang bisa mengakibatkan kematian ikan-ikan dalam air dan dapat menimbulkan bau busuk pada air tersebut. Beberapa zat organik maupun anorganik dapat bersifat racun misalnya sianida, tembaga, dan sebagainya, sehingga harus dikurangi sampai batas yang diinginkan (Alaerts dan Santika, 1984). Berkurangnya oksigen selama biooksidasi ini selain digunakan untuk oksidasi bahan organik, juga digunakan dalam proses sintesa sel serta oksidasi sel dari mikroorganisme (Fatha, 2007).

Pengolahan air buangan secara biologis adalah suatu cara pengolahan yang diarahkan untuk menurunkan atau menyisihkan substrat tertentu yang terkandung dalam air buangan dengan memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk melakukan perombakan substrat tertentu. Proses pengolahan air buangan secara biologis dapat berlangsung dalam 2 (dua) lingkungan utama, yaitu aerob dan anaerob. Penguraian zat organik oleh mikroorganisme dalam lingkungan anaerob bisa berlangsung bila mikroorganisme tersebut menggunakan molekul selain sebagai akseptor elektron akhirnya oksigen (O_2). Penguraian secara anaerob ini dapat menghasilkan biogas yang terdiri dari metana (50–70 %) , CO_2 (25–45%) dan sebagian kecil sisanya terdiri dari hidrogen, nitrogen dan hidrogen

sulfida (Astuti *et al.*, 2007). Nitrogen dirubah menjadi amoniak, belerang dirubah menjadi hydrogen sulfide, yang keduanya berbentuk gas dan bau (Mukti, 2008).

Kualitas air cepat mengalami penurunan bila sisa pakan yang tertimbun sangat besar. Bila penimbunan pakan di dasar kolam/tambak tidak segera diantisipasi, maka sebagai bahan organik akan terjadi proses dekomposisi. Dalam proses dekomposisi akan membutuhkan sejumlah besar oksigen. Kebutuhan oksigen ini semakin besar dengan makin meningkatnya kandungan limbah dari bahan organik (didalamnya termasuk sisa pakan) tersebut. Bila suplai oksigen tidak cukup, kondisi anaerobik pada dasar kolam/tambak tidak dapat dihindarkan. Tentu ini sangat membahayakan biota budidaya yang memang sebagian besar aktivitasnya di dasar kolam/tambak. Lebih buruk lagi lantaran kondisi anaerobik ini menghasilkan substansi-substansi beracun seperti amonia, nitrit dan H₂S (Kordi dan Andi, 2007).

Dalam proses anaerob, senyawa-senyawa organik kompleks (protein, karbohidrat dan minyak/lemak) berantai panjang mula-mula didegradasi menjadi asam lemak dan asam amino sederhana dan berantai pendek serta sejumlah gas kecil (Parkin dan Owen, 1986 *dalam* Husin, 2008). Selanjutnya asam-asam organik dan sam-asam amino sederhana diuraikan lebih lanjut menjadi gas metan (CH₄), karbondioksida (CO₂), dan sejumlah kecil H₂, hidrogen sulfida (H₂S) dan nitrogen serta biomassa (Balch *et al.*, 1977 *dalam* Husin, 2008).

Asam belerang atau hidrogen sulfida (H₂S) merupakan gas beracun yang dapat larut dalam air. Akumulasinya di kolam/tambak biasanya ditandai dengan endapan lumpur hitam berbau khas seperti telur busuk atau belerang. Sumber utamanya adalah hasil dekomposisi sisa-sisa plankton, kotoran biota budi daya, sisa pakan dan bahan organik lainnya. Bahan organik selain dapat menghasilkan

amonia juga memproduksi belerang. Selain itu, air laut yang banyak mengandung SO_4^{2-} di daerah bertanah asam juga memproduksi H_2S . Persentase H_2S pada pH 7,0 dan suhu 26°C mencapai 49,7%, sedangkan pada pH 9,0 dan suhu 30°C hanya 0,9% (Kordi dan Andi, 2007).

Kordi dan Andi (2007) menyatakan dalam kondisi anaerob (kekurangan oksigen), beberapa bakteri heterotrop mampu memanfaatkan senyawa-senyawa organik belerang maupun sulfat anorganik sebagai energi dalam metabolisme dalam suasana kekurangan oksigen, seperti reaksi berikut :



Belerang yang dihasilkan akan terlihat dalam serentetan reaksi pembentukan produk akhir yang sangat beracun, yaitu H_2S melalui senyawa HS^- sebagai berikut :



Hidrogen sulfida juga terbentuk dari proses dekomposisi lumpur kaya organik. Masuk ke dalam air bersama dengan jenis gas lainnya seperti metan dan CO_2 yang terbentuk oleh proses degradasi anaerobik. Pada kondisi aerobik H_2S akan teroksidasi menjadi sulphat. Dampaknya pada ikan dan udang adalah menurunkan pertumbuhan dan menimbulkan kematian. Penanganan bisa dilakukan dengan melakukan proses aerasi dan pergantian air (Putra, 2008).

Kadar pH air juga mempengaruhi kandungan asam belerang (H_2S) dalam air, kandungan H_2S menurun dengan meningkatnya pH air. Biota air bisa keracunan pada konsentrasi H_2S 0,1-0,2 ppm dan pada konsentrasi 0,25 ppm bisa menyebabkan kematian (Aryanti, 2011).

2.4 Karbohidrat

Karbohidrat didefinisikan sebagai zat yang mengandung atom karbon, hidrogen, dan oksigen. Karbohidrat berasal dari kata karbon dan hidrat, karbon artinya adalah atom karbon dan hidrat adalah air. Oleh karena itu rumus umum karbohidrat dapat ditulis $C(H_2O)$. Struktur kimia karbohidrat dibagi dua kelompok; gula dan non gula. Kelompok gula atau lebih dikenal dengan senyawa gula sederhana disebut dengan monosakarida. Monosakarida ini dapat bergabung satu sama lain dengan melepaskan air menjadi bentuk disakarida (mengandung dua unit monosakarida) atau polisakarida (mengandung lebih dari dua unit monosakarida) (Abun, 2008).

Kebutuhan ikan atau jenis hewan lainnya akan nutrisi dalam pakan sangat dipengaruhi oleh komposisi nutrisi tubuhnya. Nutrisi yang termasuk kedalam kelompok makro akan dibutuhkan dalam jumlah yang lebih besar dalam pakan yang dikonsumsinya, begitu pula sebaliknya untuk nutrisi yang tergolong kedalam kelompok mikro ataupun ion. Kebutuhan akan berbagai jenis nutrisi, molekul, ataupun ion yang bersifat esensial bagi ikan atau hewan tersebut akan lebih besar pula tuntutan keberadaannya dalam pakan (Subandiyono dan Sri, 2009). Menurut Afrianto dan Evi (2005), bahan baku pakan yang mengandung karbohidrat antara lain jagung, beras, dedak, tepung terigu, tapioka dan sagu.

Karbohidrat terdapat dalam alam secara bebas dalam bentuk pati, selulosa dan serat kayu yang semuanya terdapat dalam air limbah. Karbohidrat mengandung karbon, hidrogen dan oksigen. Beberapa karbohidrat seperti gula, larut dalam air. Sedangkan pati tidak larut dalam air dan meskipun cenderung stabil dapat diubah dalam bentuk gula oleh aktivitas mikroba (Tchobanoglous dan Burton, 1991 dalam Sihalo, 2008).

Salah satu penyebab penurunan kualitas lingkungan perairan tambak adalah buangan limbah air budidaya selama operasional yang mengandung konsentrasi tinggi dari limbah organik dan nutrien sebagai konsekuensi dari masukan akuainput dalam budidaya udang yang menghasilkan sisa pakan dan feces yang terlarut ke dalam air untuk kemudian dibuang ke perairan sekitarnya (Boyd *et al.*, 1998). Sementara besaran input pakan menyerap hampir 70% dari total biaya produksi udang dan merupakan pemasok utama limbah bahan organik dan nutrien ke lingkungan perairan (Barg, 1991 *dalam* Rachmansyah, 2001). Penggunaan pakan buatan juga sering menimbulkan masalah kualitas air. Sisa pakan, pakan yang tidak dapat dicerna, atau pakan yang dicerna sebagian akan mengendap bersama feces ikan di dasar kolam budi daya. Proses perombakan endapan tersebut (oleh mikroba) membutuhkan oksigen dalam jumlah banyak sehingga akan mempengaruhi ketersediaan oksigen di dalam air untuk kebutuhan respirasi (Afrianto dan Evi, 2005).

Menurut Subandiyono dan Sri (2009), karbohidrat akan dihidrolisis menjadi berbagai jenis gula-gulaan yang sederhana, protein dihidrolisis menjadi berbagai jenis asam amino, dan lemak akan diurai menjadi berbagai jenis asam lemak dan berbagai komponen penyusun lainnya. Molekul-molekul tersebut mengalir dalam tubuh dan diambil oleh berbagai jenis jaringan untuk selanjutnya mengalami berbagai reaksi kimia, baik pemecahan molekul atau katabolisme maupun sintesis molekul atau anabolisme. Hasil akhir dari reaksi tersebut adalah degradasi untuk melepaskan energi yang terkandung di dalam molekul tersebut atau pertumbuhan dari organisme sebagaimana ditunjukkan oleh produksi jaringan.

Butir-butir pati tidak larut dalam air dingin, tetapi apabila suspensi dalam air dipanaskan terbentuk suatu larutan koloid yang kental. Bila pati dipanaskan

dan didilusi dengan asam, pati akan terhidrolisis menjadi dekstrin, maltosa dan D-glukosa (Sale, 1961 dalam Sianturi, 2008). Semua hasil hidrolisis ini memiliki sifat yang larut dalam air. Hidrolisis dari pati juga dapat terjadi dengan bantuan enzim amilase yang akan mengubah amilum menjadi maltosa dalam bentuk β -maltosa (Poedjadi, 1994).

Menurut Lechninger (1994), karbohidrat sebagai media tumbuh bakteri. Karbohidrat dalam bentuk gula pati merupakan bagian utama kalori yang dikonsumsi manusia dan hewan serta berbagai organisme. Karbohidrat merupakan senyawa hidrat polihidroksiketon. Sifat kimia dari kedua gugusan fungsional yaitu gugus hidroksil dan karbonil.

2.5 Bakteri Amilolitik

Bakteri amilolitik adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase yang berfungsi memecah pati atau glikogen menjadi glukosa atau maltosa (Winarno, 2002). Amilase diproduksi oleh banyak mikroba, akan tetapi mikroba yang sering digunakan dalam skala industri adalah *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Aspergillus niger* (Pen et al., 1998).

Bacillus subtilis merupakan bakteri gram positif, katalase positif yang secara umum ditemukan di tanah. Enzim yang dihasilkan bakteri ini berfungsi sebagai zat aditif yang ditambahkan deterjen (Pen et al., 1998). Enzim ialah suatu zat yang dapat mempercepat laju reaksi dan ikut bereaksi didalamnya sedang pada saat akhir proses enzim akan melepaskan diri seolah-olah tidak ikut bereaksi dalam proses tersebut. Enzim merupakan reaksi atau proses kimia yang berlangsung dengan baik dalam tubuh makhluk hidup karena adanya katalis yang mampu mempercepat reaksi. Enzim berfungsi sebagai katalis untuk

proses biokimia yang terjadi dalam sel maupun di luar sel makhluk hidup (Caray, 2009).

Menurut Anam (2010), amilase merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis pati menjadi gula-gula sederhana. Amilase mengubah karbohidrat yang merupakan polisakarida menjadi maltosa (alfa dan beta) ataupun glukosa (gluko amilase). Perubahan suhu dan pH mempunyai pengaruh besar terhadap kerja enzim. Kecepatan reaksi enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat. Pada suhu optimum reaksi berlangsung paling cepat. Bila suhu dinaikan terus, maka jumlah enzim yang aktif akan berkurang karena mengalami denaturasi. Sebagian besar enzim menjadi tidak aktif pada pemanasan sampai $\pm 60^{\circ}\text{C}$ (Indah, 2004). Menurut Fardiaz (1992), enzim amilase merupakan enzim ekstraselluler, yaitu enzim yang dihasilkan di dalam sel tetapi dikeluarkan ke medium fermentasi untuk kelangsungan hidupnya. Mikroba menggunakan glukosa sebagai sumber energi yang diperoleh dari proses perombakan senyawa karbohidrat. Melalui proses glikolisis, glukosa akan diubah menjadi komponen lain untuk menghasilkan energi. Energi yang dihasilkan akan digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhan metabolisme senyawa organik pada fermentasi.

Enzim amilase digunakan dalam menghidrolisis berbagai jenis sumber amilum menjadi senyawa-senyawa sederhana seperti maltosa, glukosa dan produksi bioetanol yang memiliki nilai ekonomi lebih tinggi. Enzim amilase merupakan salah satu dari enzim hidrolitik yang dapat memecah ikatan-ikatan pada amilum hingga terbentuk maltosa (Poedjiadi, 1994).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- Plastic
- gelas piala
- tabung reaksi
- cawan petri
- jarum ose
- Bunsen
- korek api
- kain lap
- timbangan digital
- bulb
- pH meter
- *waterbath shaker*
- *hotplate*
- objek glass
- cover glass
- pipet
- autoklaf
- corong
- erlenmeyer
- beaker glass
- DO meter
- karet
- kompor
- rak
- botol semprot
- mikroskop
- kamera
- termometer
- botol mineral
- *coldbox*
- gelas ukur

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- sampel sedimen
- minyak emersi
- Tissue
- Aquades
- Pb asetat
- reagen Nelson
- reagen arsenomolibdat
- K_2SO_4
- kertas label
- kertas saring
- larutan Luff Schorl
- alkohol 70%
- TSB (*Tryptone Soya Broth*)
- TSA (*Tryptone Soya Agar*)
- pewarna safranin
- H_2O_2
- $Na_2(SO_4)_3$
- HCl 0,2 N
- kloroform
- bakteri *Bacillus subtilis*
- pewarna kristal violet
- NaOH

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu suatu metode yang mengadakan kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen ini adalah untuk menemukan hubungan sebab akibat antar variabel. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan selalu menggunakan kontrol (Nazir, 1988).

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Rancangan Acak Lengkap (RAL) yaitu rancangan yang digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium (Gasperz, 1991).

Menurut Gasperz (1991), model umum untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari suatu percobaan

μ = Nilai rata-rata

α_i = Pengaruh perlakuan Ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat dari suatu percobaan ke-i ulangan ke-j

Dalam penelitian ini, sebagai perlakuan adalah pemberian *B. subtilis* dengan kepadatan yang berbeda-beda terhadap degradasi karbohidrat limbah tambak udang. Perlakuan dalam penelitian tersebut yaitu :

Perlakuan A : Kontrol (tanpa pemberian *B. Subtilis*)

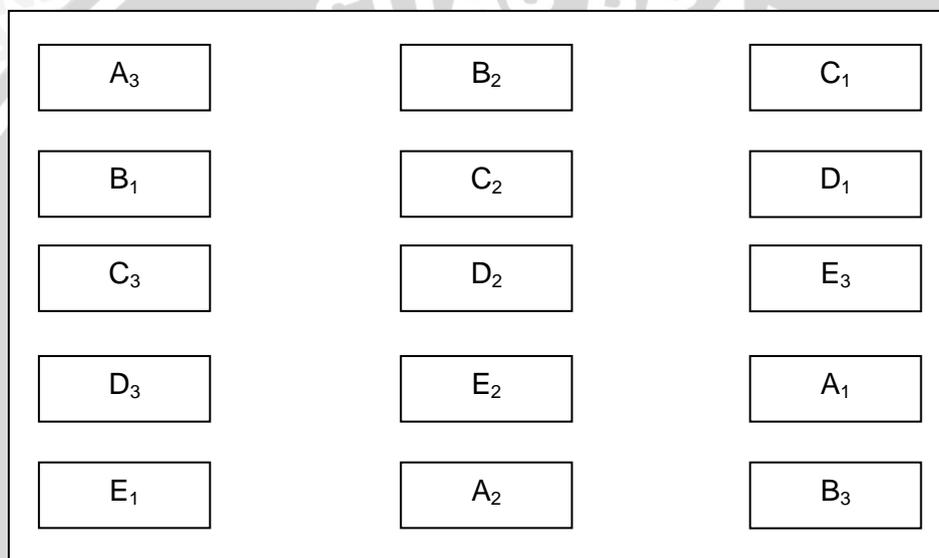
Perlakuan B : Kepadatan *B. Subtilis* yang digunakan yaitu 10^4 sel/ml

Perlakuan C : Kepadatan *B. Subtilis* yang digunakan yaitu 10^5 sel/ml

Perlakuan D : Kepadatan *B. Subtilis* yang digunakan yaitu 10^6 sel/ml

Perlakuan E : Kepadatan *B. Subtilis* yang digunakan yaitu 10^7 sel/ml

Dalam perlakuan ini, masing-masing perlakuan diberi ulangan sebanyak 3 kali yang ditempatkan secara acak. Denah percobaan dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 4. Denah percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk penelitian potensi *B. subtilis* dalam mendegradasi limbah karbohidrat tambak udang

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel Sedimen

Sampel yang diambil merupakan sedimen dari dasar tambak udang semi-intensif di daerah Tuban, Jawa Timur. Sampel tersebut diambil pada saat habis panen, yaitu setelah udang dipelihara selama 120 hari. Sedimen tersebut diambil pada lapisan teratas hingga kedalaman 5 cm. Menurut Agus (2008), konsentrasi bahan organik tertinggi di sedimen terdapat pada lapisan teratas hingga

kedalaman 5 cm. Umumnya bahan organik pada lapisan ini masih baru dan peka terhadap dekomposisi cepat oleh mikroorganisme. Kemudian sedimen dimasukkan ke dalam plastik dan diikat lalu disimpan di dalam *coldbox*.

3.4.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi merupakan kegiatan yang harus dilakukan terhadap alat agar tidak terkontaminasi dan akan mempengaruhi hasil kerja itu sendiri. Kegiatan dilakukan sebelum alat digunakan, sterilisasi dapat dilaksanakan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C supaya bakteri atau mikroorganisme yang terdapat pada alat mati.

3.4.3 Kultur Stok *Bacillus subtilis*

Bakteri *B. subtilis* yang digunakan merupakan berasal dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Menurut Hariani (2009), pembuatan isolat bakteri diambil dari sampel air mangrove sebanyak 5 ml dicampur ke dalam 45 ml garam fisiologis (*garfis*) 0,85% untuk dilakukan pengenceran. Suspensi diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan *garfis* untuk pengenceran berseri hingga didapatkan pengenceran 10^{-8} . Kemudian dari tiap seri pengenceran diambil sebanyak 1 ml untuk diinokulasikan ke dalam media selektif dengan metode cawan tuang (*pour plate*). Selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam atau sampai koloni terbentuk pada suhu ruang. Koloni-koloni tersebut dimurnikan secara *kuadran streak* pada media LA (*Luria Bertani Agar*), kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Koloni tunggal yang terbentuk selanjutnya diinokulasikan pada media miring NA (*Nutrient Agar*) sebagai stok kultur murni.

40 gram medium TSA (Lampiran 8) dimasukkan erlemeyer 2 liter. Kemudian ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.

Selanjutnya dimasukkan dalam *waterbath* suhu 100°C selama 15 menit. Medium dalam erlemeyer tersebut disterilisasi dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Setelah disterilisasi medium didinginkan sampai suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ (hangat-hangat kuku). Selanjutnya medium dituangkan pada cawan petrik steril ± 20 ml per cawan petrik. Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.4.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan membuat preparat bakteri. Pertama-tama adalah menyemprot gelas objek dengan alkohol lalu dikeringkan dengan menggunakan tissue kemudian gelas objek disemprot menggunakan akuades steril. Biakan bakteri yang telah berumur 24 jam diambil menggunakan jarum ose secara aseptik dan diletakkan di atas gelas obyek lalu difiksasi di atas bunsen dengan jarak ± 20 cm hingga kering. Selanjutnya preparat ditetesi dengan pewarna kristal violet dan diamkan selama 1-2 menit. Setelah itu, dicuci gelas objek menggunakan akuades dan dikeringkan. Langkah yang sama dilakukan pada saat menetesi preparat dengan lugol. Kemudian diamkan selama 1 menit lalu bilas dengan alkohol selama 30 detik, kemudian dibilas dengan akuades. Preparat diwarnai dengan safranin selama 15 detik dan dibilas kembali dengan aquades. Diamkan dan keringkan untuk selanjutnya dapat diamati pada mikroskop pada perbesaran 1000x dengan ditetesi minyak emersi untuk mempermudah pengamatan bakteri tersebut.

3.4.5 Pembuatan Inokulan

40 gram medium TSB (*Tryptone Soya Broth*) ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlemeyer 1 liter. Kemudian ditambahkan aquades sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter. Selanjutnya dimasukkan dalam *waterbath* suhu

100°C selama 15 menit. Setelah itu, medium dalam erlemeyer tersebut disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ambil 1-2 koloni murni dengan jarum ose secara aseptis. Masukkan ke dalam medium cair TSB (Lampiran 8) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2X24 jam *dishaking waterbath*. Kemudian disentrifus 3000 RPM selama 15 menit, lalu supernatan dibuang sedangkan pelet ditambah NaFis kemudian diukur kepadatannya dengan cara membandingkan kepadatannya menggunakan metode Mc Farlan (10^9 cfu/ml). Selanjutnya bakteri diencerkan sesuai dengan kepadatan yang diinginkan, suspensi bakteri *Bacillus subtilis* siap untuk digunakan penelitian.

3.4.6 Persiapan dan Penanaman Bakteri *Bacillus subtilis*

Persiapan dan penanaman bakteri *B. subtilis* dimulai dari penimbangan sampel sedimen tambak udang kemudian sampel sedimen ditimbang sebanyak 50 gr menggunakan timbangan digital lalu ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:2 dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan sedimen dimasukkan ke dalam botol yang sudah disterilisasi sebanyak 50 ml. Setelah itu, bakteri *B. subtilis* dimasukkan ke dalam botol secara aseptik dan botol ditutup agar kedap udara lalu diinkubasi selama 48 jam. Menurut Riaz *et al.*, (2003) inkubasi bakteri *B. subtilis* yang optimum dalam menghasilkan enzim amylase yaitu selama 48 jam. Untuk lebih jelasnya persiapan dan penanaman bakteri *B. subtilis* dapat dilihat pada Lampiran 1.

Kepadatan bakteri pada perlakuan didapatkan dari hasil penelitian pendahuluan, dimana kepadatan terbaik yaitu 10^4 sel/ml. Menurut Gurulakshmi *et al.*, (2010), persentase inokulasi yang digunakan dalam mendegradasi limbah yaitu sebesar 20% dari volume yang digunakan. Dalam pengenceran bakteri kita menggunakan metode Mc Farlan sebagai pembanding kepadatan bakteri awalnya. Setelah kepadatan bakteri dibandingkan dengan bakteri stok (Mc

Farlan) sama baru dilakukan pengenceran berseri. Pengenceran dimulai dari kepadatan bakteri kepadatan 10^9 sel/ml sampai 10^4 sel/ml. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.7 Uji Karbohidrat

Uji karbohidrat diawali dengan menimbang sampel lalu dimasukkan ke dalam gelas piala. Kemudian ditambahkan 50 ml aquades dan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya hasil saringan dicuci menggunakan aquades sampai dibaca menggunakan spektrofotometrik UV-Vis. Untuk lebih jelasnya prosedur uji karbohidrat dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.4.8 Pengukuran Kualitas Air

Parameter kualitas air sebagai pendukung dalam penelitian meliputi; suhu, pH, DO (*Dissolved Oxygen*), H_2S dan TOM (*Total Organic Matter*), diukur sebelum dan sesudah perlakuan.

a. Suhu

Suhu diukur dengan menggunakan termometer. Adapun cara pengukurannya yaitu :

- Termometer dicelupkan ke dalam sampel dengan memegang bagian tali pada termometer.
- Setelah ± 5 menit dilakukan pembacaan pada termometer yang ditunjukkan oleh air raksa.
- Diperoleh nilai suhu sampel dalam satuan $^{\circ}C$.

b. pH

pH diukur menggunakan pH meter dengan prosedur :

- *Probe* disambungkan terlebih dahulu sebelum digunakan.
- *Probe* dimasukkan ke dalam air sampel yang diukur.

- Tombol ON ditekan, ditunggu sampai muncul angka pada layar pH meter.
- Angka yang muncul ditunggu sampai posisi stabil.
- Setelah selesai, tekan tombol OFF untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci akuades lalu ditutup.

c. DO

DO diukur menggunakan DO meter dengan prosedur :

- *Probe* disambungkan terlebih dahulu sebelum digunakan.
- *Probe* dimasukkan ke dalam akuades untuk kalibrasi.
- *Probe* dimasukkan ke dalam air sampel yang diukur.
- Tombol ON ditekan, ditunggu sampai muncul angka pada layar DO meter.
- Angka yang muncul ditunggu sampai posisi stabil.
- Setelah selesai, ditekan tombol OFF untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci akuades lalu ditutup.

d. H₂S

Prosedur pengukuran H₂S yaitu :

- Sampel ditimbang sebanyak 25 gr kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.
- Larutan sampel ditambahkan aquades sebanyak 50 ml lalu dikocok selama 15 menit dan disaring ke erlenmeyer 250 ml serta ditambahkan 25 ml larutan I₂ 0,01 N.
- Larutan pada erlenmeyer ditambahkan 5 ml asam asetat glasial lalu dikocok dan ditambahkan larutan amilum 1% sebanyak 1 ml.
- Larutan kemudian dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,01 N sampai larutan berubah menjadi biru.
- Catat volume titrasinya dan dihitung menggunakan rumus dibawah ini.

Rumus :

$$\text{ppm (H}_2\text{S)} = \frac{(\text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \times 34}{\text{Berat Sampel} \times 10^3} \times 10000$$

e. TOM

- Sampel ditimbang sebanyak 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan larutan H_2SO_4 4 N sebanyak 10 ml sampai mendidih.
- Larutan sampel ditambahkan larutan KMnO_4 0,0543 N sebanyak 10 ml lalu dipanaskan selama 5 menit.
- Larutan pada erlenmeyer ditambahkan larutan Asam Oksalat 0,1 N sebanyak 10 ml.
- Larutan dititrasikan dengan larutan KMnO_4 0,0543 N sampai larutan berubah menjadi warna merah muda.
- Catat volume titrasinya dan dihitung menggunakan rumus dibawah ini.

Rumus :

$$\text{ppm (TOM)} = \frac{(\text{Vol. KMnO}_4 \times \text{N KMnO}_4) - (\text{Vol. As. Oxalat} \times \text{N As. Oxalat})}{\text{Vol. Sampel}} \times 1000 \times 31,6$$

3.5 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis tentang potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari tambak udang. Apabila konsentrasi karbohidrat pada limbah tersebut berkurang setelah diberi bakteri *B. subtilis* maka bakteri tersebut memiliki potensi dalam mendegradasi karbohidrat dari tambak udang dan sebaliknya. Selain itu, untuk mengetahui

kepadatan optimum dan seberapa besar bakteri *Bacillus subtilis* mampu mendegradasi karbohidrat dengan baik serta mendapatkan hubungan antara kepadatan bakteri dengan konsentrasi karbohidrat menggunakan analisis regresi.



4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Pewarnaan Bakteri

Berdasarkan hasil pewarnaan bakteri *Bacillus subtilis* diketahui bahwa bakteri *B. subtilis* termasuk ke dalam bakteri gram positif. Hal ini dikarenakan pada saat pewarnaan bakteri dan pengamatan pada mikroskop bakteri *B. subtilis* berwarna ungu serta tampak batang-batang berwarna ungu (Batang Gram Positif). Selain itu, bakteri ini koloni memiliki bentuk oval, tepi tidak rata, elevasi agak cembung dan diameter koloni 8-15 mm. Bakteri gram positif berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meski diberi larutan pemucat yaitu alkohol (Lay, 1994). Menurut Pelczar dan Chan (2005), *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang berbentuk batang yang Gram-positif.

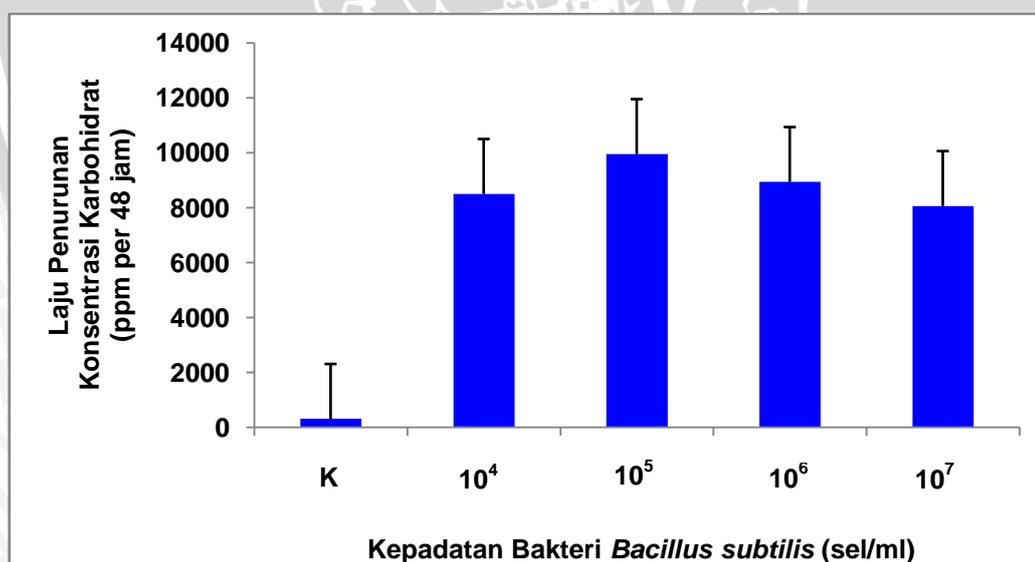
4.2 Hasil Uji Karbohidrat

Berdasarkan hasil uji konsentrasi karbohidrat dari limbah tambak udang diketahui bahwa bakteri *B. subtilis* mampu menurunkan konsentrasi karbohidrat. Hal ini dapat dilihat pada hasil uji karbohidrat awal, akhir dan hasil degradasi konsentrasi karbohidrat pada Tabel 2 sedangkan laju penurunan konsentrasi karbohidrat selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 1. Hasil Uji Karbohidrat (ppm)

Perlakuan	Ulangan	t _{awal}	t _{akhir}	Yang Didegradasi
A (Kontrol)	1	30014	29667	347
	2	30210	29894	316
	3	29802	29527	275
B (10 ⁴ sel/ml)	1	29765	21460	8305
	2	29355	21282	8073
	3	30049	20917	9132
C (10 ⁵ sel/ml)	1	28478	18385	10093
	2	28875	18612	10263
	3	28312	18803	9509
D (10 ⁶ sel/ml)	1	27945	18821	9124
	2	27667	18949	8718
	3	27717	18742	8975
E (10 ⁷ sel/ml)	1	27463	19621	7842
	2	27664	19197	8467
	3	27350	19471	7879

Untuk mengetahui laju penurunan konsentrasi karbohidrat dilihat dari nilai rata-rata dan standart deviasi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 4. Rata-Rata dan Standart Deviasi Nilai Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat yang Didegradasi (ppm per 48 jam)

Grafik di atas memperlihatkan uji konsentrasi karbohidrat sesudah pemberian bakteri *B. subtilis* per 48 jam. Berdasarkan grafik di atas menunjukkan

bahwa perlakuan kontrol mampu mendegradasi karbohidrat sebesar 312,67 ppm per 48 jam dengan laju penurunan 276,56-346,78 ppm per 48 jam sedangkan dengan kepadatan bakteri bakteri 10^4 sel/ml mampu mendegradasi karbohidrat sebesar 8.503,33 ppm per 48 jam atau 26,21 kali dibandingkan kontrol dengan laju penurunan 7.946,67-9.059,99 ppm per 48 jam. Perlakuan dengan kepadatan 10^5 sel/ml memiliki kemampuan dalam mendegradasi karbohidrat terbesar yaitu 9.955 ppm per 48 jam atau 30,86 kali dari kontrol dengan laju penurunan 9.559,51-10.350,49 ppm per 48 jam. Perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^6 sel/ml mampu mendegradasi karbohidrat sebesar 8.939 ppm per 48 jam atau 27,61 kali dari kontrol dengan laju penurunan 8.733,62-9.144,38 ppm per 48 jam dan perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml dapat mendegradasi sebesar 8.062,67 ppm per 48 jam atau 24,80 kali dengan laju penurunan 7.712,02-8.413,32 ppm per 48 jam. Berdasarkan uji karbohidrat pada masing-masing perlakuan, diketahui bahwa *B. subtilis* memiliki potensi dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang dengan kemampuan tertinggi terdapat pada perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^5 sel/ml dan perlakuan terendah pada perlakuan kontrol. Besarnya potensi *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per jam)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
Kontrol	7,23	6,58	5,73	19,54	6,51
10^4 sel/ml	173,02	168,19	190,25	531,46	177,15
10^5 sel/ml	210,27	213,81	198,10	622,19	207,39
10^6 sel/ml	190,08	181,62	186,98	558,69	186,23
10^7 sel/ml	163,37	176,39	164,15	503,92	167,97

Berdasarkan analisis sidik ragam potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang menunjukkan adanya pengaruh berbeda sangat nyata (*highly significant*) antar perlakuan, seperti terlihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Analisis Keragaman Potensi Bakteri *B. subtilis* dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Perlakuan	4	78752,66	19688,2	358,461 **	3,48	5,99
Acak	10	549,24	54,92			
Total	14	79301,90				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian bakteri *B. subtilis* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (*highly significant*) terhadap nilai karbohidrat pada limbah tambak udang. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 1% dan F 5% yang berarti kepadatan *B. subtilis* sangat berpengaruh terhadap penurunan karbohidrat pada limbah tambak udang atau H_1 diterima (H_0 ditolak). Untuk mengetahui tingkat perbedaan dari masing-masing perlakuan maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 0,05 dan 0,01 yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Potensi Bakteri *B. Subtilis* Mendegradasi Karbohidrat dalam Limbah Tambak Udang

Rata-Rata	E =	B =	D =	C =	Notasi	
Perlakuan	A = 6,51	167,97	177,15	186,23	207,39	
A = 6,51	-	-	-	-	-	a
E = 167,97	161,46**	-	-	-	-	b
B = 177,15	170,64**	9,18*	-	-	-	c
D = 186,23	179,72**	18,26**	9,08*	-	-	d
C = 207,39	200,88**	39,42**	30,24**	21,17**	-	e

Uji BNT :

BNT 5% = 7,7

BNT 1% = 11,07

Berdasarkan hasil uji BNT, kemampuan tertinggi *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat adalah pada perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^5 sel/ml yaitu 207,39 ppm per jam. Selanjutnya, perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^6 sel/ml memiliki kemampuan mendegradasi karbohidrat sebesar 186,23 ppm per jam. Perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^4 sel/ml mampu mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak sebesar 177,15 ppm per jam, sedangkan perlakuan dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml mendegradasi karbohidrat sebesar 167,97 ppm per jam. Perlakuan kontrol tanpa pemberian bakteri memiliki kemampuan mendegradasi karbohidrat yang paling rendah, yaitu 6,51 ppm per jam.

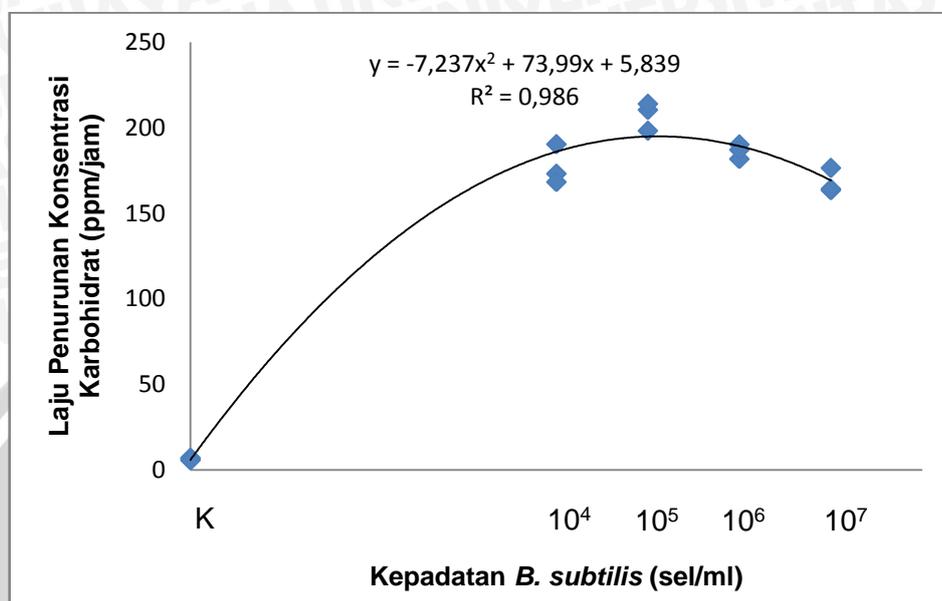
Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan kepadatan bakteri *B. subtilis* dengan nilai degradasi karbohidrat yang terkandung dalam limbah tambak udang maka digunakan analisis regresi. Hasil analisis keragaman regresi dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Analisis Keragaman Regresi Potensi Bakteri *B. subtilis* dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	78752,66	-	-	-	-
Linier	1	33065,82	33065,817	602,03**	4,96	10,04
Kuadratik	1	39474,39	39474,393	718,71**	4,96	10,04
Kubik	1	6160,945	6160,9447	112,17**	4,96	10,04
Kuartik	1	210	210	3,82 ^{ns}	4,96	10,04
Acak	10	549,24	54,924132			
Total	14					

Hasil sidik ragam regresi pada Tabel 4 menunjukkan bahwa nilai F hitung kuadratik lebih besar daripada F tabel 1% (berbeda sangat nyata), yang artinya kepadatan *B. subtilis* berpengaruh sangat nyata terhadap penurunan karbohidrat

dalam limbah tambak udang. Bentuk regresi yang digunakan adalah bentuk kuadratik dan didapatkan persamaan $y = -7,237x^2 + 73,99x - 5,839$ (Lampiran 6).



Gambar 5. Hubungan Antara Kepadatan Bakteri *B. subtilis* dengan Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per jam)

Dalam analisis regresi, terdapat dua koefisien yang biasa digunakan yaitu determinasi (R^2) dan korelasi (r). Pada penelitian ini, koefisien determinasi yang didapatkan yaitu (R^2) = 0,986 artinya 98,6,% penurunan kadar karbohidrat dalam limbah tambak udang dipengaruhi oleh kepadatan bakteri *B. subtilis* yang diberikan. Pada penelitian ini, didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,99 (mendekati 1) yang artinya kepadatan bakteri *B. subtilis* dan kadar karbohidrat yang dihasilkan memiliki korelasi yang sangat tinggi.

Berdasarkan persamaan regresi kuadratik di atas menunjukkan bahwa laju penurunan konsentrasi karbohidrat terbesar oleh bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang terdapat pada kepadatan $1,29 \times 10^5$ sel/ml yaitu sebesar 194,95 ppm per jam.

Kepadatan bakteri komersil yang ditambahkan pada air dan dasar tambak berkisar antara 10^4 cfu/ml sampai dengan 10^7 cfu/ml (Gunarto *et al.*, 2006). Hal ini dikarenakan beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraselluler seperti protease, lipase, amilase dan selulase (Wongsa dan Werukhamkul, 2007 dalam Umar, 2009). Ditambahkan oleh Lechninger (1994), bahwa karbohidrat sebagai media tumbuh bakteri. Karbohidrat dalam bentuk gula pati merupakan bagian utama kalori yang dikonsumsi manusia dan hewan serta berbagai organisme.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan bahwa adanya laju penurunan konsentrasi karbohidrat dengan penambahan bakteri *B. subtilis*. Ini menunjukkan bakteri *B. subtilis* berpotensi dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang. Pemberian bakteri dengan kepadatan yang lebih tinggi tidak dapat mendegradasi karbohidrat secara optimum. Hal ini dikarenakan kemampuan dalam mendegradasi bakteri tersebut salah satunya dipengaruhi kepadatan bakteri. Semakin tinggi kepadatan bakteri maka akan semakin besar persaingan dalam mendapatkan nutrisi sehingga terjadi persaingan yang dapat mengakibatkan kematian. Menurut Habibie (2010) kematian bakteri disebabkan karena zat makanan yang diperlukannya itu menjadi berkurang dan menumpuknya hasil ekskresi bakteri itu sendiri sehingga mengganggu pembiakan dan pertumbuhan. Kehadiran mikroorganisme yang mampu mendegradasi cemaran pada habitatnya akan mampu melakukan remediasi atau pemulihan, tetapi dengan jumlah populasi yang rendah dan kebutuhan akan suplemen tertentu menyebabkan kemampuan remediasi rendah (Irianto, 1999).

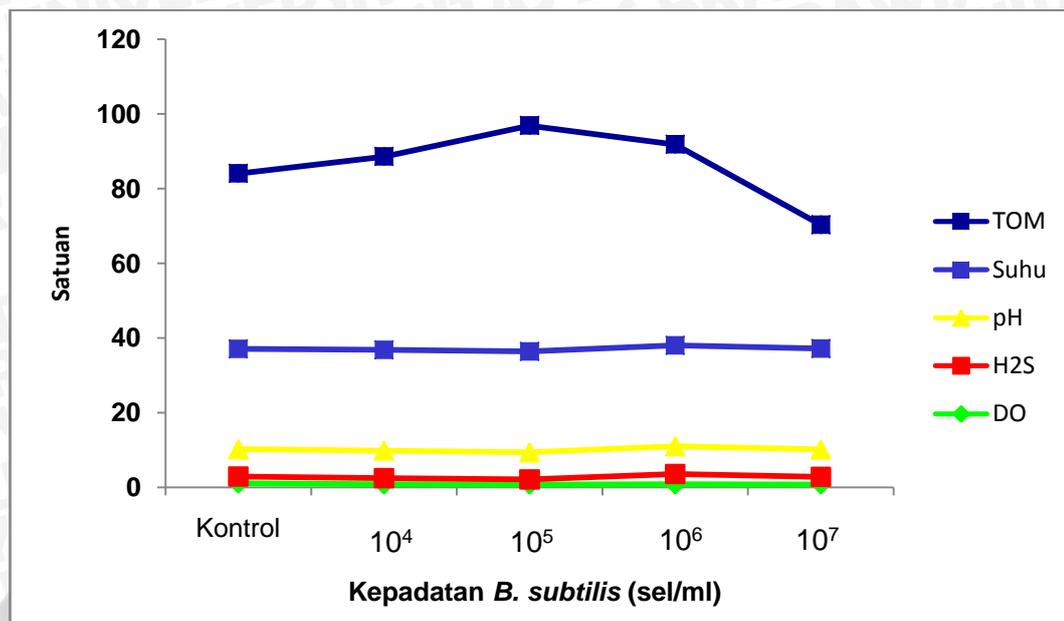
Menurut Fardiaz (1992), mikroba menggunakan glukosa sebagai sumber energi yang diperoleh dari proses perombakan senyawa karbohidrat. Melalui proses glikolisis, glukosa akan diubah menjadi komponen lain untuk

menghasilkan energi. Energi yang dihasilkan akan digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhan metabolisme senyawa organik pada fermentasi. Selain itu, *B. subtilis* memiliki sifat mampu mendegradasi protein, pati, selulosa, hidrokarbon dan agar. Mampu menghasilkan antibiotik, berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi serta pengikatan nitrogen (Hatmanti, 2000). Menurut Gusmawati *et al.*, (2010), pada fase stasioner, pertumbuhan sel bakteri akan dibatasi oleh nutrisi yang semakin berkurang, akumulasi metabolit inhibitor dari produk dan ketiadaan ruang untuk tumbuh. Meskipun sel berhenti tumbuh berkembang, pada fase ini umumnya sel bakteri membelah dan bertambah besar dengan laju pertumbuhan yang konstan, dan mengeluarkan metabolit sekunder seperti antibiotik, dan bakteri tertentu mulai membentuk spora.

Selama ada bahan organik, selama itu pula proses dekomposisi berlangsung. Bahan-bahan organik kompleks, seperti karbohidrat, protein dan lemak, oleh bakteri heterotrofik dipecah menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Tahap berikutnya, senyawa sederhana berupa bahan organik oleh bakteri autotrofik dirombak menjadi senyawa-senyawa yang tidak berbahaya lagi bagi udang (Kordi & Andi, 2007). Menurut Isdarmawan (2005), kecepatan degradasi bahan organik bergantung kepada luas dan waktu tinggalnya dalam petak pertambakan, semakin besar luasan petak penampungan, maka kemampuan mendegradasi bahan organik akan semakin efektif, demikian pula semakin lama tertampung akan semakin tinggi degradasi bahan organik tersebut.

4.3 Kualitas Air

Nilai kualitas air selama penelitian mengalami perbedaan setiap perlakuan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Nilai Kualitas Air

Berdasarkan konsentrasi DO (ppm) pada kualitas air di atas menunjukkan bahwa nilai DO terendah terdapat pada kepadatan bakteri 10⁵ sel/ml yaitu sebesar 0,77 ppm sedangkan DO tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian bakteri) yaitu 1,07 ppm (Lampiran 7). DO digunakan oleh bakteri *B. subtilis* untuk membantu dalam proses mendegradasi bahan organik. Selain digunakan oleh bakteri *B. subtilis* oksigen juga digunakan oleh biota yang terdapat pada limbah tersebut yang menyebabkan kandungan DO menurun. Penyebab utama berkurangnya kadar oksigen terlarut dalam air disebabkan karena adanya zat pencemar yang salah satunya bahan organik dapat mengkonsumsi oksigen (Anonymous, 2011). Ditambahkan Effendi (2003), bahwa dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan organik dapat mengurangi kadar oksigen terlarut hingga mencapai nol (anaerob).

Pada nilai pH di atas diketahui nilai pH terendah terdapat pada kepadatan bakteri 10⁵ sel/ml yaitu sebesar 7,27 sedangkan nilai pH tertinggi terdapat pada

perlakuan dengan kepadatan *B. subtilis* 10^6 sel/ml yaitu sebesar 7,45 (Lampiran 7). Nilai pH di atas masih dalam kisaran optimum untuk pertumbuhan bakteri *B. subtilis*. Pelczar dan Chan (2005) menyatakan pH optimum pertumbuhan bagi kebanyakan bakteri terletak antara 6,5 dan 7,5. Sehingga kerja bakteri *B. Subtilis* dalam mendegradasi karbohidrat juga optimum. Pada umumnya bakteri tumbuh dengan baik pada pH sekitar 7,0 meskipun dapat tumbuh pada kisaran pH 5,0-8,0 (Lay, 1994).

Nilai suhu ($^{\circ}\text{C}$) pada kualitas air di atas diketahui bahwa suhu terendah terdapat pada perlakuan kontrol (tanpa pemberian bakteri) yaitu $26,9^{\circ}\text{C}$ sedangkan nilai suhu tertinggi terdapat pada perlakuan dengan kepadatan *B. subtilis* 10^4 - 10^7 sel/ml yaitu sebesar 27°C (Lampiran 7). Suhu akan mempengaruhi pertumbuhan biota akuatik termasuk juga bakteri *B. subtilis*. Selain itu, suhu akan mempengaruhi seberapa besar laju penurunan konsentrasi karbohidrat oleh bakteri *B. Subtilis*. Suhu juga mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan organisme (Pelczar dan Chan, 2005). Menurut Suriawira (1993), mikroorganisma mesofil adalah golongan mikroorganisma yang mempunyai temperatur optimum pertumbuhan antara 25 - 37°C , minimum 15°C dan maksimum di antara 55°C . Sehingga temperatur di atas merupakan temperatur optimum untuk pertumbuhan bakteri *B. subtilis*.

Konsentrasi H_2S (ppm) pada kualitas air di atas menunjukkan konsentrasi H_2S terendah terdapat pada kepadatan *B. subtilis* 10^5 sel/ml yaitu 1,34 ppm sedangkan konsentrasi H_2S tertinggi terdapat pada perlakuan dengan kepadatan *B. subtilis* 10^6 sel/ml yaitu sebesar 2,75 ppm (Lampiran 7). Hidrogen sulfida juga terbentuk dari proses dekomposisi lumpur kaya organik. Masuk ke dalam air bersama dengan jenis gas lainnya seperti metan dan CO_2 yang terbentuk oleh proses degradasi anaerobik. Pada kondisi aerobik H_2S akan teroksidasi menjadi

sulphat (Putra, 2008). Asam-asam organik dan sam-asam amino sederhana diuraikan lebih lanjut menjadi gas metan (CH_4), karbondioksida (CO_2), dan sejumlah kecil H_2 , hidrogen sulfida (H_2S) dan nitrogen serta biomassa (Balch *et al.*, 1977 dalam Husin, 2008).

Nilai kualitas air di atas dilihat dari konsentrasi TOM (ppm) diketahui konsentrasi TOM terendah terdapat pada kepadatan *B. subtilis* 10^5 sel/ml yaitu 33,21 ppm sedangkan konsentrasi TOM tertinggi terdapat pada perlakuan dengan kepadatan *B. subtilis* 10^6 sel/ml yaitu sebesar 60,47 ppm (Lampiran 7). Berkurangnya kandungan bahan organik tanah disebabkan karena perombakan yang dilakukan oleh bakteri dilakukan secara enzimatik (Bucman & Brady, 1982 dalam Nurhidayah *et al.*, 2007). Nurhidayah *et al.* (2007), menyatakan bahwa bakteri probiotik dengan kepadatan 10^4 cfu/ml dapat menurunkan konsentrasi BOT dan PO_4P dalam media pemeliharaan pascalarva udang windu.

Nilai Kualitas air di atas menunjukkan bahwa terjadi hubungan antara beberapa kualitas air dengan kepadatan bakteri dan laju penurunan karbohidrat. Kepadatan bakteri 10^5 sel/ml merupakan kepadatan dengan laju penurunan konsentrasi karbohidrat terbesar. Bila dihubungkan dengan nilai kualitas air seperti DO bahwa bakteri dengan kepadatan 10^5 sel/ml membutuhkan oksigen lebih banyak dibandingkan dengan kepadatan bakteri *B. Subtilis* yang lain. Hal ini dikarenakan dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang juga membutuhkan oksigen yang lebih besar walaupun bakteri *B. subtilis* memiliki sifat anaerob fakultatif. Selain itu, nilai pH dan suhu juga mendukung mempercepat laju penurunan konsentrasi karbohidrat karena nilai kualitas air keduanya optimum untuk pertumbuhan *B. subtilis*. Selanjutnya nilai konsentrasi H_2S lebih kecil dibandingkan perlakuan lainnya. Ini menunjukkan bahwa H_2S tersebut

dapat dimanfaatkan oleh *B. subtilis* sebagai sumber energi untuk mempercepat laju penurunan konsentrasi karbohidrat dari limbah tambak udang.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- Bakteri *B. subtilis* memiliki potensi dalam mendegradasi karbohidrat dari limbah tambak udang.
- Laju penurunan konsentrasi karbohidrat terbesar terdapat pada perlakuan dengan kepadatan bakteri *B. subtilis* yaitu $1,29 \times 10^5$ sel/ml sebesar 194,95 ppm per jam.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka di sarankan :

- Dilakukan penggunaan bakteri *Bacillus subtilis* dengan kepadatan $1,29 \times 10^5$ sel/ml dalam aplikasi langsung di tambak udang.
- Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mikroba jenis apa yang terdapat pada sedimen tambak udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2010. **Metode Penelitian**. <http://www.pdf-search-engine.com>. Diakses pada tanggal 07 Oktober 2010.
- Abun. 2008. **Karbohidrat Pada Unggas Dan Monogastrik**. Jurusan Nutrisi Dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran.
- Afrianto, E. dan L. Evi. 2005. **Pakan Ikan**. Kanisius. Yogyakarta.
- Agus, M. 2008. **Analisis Carrying Capacity Tambak Pada Sentra Budidaya Kepiting Bakau (Scylla sp) di Kabupaten Pemalang – Jawa Tengah**. <http://eprints.undip.ac.id>. Diakses pada tanggal 17 Februari 2011.
- Aiyushirota. 2001. **Konsep Budidaya Udang Sistem Bakteri Heterotroph Dengan Flocks**. <http://www.aiyushirota.com>. Diakses pada tanggal 10 November 2010.
- Alaerts dan S. S. Santika. 1984. **Metode Penelitian Air**. Surabaya. Usaha Nasional.
- Amri, K dan K. Iskandar. 2008. **Budidaya Udang Vaname Secara Intensif, Semi Intensif dan Tradisional**. Gramedia Pustaka Utama : Jakarta.
- Anam, K. 2010. **Produksi Enzim Amilase**. khairulanam.files.wordpress.com/2010/08/enzim-amilase.pdf. Diakses Pada Tanggal 09 Mei 2011.
- Aryanti, N. K. A. 2011. **Perencanaan Dan Pembuatan Alat Kontrol pH pada Kolam Pembenihan Ikan Menggunakan FPAA**. <http://digilib.its.ac.id>. Diakses pada tanggal 17 Februari 2011.
- Astuti, A. D., W. Wisaksono dan A. R. Nurwini. 2007. **Pengolahan Air Limbah Tahu Menggunakan Bioreaktor Anaerob-Aerob Bermedia Karbon Aktif Dengan Variasi Waktu Tunggal**. Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan, Universitas Trisakti.
- Boyd, C. E. 1982. **Water Quality Management for Pond Fish Culture**. Development in Aquaculture and Fisheries Science. Vol 9. Elseioser. Amsterdam.
- Boyd, C. E. dan Massaut L. 1998. **Soils in Pond Aquaculture**. Aquaculture Asia, 3(1), 6-7.
- Caray. 2009. **Enzim Dan Respirasi Pada Tumbuhan**. <http://makalahdanskripsi.blogspot.com/2009/04/enzim-dan-respirasi-pada-tumbuhan.html>. Diakses Pada Tanggal 09 Mei 2011.

Darmayasa, I. B. G. 2008. **Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) Pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah Dan Estuaril DAM Denpasar**. Jurnal Bumi Lestari, Vol. 8 No. 2, Agustus 2008. hal. 122-127.

Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air**. Kanisius. Yogyakarta.

Fardiaz, S. 1992. **Polusi Air dan Udara**. Karnisius. Bogor.

Fatha, A. 2007. **Pemanfaatan Zeolit Aktif Untuk Menurunkan BOD DAN COD Limbah Tahu**. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas MIPA : Universitas Negeri Semarang.

Gasperz, V. 1991. **Metode Perancangan Percobaan**. Amirco. Bandung.

Gunarto, A. M. B. R. T. Tangko dan Mulyani. **Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon*) di Tambak dengan Penambahan Probiotik Hasil Perbanyakan**. Jurnal Penelitian Perikanan. (*In Press*). 12 pp.

Gurulakhsmi, M., D. N. P. Sudarmani dan R. Venba. 2008. **Biodegradation of Leather Acid dye by *Bacillus subtilis***. Research Article.

Gusmawati, N. F., Savitri C. K., Puspitda L., dan Fahrulozy. 2010. **Seleksi Urease untuk Teknologi Biogrouting**. Jurnal Kelautan Nasional vol 5(1).

Habibie, A. M. 2010. **Pembiakan dan pertumbuhan Bakteri**. <http://ajimirzahabibie.blogspot.com>. Diakses tanggal 25 Februari 2011 pukul 16.25 WIB.

Haliman, R. W. dan A. S. Dian. **Udang Vannamei**. Penebar Swadaya. Jakarta.

Hariani, G. D. 2009. **Potensi Bakteri Amilolitik *Indigenous Mangrove* Terhadap Dekomposisi Limbah Tambak Udang**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang

Hariati, A. M. 2010. **Aplikasi Probiotik Terhadap Karakteristik Sedimen Dan Produksi Tambak Udang Intensif**. <http://bbrp2b.kkp.go.id>. Diakses pada tanggal 17 Februari 2011.

Hatmanti, A. 2000. **Pengenalan *Bacillus spp.*** Balitbang Lingkungan Laut, Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta. Oseana, Volume XXV, Nomor 1, 2000 : 31-41.

Hermanto. 2007. **Pengelolaan Budidaya Tambak Berwawasan Lingkungan**. <http://ikanmania.wordpress.com>. Diakses pada tanggal 1 Desember 2010.

Husin, A. 2008. **Pengolahan Limbah Cair industri Tahu dengan Biofiltrasi anaerob dalam Reaktor *Fixed-Bed***. Laporan Tesis Pascasarjana Program Studi Teknik Kimia. Universitas Sumatera Utara.

- Indah, M. 2004. **Enzim**. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Irianto, A., Oedjijono, dan Sukanto. 1999. **Bioremediasi In Vitro Tanah Tercemar Hidrokarbon Menggunakan *Bacillus* Strain Lokal**. Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.
- Isdarmawan, N. 2005. **Kajian Tentang Pengaturan Luas Dan Waktu Bagi Degradasi Limbah Tambak Dalam Upaya Pengembangan Tambak Berwawasan Lingkungan di Kecamatan Wonokerto Kabupaten Pekalongan**. Thesis Program Pasca Sarjana : Universitas Diponegoro Semarang.
- Judoamidjojo, R. M., E. G. Said dan L. Hartoto. 1989. **Biokonversi**. Depdikbud Dirjen Dikti PAU Bio Teknologi IPB. Bogor.
- Kementerian Kelautan Dan Perikanan. 2010. **Strategi Plan Ministry Of Marine Affairs And Fisheries 2010-2014**. www.kkp.go.id. Diakses pada tanggal 21 Mei 2011.
- Kordi, M. G. H. 2010. **Pakan Udang**. Akademia. Jakarta.
- Kordi, M. G. H. dan B. T. Andi. 2007. **Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan**. Rineka Cipta. Jakarta.
- Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium**. RajaGrafindo Persada : Jakarta.
- Lechninger. 1994. **Dasar- Dasar Biokimia II**. Jakarta. Airlangga.
- Mayanti, B dan D. A. Herto 2010. **Identifikasi Keberagaman Bakteri Pada Commercial-Seed Pengolah Limbah Cair Cat**. Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung.
- Mukti, A. M. 2008. **Penggunaan Tanaman Enceng Gondok (*Eichornia crassipes*) Sebagai Pre-Treatment Pengolahan Air Minum pada Air Selokan Mataram**. Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia. Diakses pada tanggal 19 Februari 2011.
- Nazir, M. 1988. **Metode Penelitian**. Ghalia. Jakarta.
- Nurhidayah, B. R. Tampangallo, I. A. K. Kadriah dan Muliani. 2007. **Pengaruh Bakteri Probiotik Terhadap Perubahan Kualitas Air & Sintasan Pascarva Udang Windu yang Dipapar WSSV**. Seminar Nasional Kelautan III Universitas Hang Tuah Surabaya, 24 April 2007.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 2005. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Universitas Indonesia Press. Depok.
- Pelczar, M. J., E. C. S Chan, and N. R. Krieg. 1976. **Microbiology**. Mc Graw Hill Book Company, New York : 896 pp.

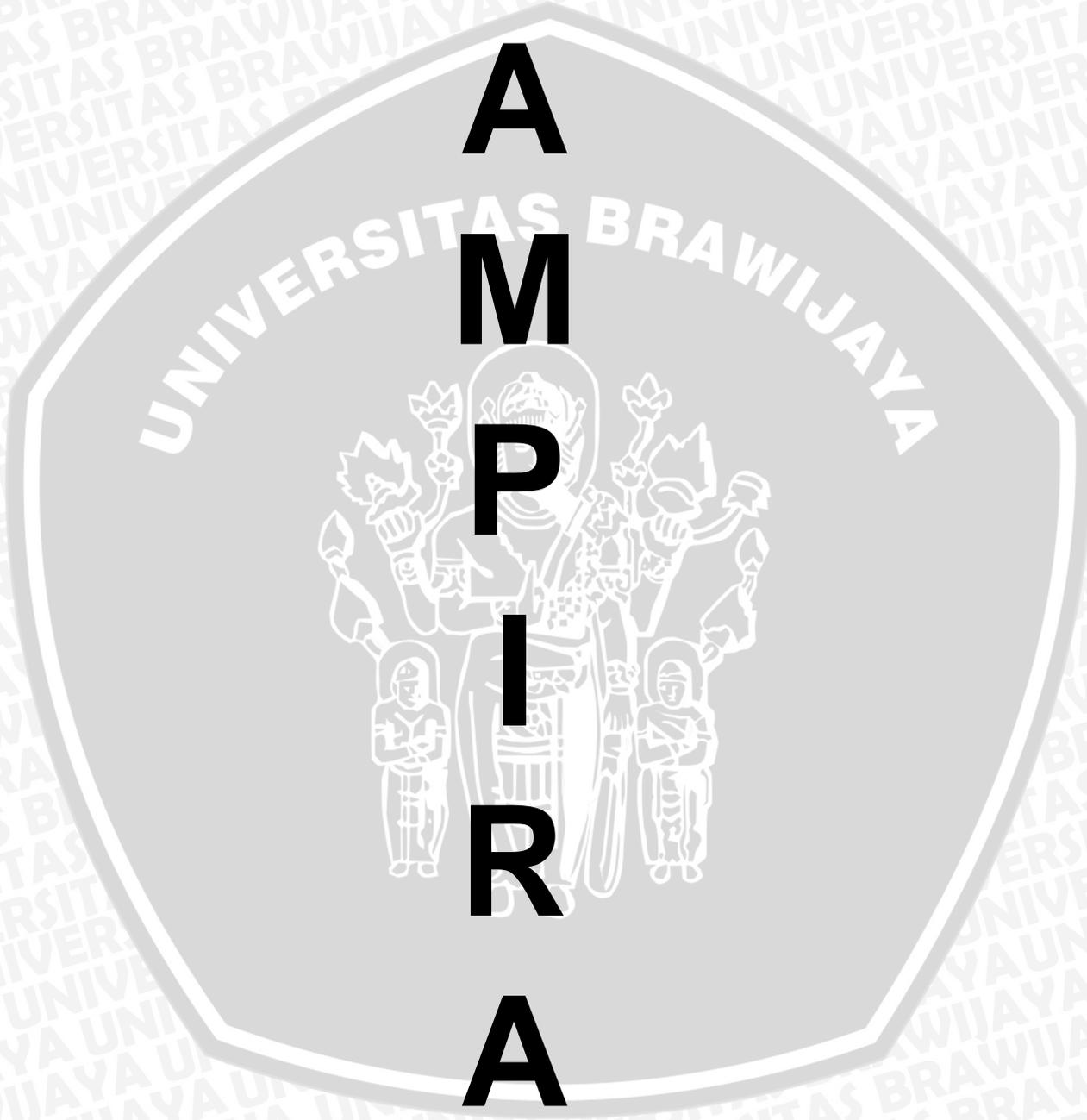
- Pen, J. L., W. J. Quax, P. J. Sijmons, A. J. J. Ooyen, P. J. M. Elzen, K. Rietveld and A. Hoekema. 1998. **Production of Active *Bacillus licheniformis* Alpha-Amylase in Tobacco and its Application in Starch Liquefaction**. Journal Biotechnology, 10:292-296.
- Poedjiadi, A. 1994. **Dasar-Dasar Biokimia**. Penerbit Universitas Indonesia.
- Prayogo. 2009. **Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Bahan Organik Pada Pembenuhan Ikan Lelel Dumbo (*Clarias sp.*)**. Sistem Resirkulasi Tertutup. Tesis Program Studi Budidaya Perairan : Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.
- Putra, N. S. S. U. 2008. **Manajemen Kualitas Tanah dan Air dalam Kegiatan Perikanan Budidaya**. <http://www.slideshare.net>. Diakses pada tanggal 19 Februari 2011.
- Rachmansyah. **Optimasi Padat Penebaran Pada Budidaya Udang Windu : Evaluasi Melalui Simulasi**. Makalah Falsafah Sains (PPs 702) Program Pasca Sarjana / S3 Institut Pertanian Bogor.
- Riaz, N., I. U. Haq, dan M. A. Qadeer. 2003. **Characterization of *a-Amylase* by *Bacillus subtilis***. International Journal Of Agariculture & Biology. 1560–8530/2003/05–3–249–252.
- Sianturi, D. C. 2008. **Isolasi Bakteri Dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar Dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara**. Tesis Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.
- Sihaloho, R. M. 2008. **Penentuan COD (Chemical Oxygen Demand) Limbah Cair Pulp Dengan Metode Spektrofotometri Visible di PT. Toba Pulp Lestari, Tbk**. Karya Ilmiah Program DIII-Kimia Analisis, MIPA : Universitas Sumatera Utara.
- Siregar, P. R. dan Walhi. 2007. **Dari Mencemari Ke Organik**. <http://www.forplid.net>. Diakses pada tanggal 1 Desember 2010.
- Subandiyono dan H. Sri. 2009. **Nutrisi Ikan**. Lembaga Pengembangan Pendidikan Universitas Diponegoro. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Supono. 2008. **Analisis Diatom Epipellic Sebagai Indikator Kualitas Lingkungan Tambak Untuk Budidaya Udang**. Tesis Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai Universitas Diponegoro Semarang.
- Suriawiria, U. 1993. **Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis**. Penerbit Alumni. Bandung.
- Susanti, E. 2002. **Isolasi dan Karakterisasi Protease dari *Bacillus subtilis* 1012M15**. Volume 4, Nomor 1 ; Januari 2003.

Todar, K. 2009. **The Genus Bacillus**. <http://www.textbookofbacteriology.net>. Diakses pada tanggal 22 Mei 2011.

Umar, H. R. 2009. **Potensi Isolat *Bacillus* sp. Lts 40 Menghambat Pertumbuhan *Vibrio harveyi* Penyebab Vibriosis Dan Meningkatkan Sintasan Udang Windu (*Penaeus Monodon*, Fab.)**. Tesis Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

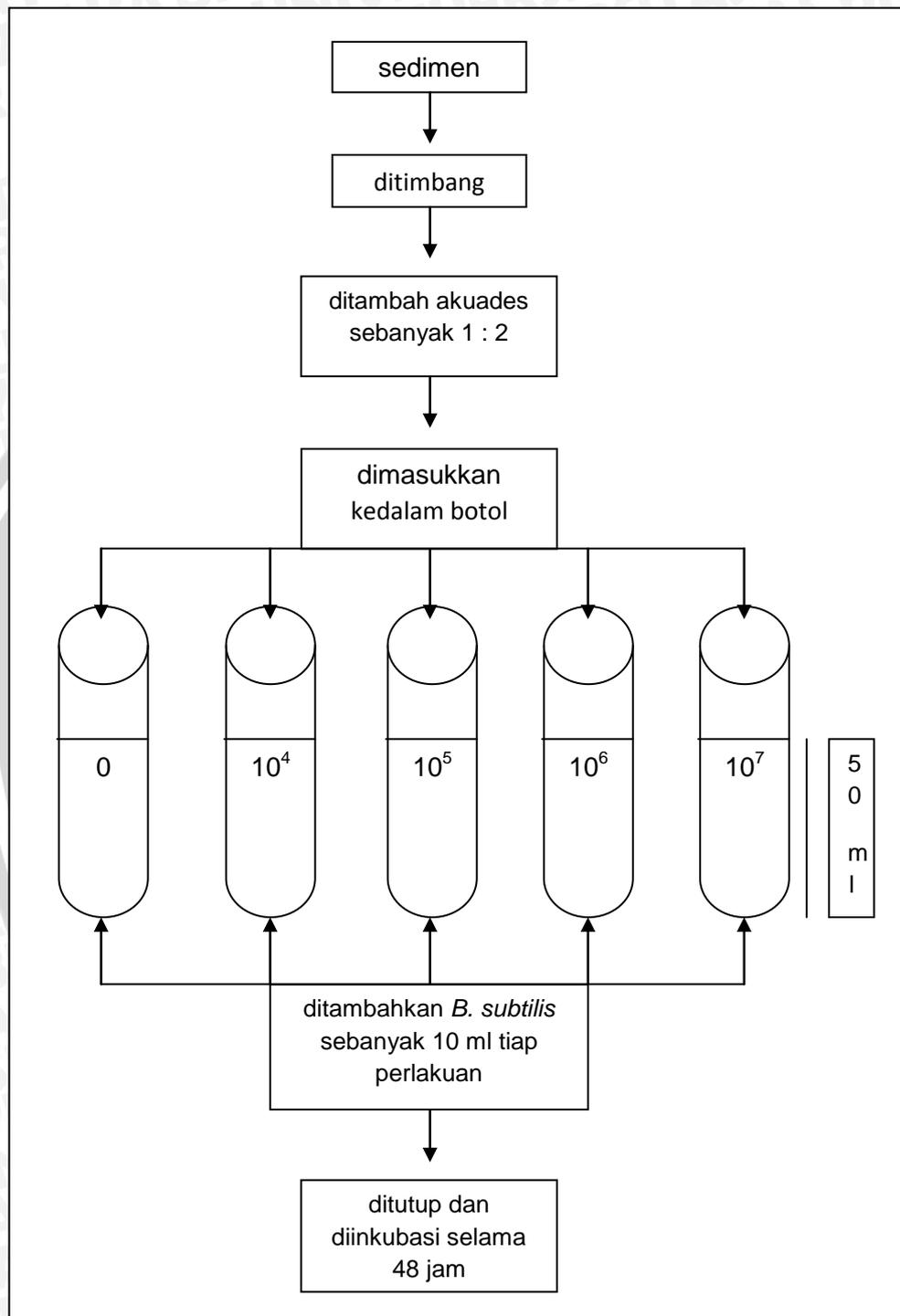
Winarno, F. G. 2002. **Kimia Pangan Dan Gizi**. Gramedia. Jakarta.



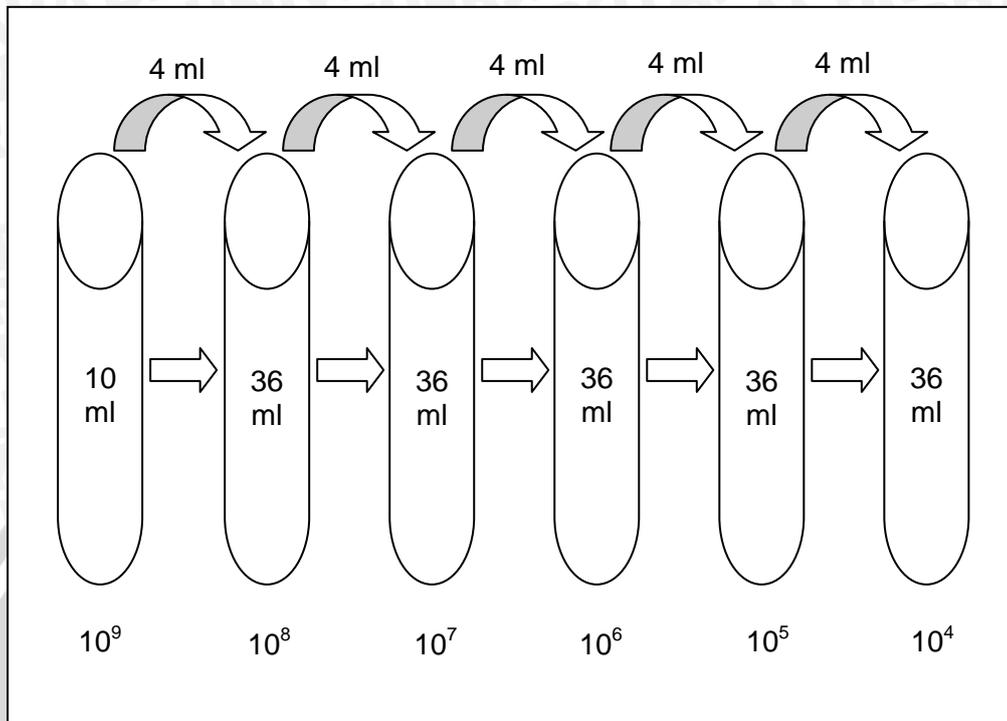


**L
A
M
P
I
R
A
N**



Lampiran 1. Prosedur Persiapan dan Penanaman Bakteri *Bacillus subtilis*

Lampiran 2. Prosedur Pengenceran Bakteri *B. subtilis*



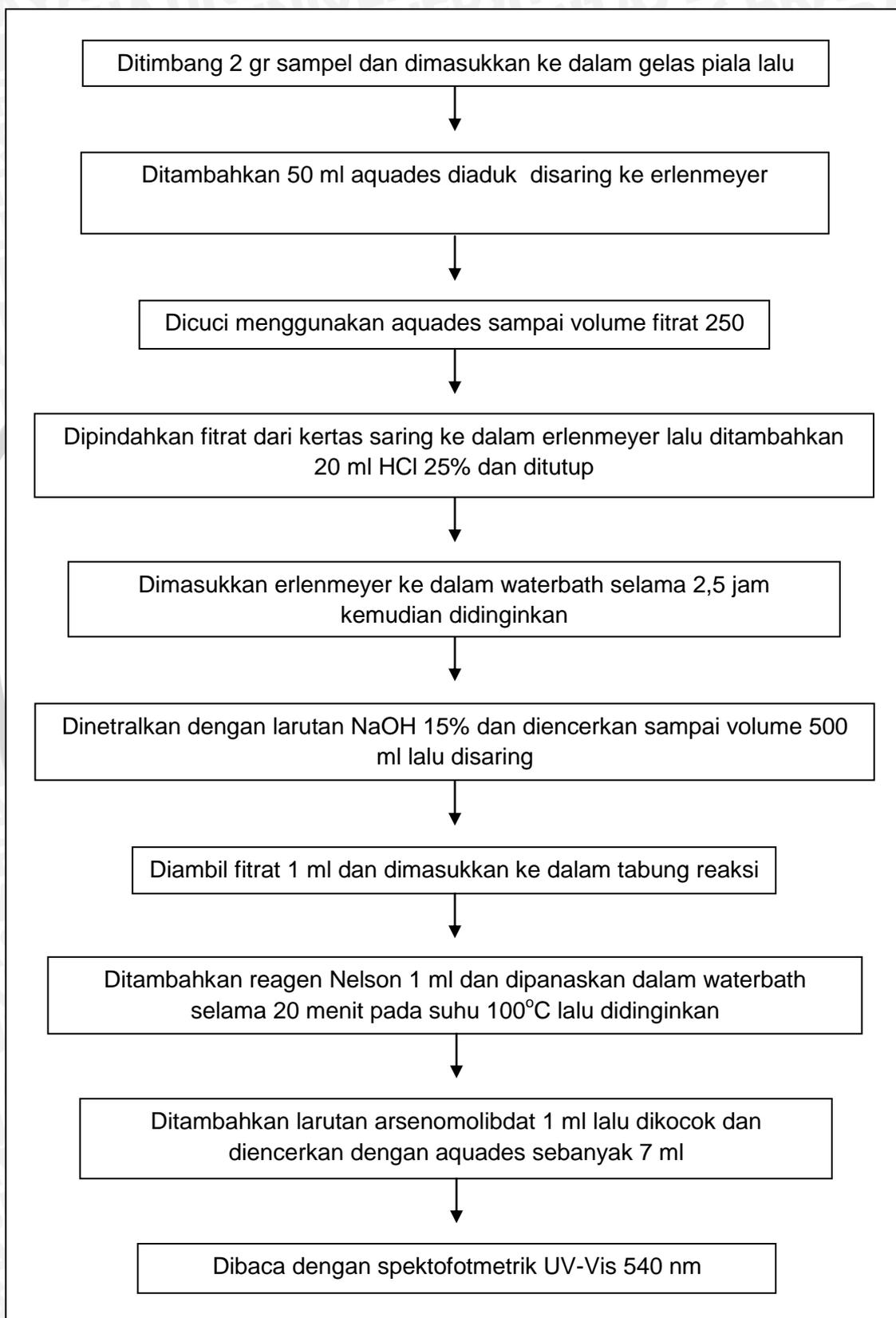
Kepadatan Awal	Kepadatan yang Diinginkan	Volume <i>B. subtilis</i>
10^9 sel/ml	10^8 sel/ml	4 ml
10^8 sel/ml	10^7 sel/ml	4 ml
10^7 sel/ml	10^6 sel/ml	4 ml
10^6 sel/ml	10^5 sel/ml	4 ml
10^5 sel/ml	10^4 sel/ml	4 ml

Contoh Perhitungan :

Dik : Kepadatan awal (N_1) = 10^9
 Kepadatan yang diinginkan (N_2) = 10^8
 Volume yang diinginkan (V_2) = 40 ml

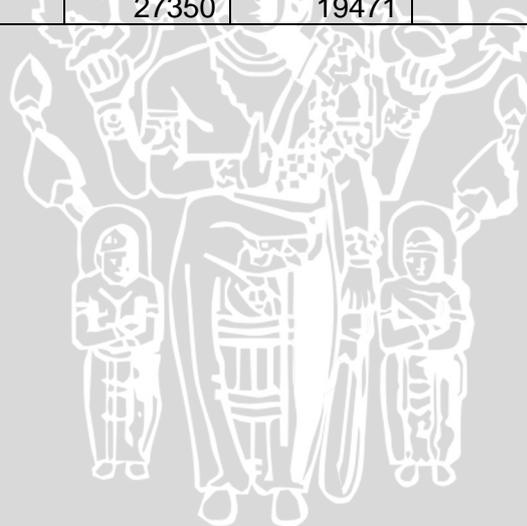
Dit : $V_1 = ?$
 $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$
 $10^9 \times V_1 = 10^8 \times 40 \text{ ml}$
 $V_1 = \frac{4 \times 10^9}{10^9} = 4 \text{ ml}$



Lampiran 3. Prosedur Uji Karbohidrat

Lampiran 4. Hasil Uji Karbohidrat Awal dan Akhir Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	t _{awal}	t _{akhir}	Yang Didegradasi
A (Kontrol)	1	30014	29667	347
	2	30210	29894	316
	3	29802	29527	275
B (10⁴ sel/ml)	1	29765	21460	8305
	2	29355	21282	8073
	3	30049	20917	9132
C (10⁵ sel/ml)	1	28478	18385	10093
	2	28875	18612	10263
	3	28312	18803	9509
D (10⁶ sel/ml)	1	27945	18821	9124
	2	27667	18949	8718
	3	27717	18742	8975
E (10⁷ sel/ml)	1	27463	19621	7842
	2	27664	19197	8467
	3	27350	19471	7879



Lampiran 5. Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per 48 jam)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata	Deviasi
	1	2	3			
Kontrol	347	316	275	938	312,67	36,11
10 ⁴ sel/ml	8305	8073	9132	25510	8503,33	556,66
10 ⁵ sel/ml	10093	10263	9509	29865	9955	395,49
10 ⁶ sel/ml	9124	8718	8975	26817	8939	205,38
10 ⁷ sel/ml	7842	8467	7879	24188	8062,67	350,65
Total				107318		

Data Laju Penurunan Konsentrasi Karbohidrat (ppm per jam)

Kontrol	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
Kontrol	7,23	6,58	5,73	19,54	6,51
10 ⁴ sel/ml	173,02	168,18	190,25	531,46	177,16
10 ⁵ sel/ml	210,27	213,81	198,10	622,19	207,39
10 ⁶ sel/ml	190,08	181,62	186,98	558,69	186,23
10 ⁷ sel/ml	163,37	176,39	164,15	503,92	167,97

Perhitungan

- $FK = G^2/n$
 $= 2.235^2/5 \times 3$
 $= 333.250,96$
- $JK_{total} = (A1)^2 + (A2)^2 + \dots + (E3)^2 - FK$
 $= (7,23)^2 + (6,58)^2 + \dots + (164,15)^2 - 333.250,96$
 $= 79.301,90$
- $JK_{perlakuan} = (\Sigma A)^2 + (\Sigma B)^2 + (\Sigma C) + (\Sigma D)^2 + (\Sigma E)^2/3 - FK$
 $= ((19,54)^2 + (531,46)^2 + (622,19)^2 + (558,69)^2 + (503,92)^2) / 3 - 333.250,96$
 $= 78.752,66$

Lampiran 5. (Lanjutan)

- $JK_{\text{acak}} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$
 $= 79.301,90 - 78.752,66$
 $= 549,24$

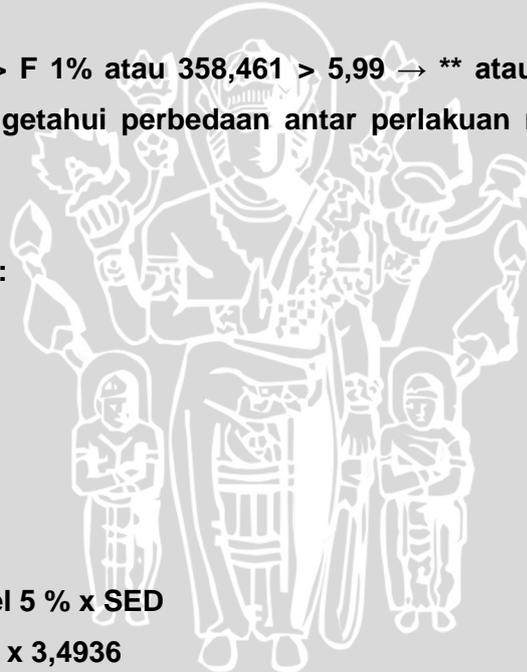
Analisis Keragaman Potensi Bakteri *B. subtilis* Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang

SK	db	JK	KT	Fhitung	F5%	F1%
Perlakuan				**		
n	4	78752,66	19688,2	358,461	3,48	5,99
Acak	10	549,24	54,9241			
Total	14	79301,90				

- Karena F hitung > F 1% atau $358,461 > 5,99 \rightarrow **$ atau berbeda sangat nyata. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan uji BNT :

- $SED = \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 $= \sqrt{\frac{2 \times 54,9241}{3}}$
 $= 3,4936$
- **BNT 5%** = t tabel 5 % x SED
 $= 2,228 \times 3,4936$
 $= 7,7838$
- **BNT 1%** = t tabel 1 % x SED
 $= 3,169 \times 3,4936$
 $= 11,0713$



Lampiran 5. (Lanjutan)

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Potensi Pemberian Bakteri *B. subtilis* dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang

Rata-Rata Perlakuan	A = 6,51	E = 167,97	B = 177,15	D = 186,23	C = 207,39	Notasi
A = 6,51	-	-	-	-	-	a
E = 167,97	161,46**	-	-	-	-	b
B = 177,15	170,64**	9,18*	-	-	-	c
D = 186,23	179,72**	18,26**	9,08*	-	-	d
C = 207,39	200,88**	39,42**	30,24**	21,17**	-	e

Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu C → D → B → E → A



Lampiran 6. Analisis Keragaman Regresi Potensi Bakteri *B. subtilis* dalam Mendegradasi Karbohidrat Limbah Tambak Udang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	78752,66	-	-	-	-
Linier	1	33065,82	33065,82	602,03**	4,96	10,04
Kuadratik	1	39474,39	39474,39	718,71**	4,96	10,04
Kubik	1	6160,94	6160,94	112,17**	4,96	10,04
Kuartik	1	210	210	3,82 ^{ns}	4,96	10,04
Acak	10	549,24	54,92			
Total	14					

$$R^2 \text{ Linier} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak})$$

$$= 39.474,39 / (39.474,39 + 549,24)$$

$$= 0,983$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak})$$

$$= 39.474,39 / (39.474,39 + 549,24)$$

$$= 0,986$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \text{JK Kuadratik} / (\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak})$$

$$= 39.474,39 / (39.474,39 + 549,24)$$

$$= 0,918$$

Nilai Regresi Kudratik lebih besar dari nilai regresi Linier dan Regresi Kubik.

Lampiran 6 (Lanjutan)

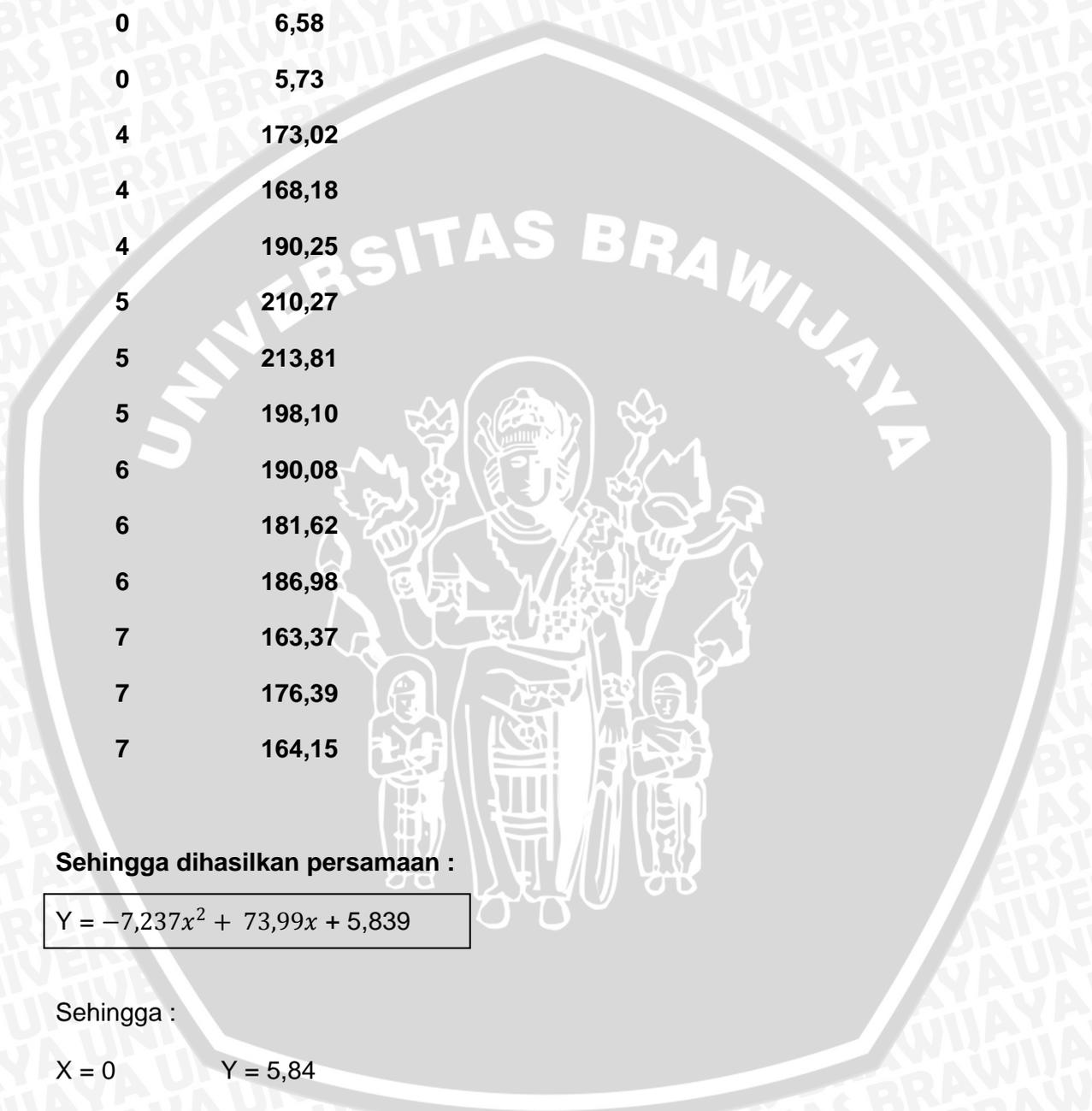
X	Y
0	7,23
0	6,58
0	5,73
4	173,02
4	168,18
4	190,25
5	210,27
5	213,81
5	198,10
6	190,08
6	181,62
6	186,98
7	163,37
7	176,39
7	164,15

Sehingga dihasilkan persamaan :

$$Y = -7,237x^2 + 73,99x + 5,839$$

Sehingga :

X = 0	Y = 5,84
X = 4	Y = 186,01
X = 5	Y = 194,86
X = 6	Y = 189,25
X = 7	Y = 169,16



Lampiran 6 (Lanjutan)**Mencari titik puncak persamaan**

Turunan pertama dari persamaan $Y = 0$ atau $Y' = 0$

$$Y = -7,237x^2 + 73,99x + 5,839$$

$$0 = -14,474x + 73,99$$

$$14,474x = 73,99$$

$$X = 5,11$$

Maka : $Y = -7,237x^2 + 73,99x + 5,839$

$$Y = -7,237 x (5,11)^2 + 73,99 x (5,11) + 5,839$$

$$Y = 194,95$$

Diperoleh titik puncak : $(X, Y) = [(5,11);(194,95)]$



Lampiran 7. Data Pengukuran Kualitas Air

Perlakuan	pH	DO (ppm)	Suhu (°C)	H ₂ S (ppm)	TOM (ppm)
A (Kontrol)	7,30	1,07	26,9	1,84	46,93
B (10 ⁴ sel/ml)	7,40	0,83	27	1,61	51,74
C (10 ⁵ sel /ml)	7,27	0,77	27	1,34	60,47
D (10 ⁶ sel /ml)	7,45	0,83	27	2,75	53,80
E (10 ⁷ sel /ml)	7,32	0,8	27	2,01	33,21

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

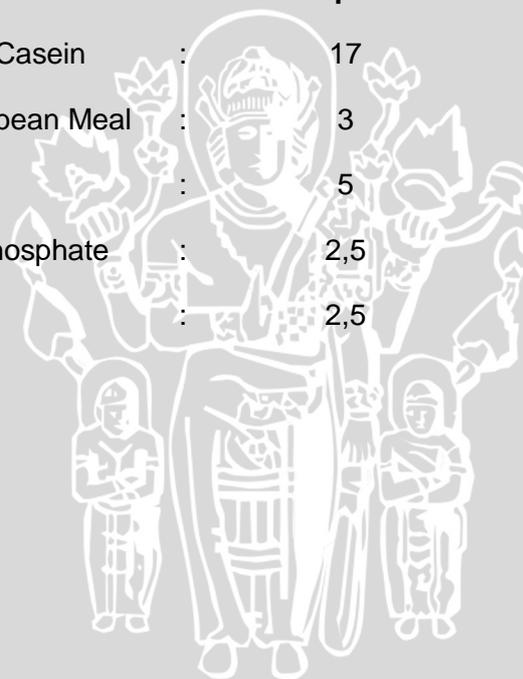


Lampiran 8. Reagen TSA dan TSB**a. Medium Tryptone Soya Agar (TSA)**

Formula	Gram per liter
Tryptone	: 15
Soya Peptone	: 5
Sodium Chloride	: 5
Agar	: 15

b. Medium Tryptone Soya Broth (TSB)

Formula	Gram per liter
Pandreatic Digest of Casein	: 17
Papaic Digest of Soybean Meal	: 3
Sodium Chloride	: 5
Dibasic Potassium phosphate	: 2,5
Dextrose	: 2,5



Lampiran 9. Photo-Photo Penelitian



Sampel Limbah Tambak Udang



Menimbang Sampel Limbah



Menuang Larutan Sampel



Proses Inkubasi



Memasukkan Bakteri



Botol yang Sudah Disterilisasi



Shaking *B. subtilis* di Waterbath



Pembuatan Inokulan



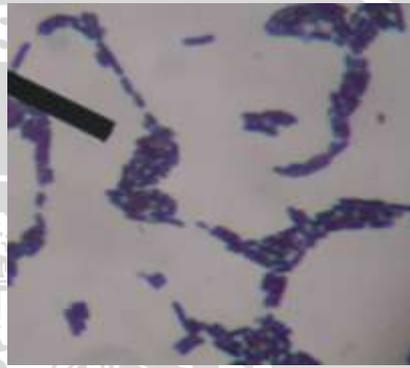
Penyimpanan Sampel



Lokasi Tambak Udang



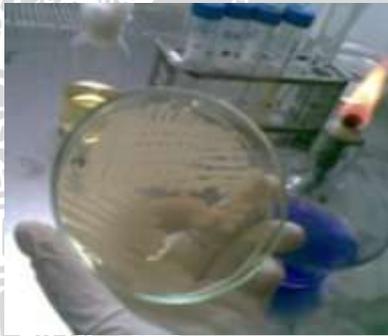
Pengenceran Sampel



Hasil Pewarnaan *B. subtilis*



Kepadatan Bakteri *B. Subtilis*



Isolat *B. subtilis*



Preparat pewarnaan Gram



Tambak Udang



Lampiran 10. Hasil Uji Biokimia



Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran universitas Brawijaya
PAMKI CABANG MALANG
 Jl.veteran Malang - 65145,Telp. (0341)5418266, 569117- ext.111

LAPORAN HASIL UJI
 Report of Analysis
 No:078/IB/Lab.PAMKI/2011

KODE SAMPEL : 078/IB
Sample Code

NAMA/JENIS SAMPEL : Isolat Bakteri/Padatan
Type of Sample

NAMA PELANGGAN : Sieca
Customer

ALAMAT : Mahasiswa S1-Faperik Unibraw Malang
Address

TANGGAL PENERIMAAN : 20/04/2011
Received Date

TANGGAL ANALISA : 22/04/2011
Date of Analysis

PARAMETER ANALISA : Identifikasi Spesies Strain Bakteri ATCC6051
Analysis of Parameters

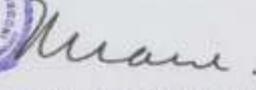
SPESIFIKASI METODE : Microbact System 12B
Method Specification

HASIL ANALISA :

NO	KODE SAMPEL	HASIL IDENTIFIKASI
	<i>Sample Code</i>	<i>Result Identification</i>
1.	78/IB	<i>Bacillus subtilis</i>

CATATAN : Hasil uji ini berlaku untuk sampel yang diuji
Note *These analytical result are only valid for the tested sample*
 Hasil Microbact System terlampir.
Result of Microbact System enclosed

Malang, 18 Mei 2011
 Penanggung Jawab Lab. PAMKI




Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso,DTMH&H.Spmk



Lampiran 11. (Lanjutan)



Laboratorium Mikrobiologi
 Fakultas Kedokteran universitas Brawijaya
 PAMKI CABANG MALANG
 Jl.veteran Malang - 65145,Telp. (0341)5418266, 569117- ext.111

NO SAMPEL : 78
 KODE SAMPEL : 1B/78
 JENIS SAMPEL : Padatan
 PENGIRIM : Sdr. Sisca Mahasiswa perikanan/UB
 TGL ANALISA : 20/04/2011
 PARAMETER : Identifikasi Bakteri
 HASIL : Hasil Identifikasi Bakteri

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	POSITIF
FERMENT GULA-GULA	
Glukosa	POSITIF
Xyloza	POSITIF
Mannitol	POSITIF
Laktosa	NEGATIF
Sukrosa	NEGATIF
Maltosa	NEGATIF
Arabinosa	POSITIF
SUHU PERTUMBUHAN	
20°C	POSITIF
37°C	POSITIF
40°C	POSITIF
45°C	POSITIF
TUMBUH DI	
Nutrient Broth	POSITIF
SDA	NEGATIF
TSI	A/A,H ₂ S-
CITRAT	POSITIF
INDOL	NEGATIF
VP	POSITIF
NaCl 7%	POSITIF
Motilitas	POSITIF
Starch hydrolysis	POSITIF
Casein hydrolysis	POSITIF
PENICILLIN	SENSITIV
BETA-HEMOLISA	POSITIF
Katalase	POSITIF
Oksidase	POSITIF
Reduksi Nitrat	POSITIF
Reduksi Methylene Blue	NEGATIF
DX. LAB.	<i>B. subtilis</i>

