

**POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI LIPID DARI
LIMBAH CAIR TAMBAK UDANG**

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

Oleh:
RIDWAN HAPIDIN
NIM. 0910852013



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2011

**POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI LIPID DARI
LIMBAH CAIR 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:
RIDWAN HAPIDIN
NIM. 0910852013**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2011

POTENSI BAKTERI *Bacillus subtilis* DALAM MENDEGRADASI LIPID DARI
LIMBAH CAIR TAMBAK UDANG

Oleh:
RIDWAN HAPIDIN
NIM. 0910852013

Telah dipertahankan di depan penguji pada tanggal 10 Mei 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Penguji



Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Tanggal :

13 JUN 2011

Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Mohammad Fadjar, M.Sc

Tanggal :

13 JUN 2011

Dosen Pembimbing II



Ir. Ellana Sanoesi, MP

Tanggal :

13 JUN 2011

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. Happy Nursyam, MS

Tanggal:

13 JUN 2011

RINGKASAN

RIDWAN HAPIDIN. Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* dalam Mendegradasi Lipid dari Limbah Cair Tambak Udang (Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Mohammad Fadjar, M.Sc** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP**).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, serta Laboratorium Kimia Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 2 sampai dengan 10 Februari 2011.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dan kepadatan terbaik bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid/lemak dari limbah cair tambak udang. Kegunaan penelitian ini, diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi tentang potensi dan kepadatan optimum bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan tiga kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah kepadatan *B. subtilis* yaitu 0 cfu/ml, 10^4 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan F 10^8 cfu/ml.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu mendegradasi lipid/lemak dalam limbah cair tambak udang dan memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata. Berdasarkan hasil uji BNT, urutan perlakuan kepadatan terbaik yaitu 10^7 cfu/ml dengan kandungan lemak 366,67 ppm; 10^6 cfu/ml dengan kandungan lemak 413,33 ppm; 10^8 cfu/ml dengan kandungan lemak 443,33 ppm; 10^5 cfu/ml dengan kandungan lemak 470 ppm; 10^4 cfu/ml dengan kandungan lemak 546,67 ppm; dan terakhir 0 cfu/ml (tanpa diberi bakteri) dengan kandungan lemak 683,33 ppm. Sementara untuk hasil pengukuran kualitas air didapatkan hasil suhu antara 25 - 26°C; oksigen terlarut antara 0,8 - 1,3 ppm; dan pH antara 7,22 - 7,42.

Berdasarkan data tersebut, maka *B. subtilis* dapat dijadikan agen biodegradasi karena dapat mengeluarkan enzim ekstraseluler yang mampu menguraikan kandungan lipid/lemak dalam limbah cair tambak udang. Selain itu juga *B. subtilis* mampu mendegradasi lipid/lemak dalam keadaan yang rendah oksigen (anaerob fakultatif).

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu kepadatan bakteri *B. subtilis* 10^7 cfu/ml merupakan kepadatan optimum yang mampu menurunkan kandungan lipid/lemak dalam limbah cair tambak udang. Selain itu bakteri *B. subtilis* juga mampu bertahan hidup dan mendegradasi lemak dalam lingkungan yang memiliki kadar oksigen terlarut rendah.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga laporan skripsi dengan judul "Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* dalam Mendegradasi Lipid dari Limbah Cair Tambak Udang" dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Mohammad Fadjar, M.Sc selaku Dosen Pembimbing I.
2. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku Dosen Pembimbing II.
3. Ibu Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku Dosen Penguji.
4. Bapak Iim Abdul Karim dan Ibu Yunrawati, selaku orangtua yang telah memberikan semangat dan dukungan baik dari segi materil maupun moril sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi ini.
5. Serta pihak-pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam penyelesaian laporan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna dan banyak kekurangan karena keterbatasan penulis sebagai manusia, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak. Semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Malang, Mei 2011

Ridwan Hapidin

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada :

Allah SWT... Puji dan Syukur Hamba panjatkan kehadirat-Mu.. Terima kasih atas berkah ilmu dan rejeki yang telah Engkau limpahkan pada hamba-Mu ini...

Bapa... Kupersembahkan karya kecil ini untukmu.. Semoga semua ini bisa membuat Engkau bahagia.. Engkau telah berhasil mengantarkan anakmu menjadi seperti ini.. Aku bangga padamu...

Mamah... Terima kasih atas perjuangan dan pengorbananmu.. Aku tak tahu bagaimana harus membalasnya.. Hanya ini yang dapat Aku persembahkan untukmu...

Enja... Adikku semata wayang terima kasih atas doa dan dukungannya.. Contohlah yang baik-baik dari kakakmu ini.. Jagalah kepercayaan yang diberikan Bapa & Mamah.. Jaga nama baik Keluarga.. Semoga apa yang dicita-citakan bisa terwujud & Enja bisa lebih berhasil dari Aa...

Neng... Sweety.. Wify.. Terima kasih telah menemani Aa selama 5 tahun ini.. Semuanya kita lewati bersama.. Susah senang kita bersama.. Mulai dari masuk kuliah hingga lulus pun kita bersama.. Semoga kita terus bersama dan senantiasa dipersatukan dalam cinta yang abadi.. Amiiiiinnn...

===== YOU ARE MY EVERYTHING =====

Keluarga Besar di Sukabumi... Papah di Jeddah terima kasih atas doa dan restunya.. Semoga semuanya berjalan lancar sesuai rencana.. Amiin...

Keluarga Besar di Paciran Lamongan, Om Agus, Teh Nina, Restu, Pandu dan Neng Ranti terima kasih atas doa, perhatian dan dukungannya selama ini, kalian merupakan Keluarga kedua bagi kami.. Tak akan pernah kulupakan jasa-jasamu.. Semoga Allah SWT senantiasa melindungi.. Amiiiiinnn...

Bapak Dr. Ir. Maftuch, MS terima kasih atas masukan dan inspirasinya dalam pemilihan judul penelitian ini...

Bapak Ir. Samsudi dan Bapak Ir. Agus Syaiful Huda, terima kasih atas bantuannya untuk memfasilitasi saya dalam pengambilan limbah tambak udang...

Rekan-rekan ALJERS terima kasih atas dukungan doa, semangat, dan bantuannya... Jaga selalu kekompakkan dan semoga tetap rukun...

"Tugas kita bukanlah untuk berhasil. Tugas kita adalah untuk mencoba, karena di dalam mencoba itulah kita menemukan dan belajar membangun kesempatan untuk berhasil"... (Mario Teguh)

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
UCAPAN TERIMA KASIH	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Hipotesis	6
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Bakteri <i>B. subtilis</i>	7
2.2 Pertumbuhan Bakteri	9
2.3 Limbah	12
2.4 Lipid	15
2.5 Bakteri Lipolitik	16
2.6 Parameter Kualitas Air	18
2.6.1 Suhu	18
2.6.2 Oksigen Terlarut/ <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	19
2.6.3 Derajat Keasaman (pH)	20
2.7 Bioremediasi	20
III. MATERI DAN METODE PENELITIAN	24
3.1 Materi Penelitian	24
3.1.1 Bahan penelitian	24
3.1.2 Alat penelitian	24
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	25
3.2.1 Metode Penelitian	25
3.2.2 Variabel penelitian	25
3.2.3 Rancangan penelitian	25
3.3 Prosedur Penelitian	27

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	27
3.3.2 Pembuatan Media.....	28
3.3.2.1 Media NA (<i>Nutrient Agar</i>)	28
3.3.2.2 Media NB (<i>Nutrient Broth</i>)	28
3.3.3 Pembuatan Biakan Bakteri <i>B. subtilis</i>	28
3.3.4 Pewarnaan Gram.....	28
3.3.5 Perbanyakkan Bakteri <i>B. subtilis</i>	29
3.3.6 Pengenceran Bakteri <i>B. Subtilis</i>	29
3.3.7 Penentuan Kepadatan Optimum Bakteri <i>B. subtilis</i>	30
3.3.8 Pengambilan Limbah Cair Tambak Udang.....	30
3.3.9 Penambahan Bakteri <i>B. subtilis</i> dalam Limbah	31
3.3.10 Analisa Beberapa Parameter	31
3.3.10.1 Kadar Lemak.....	31
3.3.10.2 Suhu	32
3.3.10.3 Oksigen Terlarut/ <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	32
3.3.10.4 Derajat Keasaman (pH)	32
3.4 Parameter Uji	33
3.4.1 Parameter Utama	33
3.4.2 Parameter Penunjang.....	33
3.5 Analisa Data	33
3.6 Skema Kerja Penelitian	34
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Pembuatan Biakan <i>B.subtilis</i>	35
4.2 Pewarnaan Gram	35
4.3 Penentuan Kepadatan Optimum Bakteri <i>B. subtilis</i>	37
4.4 Hasil Uji Kadar Lemak.....	37
4.5 Hasil Pengukuran Kualitas Air	44
4.5.1 Suhu	44
4.5.2 Oksigen Terlarut/ <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	45
4.5.3 Derajat Keasaman (pH)	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengujian Kemampuan Degradasi Bakteri <i>B. subtilis</i> terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang (ppm)	38
2. Analisa Keragaman/Sidik Ragam Kemampuan Degradasi Bakteri <i>B. subtilis</i> terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang	40
3. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kemampuan Degradasi Bakteri <i>B. subtilis</i> terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang	40
4. Hasil Pengukuran Suhu (°C)	44
5. Hasil Pengukuran DO (ppm)	45
6. Hasil Pengukuran pH	47



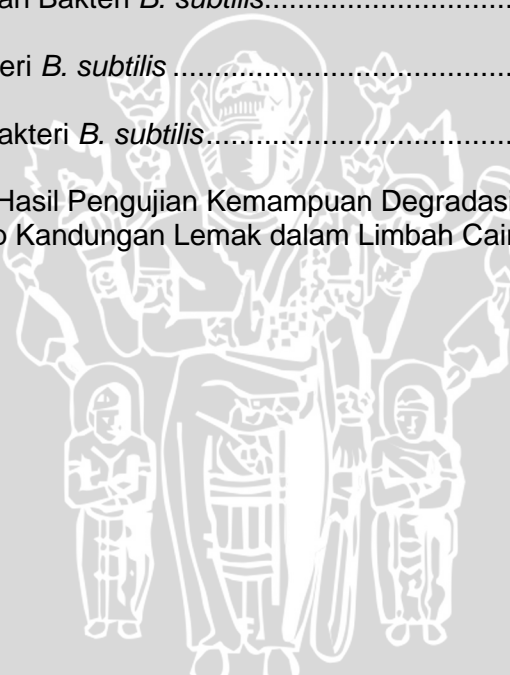
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>B. subtilis</i>	8
2. Fase Pertumbuhan Bakteri.....	11
3. Denah Percobaan	26
4. Skema Kerja Penelitian	34
5. Isolasi Bakteri pada Media NA	35
6. <i>B. subtilis</i> Setelah Dilakukan Pewarnaan Gram.....	36
7. Grafik Hubungan Kepadatan Bakteri <i>B. subtilis</i> dengan Kadar Lemak dalam Limbah Cair Tambak	43



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan dalam Penelitian	54
2. Komposisi <i>Nutrient Agar</i> (NA) dan <i>Nutrient Broth</i> (NB)	57
3. Skema Pembuatan Media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	58
4. Skema Pembuatan Media <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	59
5. Skema Pembuatan Biakan Bakteri <i>B. subtilis</i>	60
6. Skema Pewarnaan Gram Bakteri <i>B. subtilis</i>	61
7. Skema Perbanyakkan Bakteri <i>B. subtilis</i>	62
8. Pengenceran Bakteri <i>B. subtilis</i>	63
9. Hasil Identifikasi Bakteri <i>B. subtilis</i>	64
10. Perhitungan Data Hasil Pengujian Kemampuan Degradasi Bakteri <i>B. subtilis</i> terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak	66



I. 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).

Budidaya udang di tambak pernah menjadi primadona dan andalan pengembangan perikanan budidaya di Indoensia, dimana kegiatan ini pernah mengalami zaman keemasan mulai tahun 1980-an sampai akhir 1997. Pada tahun 1997 merupakan puncak produksi udang tertinggi yaitu sebesar 167.117 ton, namun mulai tahun 1998 turun menjadi 118.111 ton (Anhakim, 2007).

Produksi perikanan tahun 2008 yang berasal dari kegiatan penangkapan dan budidaya mencapai 9,05 juta ton. Dari total produksi tersebut perikanan budidaya menyumbang 47,49%. Laju pertumbuhan produksi perikanan nasional sejak tahun 2005 - 2009 mencapai 10,02% per tahun, dimana pertumbuhan budidaya sebesar 21,93%, lebih tinggi dibandingkan dengan pertumbuhan perikanan tangkap yang hanya sebesar 2,95%. Sedangkan nilai produksi perikanan meningkat 15,61% dari Rp 57,62 triliun pada tahun 2005 menjadi Rp 102,78 triliun pada tahun 2009. Jika dibandingkan pertumbuhan volume produksi terhadap nilai, maka pertumbuhan nilai lebih tinggi dari pada pertumbuhan volume. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa secara umum komoditas perikanan mengalami peningkatan kualitas dan kenaikan harga (Muhammad, 2010).

Pada awal perkembangannya budidaya udang di tambak memberikan keuntungan yang sangat besar, karena produksi dan produktivitas lahan yang tinggi serta udang sebagai komoditas ekspor (harga dalam dolar). Sehingga bisnis ini banyak menarik minat para pembudidaya dan pengusaha kecil maupun besar. Berbagai tingkat teknologi budidaya telah diterapkan di lapangan mulai teknologi tradisional sampai super intensif (Anhakim, 2007).

Pada perkembangan selanjutnya berbagai permasalahan telah muncul dalam budidaya udang di tambak, diantaranya penurunan kualitas lingkungan serta timbulnya hama dan penyakit. Hal ini telah menyebabkan turunnya produktivitas lahan bahkan ada sebagian besar diantaranya sudah tidak berproduksi. Fenomena ini merupakan konsekuensi dari pengembangan kegiatan pertambakan yang tidak berwawasan lingkungan dan memperhatikan kaidah-kaidah ekologis (Anhakim, 2007).

Menurut Isdarmawan (2005), dengan padat tebar yang tinggi, diikuti dengan pemberian pakan yang lebih banyak per satuan luas tambak akan menambah berat beban perairan tambak. Hal ini diperburuk dengan sistem pembuangan air sisa pemeliharaan yang kurang baik, akibatnya dari waktu ke waktu terjadi akumulasi bahan organik sisa pakan dan kotoran udang dalam tambak. Pencemaran bahan organik di tambak merangsang timbulnya penyakit udang.

Limbah yang dihasilkan dari kegiatan perikanan masih cukup tinggi, yaitu sekitar 20 - 30 % dari produksi ikan yang telah mencapai 6,5 juta ton per tahun. Hal ini berarti sekitar 2 juta ton terbuang sebagai limbah (Afrianto, 2009). Menurut Supono (2009), limbah organik terdiri dari sisa pakan, kotoran udang dan organisme yang mati. Menurut Primavera (1994) dalam Supono (2009), dari 100% pakan yang diberikan 15% tidak termakan (*uneaten feed*), sedangkan 85% dikonsumsi oleh udang (*eaten feed*). Dari 85% yang dimakan, 17% diasimilasi

menjadi daging bagi biota budidaya (udang), 48% digunakan untuk metabolisme udang termasuk untuk moulting, dan 20% menjadi feces (kotoran udang).

Pada kondisi alamiah proses penguraian oleh mikroorganisme dapat berlangsung seimbang dengan pembentukan bahan organiknya. Berbeda dengan tambak udang intensif yang mempunyai intensitas pembentukan limbah bahan organik relatif lebih cepat dibandingkan proses penguraian oleh mikroorganisme. Ketidakseimbangan antara mikroorganisme dengan limbah organik tambak menyebabkan tertimbunnya bahan organik di dasar tambak. Hal ini menimbulkan pencemaran internal pada lingkungan perairan tambak (Bratvold and Browdy, 2000 *dalam* Hariani, 2009).

Limbah yang dihasilkan umumnya mengandung konsentrasi bahan organik yang sangat tinggi yang terdiri dari lipid/lemak, karbohidrat, protein dan selulosa atau lignoselulosa. Lipid (lemak) adalah kelompok senyawa heterogen yang berkaitan baik secara aktual maupun potensial dengan asam lemak. Sifat dari lemak secara umum tidak larut dalam air, sehingga limbah yang mengandung lemak yang terdapat dalam badan air mempunyai dampak yang cukup besar dalam mengganggu ekosistem perairan. Lapisan lipid yang ada pada permukaan perairan akan menghalangi masuknya cahaya dalam badan air sehingga proses fotosintesis berlangsung terhambat, dengan demikian kadar oksigen akan rendah yang menyebabkan organisme aerobik akan mati (Tresna, 1991 *dalam* Darmayasa, 2008).

Menurut Suriawiria (1986) *dalam* Suyasa (2007), bahwa mikroba dapat memanfaatkan kandungan yang terdapat pada limbah untuk keperluan mikroba itu sendiri. Selama proses berlangsungnya penguraian oleh bakteri (mikroba) dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti jumlah nutrien dan jumlah oksigen. Selain faktor-faktor ini juga dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti suhu, pH, lingkungan (matrik tumbuh).

Lemak dan minyak ditemukan mengapung di atas permukaan air meskipun sebagian terdapat dibawah permukaan air. Lemak dan minyak merupakan senyawa ester dari turunan alkohol yang tersusun dari atom karbon, hidrogen dan oksigen. Lemak sukar diuraikan oleh bakteri tetapi dapat dihidrolisa oleh alkali sehingga membentuk senyawa sabun yang mudah larut, namun hal ini menimbulkan permasalahan baru berupa dampak pencemaran kimia (Metcalf and Eddy, 2003 dalam Suyasa, 2007). Adanya minyak dan lemak dipermukaan air akan menghambat proses biologis dalam air, lingkungan anaerobik dan menghasilkan gas yang berbau dan berbahaya (Suyasa, 2007).

Berbagai penelitian dalam bidang bioremediasi telah dilakukan dan telah berhasil mengembangkan suatu konsorsia mikroorganisme yang mampu menghilangkan zat pencemar secara efisien. Dalam penerapan bioremediasi pada akuakultur harus diperhatikan kondisi lingkungan yang harus dibuat sedemikian rupa sehingga sesuai untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut (Fahmi, 2005).

Proses bioremediasi oleh mikroorganisme ini merupakan suatu proses degradasi zat oleh enzim ekstraselular yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut. Tingginya kadar nitrogen dalam pakan dan feses akan menyebabkan menurunnya nilai C/N ratio tanah. Maka diperlukan suatu mikroorganisme yang membawa pada laju peningkatan respirasi (Fahmi, 2005).

Spesies *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. *Bacillus* juga memiliki kemampuan untuk bertahan pada temperatur tinggi, dan tidak adanya hasil samping metabolik (Doi *et al.*, 1992 dalam Susanti, 2003).

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri *B. subtilis* memiliki potensi atau kemampuan dalam

mendegradasi lipid (lemak) dari limbah cair tambak udang. Karena dengan mengetahui potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi limbah lipid ini diharapkan dapat memberikan jawaban atas permasalahan tersebut.

1.2 Perumusan Masalah

Pemberian pakan yang berlebihan dalam kegiatan budidaya udang di tambak dapat menyebabkan kondisi perairan menjadi buruk. Sisa pakan di perairan akan terakumulasi menjadi zat organik yang bersifat toksik. Salah satu bahan penyusun pakan adalah lemak (lipid) yang termasuk ke dalam bahan organik. Menurut Suyasa (2007), adanya minyak dan lemak di permukaan air akan menghambat proses biologis dalam air, lingkungan menjadi anaerobik dan menghasilkan gas yang berbau dan berbahaya. Selain itu, pencemaran bahan organik di tambak dapat merangsang timbulnya penyakit pada udang.

Menurut Erikson (1976) dalam Anonymous (1997) *B. subtilis* adalah salah satu bakteri yang paling banyak digunakan untuk produksi enzim dan bahan kimia khusus. Badan peneliti di bawah TSCA dan 3 PMNs telah meninjau bahwa *B. subtilis* digunakan untuk produksi protease, alfa-amilase, dan lipase.

Berdasarkan masalah di atas maka dilakukan pengujian tentang potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang. Proses ini dinamakan proses biodegradasi, yakni proses penguraian limbah organik/anorganik polutan secara biologi dalam kondisi terkendali dengan tujuan mengontrol atau bahkan mereduksi bahan pencemar dari lingkungan.

1.3 Tujuan Penelitian

- Untuk mengetahui potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang.
- Untuk mengetahui kepadatan terbaik bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi atau kemampuan bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang, serta dapat memberikan informasi mengenai kepadatan optimum bakteri *B. subtilis* yang dapat digunakan untuk mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang sehingga dapat digunakan dalam usaha budidaya udang di tambak.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga bakteri *B. subtilis* tidak mampu mendegradasi lipid dalam limbah cair tambak udang.

H_1 : Diduga bakteri *B. subtilis* mampu mendegradasi lipid dalam limbah cair tambak udang.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Kimia Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 2 sampai dengan 10 Februari 2011.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *B. subtilis*

Bacillus subtilis merupakan bakteri Gram-positif yang berbentuk batang, dan secara alami sering ditemukan di tanah dan vegetasi. *B. subtilis* tumbuh di berbagai *mesophilic* suhu berkisar 25 - 35°C. *B. subtilis* juga telah berevolusi sehingga dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras, seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat alkali, osmosa, atau kondisi *oxidative*, dan panas atau etanol. Bakteri ini hanya memiliki satu molekul DNA yang berisi seperangkat set kromosom. Salah satu keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar keluar dari sel (Scetzer, 2006 *dalam* Junaidi, 2010).

Menurut Schaechter (2006) *dalam* Fajriana (2008), bahwa habitat endospora bakteri ini adalah tanah. Banyak dari mikroba *Bacillus* dapat menurunkan polimer seperti protein, pati, dan pektin, sehingga bakteri ini merupakan penyumbang penting kepada siklus karbon dan nitrogen. Akan tetapi apabila terkontaminasi, dapat menyebabkan pembusukan. Berdasarkan pewarnaan sel vegetatif didapatkan warna kemerahan dan warna endosporanya adalah hijau (Gambar 1).

Klasifikasi dari *Bacillus subtilis* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus subtilis</i> (http://zipcodezoo.com)



Gambar 1. Bakteri *B. subtilis* (Tanda Panah) (<http://en.citizendium.org>)

Pada beberapa penelitian ditemukan bahwa penambahan *B. subtilis* di perairan dapat meningkatkan kualitas perairan dengan mengurangi konsentrasi CO₂ perairan. Penggunaan *B. subtilis* pada tambak udang menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu meningkatkan kesintasan larva udang windu. Selain itu *B. subtilis* secara alami bersimbiosis pada saluran pencernaan udang windu (Kungvankij, 1985 dalam Naibaho, 2011).

B. subtilis memerlukan kondisi optimum untuk tumbuh. Berikut adalah kondisi fisika kimia air optimum bagi bakteri ini (Graumann, 2007 dalam Naibaho, 2011):

- Oksigen terlarut : makin tinggi oksigen terlarut makin baik untuk pertumbuhan optimalnya. Minimal ialah pada kisaran 2 mg/l;
- Suhu : suhu optimal untuk tumbuh bagi *B. subtilis* adalah antara 25 - 35°C;
- pH : pH optimal antara 7 - 8.

Menurut Erikson (1976) dalam Anonymous (1997) *B. subtilis* adalah salah satu bakteri yang paling banyak digunakan untuk produksi enzim dan bahan kimia khusus. Aplikasi industri meliputi produksi amilase, protease, inosin, ribosides, dan asam amino. Badan peneliti di bawah TSCA dan 3 PMNs telah

meninjau bahwa *B. subtilis* digunakan untuk produksi protease (P87-1030), alfa-amilase (P89-227), dan lipase (P91-1154).

Bakteri melakukan hidrolisis berbagai macam lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Bakteri tersebut akan memanfaatkan asam lemak tersebut untuk sintesis lemak dan molekul seluler yang lain atau sebagai sumber energi (Kaiser, 2005 *dalam* King, 2009).

2.2 Pertumbuhan Bakteri

Menurut Ali (2008), pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau substansi atau masa zat suatu organisme, misalnya kita makhluk makro ini dikatakan tumbuh ketika bertambah tinggi, bertambah besar atau bertambah berat. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni, yaitu penambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau substansi (massa) mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak. Pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai penambahan jumlah sel mikroba itu sendiri.

Pertumbuhan merupakan suatu proses kehidupan yang *irreversible* artinya tidak dapat dibalik kejadiannya. Pertumbuhan didefinisikan sebagai penambahan kuantitas konstituen seluler dan struktur organisme yang dapat dinyatakan dengan ukuran, diikuti penambahan jumlah, penambahan ukuran sel, penambahan berat atau massa dan parameter lain. Sebagai hasil penambahan ukuran dan pembelahan sel atau penambahan jumlah sel maka terjadi pertumbuhan populasi mikroba (Sofa, 2008 *dalam* Ali, 2008).

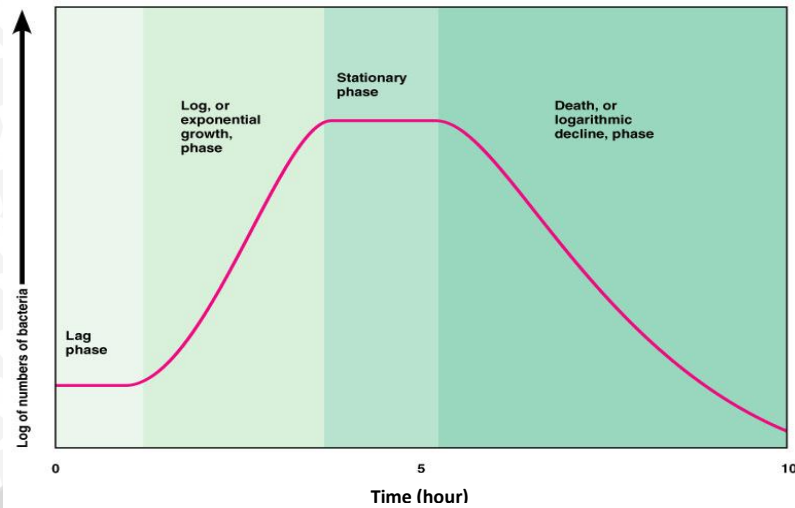
Fase pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi empat fase, yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian (Gambar 2). Fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media,

pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme pada media sebelumnya. Ketika sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru maka sel mulai membelah hingga mencapai populasi yang maksimum. Fase ini disebut fase logaritma atau fase eksponensial (Kurniawan, 2008).

Fase eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Variasi derajat pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial ini sangat dipengaruhi oleh sifat genetik yang diturunkannya. Selain itu, derajat pertumbuhan juga dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup (Kurniawan, 2008).

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri (Kurniawan, 2008).

Fase kematian ditandai dengan cepat menurunnya koloni dan jumlah bakteri yang mati senantiasa bertambah. Keadaan ini dapat berlangsung beberapa minggu bergantung pada spesies dan keadaan medium serta faktor-faktor lingkungan. Kalau keadaan ini dibiarkan terus menerus, besar kemungkinan bakteri tidak dapat dihidupkan kembali dalam medium baru (Fauzi, 2009).



Gambar 2. Fase Pertumbuhan Bakteri (<http://biobakteri.wordpress.com>)

Menurut Tarigan (1988) dalam Ali (2008), kebutuhan mikroorganisme untuk pertumbuhan dapat dibedakan menjadi dua kategori, yaitu kebutuhan fisik dan kebutuhan kimiawi atau kemis. Aspek-aspek fisik dapat mencakup suhu, pH dan tekanan osmotik. Sedangkan kebutuhan kemis meliputi air, sumber karbon, nitrogen oksigen, mineral-mineral dan faktor penumbuh.

Hal ini sesuai dengan pendapat Hastuti (2007) dalam Ali (2008), bahwa terdapat beberapa faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, antara lain: suhu, kelembapan, cahaya, pH, dan nutrisi. Apabila faktor-faktor abiotik tersebut memenuhi syarat, sehingga optimum untuk pertumbuhan bakteri, maka bakteri dapat tumbuh dan berkembang biak.

Adanya kandungan nutrisi yang cukup dan seimbang dalam limbah cair disertai kondisi lingkungan yang sesuai, dapat menjadikan air limbah sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme tertentu. Dalam kondisi demikian, mikroorganisme akan mendegradasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam limbah cair melalui metabolisme sel dan metabolisme energi (Damayanthie, 2000 dalam Husin, 2008).

2.3 Limbah

Pencemaran yang terjadi pada usaha pertambakan (akuakultur) sebenarnya tidak selalu datang dari lingkungan di luar akuakultur, tetapi juga dari usaha akuakultur itu sendiri yaitu dari sisa pakan, kotoran biota ataupun pestisida yang biasanya digunakan petani tambak sebelum memulai budidaya (Fahmi, 2005).

Limbah adalah buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga), yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis. Limbah yang dihasilkan dari kegiatan perikanan masih cukup tinggi, yaitu sekitar 20 - 30 persen. Saat ini produksi ikan telah mencapai 6,5 juta ton pertahun, hal ini berarti ada sekitar 2 juta ton terbuang sebagai limbah (Afrianto, 2009).

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 18/1999 Jo.PP 85/1999, limbah didefinisikan sebagai sisa atau buangan dari suatu usaha dan/atau kegiatan manusia. Limbah adalah bahan buangan tidak terpakai yang berdampak negatif terhadap masyarakat jika tidak dikelola dengan baik. Air limbah industri maupun rumah tangga (domestik) apabila tidak dikelola dengan baik akan menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan (Abidin, 2010).

Alam memiliki kemampuan untuk mengatasi limbah. Berbagai siklus yang terdapat di alam mampu mengatasi limbah. Meningkatnya konsentrasi limbah yang terlalu cepat akan menyebabkan siklus yang ada tidak mampu bekerja secara baik. Pada konsentrasi tertentu, kehadiran limbah dapat berdampak negatif terhadap lingkungan terutama bagi kesehatan manusia, sehingga perlu dilakukan penanganan terhadap limbah. Tingkat bahaya keracunan yang ditimbulkan oleh limbah tergantung pada jenis dan karakteristik limbah (Afrianto, 2009).

Berdasarkan pengertian secara kimiawi, limbah organik merupakan segala limbah yang mengandung unsur karbon (C), sehingga meliputi limbah dari makhluk hidup (misalnya kotoran hewan dan manusia, sisa makanan, dan sisa-sisa tumbuhan mati), kertas, plastik, dan karet. Namun, secara teknis sebagian besar orang mendefinisikan limbah organik sebagai limbah yang hanya berasal dari makhluk hidup (alami) dan sifatnya mudah busuk. Artinya, bahan-bahan organik alami namun sulit membusuk/terurai, seperti kertas, dan bahan organik sintetis (buatan) yang juga sulit membusuk/terurai, seperti plastik dan karet, tidak termasuk dalam limbah organik (Abidin, 2010).

Limbah organik yang berasal dari makhluk hidup mudah membusuk karena pada makhluk hidup terdapat unsur karbon (C) dalam bentuk gula (karbohidrat) yang rantai kimianya relatif sederhana sehingga dapat dijadikan sumber nutrisi bagi mikroorganisme, seperti bakteri dan jamur. Hasil pembusukan limbah organik oleh mikroorganisme sebagian besar adalah berupa gas metan (CH_4) yang juga dapat menimbulkan permasalahan lingkungan (Abidin, 2010). Keberadaan materi organik dalam perairan juga mampu menyebabkan peningkatan kebutuhan oksigen terlarut, akibat aktivitas degradasi mikroorganisme. Pada akhirnya hal tersebut mampu menurunkan kualitas air tambak.

Kandungan bahan organik yang tinggi akan meningkatkan kebutuhan oksigen untuk menguraikan bahan organik tersebut menjadi molekul yang lebih sederhana sehingga akan terjadi persaingan penggunaan oksigen dengan biota yang ada dalam tambak. Peningkatan kandungan bahan organik pada tanah dasar tambak akan terjadi dengan cepat terutama pada tambak yang menggunakan sistem budidaya secara semi intensif maupun intensif dengan tingkat pemberian pakan (*feeding rate*) dan pemupukan yang tinggi (Howerton, 2001 dalam Supono, 2008). Menurut Supono (2008), disamping mengendap di

dasar tambak, limbah organik juga tersuspensi dalam air sehingga menghambat penetrasi cahaya matahari ke dasar tambak.

Limbah tambak yang terdiri dari sisa pakan (*uneaten feed*), kotoran udang (*feces*), dan pemupukan dapat 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). Nutrien ini merangsang tumbuhnya alga/plankton yang dapat menimbulkan *blooming*. Sementara itu beberapa hasil degradasi limbah organik bersifat toksik terhadap udang pada level tertentu. Terjadinya kematian plankton juga dapat menyebabkan udang stres dan mati karena turunnya kadar oksigen terlarut (Latt, 2002 dalam Supono, 2008).

Dampak negatif dari limbah organik di tambak yaitu dapat terjadi pengotoran tambak/mempersempit *feeding area*, proses penguraian membutuhkan oksigen, limbah organik merupakan sumber dari gas-gas beracun (NH_3 , H_2S , dan NO_2), dapat menyuburkan plankton yang merugikan (*blue green algae* dan dinoflagelata), serta dapat merangsang berkembangnya organisme patogen seperti jamur, protozoa, dan vibrio (Supono, 2009).

Salah satu upaya dalam mengurangi limbah organik di perairan yaitu dengan cara biodegradasi. Menurut Supono (2009), pengolahan limbah secara biodegradasi ini merupakan penguraian/perombakan secara biologis limbah dalam tambak menjadi senyawa-senyawa yang tidak berbahaya bagi udang dan tidak menyebabkan turunnya kualitas air. Biodegradasi ini ditentukan oleh faktor biotik (komposisi dan sifat bakteri) dan faktor abiotik (fisika dan kimia air, serta bahan/komposisi limbah).

Menurut Afrianto (2009), pengolahan limbah secara biologis dilakukan dengan menggunakan tanaman dan mikroba. Jenis tanaman yang digunakan dapat berupa eceng gondok, *duckweed*, dan kiambang. Jenis mikroba yang

digunakan adalah bakteri, jamur, protozoa dan ganggang. Pemilihan jenis mikroba yang digunakan tergantung dari jenis limbah. Bakteri merupakan mikroba yang paling sering digunakan pada pengolahan limbah secara biologis. Bakteri yang digunakan bersifat kemoheterotrof dan kemoautotrof. Bakteri kemoheterotrof memanfaatkan bahan organik sebagai sumber energi, sedangkan bakteri kemoautotrof memanfaatkan bahan anorganik sebagai sumber energi.

2.4 Lipid

Lipid adalah nama suatu golongan senyawa organik yang meliputi sejumlah senyawa yang terdapat di alam yang semuanya dapat larut dalam pelarut-pelarut organik tetapi sukar larut atau tidak larut dalam air. Pelarut organik yang dimaksud adalah pelarut organik non polar, misalnya *benzene*, *pentane*, *dietil eter* dan karbon tetraklorida. Dengan pelarut-pelarut tersebut lipid dapat diekstrak dari sel dan jaringan tumbuhan ataupun hewan (Shofyan, 2010).

Menurut Heru (2010), senyawa yang disebut lipid biasanya diartikan sebagai suatu senyawa yang dalam pelarut tidak larut dalam air, namun larut organik. Contohnya benzena, eter, dan kloroform. Suatu lipid tersusun atas asam lemak dan gliserol. Berbagai kelas lipid dihubungkan satu sama lain berdasarkan komponen dasarnya, sumber penghasilnya, kandungan asam lemaknya, maupun sifat-sifat kimianya. Kebanyakan lipid ditemukan dalam kombinasi dengan senyawa sederhana lainnya (seperti ester lilin, trigliserida, steril ester dan fosfolipid), kombinasi dengan karbohidrat (glikolipid), dan kombinasi dengan protein (lipoprotein).

Berdasarkan komponen dasarnya, lipid (lemak) terbagi ke dalam lipid sederhana, lipid majemuk, dan lipid turunan. Berdasarkan sumbernya, lipid dikelompokkan sebagai lemak hewan, lemak susu, minyak ikan, dll. Lipid seperti

lilin, lemak, minyak, dan fosfolipid adalah ester yang jika dihidrolisis dapat menghasilkan asam lemak dan senyawa lainnya termasuk alkohol. Steroid tidak mengandung asam lemak dan tidak dapat dihidrolisis (Heru, 2010).

2.5 Bakteri Lipolitik

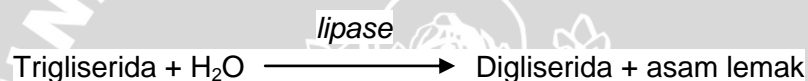
Suatu mikroorganisme, misalnya bakteri mungkin mempunyai enzim-enzim yang dapat menghidrolisis lemak maupun mengoksidasi lemak. Bakteri yang mempunyai enzim oksidase kuat pada umumnya adalah bakteri gram-negatif, sedangkan bakteri gram-positif biasanya mempunyai aktifitas oksidase yang sangat lemah (Fardiaz, 1992).

Enzim di dalam sel hidup dapat dibedakan menjadi dua macam berdasarkan aktivitas hidupnya yaitu enzim ekstraseluler dan enzim intraseluler. Enzim intraseluler bekerja di dalam sel dan memegang peranan penting dalam memecah makanan yang diabsorpsi ke dalam sel untuk metabolisme. Sedangkan enzim ekstraseluler diproduksi oleh sel dan dikeluarkan melalui dinding sel ke medium disekelilingnya dan bekerja di luar sel, yaitu memecah komponen-komponen di dalam medium seperti protein, pati, dan lemak. Hasil-hasil pemecahan komponen-komponen tersebut kemudian dapat diabsorpsi melalui dinding sel membran semi permeabel ke dalam sel dan digunakan oleh sel (Fardiaz, 1992).

Bakteri lipolitik merupakan bakteri penghasil lipase. Lipase merupakan enzim yang memiliki beberapa karakter yang menguntungkan, antara lain kemampuan untuk digunakan pada berbagai substrat, memiliki stabilitas yang tinggi pada suhu dan pH ekstrim serta dalam larutan organik toksik. Lipase memiliki pH optimum 6,0 - 7,5 dan tetap stabil pada kondisi asam (pH 4) dan pada kondisi alkali (Sexena *et al.*, 2004 dalam Prayogo, 2009). Lipase

merupakan enzim yang mampu mengkatalis reaksi hidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol (Gupta *et al.*, 2003 *dalam* Prayogo, 2009).

Menurut Haba *et al.* (2000) *dalam* Prayogo (2009), bahwa kemampuan bakteri dalam mendegradasi lemak berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut dalam menghasilkan enzim lipase. Enzim-enzim yang bekerja dalam hidrolisis lemak dan minyak dikelompokkan dalam dua kelompok yaitu enzim lipase dan enzim esterase. Enzim lipase berfungsi mengkatalis trigliserida menjadi digliserida dan asam lemak. Lebih lanjut digliserida dapat dihidrolisis oleh lipase menjadi monogliserida. Ikhtisar reaksi penguraian oleh lipase sebagai berikut:



Enzim lipase merupakan biokatalis yang berfungsi memecah lipid yang karakternya sulit larut dalam air. Dengan diekstraksi menggunakan enzim tersebut, lipid menjadi mudah larut dalam air. Oleh karena itu, lipase menjadi pilihan yang berfungsi sebagai agen bioremediasi (pengolah limbah secara biologi). Lipase bakteri sendiri merupakan enzim yang bekerja untuk mendegradasi lipid dengan bantuan media air. Enzim ini diproduksi dari bakteri, seperti bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp (Prasasty, 2010).

Bakteri penghasil lipase ekstraseluler yang telah diketahui adalah dari anggota *Pseudomonas* sp., *Achromobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Arthrobacter* sp., *Staphylococcus* sp., dan *Chromobacterium* sp.. Lipase bakteri merupakan glikoprotein tetapi beberapa lipase ekstraseluler merupakan lipoprotein (Sexena *et al.*, 2004 *dalam* Prayogo, 2009). Bakteri lain yang sudah diketahui menghasilkan lipase adalah strain anggota *Bacillus* sp., *Rhodococcus* sp., *Acinetobacter calcoaceticus*, *Micrococcus luteus* dan *Arthrobacter oxydans* (Haba *et al.*, 2000 *dalam* Prayogo, 2009).

Berdasarkan kebutuhannya terhadap oksigen, bakteri lipolitik dapat dibedakan atas beberapa kelompok yaitu bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif yang tidak membentuk spora misalnya *Pseudomonas* dan *Proteus*. Bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif yang membentuk spora misalnya *Bacillus*, sedangkan bakteri anaerobik pembentuk spora misalnya *Clostridium* (Prayogo, 2009).

2.6 Parameter Kualitas Air

2.6.1 Suhu

Suhu air dipengaruhi oleh radiasi cahaya matahari, suhu udara, cuaca dan lokasi. Radiasi matahari merupakan faktor utama yang mempengaruhi naik turunnya suhu air. Sinar matahari menyebabkan panas air di permukaan lebih cepat dibanding badan air yang lebih dalam. Densitas air turun dengan adanya kenaikan suhu sehingga permukaan air dan air yang lebih dalam tidak dapat tercampur dengan sempurna (Boyd, 1990 dalam Supono, 2008).

Suhu air sangat berpengaruh terhadap proses kimia maupun biologi dalam air. Reaksi kimia dan biologi naik dua kali setiap terjadi kenaikan 10°C. Aktivitas metabolisme organisme akuatik juga naik dan penggunaan oksigen terlarut menjadi dua kali lipat. Penggunaan oksigen terlarut dalam penguraian bahan organik juga meningkat secara drastis (Howerton, 2001 dalam Supono, 2008).

Suhu sangat berkaitan erat dengan konsentrasi oksigen terlarut dalam air dan konsumsi oksigen hewan air. Suhu berbanding terbalik dengan konsentrasi jenuh oksigen terlarut, tetapi berbanding lurus dengan laju konsumsi oksigen hewan air dan laju reaksi kimia dalam air (Kordi, 2010).

Suhu merupakan merupakan salah satu faktor yang penting dalam kehidupan. Beberapa jenis mikroorganisme dapat hidup pada daerah temperatur yang luas sedangkan jenis lainnya hidup pada daerah yang terbatas. Pada

umumnya batas daerah temperatur bagi kehidupan mikroorganisme terletak diantara 0°C dan 90°C, sehingga untuk masing-masing mikroorganisme dikenal nilai temperatur minimum, optimum, dan maksimum (Suriawiria, 1993).

2.6.2 Oksigen Terlarut/*Dissolved Oxygen* (DO)

Dilihat dari jumlahnya, oksigen (O₂) terlarut adalah satu jenis gas terlarut dalam air dengan jumlah yang sangat banyak, yaitu menempati urutan kedua setelah nitrogen. Namun jika dilihat dari segi kepentingan untuk budidaya perairan, termasuk udang, oksigen menempati urutan teratas. Oksigen yang diperlukan biota air untuk pernapasannya harus terlarut dalam air. Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas, sehingga apabila ketersediaanya di dalam air tidak mencukupi, maka segala aktivitas biota akan terhambat (Kordi, 2010).

Di tambak, oksigen berfungsi sebagai pengoksidasi bahan organik yang ada di dasar tambak. Batas minimum kandungan oksigen di tambak yaitu 3 ppm atau 3 mg/l. Kandungan oksigen di dalam air yang dianggap optimum bagi budidaya udang adalah 5 - 10 ppm. Laju respirasi terlihat tetap pada batas kelarutan oksigen 3 - 4 ppm pada suhu 20 - 30°C (Kordi, 2010).

Oksigen sangat diperlukan oleh bakteri untuk dapat menguraikan buangan sisa pakan dan nitrogen menjadi senyawa yang bermanfaat. Namun pada kondisi oksigen yang terbatas, bakteri pengurai akan menghasilkan senyawa pengurai seperti amonia dan nitrit yang bersifat racun buat ikan dan udang (Hakim, 2008).

Jumlah oksigen yang diperlukan bakteri dalam penguraian bahan organik di dalam lumpur tergantung dari konsentrasi dan banyaknya bahan organik yang terdapat pada dasar tambak. Pada tambak-tambak skala semiintensif dan intensif, pemakaian oksigen oleh bakteri kerap kali melampaui jumlah yang diperlukan oleh udang (Kordi, 2010).

2.6.3 Derajat Keasaman (pH)

pH didefinisikan sebagai logaritma negatif dari konsentrasi ion hidrogen $[H^+]$ yang mempunyai skala antara 0 sampai 14. pH mengindikasikan apakah air tersebut netral, basa atau asam. Air dengan pH dibawah 7 termasuk asam dan diatas 7 termasuk basa. pH merupakan variabel kualitas air yang dinamis dan berfluktuasi sepanjang hari. Pada perairan umum yang tidak dipengaruhi aktivitas biologis yang tinggi, nilai pH jarang mencapai diatas 8,5, tetapi pada tambak ikan atau udang, pH air dapat mencapai 9 atau lebih (Boyd, 2002 dalam Supono, 2008).

Kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH sekitar 7,0 (6,6 - 7,5), dan hanya beberapa yang dapat tumbuh di bawah pH 4,0. bakteri mempunyai kisaran pH pertumbuhan yang lebih sempit dibandingkan dengan kapang dan khamir (Fardiaz, 1992).

Degradasi asam lemak akan menyebabkan turunnya pH. Hal ini menyebabkan aktivitas perombakan oleh bakteri lipolitik pendegradasi surfaktan turun aktivitasnya karena bakteri-bakteri ini umumnya tumbuh pada pH netral dan alkali (Hidayat, 2010).

2.7 Bioremediasi

Menurut Fahmi (2008), bioremediasi didefinisikan sebagai proses penguraian limbah organik/anorganik polutan secara biologi dalam kondisi terkendali dengan tujuan mengontrol, mereduksi atau bahkan mereduksi bahan pencemar dari lingkungan. Penguraian senyawa kontaminan ini umumnya melibatkan mikroorganisme (khamir, fungi, dan bakteri).

Bioremediasi adalah pemanfaatan organisme untuk membersihkan senyawa pencemar dari lingkungan. Pada proses ini terjadi biotransformasi atau biodegradasi senyawa toksik menjadi senyawa yang kurang toksik atau tidak

toksik. Proses utama pada bioremediasi adalah biodegradasi, biotransformasi dan biokatalis (Fahmi, 2008).

Menurut Yani *et al.* (2003) dalam Herdiyantoro (2005), ide yang mendasari bioremediasi adalah semua mikroorganisme mampu mengonsumsi substrat dari alam untuk pertumbuhan dan metabolismenya. Bakteri, protista dan jamur sangat baik digunakan untuk mendegradasi molekul kompleks dengan memasukkan bahan tersebut ke dalam metabolismenya. Kemampuan untuk mendegradasi tergantung pada enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme.

Secara ekonomi dan fungsi, penggunaan teknik bioremediasi harus dapat berkompetisi dengan teknologi remediasi lainnya, seperti pembakaran (insinerasi) atau perlakuan kimia. Karena teknik bioremediasi ini dianggap lebih mudah, cepat, murah dan efisien, dengan hanya memanfaatkan organisme dalam mendegradasi toksikan. Maka kemudian kita dapat memanfaatkan potensi dari mikroorganisme tersebut untuk mendegradasi bahan pencemar yang terdapat pada lingkungan, sehingga lama kelamaan dengan sendirinya kualitas dan fungsi lingkungan akan kembali pada kondisi normal (Fahmi, 2008).

Menurut Fahmi (2008), proses bioremediasi yang melibatkan mikroba terbagi menjadi 3 macam yaitu:

- Bioaugmentasi, merupakan suatu bioteknologi untuk meningkatkan produksi akuakultur dan pelestarian lingkungannya. Hal ini disebabkan oleh timbulnya masalah yang sering dihadapi dalam sistem akuakultur yaitu terjadinya penurunan kualitas air yang meliputi; oksigen terlarut, amonia, nitrit dan lain-lain. Bioaugmentasi merupakan sumbangan bioteknologi dalam bidang akuakultur, yaitu suatu pemberian bakteri nitrifikasi dan bakteri pemecah limbah organik ke dalam badan air.
- Biostimulasi, yaitu suatu proses yang dilakukan melalui penambahan zat gizi tertentu yang dibutuhkan oleh mikroorganisme atau menstimulasi kondisi

lingkungan sedemikian rupa (misalnya pemberian aerasi) agar mikroorganisme tumbuh dan beraktivitas lebih baik.

- Bioremediasi intrinsik, yaitu proses bioremediasi tanpa campur tangan manusia.

Bioremediasi merupakan bagian dari bioteknologi lingkungan yang memanfaatkan proses alami biodegradasi dengan menggunakan aktivitas mikroorganisme yang dapat memulihkan tanah, air dan sedimen dari kontaminasi terutama senyawa organik (Yani *et al.*, 2003 dalam Herdiyantoro, 2005).

Pengolahan limbah cair dengan cara biologi dapat menurunkan kadar zat organik terlarut dengan memanfaatkan mikroorganisme atau tumbuhan air. Pada dasarnya cara biologi adalah pemutusan molekul kompleks menjadi molekul sederhana. Proses ini sangat peka terhadap faktor suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan zat-zat inhibitor terutama zat-zat beracun. Mikroorganisme yang digunakan untuk pengolahan limbah adalah bakteri, algae, atau protozoa (Ritmann dan McCarty, 2001 dalam Husin, 2008).

Menurut Damayanthie (2000) dalam Husin (2008), bahwa selain membutuhkan nutrisi, mikroorganisme juga membutuhkan kondisi lingkungan yang sesuai untuk keperluan pertumbuhan dan fungsinya secara normal. Adanya kandungan nutrisi yang cukup dan seimbang dalam limbah cair disertai kondisi lingkungan yang sesuai, dapat menjadikan air limbah sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme tertentu. Dalam kondisi demikian, mikroorganisme akan mendegradasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam limbah cair melalui metabolisme sel dan metabolisme energi.

Secara singkat dapat dikemukakan bahwa proses pengolahan dengan cara biologi dapat berlangsung secara aerob dan anaerob. Proses aerob berarti bahwa penguraian bahan organik dilakukan oleh bakteri yang dalam aktivitasnya memerlukan kehadiran oksigen (O_2). Sebaliknya, proses anaerob berarti

dilakukan oleh bakteri yang aktivitasnya tidak memerlukan oksigen (Abdullah, 2010).

Perlakuan anaerobik untuk degradasi senyawa organik kompleks dalam limbah cair muncul sebagai pilihan yang logis dan menarik, karena biodegradasi senyawa-senyawa organik kompleks dapat dilakukan dalam sistem anaerob. 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 kecil gas hidrogen (Parkin dan Owen, 1986 *dalam* Husin, 2008). Selanjutnya asam-asam organik dan asam-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).

Pengolahan limbah cair dengan proses anaerob pada dasarnya sama dengan proses aerobik, dimana sama-sama memanfaatkan aktivitas mikroorganisme atau metabolisme sel untuk menurunkan atau menghilangkan substrat tertentu terutama senyawa-senyawa organik *biodegradable* (bisa diurai oleh jasad renik) dalam air buangan (Davis dan Cornwell, 1991 *dalam* Husin, 2008).

III. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah biakan bakteri *B. subtilis* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, limbah cair yang berasal dari tambak udang, media NA (*Nutrient Agar*) yang digunakan untuk membuat biakan bakteri *B. subtilis*, media cair NB (*Nutrient Broth*) yang digunakan untuk perbanyak *B. subtilis*. Bahan yang digunakan dalam pewarnaan gram antara lain alkohol, safranin, kristal violet dan lugol, minyak emersi dan *tissue*, sedangkan *petroleum eter* digunakan untuk uji lemak pada limbah tambak. Bahan-bahan lainnya yang digunakan yaitu kertas label, kertas saring, kertas koran, kapas, spirtus, akuades, benang kasur, serta larutan Mc Farland (BrCl_2 dan H_2SO_4) dan larutan fisiologis (NaCl) yang digunakan dalam proses pengenceran bakteri *B. subtilis*.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah toples plastik ukuran 300 ml, botol sampel 600 ml, botol sampel 300 ml, autoklaf, bunsen, cawan petri, erlenmeyer, gelas ukur, gelas pengaduk, *sentrifuse*, *waterbath shaker*, penangas air, inkubator, pipet tetes, pipet volumetrik, bola hisap, jarum ose, kompor listrik, *cool box*, gelas objek, mikroskop, kompor gas, timbangan analitik, oven, cawan porselen, corong pisah, desikator, botol falcon, pH meter, DO meter, termometer, dan kamera digital. Gambar alat-alat dan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 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 diselediki. 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, 2005).

3.2.2 Variabel Penelitian

Menurut Surachmadi (1994) dalam Kurniawan (2010), ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas.

- a) Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penambahan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan yang berbeda.
- b) Variabel terikat adalah jumlah penurunan kandungan lemak yang dapat didegradasi oleh bakteri *B. subtilis*.

3.2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Gasperz (1991) dalam Mariyanti (2010), model umum untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan :

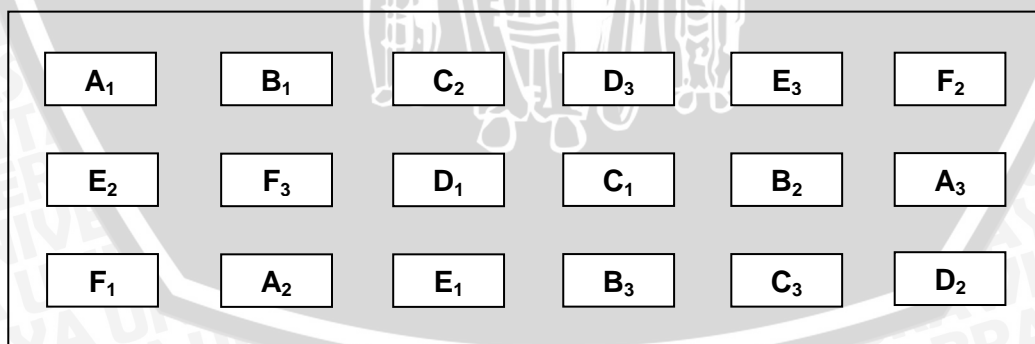
- Y = Nilai pengamatan dari suatu percobaan
- μ = nilai tengah populasi (rata-rata sesungguhnya)
- T = Pengaruh perlakuan
- ϵ = Pengaruh galat dari suatu percobaan

Dalam penelitian ini, sebagai perlakuan adalah kepadatan dari bakteri *B. subtilis* yang berbeda-beda yang diperoleh dari penelitian pendahuluan.

Perlakuan dalam penelitian ini yaitu:

- Perlakuan A : Tanpa diberikan bakteri *B. subtilis*
- Perlakuan B : Kepadatan *B. subtilis* yang digunakan sebanyak 10^4 cfu/ml
- Perlakuan C : Kepadatan *B. subtilis* yang digunakan sebanyak 10^5 cfu/ml
- Perlakuan D : Kepadatan *B. subtilis* yang digunakan sebanyak 10^6 cfu/ml
- Perlakuan E : Kepadatan *B. subtilis* yang digunakan sebanyak 10^7 cfu/ml
- Perlakuan F : Kepadatan *B. subtilis* yang digunakan sebanyak 10^8 cfu/ml

Dalam perlakuan ini, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali dan ditempatkan secara acak. Denah percobaan (Gambar 3) dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 3. Denah Percobaan

Keterangan :

- B, C, D, E, F : Perlakuan
- A : Kontrol (tidak diberi bakteri)
- 1, 2, 3 : Ulangan

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Serilisasi alat dan bahan menurut Dwijoseputro (1989):

- Alat-alat yang akan disterilkan dibungkus dengan kertas koran kemudian diikat dengan benang;
- Air dituangkan secukupnya ke dalam autoklaf, kemudian alat dan bahan yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf;
- Autoklaf ditutup kemudian mengencangkan baut-baut sampai rapat;
- Autoklaf dihubungkan dengan sumber listrik, kemudian menekan tombol autoklaf untuk menghidupkannya ditandai dengan menyalnya lampu indikator;
- Bila lampu indikator mati secara otomatis, hal ini merupakan tanda bahwa tekanan dalam autoklaf telah jenuh. Buka kran pada pipa untuk mengurangi tekanan udara. Bila tekanan udara dirasa tidak jenuh, tekan tombol sehingga lampu indikator menyala. Tutup kembali kran pada pipa uap;
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang kali sehingga suhu mencapai 121°C dan manometer menunjukkan angka 1 atm. Keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit;
- Aliran listrik pada autoklaf dilepaskan, kemudian membuka kran uap air sampai manometer menunjukkan angka nol;
- Autoklaf dibuka dengan cara membuka baut yang terdapat pada tutup autoklaf;
- Alat dan bahan yang sudah steril diambil, kemudian alat tersebut dapat disimpan dalam inkubator dan bahan yang sudah steril dapat disimpan di lemari pendingin.

3.3.2 Pembuatan Media

3.3.2.1 Media NA (*Nutrient Agar*)

Sebanyak 2,8 g NA (*Nutrient Agar*) dilarutkan dengan 100 ml akuades. Untuk menghomogenkan larutan dilakukan pemanasan dan pengadukan di atas kompor listrik hingga mendidih. Kemudian NA dituang ke dalam cawan petri sebanyak 25 - 30 ml. Selanjutnya dilakukan sterilisasi media yang sudah mengeras pada inkubator dengan suhu 121°C selama 15 menit. Skema pembuatan media NA (*Nutrient Agar*) dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.3.2.2 Media NB (*Nutrient Broth*)

Sebanyak 100 ml media NB (*Nutrient Broth*) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer ukuran 250 ml dengan menggunakan pipet, kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media didinginkan dan siap untuk digunakan. Adapun skema pembuatan media NB (*Nutrient Broth*) dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3.3 Pembuatan Biakan Bakteri *B. subtilis*

Media NA yang telah disiapkan digunakan untuk menginokulasi bakteri *B. subtilis*. Agar yang sudah steril digores dengan 1 ose isolat bakteri *B. subtilis* secara aseptis di atas bunsen, kemudian cawan petri ditutup dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Skema pembuatan biakan bakteri *B. subtilis* dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.3.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat bakteri. Menurut Junaidi (2010), langkah awal yang dilakukan dalam proses pewarnaan Gram adalah menyemprot gelas objek dengan alkohol lalu dikeringkan dengan menggunakan *tissue*. Selanjutnya gelas objek dibilas dengan akuades steril.

Kemudian diambil biakan bakteri yang telah berumur 24 jam dengan menggunakan jarum ose secara aseptik 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 dengan air mengalir dan dikeringkan. Langkah yang sama dilakukan pada saat meneteskan preparat dengan lugol. Kemudian diamkan selama 1 menit lalu bilas dengan alkohol selama 30 detik, kemudian dibilas dengan air mengalir. Preparat diwarnai dengan safranin selama 15 detik dan dibilas kembali dengan air mengalir. Diamkan dan keringkan untuk selanjutnya dapat diamati pada mikroskop pada perbesaran 1000x dengan ditetesi minyak emersi. Skema pewarnaan Gram bakteri *B. subtilis* dapat dilihat pada Lampiran 6.

3.3.5 Perbanyakkan Bakteri *B. subtilis*

Diambil koloni murni bakteri *B. subtilis* secara aseptik menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam media NB sebanyak 100 ml yang telah dingin dan steril. Kemudian dilakukan penggosokan di *waterbath shaker* pada suhu 37°C selama 24 jam. Skema perbanyakkan bakteri *B. subtilis* dapat dilihat pada Lampiran 7.

3.3.6 Pengenceran Bakteri *B. Subtilis*

Bakteri *B. subtilis* diambil dan dimasukkan ke dalam botol falcon 10 ml. Selanjutnya disentrifugal dingin dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit dan didapatkan supernatan dan pelet. Supernatan dibuang hingga tersisa pelet. Selanjutnya pelet bakteri *B. subtilis* ditambah larutan fisiologis (NaCl) sebanyak 10 ml. Diukur kepadatan bakteri *B. subtilis* dengan cara membandingkan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland 10 yang terdiri dari campuran barium klorida (BaCl_2) sebanyak 1 ml ditambah dengan asam sulfat (H_2SO_4) sebanyak 9

ml, maka didapatkan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan 30×10^8 atau 3×10^9 . Kemudian diencerkan dengan menggunakan larutan fisiologis (NaCl) sesuai dengan kepadatan yang diinginkan, yaitu kepadatan bakteri *B. subtilis* 10^8 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, dan 10^4 cfu/ml. Pengenceran bakteri *B. subtilis* dilakukan dengan menggunakan rumus: $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$. Skema pengenceran bakteri *B. subtilis* dapat dilihat pada Lampiran 8.

3.3.7 Penentuan Kepadatan Optimum Bakteri *B. subtilis*

Kegiatan ini dilakukan untuk mengetahui kepadatan optimum bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid dari limbah cair tambak udang. Biakan bakteri *B. subtilis* yang digunakan yaitu dengan kepadatan 0 cfu/ml, 10^2 cfu/ml, 10^4 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, dan 10^8 cfu/ml. Bakteri uji yang ditambahkan yaitu sebanyak 1,2 ml ke dalam 200 ml sampel limbah cair. Hal tersebut berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniawan (2010), bahwa jumlah penambahan bakteri ke dalam limbah cair yaitu sebanyak 6 ml bakteri per 1.000 ml sampel limbah cair. Selanjutnya biakan bakteri dari media NB dimasukkan ke dalam limbah cair tambak udang, kemudian diinkubasi selama 48 jam dan diukur kadar lemaknya.

3.3.8 Pengambilan Limbah Cair Tambak Udang

Limbah cair tambak udang didapatkan dari tambak pembesaran udang vaname di Kecamatan Jenu Kabupaten Tuban. Pengambilan limbah cair tambak udang dilakukan di bagian perairan dekat dasar (substrat lumpur). Pengambilan limbah cair tambak udang menggunakan botol sampel ukuran 600 ml, kemudian botol sampel langsung ditutup di dalam perairan. Pengambilan limbah cair dilakukan pada 5 titik dengan tujuan mewakili kondisi tambak. Limbah cair dibawa ke Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dengan menggunakan *cool box*.

3.3.9 Penambahan Bakteri *B. subtilis* dalam Limbah

Sebanyak 1,2 ml larutan NaCl yang berisi biakan bakteri *B. subtilis* dimasukkan ke dalam toples plastik yang berisi 200 ml limbah cair tambak udang. Biakan bakteri *B. subtilis* yang ditambahkan ke dalam limbah cair tambak udang yaitu dengan kepadatan 0 cfu/ml, 10^4 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan 10^8 cfu/ml. Pengambilan dan penambahan bakteri *B. subtilis* dilakukan dengan pipet volume dan bola hisap. Selanjutnya toples ditutup dan pengukuran kadar lemak dilakukan setelah bakteri diinkubasi selama 48 jam. Hal ini berdasarkan penelitian Singh *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa aktivitas maksimum enzim lipase pada bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lemak terjadi setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam.

3.3.10 Analisa Beberapa Parameter

3.3.10.1 Kadar Lemak

Menurut Kurniawan (2010), lemak diuji dengan menggunakan prosedur kerja sebagai berikut:

- Dipipet sebanyak 25 ml sampel limbah cair dengan pipet volume 25 ml, lalu dimasukkan ke dalam corong pisah 100 ml.
- Ditambahkan *petroleum eter* 25 ml lalu dikocok selama \pm 5 menit.
- Dipisahkan dan diambil lemak bersama pelarut dan dimasukkan ke dalam cawan porselen yang sudah dikonstankan.
- Dipanaskan di atas penangas air (*hot plate*) sampai tidak ada air lalu dilanjutkan pemanasan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit.
- Didinginkan dalam desikator dan ditimbang menggunakan timbangan analitik.
- Dilakukan pengovenan selang waktu 30 menit sehingga didapatkan berat konstan, dicatat hasil penimbangannya. Dihitung kadar lemak dengan rumus:
 $\% \text{ Lemak} = \text{gr lemak} \times 4$; atau dalam ppm lemak = $\% \text{ Lemak} \times 10.000$.

3.3.10.2 Suhu

Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer. Adapun prosedur pengukuran suhu sebagai berikut:

- Dicelupkan termometer ke dalam sampel limbah cair yang akan diukur.
- Didiamkan hingga penunjuk angka pada thermometer berhenti.
- Dicatat hasilnya.

3.3.10.3 Oksigen Terlarut/*Dissolved Oxygen* (DO)

DO diukur dengan metode elektrometrik menggunakan DO meter dengan prosedur pengukuran sebagai berikut:

- *Probe* disambungkan sebelum mengoperasikan DO meter.
- *Probe* dimasukkan ke media limbah cair yang diukur.
- Tombol *on* ditekan pada layar akan muncul *cond* ditunggu beberapa detik, maka pada layar akan muncul angka-angka.
- *Cal* ditekan 2 kali, ditekan *range* maka alat akan mengukur kadar DO terlarut serta dicatat hasilnya..
- Setelah selesai, tombol *off* ditekan untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci dengan akuades dan ditutup.

3.3.10.4 Derajat Keasaman (pH)

pH diukur menggunakan pH meter dengan prosedur pengukuran sebagai berikut:

- *Probe* disambungkan terlebih dahulu sebelum digunakan.
- *Probe* dibilas dan dikalibrasi menggunakan akuades (pH netral).
- *Probe* dimasukkan kedalam sampel limbah cair yang diukur.
- Tombol *on* ditekan, ditunggu sampai muncul angka pada layar pH meter.
- Angka yang muncul ditunggu sampai posisi stabil.

- Setelah selesai, tombol *off* ditekan untuk mematikan alat.
- *Probe* dicuci dengan akuades dan ditutup.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini yaitu pengukuran lemak dari limbah cair tambak udang yang telah diberi perlakuan penambahan *B. subtilis* dengan kepadatan yang berbeda.

3.4.2 Parameter Penunjang

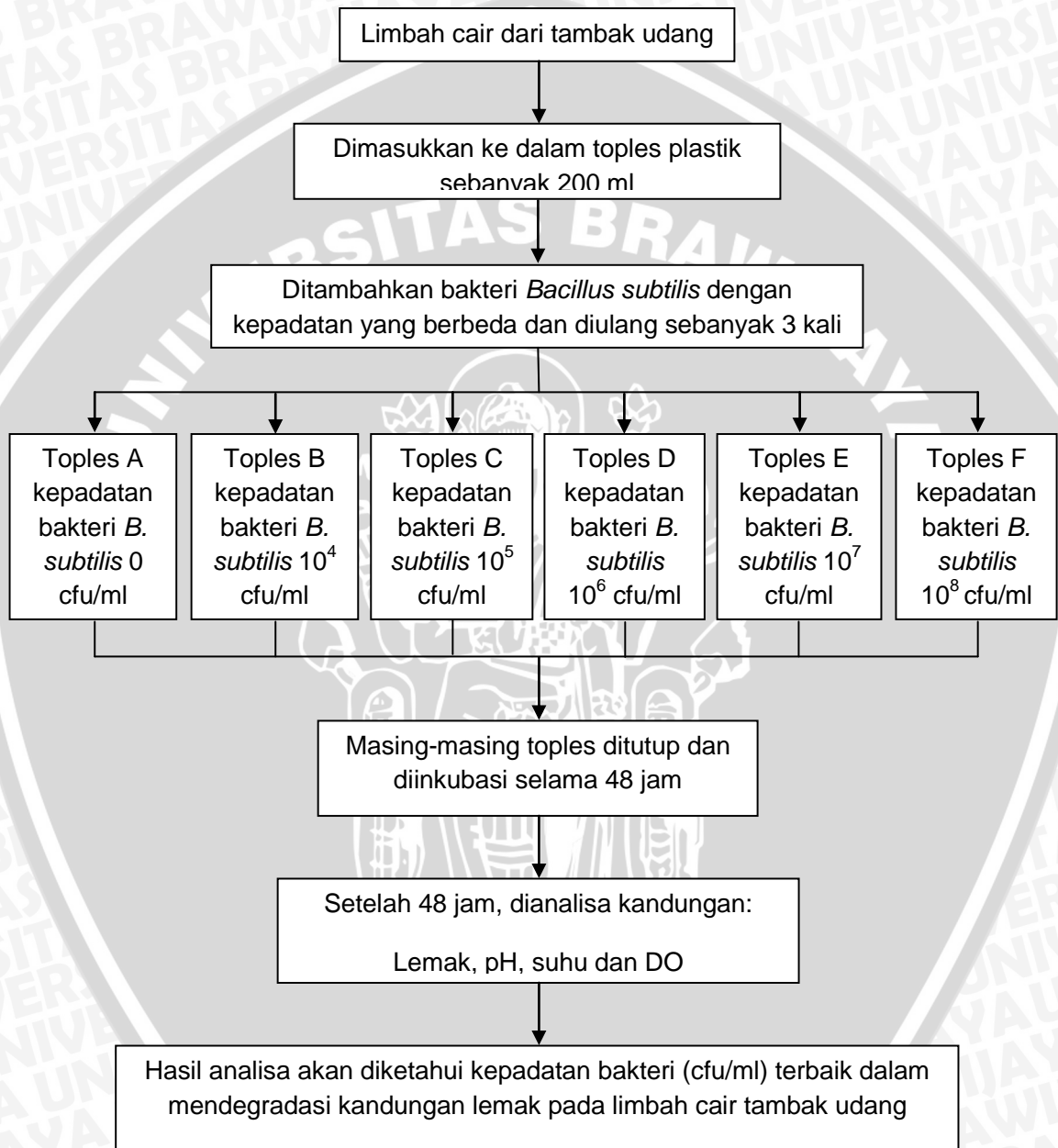
Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah nilai suhu, oksigen terlarut, dan pH yang terdapat dalam limbah cair tambak. Dimana suhu, oksigen terlarut, dan pH merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi kehidupan bakteri.

3.5 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu analisa keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

3.6 Skema Kerja Penelitian

Adapun skema kerja dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

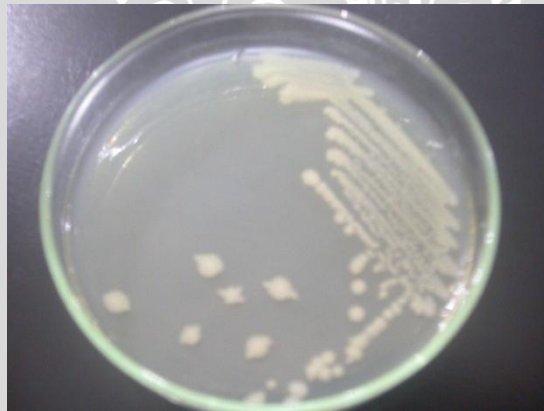


Gambar 4. Skema Kerja Penelitian

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Biakan *B. subtilis*

Isolat murni bakteri *B. subtilis* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggunakan media padat NA (*Nutrient Agar*). Bakteri murni diambil sebanyak 1 ose untuk kemudian dikultur dengan menggunakan media padat NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Nutrien agar digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak *beef*, pepton, dan agar. NA merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Bakteri *B. subtilis* yang tumbuh pada media NA berwarna putih susu atau putih tulang (Gambar 5).

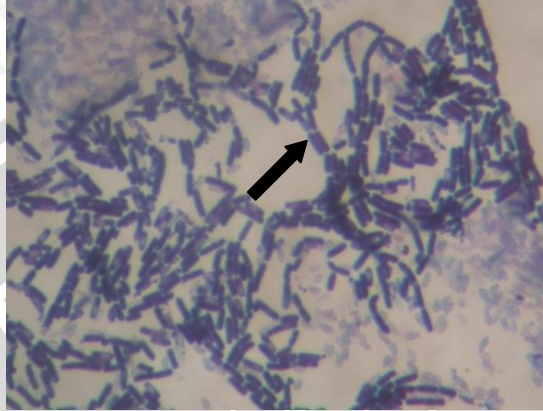


Gambar 5. Isolasi Bakteri pada Media NA

4.2 Pewarnaan Gram

Hasil isolasi bakteri *B. subtilis* pada media NA tersebut selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram dan diamati morfologi bakteri tersebut. Berdasarkan

pengamatan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000x, dapat terlihat bahwa bakteri *B. subtilis* memiliki bentuk seperti batang dan merupakan bakteri Gram positif karena pada pewarnaan Gram berwarna biru tua atau ungu (Gambar 6).



Gambar 6. *B. subtilis* Setelah Dilakukan Pewarnaan Gram (Tanda Panah)

Pewarnaan bakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti fiksasi, peluntur warna, substrat, intensifikasi pewarnaan dan penggunaan zat warna penutup. Pewarnaan pada bakteri Gram-positif menunjukkan warna biru ungu dan bakteri Gram-negatif berwarna merah. Bakteri Gram-negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri Gram-positif akan mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci dengan alkohol, sementara bakteri Gram-negatif tidak. Pada uji pewarnaan Gram, suatu pewarna penimbal (*counterstain*) ditambahkan setelah metil ungu, yang membuat semua bakteri Gram-negatif menjadi berwarna merah atau merah muda. Pengujian ini berguna untuk mengklasifikasikan kedua tipe bakteri ini berdasarkan perbedaan struktur dinding sel mereka (Rudi, 2010).

Berdasarkan Schaechter (2006) dalam Fajriana (2008), bahwa *B. subtilis* merupakan bakteri Gram-positif yang berbentuk batang, dan secara alami sering ditemukan di tanah dan vegetasi. *B. subtilis* tumbuh di berbagai *mesophilic* suhu

berkisar 25 - 35°C. *B. subtilis* juga telah berevolusi sehingga dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras dan lebih cepat mendapatkan perlindungan terhadap stres, seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat alkali, osmosa atau kondisi *oxidative*, dan panas. Beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel. Hasil identifikasi bakteri *B. subtilis* secara lengkap disajikan dalam Lampiran 9.

4.3 Penentuan Kepadatan Optimum Bakteri *B. subtilis*

Penentuan kepadatan optimum bakteri *B. subtilis* yang digunakan untuk penelitian ini didapatkan dari penelitian pendahuluan. Pada penelitian pendahuluan digunakan beberapa kepadatan bakteri yang diuji, yaitu 0 cfu/ml (kontrol), 10^2 cfu/ml, 10^4 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, dan 10^8 cfu/ml. Kepadatan bakteri sebanyak 10^6 cfu/ml memiliki kadar lemak yang paling rendah atau mampu mendegradasi lemak paling tinggi, sedangkan konsentrasi 0 cfu/ml (kontrol) memiliki kadar lemak yang paling tinggi. Oleh karena itu, pada penelitian ini, kepadatan bakteri yang digunakan yaitu 0 cfu/ml (kontrol), 10^4 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan 10^8 cfu/ml. Sedangkan bakteri *B. subtilis* yang ditambahkan yaitu sebanyak 1,2 ml ke dalam 200 ml sampel limbah cair tambak udang. Hal tersebut berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kurniawan (2010), bahwa jumlah penambahan bakteri ke dalam limbah cair yaitu sebanyak 6 ml bakteri per 1.000 ml sampel limbah cair.

4.4 Hasil Uji Kadar Lemak

Berdasarkan hasil pengujian kadar lemak (lipid) pada limbah cair tambak setelah dilakukan penambahan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan yang berbeda, maka didapatkan hasil seperti yang terlihat pada Tabel 1. Nilai tersebut merupakan sisa hasil degradasi lemak dari limbah cair tambak udang. Hasil yang

menunjukkan nilai kadar lemak yang paling kecil merupakan perlakuan yang terbaik.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kemampuan Degradasi Bakteri *B. subtilis* terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang (ppm)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata±SD	Penurunan Kadar Lemak	Persentase Penurunan (%)
	1	2	3				
A = 0 cfu/ml	670	720	660	2.050	683,33±32,14	-	-
B = 10 ⁴ cfu/ml	530	540	570	1.640	546,67±20,82	136,66	19,99
C = 10 ⁵ cfu/ml	480	460	470	1.410	470±10	213,33	31,22
D = 10 ⁶ cfu/ml	430	400	410	1.240	413,33±15,27	270	39,51
E = 10 ⁷ cfu/ml	380	350	370	1.100	366,67±15,27	316,66	46,34
F = 10 ⁸ cfu/ml	460	430	440	1.330	443,33±15,27	240	35,12
Jumlah				8.770	-	-	-

Tabel diatas memperlihatkan nilai rata-rata kadar lemak limbah cair tambak terkecil terdapat pada kepadatan 10⁷ cfu/ml sebesar 366,67 ppm, sedangkan kadar lemak limbah cair tambak terbesar terdapat pada kepadatan 0 cfu/ml sebesar 683,33 ppm. Hal ini karena kepadatan 0 cfu/ml (kontrol) tidak menggunakan penambahan bakteri, sehingga tidak mempengaruhi kandungan lemak dalam limbah cair tambak.

Berdasarkan data diatas, dapat diketahui bahwa bakteri *B. subtilis* memiliki suatu zat atau enzim yang dapat menurunkan kandungan lemak (lipid) yang terdapat dalam limbah cair tambak udang. Salah satu enzim yang diproduksi oleh bakteri *B. subtilis* adalah lipase yang dapat mendegradasi senyawa lemak yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Prasasty (2010), lipase bakteri sendiri merupakan enzim yang bekerja untuk mendegradasi lipid dengan bantuan media air. Enzim ini diproduksi dari bakteri, seperti bakteri *Basillus sp.* dan *Pseudomonas sp.*

Bakteri, protista dan jamur sangat baik digunakan untuk mendegradasi molekul kompleks dengan memasukkan bahan tersebut ke dalam

metabolismenya. Kemampuan untuk mendegradasi tergantung pada enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme (Yani *et al.*, 2003 *dalam* Herdiyantoro, 2005).

Penguraian atau perombakan senyawa-senyawa oleh bantuan mikroorganisme (bakteri) dinamakan biodegradasi. Proses biodegradasi berdasarkan kebutuhan oksigen dibedakan menjadi dua, yaitu secara aerob (memerlukan oksigen) dan anaerob (tanpa oksigen).

Proses penguraian lipid/lemak secara aerob yang dibantu oleh enzim lipase akan menghasilkan produk akhir berupa asam lemak, gliserol, alkohol, CO₂, dan H₂O (Suriawiria, 1993).

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 kecil gas hidrogen (Parkin dan Owen, 1986 *dalam* Husin, 2008). Selanjutnya asam-asam organik dan asam-asam amino sederhana diuraikan lebih lanjut menjadi gas metan (CH₄), karbondioksida (CO₂) dan sejumlah kecil H₂, hidrogen sulfida (H₂S) dan nitrogen (Balch *et al.*, 1977 *dalam* Husin, 2008).

Berdasarkan analisa sidik ragam kemampuan degradasi bakteri *B. subtilis* terhadap kandungan lemak dalam limbah cair tambak udang, menunjukkan adanya pengaruh berbeda sangat nyata (*highly significant*) antar perlakuan, seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisa Keragaman/Sidik Ragam Kemampuan Degradasi Bakteri *B. subtilis* terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	192.627,78	38.525,56	101,98**	3,11	5,06
Acak	12	4.533,33	377,78	-	-	-
Total	17	197.161,11	-	-	-	-

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata (*highly significant*)

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan kepadatan bakteri *B. subtilis* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata (*highly significant*) terhadap kandungan lemak yang terdapat dalam limbah cair tambak. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 1% dan F 5%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kemampuan Degradasi Bakteri *B. subtilis* terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang

Rata-rata Perlakuan	A =	B =	C =	F =	D =	E =	Notasi
A = 683,33	-	-	-	-	-	-	a
B = 546,67	136,66**	-	-	-	-	-	b
C = 470	213,33**	76,67**	-	-	-	-	c
F = 443,33	240**	103,34**	26,67 ^{ns}	-	-	-	cd
D = 413,33	270**	133,34**	56,67**	30 ^{ns}	-	-	d
E = 366,67	316,66**	180**	103,33**	76,66**	46,66*	-	e

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata (*highly significant*)
 * = Berbeda nyata (*significant*)
 ns = Tidak berbeda nyata (*not significant*)

Berdasarkan hasil uji BNT, urutan kepadatan terbaik yaitu 10^7 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^8 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, 10^4 cfu/ml dan 0 cfu/ml (tanpa diberi bakteri). Dalam hal ini kepadatan optimum yang dapat digunakan untuk mendegradasi lemak dari limbah cair tambak yaitu dengan kepadatan 10^7 cfu/ml, karena kepadatan ini yang mampu memberikan nilai kadar lemak yang paling kecil. Perhitungan data hasil pengujian kemampuan degradasi bakteri *B. subtilis* terhadap kandungan lemak/lipid dalam limbah cair tambak udang yang lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 9.

Pada penelitian ini, kepadatan bakteri *B. subtilis* yang diujikan yaitu 0 cfu/ml (kontrol), 10^4 cfu/ml, 10^5 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^7 cfu/ml, dan 10^8 cfu/ml. Perlakuan kepadatan 0 cfu/ml (kontrol) memiliki daya degradasi paling rendah

karena mengandung lemak paling tinggi, yaitu 683,33 ppm. Kepadatan 10^4 cfu/ml memiliki kadar lemak sebesar 546,67 ppm, kepadatan 10^5 cfu/ml memiliki kadar lemak dalam limbah cair tambak sebesar 470 ppm, kepadatan 10^8 cfu/ml memiliki kadar lemak sebesar 443,33 ppm, kepadatan 10^6 cfu/ml memiliki kadar lemak sebesar 413,33 ppm, dan kepadatan 10^7 cfu/ml memiliki kadar lemak sebesar 366,67 ppm. Perlakuan kepadatan terbaik yaitu kepadatan 10^7 cfu/ml yang memiliki daya degradasi paling tinggi dengan kadar lemak paling rendah, yaitu sebesar 366,67 ppm. Pada kondisi kepadatan bakteri *B. subtilis* 10^8 cfu/ml terjadi penurunan kemampuan degradasi lemak dalam limbah cair tambak udang, hal ini dapat dilihat dari kadar lemak kepadatan bakteri *B. subtilis* 10^8 cfu/ml (443,33 ppm) yang lebih tinggi daripada kepadatan 10^7 cfu/ml (366,67 ppm).

Kemampuan bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid/lemak dari limbah cair tambak udang semakin meningkat sesuai dengan peningkatan kepadatannya. Kepadatan yang optimum bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid/lemak terjadi pada kepadatan 10^7 cfu/ml. Akan tetapi, pada kepadatan bakteri *B. subtilis* sebesar 10^8 cfu/ml daya degradasi bakteri menurun dibandingkan dengan kepadatan 10^7 cfu/ml. Penurunan daya degradasi tersebut dapat terjadi karena adanya persaingan dalam mendapatkan nutrisi, sementara nutrisi dalam limbah sangat terbatas sehingga dapat menyebabkan kematian pada bakteri. Pada kondisi kepadatan bakteri yang tinggi akan terjadi penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga beberapa sel mati dan mengalami penurunan jumlah sel secara eksponensial (Rachdie, 2006).

Adanya kandungan nutrisi yang cukup dan seimbang dalam limbah cair disertai kondisi lingkungan yang sesuai, dapat menjadikan air limbah sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme tertentu. Dalam kondisi demikian,

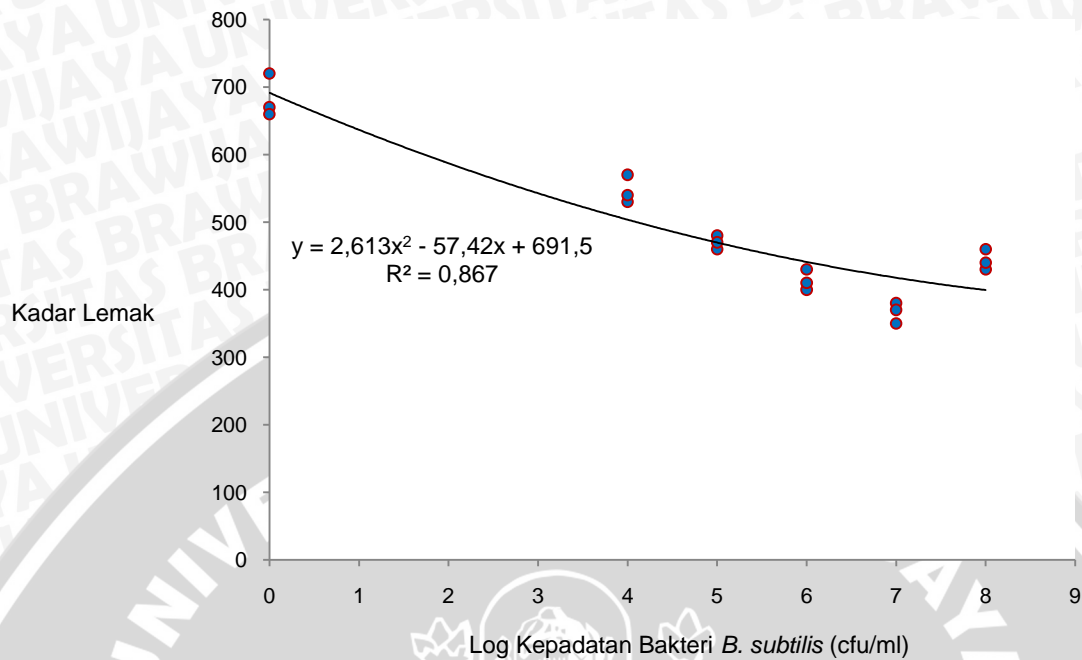
mikroorganisme akan mendegradasi bahan-bahan organik dan anorganik dalam limbah cair melalui metabolisme sel dan metabolisme energi (Damayanthie, 2000 dalam Husin, 2008).

Selain karena persaingan nutrisi, penurunan kemampuan dalam mendegradasi lemak ini dapat disebabkan karena bakteri *B. subtilis* menghasilkan suatu zat antibiotik. Scetzer (2006) dalam Fajriana (2008) mengemukakan bahwa *B. subtilis* mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel. Menurut Andra (2010), *B. subtilis* menghasilkan antibiotik yang disebut basitrasin. Antibiotik ini mampu membunuh sel bakteri (bakteriosidal) gram positif dan *Neisseria*. Basitrasin tidak aktif terhadap kuman gram negatif lainnya dan beberapa strain *Staphylococcus*.

Selain basitrasin, *B. subtilis* juga menghasilkan antibiotik lainnya yaitu iturin. Iturin membantu *B. subtilis* berkompetisi dengan mikroorganisme lainnya dengan cara membunuh atau menurunkan tingkat pertumbuhannya. Iturin juga memiliki aktivitas fungisida terhadap patogen (Buchanan, 1975 dalam Naibaho, 2011).

Dalam penelitian ini, bakteri *B. subtilis* dapat dikembangkan menjadi agen bioremediasi (biodegradasi) untuk mengurangi atau bahkan menghilangkan kandungan bahan organik berbahaya (lipid/lemak).

Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan kepadatan bakteri *B. subtilis* dengan hasil degradasi kadar lemak yang terkandung dalam limbah cair tambak maka digunakan analisis regresi (Gambar 7).



Gambar 7. Grafik Hubungan Kepadatan Bakteri *B. subtilis* dengan Kadar Lemak dalam Limbah Cair Tambak

Perhitungan analisa regresi yang didapatkan berupa garis yang berpola kuadratik dengan persamaan $y = 2,613x^2 - 57,42x + 691,5$ dan $R^2 = 0,867$. Dalam analisa regresi, terdapat dua koefisien yang biasa digunakan yaitu determinansi (R^2) dan korelasi (r).

Koefisien determinansi menunjukkan ukuran proporsi keragaman total nilai peubah Y yang dapat dijelaskan oleh nilai peubah X melalui hubungan kuadratik. Pada penelitian ini koefisien determinansi yang didapatkan yaitu (R^2) = 0,867 artinya 86,7 % kadar lemak yang dihasilkan dipengaruhi oleh kepadatan bakteri *B. subtilis* yang diberikan. Koefisien korelasi menunjukkan hubungan kuadratik peubah X dan Y dengan kisaran nilai r (korelasi) antara (-1) sampai (+1). Pada penelitian ini, didapatkan koefisien korelasi sebesar 0,931 (mendekati 1) yang artinya kepadatan bakteri *B. subtilis* dan kadar lemak yang dihasilkan memiliki korelasi yang cukup tinggi (Gunarto, 2008 dalam Mariyanti, 2010).

4.5 Hasil Pengukuran Kualitas Air

4.5.1 Suhu

Pengukuran suhu ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan dengan menggunakan termometer. Hasil pengukuran suhu dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Suhu (°C)

Kepadatan Bakteri	Ulangan			Rata-rata±SD
	1	2	3	
A = 0	26	25	25	25,3±0,577
B = 10 ⁴	25	25	26	25,3±0,577
C = 10 ⁵	26	26	26	26±0
D = 10 ⁶	25	26	26	25,6±0,577
E = 10 ⁷	26	26	26	26±0
F = 10 ⁸	26	26	25	25,6±0,577

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa suhu pada sampel limbah cair tambak udang berkisar antara 25 - 26°C dengan nilai rata-rata 25,3°C, 25,6°C dan 26°C. Suhu dengan nilai rata-rata tertinggi adalah pada perlakuan C (kepadatan 10⁵ cfu/ml) dan perlakuan E (kepadatan 10⁷ cfu/ml). Akan tetapi secara keseluruhan tidak ada nilai suhu yang perbedaannya signifikan dan hanya berselisih 1°C. Menurut Junaidi (2010), bakteri *B. subtilis* tumbuh di berbagai *mesophilic* suhu berkisar 25 - 35°C. Dengan demikian, suhu media pertumbuhan bakteri *B. subtilis* (limbah tambak udang) pada penelitian ini merupakan kisaran suhu yang mampu ditoleransi oleh *B. subtilis*. Dalam budidaya udang vaname di tambak, pada umumnya, nafsu makan udang normal pada suhu air antara 24 - 31°C (Soetrisno, 2010).

Suhu sangat berkaitan erat dengan konsentrasi oksigen terlarut dalam air dan konsumsi oksigen hewan air. Suhu berbanding terbalik dengan konsentrasi

jenus oksigen terlarut, tetapi berbanding lurus dengan laju konsumsi oksigen hewan air dan laju reaksi kimia dalam air (Kordi, 2010).

4.5.2 Oksigen Terlarut/*Dissolved Oxygen* (DO)

Kandungan oksigen terlarut di perairan dapat diukur nilainya dengan menggunakan alat DO meter. Pengukuran kandungan oksigen terlarut dalam limbah cair tambak udang yang telah ditambahkan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan yang berbeda ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Adapun hasil pengukuran oksigen terlarut dalam limbah tambak dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini.

Tabel 5. Hasil Pengukuran DO (ppm)

Kepadatan Bakteri	Ulangan			Rata-rata±SD
	1	2	3	
A = 0	1,0	0,8	1,3	1,03±0,252
B = 10 ⁴	0,9	0,9	1,2	1,03±0,173
C = 10 ⁵	0,9	1,1	0,8	0,93±0,153
D = 10 ⁶	0,8	0,9	0,8	0,83±0,058
E = 10 ⁷	0,9	0,9	0,8	0,86±0,058
F = 10 ⁸	0,8	0,9	0,8	0,83±0,058

Berdasarkan data hasil penelitian di atas dapat dilihat bahwa kisaran nilai DO (*Dissolved Oxygen*) antara 0,8 - 1,3 ppm. Nilai DO rata-rata terendah terdapat pada perlakuan dengan penambahan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan 10⁶ cfu/ml dan kepadatan 10⁸ cfu/ml yaitu 0,83 ppm. Sementara nilai DO rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan dengan kepadatan bakteri *B. subtilis* 0 cfu/ml dan kepadatan 10⁴ cfu/ml yaitu 1,03 ppm. Kandungan oksigen dalam limbah cair tambak udang ini tidak berpengaruh besar terhadap daya degradasi bakteri *B. subtilis* terhadap kadar lemak. Hal ini dapat menunjukkan

bahwa bakteri *B. subtilis* mampu mendegradasi/menguraikan lemak dalam kondisi oksigen yang rendah.

Nilai DO yang rendah tersebut dikarenakan sampel limbah cair tambak udang diambil dari air dekat dasar perairan. Dari hasil pengujian, terjadi penurunan kandungan DO pada limbah cair setelah ditambahkan *B. subtilis*. Seperti yang terlihat pada Tabel 5, nilai hasil pengukuran DO sangat variatif untuk masing-masing perlakuan dan ulangan. Hal ini menunjukkan bahwa *B. subtilis* menggunakan oksigen untuk kehidupannya, namun bakteri ini mampu bertahan pada kondisi lingkungan dengan kandungan oksigen yang rendah. Hal tersebut dikarenakan bakteri *B. subtilis* termasuk ke dalam bakteri anaerobik fakultatif yang membentuk spora (Prayogo, 2009).

Oksigen memegang peranan yang kritis dalam sistem penanganan biologik karena bila oksigen bertindak sebagai aseptor hidrogen akhir, mikroorganisme akan memperoleh energi maksimum. Untuk mempertahankan sistem aerobik diperlukan konsentrasi oksigen terlarut minimum antara 0,2 dan 0,6 mg/l (Jenie dan Rahayu, 1993 dalam Kurniawan, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu bertahan dan dapat menurunkan kadar lemak meskipun hidup pada kondisi lingkungan dengan kandungan oksigen yang cukup rendah, bahkan mendekati nilai DO pada limbah mendekati nilai DO minimum.

Jumlah oksigen yang diperlukan bakteri dalam penguraian bahan organik di dalam lumpur tergantung dari konsentrasi dan banyaknya bahan organik yang terdapat pada dasar tambak/kolam. Pada tambak-tambak skala semiintensif dan intensif, pemakaian oksigen oleh bakteri kerap kali melampaui jumlah yang diperlukan oleh udang (Kordi, 2010).

4.5.3 Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pengukuran pH ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan. Hasil pengukuran pH dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengukuran pH

Kepadatan Bakteri	Ulangan			Rata-rata±SD
	1	2	3	
A = 0	7,22	7,30	7,35	7,29±0,065
B = 10 ⁴	7,28	7,29	7,33	7,30±0,026
C = 10 ⁵	7,37	7,23	7,32	7,30±0,070
D = 10 ⁶	7,32	7,29	7,38	7,33±0,046
E = 10 ⁷	7,32	7,35	7,42	7,36±0,051
F = 10 ⁸	7,33	7,30	7,40	7,34±0,051

Berdasarkan data tabel di atas menunjukkan bahwa kadar pH pada sampel limbah cair tambak berkisar antara 7,22 - 7,42. Nilai pH terendah terdapat pada kontrol ulangan 1 yaitu 7,22, sedangkan nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan E (kepadatan 10⁷ cfu/ml) yaitu 7,42. Nilai pH optimal bagi pertumbuhan bakteri *B. subtilis* yaitu pada kisaran pH netral yaitu 7 - 8 (Graumann, 2007 dalam Naibaho, 2011). Hasil pengujian pH menunjukkan bahwa nilai pH pada limbah cair tambak masih termasuk ke dalam pH optimum untuk pertumbuhan bakteri, termasuk *B. subtilis*.

Dari hasil pengukuran nilai pH pada media limbah cair tambak udang tidak terjadi perubahan nilai pH yang begitu besar. Nilai pH masih dalam kisaran pH netral, yaitu 7. Budiyanto (2010) mengemukakan, pergeseran pH yang besar dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

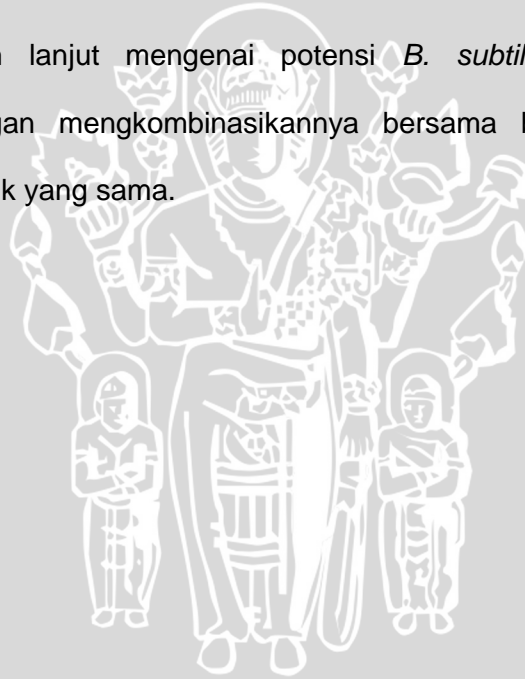
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan pembahasan dengan beberapa literatur, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri *B. subtilis* memiliki potensi biodegradasi terhadap lipid/lemak karena mampu menurunkan kandungan lipid/lemak yang terdapat dalam limbah cair tambak udang.
2. Perlakuan terbaik dalam penelitian ini adalah penambahan bakteri *B. subtilis* dengan kepadatan 10^7 cfu/ml yang mampu menurunkan kandungan lipid/lemak dalam limbah cair tambak udang paling tinggi. Kepadatan ini merupakan kepadatan optimum bakteri yang mampu menghasilkan kadar lipid/lemak dalam limbah tambak paling sedikit.
3. Kadar lipid/lemak yang terkandung pada kepadatan 0 cfu/ml yaitu 683,33 ppm; kepadatan 10^4 cfu/ml yaitu 546,67 ppm; kepadatan 10^5 cfu/ml 470 ppm; kepadatan 10^6 cfu/ml yaitu 413,33 ppm; kepadatan 10^7 cfu/ml yaitu 366,67 ppm; dan kepadatan 10^8 cfu/ml yaitu 443,33 ppm.
4. Hasil pengukuran kualitas air didapatkan nilai suhu antara 25 - 26°C; oksigen terlarut antara 0,8 - 1,3 ppm; dan pH antara 7,22 - 7,42. Data tersebut menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu bertahan hidup dan mendegradasi kandungan lipid/lemak dalam lingkungan yang memiliki nilai oksigen terlarut yang rendah.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan beberapa saran antara lain:

1. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid/lemak yang berasal dari limbah padat hasil budidaya udang.
2. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai potensi bakteri *B. subtilis* dalam mendegradasi lipid/lemak yang berasal dari limbah hasil budidaya lainnya.
3. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai pengaruh biodegradasi lipid/lemak oleh bakteri *B. subtilis* terhadap parameter kualitas air yang lain seperti ammonia, H₂S, dan nitrit.
4. Perlu diteliti lebih lanjut mengenai potensi *B. subtilis* sebagai agen biodegradasi dengan mengombinasikannya bersama bakteri lain yang memiliki karakteristik yang sama.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1997. **Bacillus subtilis Final Risk Assessment**. http://epa.gov/biotech_rule/pubs/fra/fra009.htm. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Abdullah, S. 2010. **Pengolahan Limbah Secara Biologis**. <http://sugengzend.blogspot.com/>. Diakses tanggal 24 Februari 2011.
- Abidin, M. Z. 2010. **Pengertian dan Pengelompokan Limbah Lingkungan**. <http://meetabied.wordpress.com/2010/01/pengertian-dan-pengelompokan-limbah-lingkungan-2/#more-1828>. Diakses tanggal 7 November 2010.
- Afrianto. 2009. **Penanganan Limbah Hasil Perikanan Secara Mikrobiologis**. <http://eafrianto.wordpress.com/2009/12/10/penanganan-limbah-hasil-perikanan-secara-biologis/>. Diakses tanggal 7 November 2010.
- Ali, I. 2008. **Pertumbuhan Bakteri dan Suhu**. <http://iqbalali.com/2008/04/21/pertumbuhan-bakteri-dan-suhu/>. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Andra. 2010. **Basitrasin**. <http://zoneandra-hidingplace.blogspot.com/2010/11/v-behaviorurldefaultvmlo.html>. Diakses 9 April 2011 pukul 13.15 WIB.
- Anhakim. 2007. **Potensi Pasar Budidaya Udang Versus Limbah Industri**. <http://anhakim.wordpress.com/2007/06/19/potensi-pasar-budidaya-udang-versus-limbah-industri/>. Diakses tanggal 7 November 2010.
- Budiyanto, A. K. 2010. **Faktor Lingkungan yang Mempengaruhi Mikroba**. <http://zaifbio.wordpress.com/2010/11/08/faktor-lingkungan-yang-mempengaruhi-mikroba/>. Diakses tanggal 22 Februari 2011 pukul 15.00 WIB.
- Darmayasa, I. B. G. 2008. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) Pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah dan Estuari Dam Denpasar**. Jurnal Bumi Lestari, Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Udayana. Vol. 8 No. 2. Hal. 122-127.
- Dwijoseputro, D. 1989. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 206 hal.
- Fahmi, F. 2005. **Integrated Multi-Trophic Aquaculture for Bioremediation of pond waters**. <http://images.notkeju.multiply.com/attachment/0/SHvqAQoKCB8AACZ2Se81/Aplikasi%20Bioremidiasi%20Pada%20Aquaculture.pdf?nmid=105700003>. Diakses tanggal 7 November 2010.

- Fahmi, R. 2008. **Bioremediation**. <http://gomu-gomu.blog.com/2008/07/14/bioremediation/>. Diakses tanggal 24 Februari 2011.
- Fajriana, R. 2008. **Mikroum Pewarnaan Gram**. <http://qi206.wordpress.com/2008/10/17/mikroumpewarnaan-gram/>. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut**. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. 283 hal.
- Fauzi, S. 2009. **Faktor-faktor Yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri**. <http://syariffauzi.wordpress.com/tag/faktor-faktor-yang-mempengaruhi-pertumbuhan-bakteri/>. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Hariani, G.D. 2009. **Potensi Bakteri Amilolitik Indigenous Mangrove Terhadap Dekomposisi Limbah Tambak Udang**. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 50 hal. Tidak dipublikasikan.
- Herdiantoro, D. 2005. **Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Oleh *Bacillus* sp. Galur ICBB 7859 dan ICBB 7865 dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah dengan Penambahan Surfaktan**. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. 87 hal. Tidak dipublikasikan.
- Heru, G. 2010. **Makalah Lipid**. <http://www.scribd.com/doc/7674101/Makalah-Lipid>. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Hidayat, N. 2010. **Lipida dalam Limbah**. <http://nurhidayat.lecture.ub.ac.id/2010/07/lipida-dalam-limbah/>. Diakses tanggal 24 Februari 2011.
- Husin, A. 2008. **Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu dengan Biofiltrasi Anaerob dalam Reaktor *Fixed – Bed***. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara. Medan. 115 hal. Tidak dipublikasikan.
- Isdarmawan, N. 2005. **Kajian Tentang Pengaruh Luas dan Waktu Bagi Degradasi Limbah Tambak dalam Upaya Pengembangan Tambak Berwawasan Lingkungan di Kecamatan Wonokerto Kabupaten Pekalongan**. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro. Semarang. 111 hal. Tidak dipublikasikan.
- Junaidi, W. 2010. **Makalah Tentang Pewarnaan Gram atau Pengecatan Bakteri - Makalah Biologi**. <http://wawan-junaidi.blogspot.com/2010/02/makalah-tentang-pewarnaan-gram-atau.html>. Diakses tanggal 6 November 2010.

- King. 2009. **Metabolisme Bakteri**. <http://dnabio71metabolisme.blogspot.com/2009/08/metabolisme-bakteri.html>. Diakses tanggal 24 Februari 2011.
- Kordi, K. M. G. H. 2010. **Pakan Udang**. Akademika. Jakarta. 223 hal.
- Kurniawan, R. 2010. **Pengaruh Penambahan Bakteri *Pseudomonas putida* Secara Aerob Terhadap Kadar Lemak Dalam Limbah Cair Pembekuan Ikan**. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang. 47 hal. Tidak dipublikasikan.
- Kurniawan, R. A. 2008. **Fase Pertumbuhan Bakteri**. http://chemicalzone.blogspot.com/2008/06/fase-pertumbuhan-bakteri_18.html. Diakses tanggal 7 November 2010.
- Mariyanti, L. 2010. **Potensi Antagonistik *Extracellular Product (ECP) Vibrio alginolyticus* Terhadap *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro***. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 50 hal. Tidak dipublikasikan.
- Muhammad, F. 2010. **Rencana Strategis Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2010-2014**. <http://www.dkp.go.id>. Diakses tanggal 6 November 2010.
- Naibaho, P. 2011. ***Bacillus subtilis***. <http://pobersonaibaho.wordpress.com/2011/03/08/daphnia-sp-klasifikasi-morfologi-reproduksi-bacillus-subtilis-bakteri-nitrifikasi-sistem-kultur-zooplankton-parameter-kualitas-air/>. Diakses 9 April 2010 pukul 13.00 WIB.
- Nazir, M. 2005. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia Cetakan 6. Bogor. 544 hal.
- Prasasty, V. D. 2010. **Olah Limbah Cair dengan Teknik Biologi**. <http://bataviase.co.id/node/82969>. Diakses tanggal 25 Februari 2011.
- Prayogo. 2009. **Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Bahan Organik Pada Pembenihan Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp*) Sistem Resirkulasi Tertutup**. Tesis. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 89 hal. Tidak dipublikasikan.
- Rachdie. 2006. **Prinsip Pertumbuhan Bakteri**. <http://rachdie.blogsome.com/2006/10/14/prinsip-pertumbuhan-bakteri/>. Diakses tanggal 25 Februari 2011.
- Rudi. 2010. **Bakteri Gram dan Pewarnaannya**. <http://rudiregobiz.wordpress.com/bakteri-gram-dan-pewarnaannya-2/>. Diakses tanggal 25 Februari 2011.

Shofyan, M. 2010. **Lipid**. <http://forum.upi.edu/v3/index.php?topic=15636.0>. Diakses tanggal 6 November 2010.

Singh, M., K. Saurav, N. Srivastava, K. Kannabiran, 2010. **Lipase Production by Bacillus subtilis OCR-4 in Solid State Fermentation Using Ground Nut Oil Cakes as Substrate**. Current Research Journal of Biological Sciences 2(4): 241-245.

Soetrisno, F. R. 2010. **Kualitas Air Tambak**. <http://fadlysutrisno.wordpress.com/2010/07/20/kualitas-air-tambak/>. Diakses tanggal 24 Februari 2011.

Supono. 2008. **Analisis Diatom Epipellic Sebagai Indikator Kualitas Lingkungan Tambak Untuk Budidaya Udang**. Tesis. Program Studi Magister Manajemen Sumberdaya Pantai. Universitas Diponegoro. Semarang. 95 hal. Tidak dipublikasikan.

Supono. 2009. **Limbah Organik Aquaculture Waste**. <http://blog.unila.ac.id/supono/files/2009/09/aquaculture-waste.pdf>. Diakses tanggal 20 Februari 2011.

Suriawiria, U. 1993. **Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan secara Biologis**. Penerbit Alumni. Bandung. 329 hal.

Susanti, E. V. H. 2003. **Isolasi dan Karakterisasi Protease dari Bacillus subtilis 1012M15**. Jurnal Biodiversitas FKIP Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Volume 4 nomor 1. Hal 12-17.

Suyasa, I. W. B. 2007. **Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/Lemak Dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampungan Limbah**. Jurnal. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. 6 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan dalam Penelitian



Nutrient Broth



Nutrient Agar



Kompor Listrik



Vortex



Desikator



Falcon 10 ml

Lampiran 1. (Lanjutan)



Peralatan pengujian kadar lemak



Oven



Inkubator



Penangas air



Gelas ukur



Waterbath Shaker

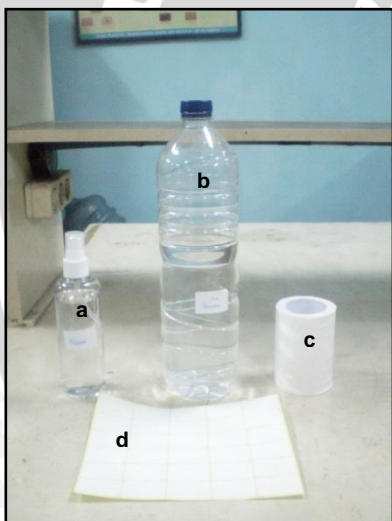
Lampiran 1. (Lanjutan)



Autoklaf



Sampel limbah cair



- a. Alkohol
- b. Akuades
- c. *Tissue*
- d. Kertas label



Timbangan analitik

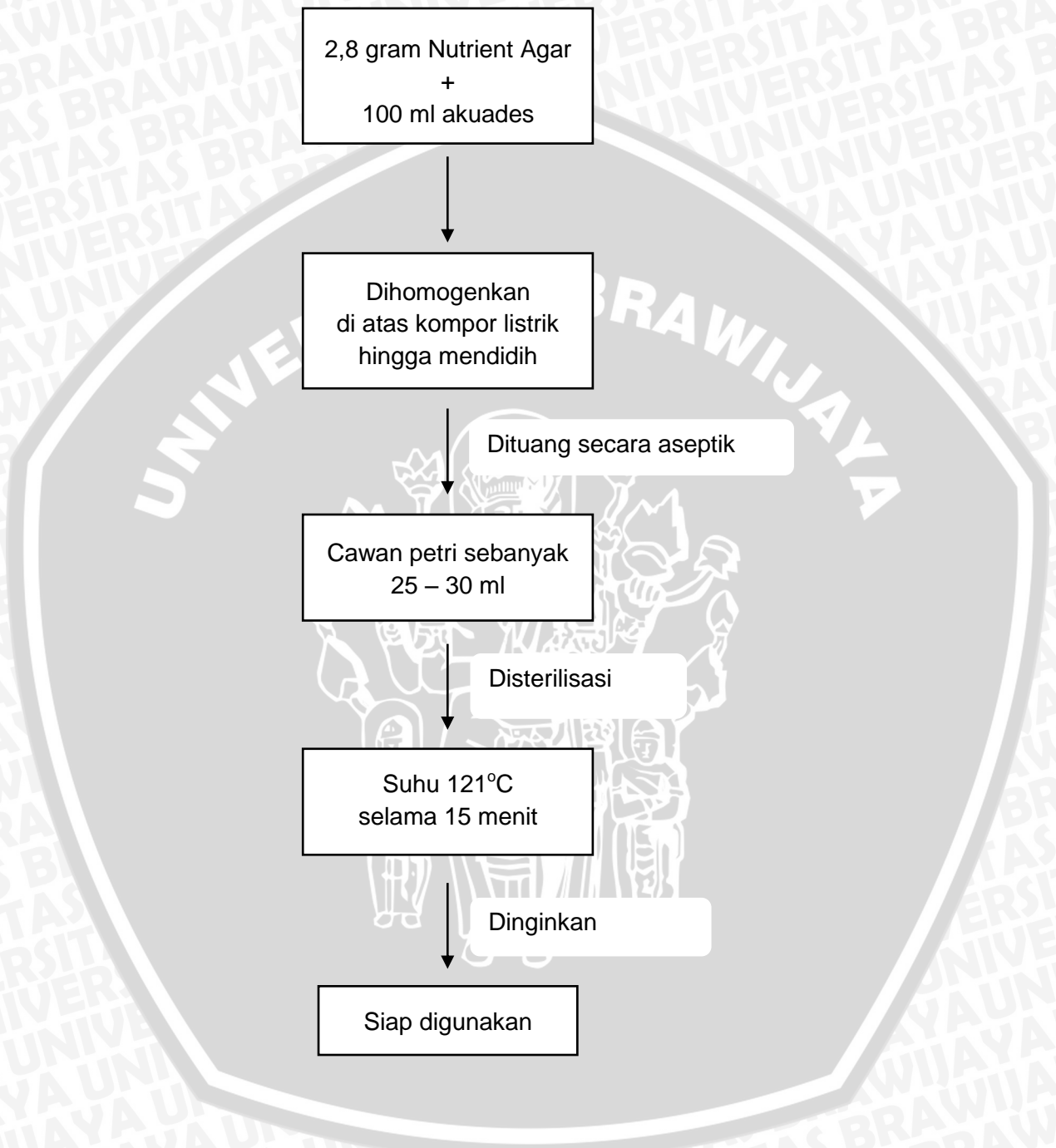


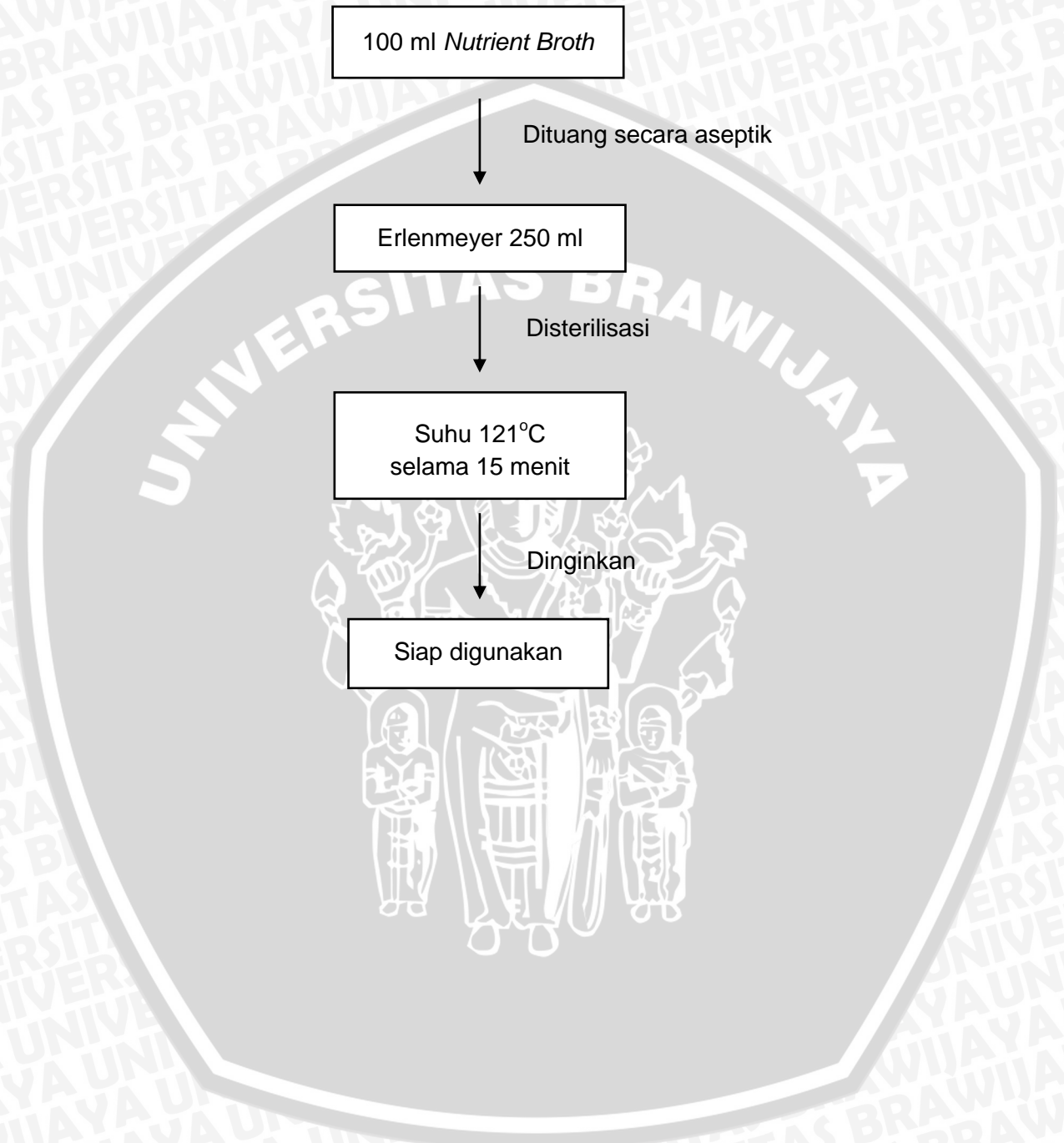
Lampiran 2. Komposisi Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB)**a. Nutrient Agar (NA)**

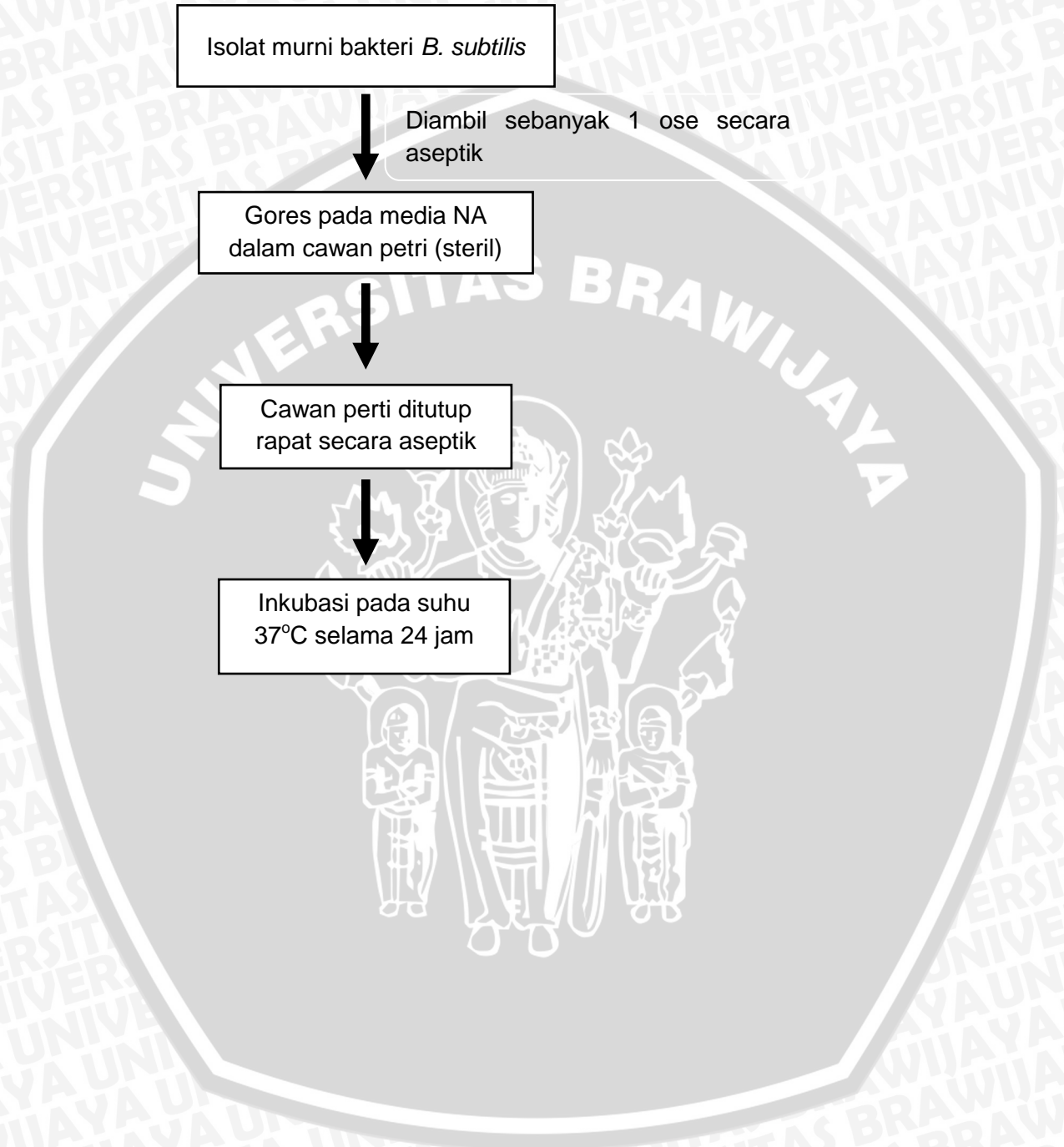
Nama Bahan	Jumlah
Ekstrak daging sapi	3 gram
Pepton	5 gram
Agar	15 gram
Air	1.000 ml

b. Nutrient Broth (NB)

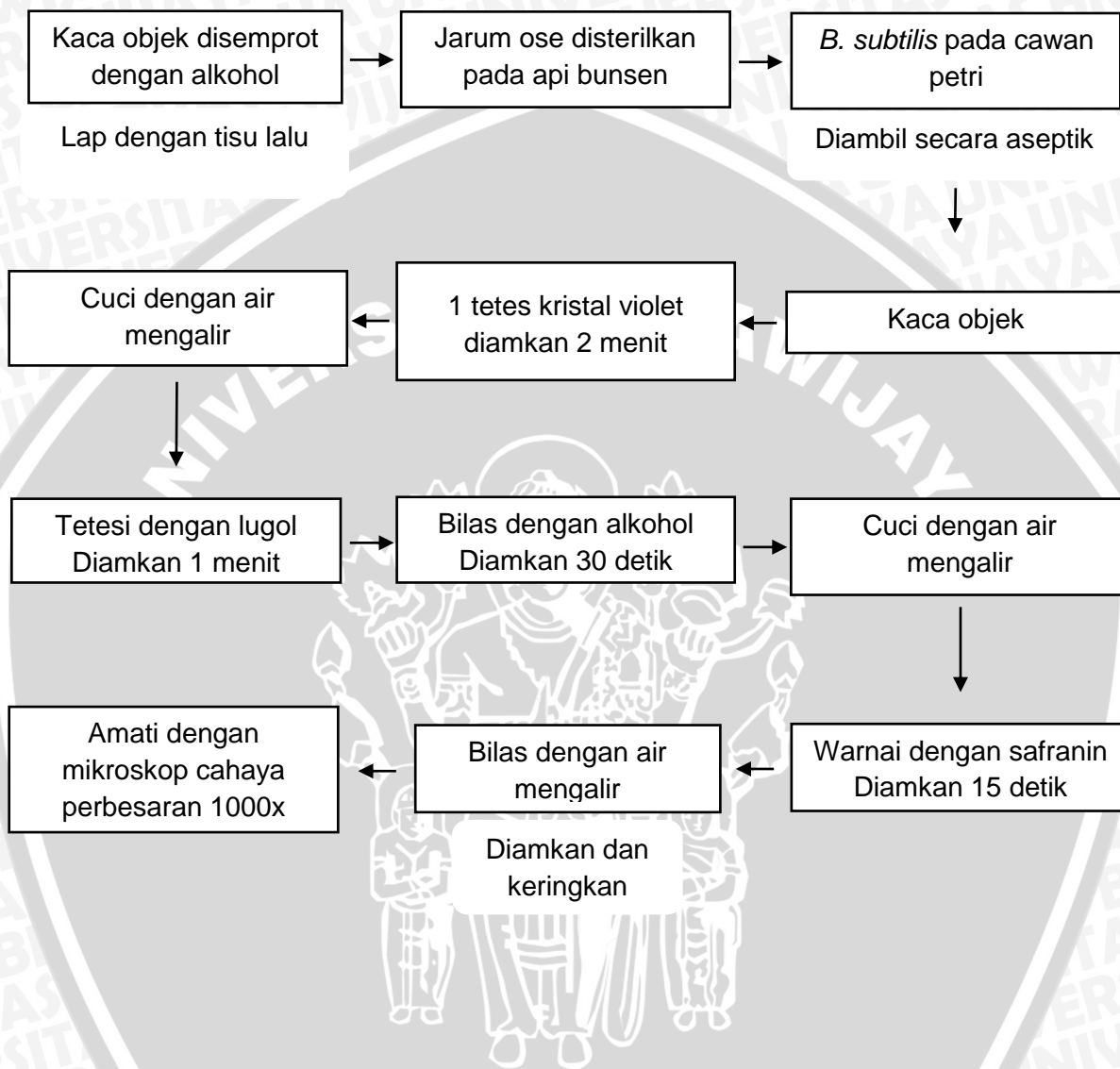
Nama Bahan	Jumlah
Ekstrak daging sapi	3 gram
Pepton	5 gram
Air	1.000 ml

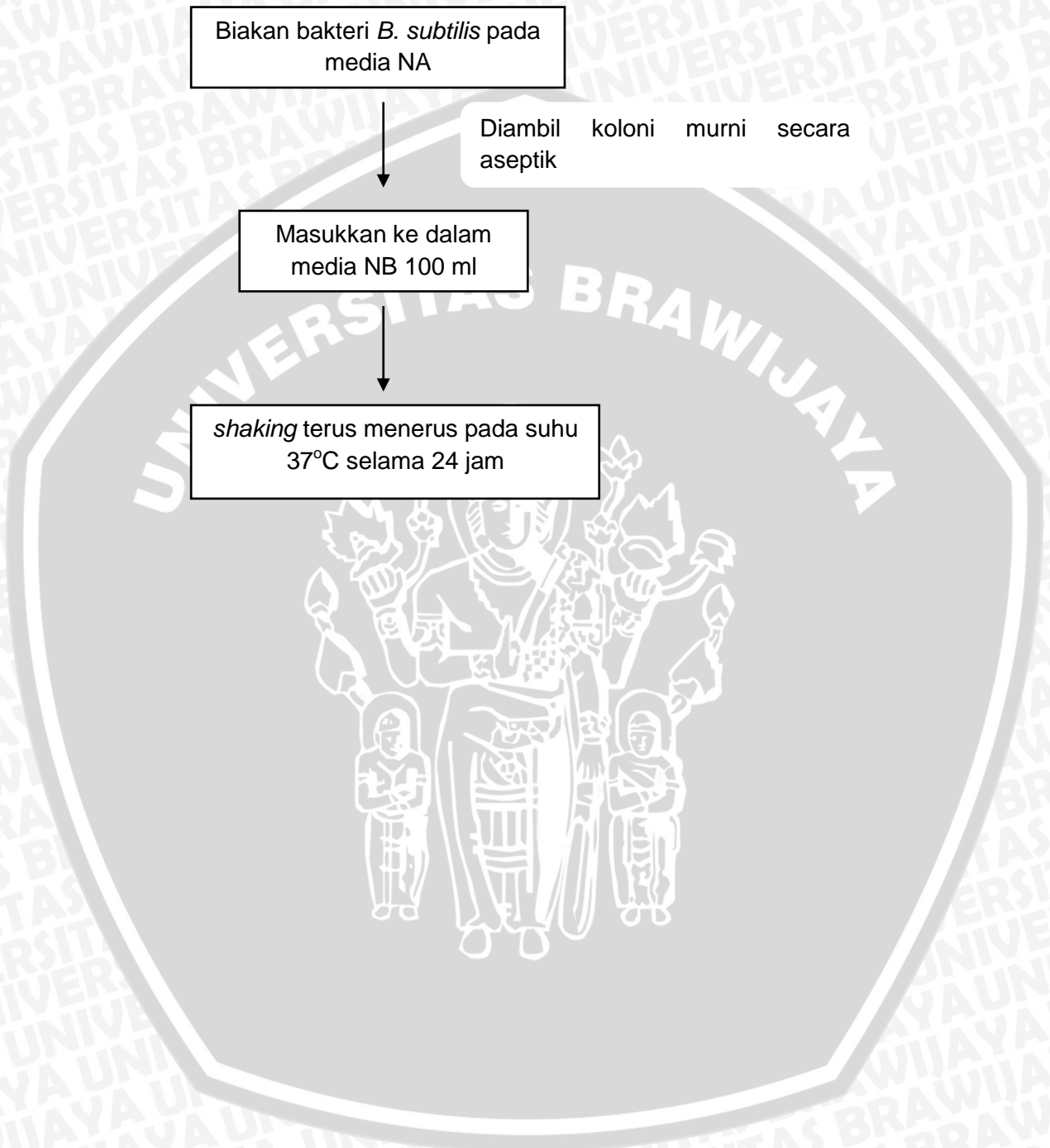
Lampiran 3. Skema Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Lampiran 4. Skema Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

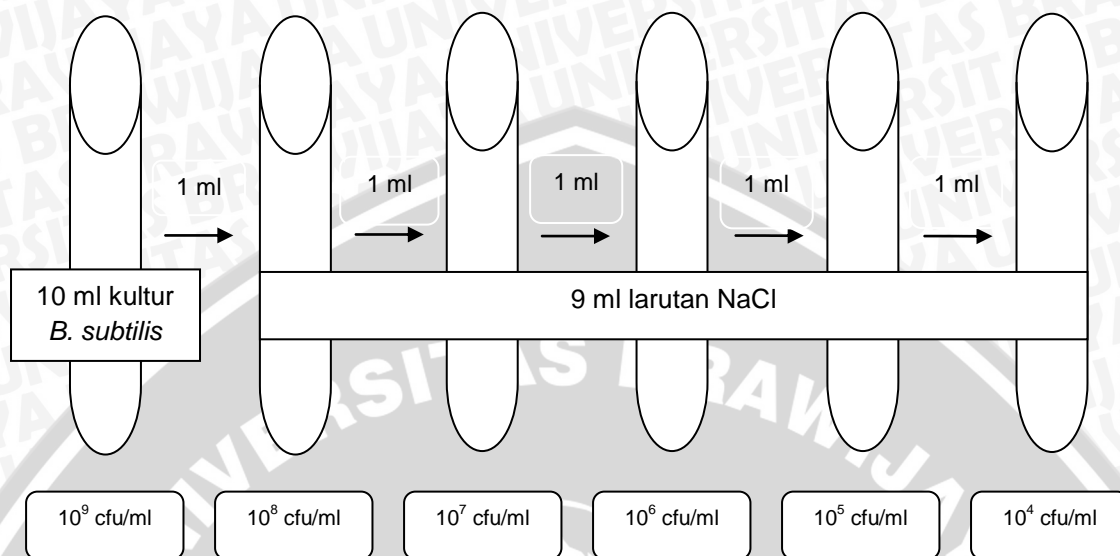
Lampiran 5. Skema Pembuatan Biakan Bakteri *B. subtilis*

Lampiran 6. Skema Pewarnaan Gram Bakteri *B. subtilis*



Lampiran 7. Skema Perbanyakan Bakteri *B. subtilis*

Lampiran 8. Pengenceran Bakteri *B. subtilis*



Lampiran 9. Hasil Identifikasi Bakteri *B. subtilis*



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 : Sisca
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
Test Result

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

CATATAN
Note

Hasil uji ini berlaku untuk sampel yang diuji
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





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

NO SAMPEL : 78
KODE SAMPEL : IB/78
JENIS SAMPEL : Padatan
PENGIRIM : Sdr. Sisca Mahasiswa perikananUB
TGL ANALISA : 20/04/2011
PARAMETER : Identifikasi Bakteri
HASIL : Hasil Identifikasi Bakteri

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	POSITIF
FERMENT GULA-GULA	
Glukosa	POSITIF
Xylosa	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>

Lampiran 10. Perhitungan Data Hasil Pengujian Kemampuan Degradasi Bakteri *B. subtilis* terhadap Kandungan Lemak dalam Limbah Cair Tambak Udang

Perlakuan	Ulangan (ppm)			Total (ppm)	Rata-rata± SD (ppm)
	1	2	3		
A = 0 cfu/ml	670	720	660	2.050	683,33±32,14
B = 10 ⁴ cfu/ml	530	540	570	1.640	546,67±20,82
C = 10 ⁵ cfu/ml	480	460	470	1.410	470±10
D = 10 ⁶ cfu/ml	430	400	410	1.240	413,33±15,27
E = 10 ⁷ cfu/ml	380	350	370	1.100	366,67±15,27
F = 10 ⁸ cfu/ml	460	430	440	1.330	443,33±15,27
Jumlah				8.770	-

Perhitungan:

$$\begin{aligned} \Rightarrow FK &= \frac{G^2}{n} \\ &= \frac{8.770^2}{18} \\ &= 4.272.938,9 \\ \Rightarrow JK_{\text{total}} &= (A1)^2 + (A2)^2 + \dots + (F3)^2 - FK \\ &= (670)^2 + (720)^2 + \dots + (440)^2 - 4.272.938,9 \\ &= 197.161,11 \\ \Rightarrow JK_{\text{perlakuan}} &= \frac{(\Sigma A)^2 + (\Sigma B)^2 + \dots + (\Sigma F)^2}{3} - FK \\ &= \frac{2.050^2 + 1.640^2 + \dots + 1.330^2}{3} - 4.272.938,9 \\ &= 192.627,78 \\ \Rightarrow JK_{\text{acak}} &= JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}} \\ &= 197.161,11 - 192.627,78 \\ &= 4.533,33 \end{aligned}$$

Lampiran 10. (Lanjutan)

Analisa keragaman/sidik ragam kemampuan degradasi bakteri *B. subtilis* terhadap kandungan lemak dalam limbah cair tambak udang

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	5	192.627,78	38.525,56	101,98**	3,11	5,06
Acak	12	4.533,33	377,78	-	-	-
Total	17	197.161,11	-	-	-	-

⇒ Karena $F \text{ hitung} > F \text{ 1\%}$ atau $101,98 > 5,06 \rightarrow **$ atau berbeda sangat nyata (*highly significant*). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan uji BNT :

- SED = $\sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 $= \sqrt{\frac{2 \times 377,78}{3}}$
 $= 15,86$

- BNT 5% = $t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED}$
 $= 2,179 \times 15,86$
 $= 34,559$

- BNT 1% = $t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED}$
 $= 3,055 \times 15,86$
 $= 48,452$

Lampiran 10. (Lanjutan)

Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) kemampuan degradasi bakteri *B. subtilis* terhadap kandungan lemak dalam limbah cair tambak udang

Rata-rata Perlakuan	A = 683,33	B = 546,67	C = 470	F = 443,33	D = 413,33	E = 366,67	Notasi
A = 683,33	-	-	-	-	-	-	a
B = 546,67	136,66**	-	-	-	-	-	b
C = 470	213,33**	76,67**	-	-	-	-	c
F = 443,33	240**	103,34**	26,67 ^{ns}	-	-	-	cd
D = 413,33	270**	133,34**	56,67**	30 ^{ns}	-	-	d
E = 366,67	316,66**	180**	103,33**	76,66**	46,66*	-	e

⇒ Urutan perlakuan terbaik adalah E → D → F → C → B → A, karena perlakuan yang optimum menurunkan kadar lemak dalam limbah cair tambak udang yaitu perlakuan E (10^7 cfu/ml).

