



LAPORAN PENELITIAN DOSEN PROGRAM STUDI

**PENGARUH PENAMBAHAN MOLASE (*Tetes Tebu*) PADA  
PERTUMBUHAN KOLONI BAKTERI BACILLUS SP DI  
MEDIA AGAR TSA (*Tryptone Soya Agar*)**

PENELITI :

**Ir. NURUL HAYATI, M.KES.  
NIDN : 0711086201**

**PENELITIAN MANDIRI**

**FAKULTAS PERTANIAN JURUSAN PERIKANAN  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
UNIVERSITAS Dr. SOETOMO  
SURABAYA  
2019**

**PENCARIH PENEMBAHAN MOLASE (*Saccharum*) PADA  
PERTUMBUHAN KOLONI BAKTERI *Bacillus sp* DI MEDIA AGAR TSA  
(*Trypan Blue Agar*)**

**Kesimpulan**

Bakteri adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membran sel sel. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan mengetahui daya absorpsi pertumbuhan medium *Saccharum* terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* pada media TSA, serta untuk mengetahui daya efektif penambahan molase *Saccharum* penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas De Sastrana Surabaya. Penelitian dilakukan pada suhu dan pH. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Data pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* & analisis menggunakan uji analisis keragaman (ANOVA) dan uji  $t$ . Hasil perhitungan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan dosis 1 liter (perlakuan A) ditemukan sebanyak  $2,33 \pm 11^2$ , sedangkan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan dosis 10 liter (perlakuan B) ditemukan sebanyak  $2,77 \pm 11^2$  untuk perhitungan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan 1 liter (perlakuan C) ditemukan sebanyak  $2,22 \pm 11^2$ . Sedangkan hasil dari perhitungan berdasarkan Analisis Variasi Rataan (ANOVA) hasilnya non signifikan (tidak berpengaruh) artinya nilai  $F$  hitung lebih kecil, sehingga untuk lebih praktis dan lebih ekonomis dari segi biaya maka dosis yang lebih baik digunakan adalah perlakuan A untuk kultur Probiotik *Quick Pro Bio* (A162314).

## The Effect Of Addition Molasses (Cane Molasses) To The Growth Of Bacterial *Bacillus Sp* Colonies On TSA Agar (Tryptone Soya Agar)

### Abstrak

Bacteria is a group of organism that has no membrane cell nucleus. The purpose of the study is to test the power of the effectiveness of adding molasses to bacterial growth *Bacillus Sp* to the TSA media and to know the best dose addition of molasses to the growth of *Bacillus* colonies bacteria. The method that used in this study is experiment method. This study using 3 treatment and 8 times repetition the growth data of *Bacillus* colony bacteria analyzed using test analysis of F test. The result of the average growth of bacterial colonies with a dose of 5 liters (treatment A) is at  $2,61 \times 10^9$ . The result of the average growth of bacterial colonies with a dose of 10 liters (treatment B) is set at  $3,73 \times 10^9$ . For The result of the average growth of bacterial colonies 15 liters (treatment C) is set at  $4,9 \times 10^9$  while the result of the calculation based analysis prints (ANOVA) the result is non significant (not effect) this assessed F calculated  $< F$  table 5%. For more practical and economic for cost, so the better dose to used is treatment A for Probiotik Quick Pro culture From TAEKESHU.

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Bakteri adalah kelompok organisme yang tidak memiliki membran inti sel. Organisme ini termasuk ke dalam domain prokariot dan berukuran sangat kecil (mikroskopik), serta memiliki peran besar dalam kehidupan di bumi. Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan lebih tersebar luas dibandingkan makhluk hidup lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup didarat hingga lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim (Anonim,2011).

*Bacillus* sp. bersifat aerob sampai anaerob fakultatif, metabolisme dengan fermentasi dan respirasi. Isolat-isolat murni tersebut dipelihara dalam medium agar miring. *Bacillus* dibedakan dari anggota familia Bacillaceae lainnya berdasarkan sifat-sifatnya yaitu: keseluruhannya merupakan pembentuk spora, hidup pada kondisi aerob baik sebagai jasad yang sepenuhnya aerob maupun aerob fakultatif, selnya berbentuk batang, dan memproduksi katalase. *Bacillus* berbentuk bulat (coccus), memiliki permukaan yang halus dan mengkilap (Anonim, 2011).

Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya tumbuh dengan agak berjauhan dari sesamanya, juga memungkinkan setiap selnya berhimpun membentuk koloni, yaitu sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Bahan yang diinokulasikan pada medium disebut inokulum, dengan menginokulasi medium agar nutrisi (nutrien agar) dengan metode agar tuang atau media agar sebar, sel-sel mikroorganisme akan terpisah sendiri-sendiri. Setelah inkubasi, sel-sel mikroba individu memperbanyak diri secara cepat sehingga dalam waktu 18 sampai 24 jam terbentuklah massa sel yang dapat dilihat dan dinamakan koloni. Koloni dapat terlihat oleh mata telanjang. Setiap koloni merupakan biakan murni satu macam mikroorganisme (Pelczar dan Chan, 2007).

Suatu jenis koloni mikroba yang terpisah dari koloni campurannya akan lebih mudah untuk diamati. Selain itu teknik untuk memisahkan dan

mendapatkan koloni tunggal serta pemeliharannya terdapat beberapa jenis. Teknik-teknik tersebut memiliki kelebihan dan kelemahan. Beberapa cara dapat dilakukan untuk menentukan jumlah bakteri yang terdapat pada bahan pemeriksaan. Cara yang paling sering digunakan adalah cara penghitungan koloni pada lempeng pembiakan (plate count) atau juga dapat dilakukan penghitungan langsung secara mikroskopis (Burrows, 2004).

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan suatu hal yang penting untuk diketahui. Pengetahuan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sangat penting di dalam mengendalikan mikroba. Berikut ini faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba, suplai energi, Suhu/temperatur, keasaman atau kebasaaan (pH), ketersediaan oksigen (suriawiria, 2005)

Molase adalah sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang tidak dikristalkan lagi. Molase merupakan suatu bahan yang diperlukan untuk fermentasi dan mengurai untuk menghasilkan bakteri yang baik untuk budidaya ikan. Molase adalah merupakan sisa proses pengkristalan gula pasir. ber molase itu sendiri didapatkan dari 2 macam. Pertama dari tebu dan kedua dari bit. Dari kedua sumber tersebut akan didapatkan molase yang berbeda sifat dan pengolahannya.

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh molase pada pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus Sp.*

## 1.2. Perumusan Masalah

Molase (*Tetes Tebu*) diduga mampu meningkatkan proses pertumbuhan bakteri pada proses kultur probiotik. Berdasarkan informasi tersebut, maka rumusan masalah yang diambil sebagai berikut :

- a. Bagaimana efektifitas molase (*Tetes Tebu*) dengan dosis yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* pada media TSA ?
- b. Pada, dosis berapa molase (*Tetes Tebu*) dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus Sp* ?

mendapatkan koloni tunggal serta pemeliharannya terdapat beberapa jenis. Teknik-teknik tersebut memiliki kelebihan dan kelemahan. Beberapa cara dapat dilakukan untuk menentukan jumlah bakteri yang terdapat pada bahan pemeriksaan. Cara yang paling sering digunakan adalah cara penghitungan koloni pada lempeng pembiakan (plate count) atau juga dapat dilakukan penghitungan langsung secara mikroskopis (Burrows, 2004).

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan suatu hal yang penting untuk diketahui. Pengetahuan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sangat penting di dalam mengendalikan mikroba. Berikut ini faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba, suplai energi, Suhu/temperatur, keasaman atau kebasaan (pH), ketersediaan oksigen (suriawiria, 2005)

Molase adalah sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang tidak dikristalkan lagi. Molase merupakan suatu bahan yang diperlukan untuk fermentasi dan mengurai untuk menghasilkan bakteri yang baik untuk budidaya ikan. Molase adalah merupakan sisa proses pengkristalan gula pasir. ber molase itu sendiri didapatkan dari 2 macam. Pertama dari tebu dan kedua dari bit. Dari kedua sumber tersebut akan didapatkan molase yang berbeda sifat dan pengolahannya.

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh molase pada pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus Sp*.

## 1.2. Perumusan Masalah

Molase (*Tetes Tebu*) diduga mampu meningkatkan proses pertumbuhan bakteri pada proses kultur probiotik. Berdasarkan informasi tersebut, maka rumusan masalah yang diambil sebagai berikut :

- a. Bagaimana efektifitas molase (*Tetes Tebu*) dengan dosis yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* pada media TSA ?
- b. Pada dosis berapa molase (*Tetes Tebu*) dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus Sp* ?

### 1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya efektifitas penambahan molase (*Tetes Tebu*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* pada media TSA, serta untuk mengetahui dosis terbaik penambahan molase (*Tetes Tebu*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus Sp*.

#### 1.3.2. Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan informasi akan penggunaan serta dosis terbaik penambahan molase (*Tetes Tebu*) pada kultur probiotik yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* yang bisa dilihat dari perkembangan pertumbuhan koloni bakterinya setelah ditanam pada media TSA.

### 1.4. Hipotesis

$H_0$  : Penambahan molase (*Tetes Tebu*) dengan dosis berbeda berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* pada media TSA.

$H_1$  : Penambahan molase (*Tetes Tebu*) dengan dosis berbeda tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus Sp* pada media TSA.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

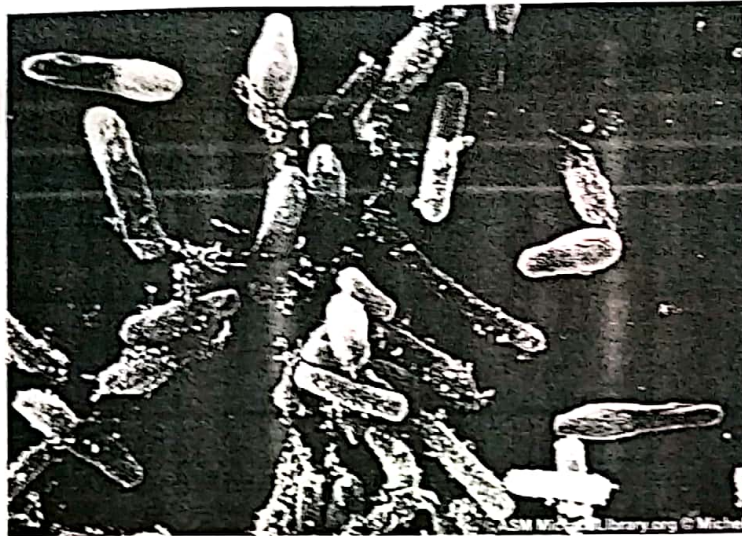
#### 2.1. Klasifikasi *Bacillus Sp*

*Bacillus Sp* merupakan bakteri gram-positif yang berbentuk batang, dan secara alami sering ditemukan di tanah dan vegetasi. *Bacillus subtilis* tumbuh di berbagai mesophilic suhu berkisar 25-35 derajat Celsius. *Bacillus subtilis* juga telah berevolusi sehingga dapat hidup walaupun di bawah kondisi keras dan lebih cepat mendapatkan perlindungan terhadap stres situasi seperti kondisi pH rendah (asam), bersifat alkali, osmosa, atau oxidative kondisi, dan panas atau etanol. Bakteri ini hanya memiliki satu molekul DNA yang berisi seperangkat set kromosom. DNANYA berukuran BP 4214814 (4,2 Mbp) (TIGR CMR). 4,100 kode gen protein. Beberapa keunggulan dari bakteri ini adalah mampu mensekresikan antibiotik dalam jumlah besar ke luar dari sel. (Pelczar dan Chan, 2008)

*Bacillus* secara alami terdapat dimana-mana, dan termasuk spesies yang hidup bebas atau bersifat patogen. Beberapa spesies *Bacillus* menghasilkan enzim ekstraseluler seperti *protease*, *lipase*, *amilase*, dan *selulase* yang bisa membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Wørukhamkul, 2007). Jenis *Bacillus* (*B. cereus*, *B. clausii* dan *B. pumilus*) termasuk dalam lima produk probiotik komersil terdiri dari spora bakteri yang telah dikarakterisasi dan berpotensi untuk kolonisasi, immunostimulasi, dan aktivitas antimikrobanya (Duc *et al.*, 2004), *bacillus sp* di klasifikasikan ke dalam :

Kingdom : Bakteri  
Filum : Firmicutes  
Kelas : Bacilli  
Order : Bacillales  
Famili : Bacillaceae  
Genus : Bacillus  
Spesies : *Bacillus subtilis*





Gambar 1. Bakteri *Bacillus Sp*

Sumber : <http://afiesh.blogspot.co.id/2012/11/bakteri-bacillus.html> (2016)

## 2.2. Kandungan dan Kegunaan Molase

Molase merupakan suatu bahan yang diperlukan untuk fermentasi dan mengurai untuk menghasilkan bakteri yang baik untuk budidaya ikan. Molase adalah merupakan sisa proses pengkristalan gula pasir. Sumber molase itu sendiri didapatkan dari 2 macam. Pertama dari tebu dan kedua dari bit. Dari kedua sumber tersebut akan didapatkan molase yang berbeda sifat dan pengolahannya.



Gambar 2. Molase (Tetes Tebu)

Sumber : <http://www.alamikan.com/2012/05/molasses-tetes-tebu.html> (2016)

Molase adalah sejenis sirup yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula pasir. Molase tidak dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang tidak dikristalkan lagi (Hiroshi, 2014)

Pada umumnya molase diolah lebih lanjut menjadi etanol. Caranya melalui proses fermentasi. Namun sebelum proses fermentasi tersebut dilaksanakan diperlukan treatment terhadap molase tersebut. Berikut uraian singkatnya. Molase dari tebu dapat dibedakan menjadi 3 jenis Kelas yaitu:

1. Molase kelas 1 didapatkan saat pertama kali jus tebu dikristalisasi. Saat dikristalisasi terdapat sisa jus yang tidak mengristal dan berwarna bening. Maka sisa jus ini langsung diambil sebagai molase kelas 1.
2. Kemudian molase kelas 2 atau biasa disebut dengan "Dark" diperoleh saat proses kristalisasi kedua. Warnanya agak kecoklatan sehingga sering disebut juga dengan istilah "Dark".
3. Dan molase kelas 3, Black Strap diperoleh dari kristalisasi terakhir. Warna black strap ini memang mendekati hitam (coklat tua) sehingga tidak salah jika diberi nama "Black Strap" sesuai dengan warnanya.

Black strap ternyata memiliki kandungan zat yang berguna. Zat-zat tersebut antara lain kalsium, magnesium, potasium, dan besi. Black strap memiliki kandungan kalori yang cukup tinggi, karena terdiri dari glukosa dan fruktosa. Berbagai vitamin terkandung pula di dalamnya.

Black strap digunakan untuk suplemen kesehatan, makanan ternak, dan berbagai industri lainnya. Sebelum dilakukan proses fermentasi untuk pembuatan etanol, molase tebu harus diberikan treatment agar proses fermentasi berlangsung dengan baik. Hal yang harus dilakukan adalah mensulfurisasi molase tersebut. Tujuannya agar molase menjadi bening. Kemudian campurkan air, ragi dan molase secara bersamaan lalu diaduk dalam sebuah tangki.

Molase dari bit berbeda dengan molase dari tebu. Yang disebut sebagai molase bit adalah sisa proses kristalisasi gula. Jadi tidak ada pengklasifikasian molase. Molase bit 50 % dari berat kering merupakan gula. Sebagian besar merupakan sukrosa dan juga mengandung glukosa dan fruktosa. Molase bit mengandung biotin (vitamin B7) dalam jumlah terbatas. Vitamin ini berguna untuk pertumbuhan. Molase ini juga mengandung garam-garaman yaitu kalsium,

potasium, oksalat dan klorida. Hal yang menarik adalah molase ini sering digunakan sebagai aditif untuk makanan hewan (Hiroshi, 2014).

### 2.3. Pemanfaatan Probiotik

Menurut Poernomo, A, (2004) probiotik adalah mikroorganisme yang memiliki kemampuan mendukung pertumbuhan dan produktifitas udang. Penerapan probiotik pada udang selain berfungsi untuk meyeimbangkan mikroorganisme dalam pencernaan agar tingkat serapannya tinggi, probiotik juga bermanfaat menguraikan senyawa-senyawa sisa metabolisme dalam air . Sehingga probiotik dapat berfungsi sebagai bioremediasi, biokontrol, imunostimulan serta memacu pertumbuhan.

Pada budidaya ikan probiotik diberikan sebagai campuran makanan dan ada yang ditaburkan pada kolam pemeliharaan. Untuk Probiotik yang dicampur pakan, bisa dicampurkan dengan pakan buatan pabrik (pelet) maupun pakan alami seperti daun-daunan. Penebaran probiotik pada kolam akan membantu tumbuhnya plankton-plankton dan mikroorganisme lainnya dalam air kolam sebagai makanan alami ikan.

Probiotik akan menggemburkan dasar kolam sekaligus memelihara kualitas air. Probiotik ini cukup diguyurkan ke air kolam pada pagi hari setiap dua minggu sekali supaya air selalu sehat, tidak blooming dan penuh dengan plankton sebagai pakan alami (Wikipedia, 2010).

Penerapan Probiotik dalam usaha budidaya terbukti dapat meningkatkan resistensi biota yang dibudidayakan (udang/ikan) terhadap infeksi, karena itu penggunaan probiotik merupakan salah satu cara preventif yang dapat mengatasi penyakit. Probiotik (bakteri pengurai) adalah mikroorganisme hidup yang sengaja dimasukkan ke dalam tambak untuk memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan udang. Tujuannya untuk memperbaiki dan mempertahankan lingkungan, menekan bakteri merugikan, menghasilkan enzim yang dapat membantu sistem pencernaan, menghasilkan nutrisi yang bermanfaat serta meningkatkan kekebalan ikan/udang.

Tujuan utama penggunaan probiotik (kultur tunggal atau multikultur), antara lain meningkatkan kualitas air dan dasar tambak, meningkatkan kesehatan udang dan sebagai agent hayati (biological control agents) untuk mengendalikan berbagai penyakit pada tambak.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup non pathogen yang diberikan pada hewan untuk perbaikan laju pertumbuhan, efisiensi konsumsi ransum dan kesehatan hewan. Selain itu dijelaskan bahwa probiotik adalah feed additive berupa mikroba hidup menguntungkan yang mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroorganisme dalam saluran pencernaan.

Probiotik dapat berupa satu atau beberapa jenis mikroorganisme (mikroorganisme tunggal atau kultur campuran). Spesies yang sering digunakan adalah *Lactobacillus sp.*, *Leuconoctoc sp.*, *Pedioccus sp.*, *Propinibactereium sp.* dan *Bacillus sp.* Dari spesies ragi meliputi *Saccharomyces cerevissiae* dan *Candida pintolopesi*, serta jamur meliputi *Aspergillus niger* dan *Aspegillus oryzae*.

Probiotik yang biasa digunakan dalam budidaya antara lain ; *Bacillus licheniforsis* (Bakteri Nitrifikasi), merubah senyawa nitrat dasar tambak menjadi nitrit makanan plankton, bakteri Fotosintetik (Photo synthetic bacteria), menggunakan N – anorganik untuk mengoksidasi gas H<sub>2</sub>S menjadi sulfur melalui proses fotosintesa.

Peranan bakteri probiotik sebagai kontrol biologis pada sistem budi daya adalah :

1. Menekan pertumbuhan bakteri pathogen,
2. Mempercepat degradasi bahan organik dan limbah,
3. Meningkatkan ketersediaan nutrisi esensial,
4. Meningkatkan aktivitas mikroorganisme indigenus yang menguntungkan pada tanaman, misal Mycorriza, Rhizobium dan bakteri pelarut pospat,
5. Memfiksasi nitrogen,
6. Mengurangi pupuk dan pestisida.

#### 2.4. Pembuatan Media

Ada berbagai cara untuk mengisolasi bakteri dalam biakan murni yaitu, cara pengenceran, cara penuangan, cara penggesekan atau penggoresan, cara penyebaran, cara pengucilan 1 sel, dan cara inokulasi pada hewan. Masing-masing mempunyai kelebihan dan kekurangan (Waluyo, 2007).

Kultur murni atau biakan murni sangat bermanfaat dalam ilmu mikrobiologi, yaitu untuk meneliti, mengidentifikasi, termasuk menelaah ciri-ciri morfologis, fisiologis, maupun serologis di mana memerlukan suatu populasi yang terdiri dari satu macam mikroorganisme saja. Hal yang harus diperhatikan dalam pengisolasian mikroorganisme yaitu, harus diketahui jenis mikroorganisme yang akan diisolasi, habitatnya, sampel serta media yang sesuai untuk pertumbuhannya.

Medium (jamak : Media) pertumbuhan adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Sedangkan ISI/TS 11133-1 (2009) mendefinisikan kultur medium sebagai rumusan substansi zat/bahan dalam bentuk cair, setengah padat atau padat yang mengandung bahan alami atau sintesis yang bertujuan untuk mendukung perkembangbiakan atau perbanyak (dengan atau tanpa penghambat beberapa mikroorganisme), identifikasi atau pemeliharaan mikroorganisme. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi yang disediakan dari media berupa molekul-molekul yang selanjutnya dirakit untuk menyusun komponen sel dan memperbanyak diri sehingga sel – sel tersebut dapat dimanfaatkan dengan adanya media pertumbuhan dapat dilakukan isolasi mikroorganisme menjadi kultur tunggal dan juga memanipulasi mikroorganisme yang didapatkan untuk kepentingan tertentu.

Media pertumbuhan memiliki banyak nama yang umumnya mengacu kepada nama asli sesuai literatur. Terdapat juga media dengan komposisi yang sama tetapi memiliki nama yang berbeda karena diproduksi oleh perusahaan yang berbeda. Misalnya Trypticase™ Soy Agar diproduksi oleh BBL (BD Diagnostic Systems), Tryptone Soy Agar diproduksi oleh Oxoid Unipath, dan Tryptic Soy Agar diproduksi oleh Difco (BD Diagnostic Systems) yang semuanya memiliki komposisi yang sama. Banyak media juga dikenal sebagai akronim,

*Trypticase Soy Agar (TSA)* merupakan media agar yang digunakan untuk kegiatan pengisolasian dan pembudidayaan berbagai macam mikroorganisme yang bersifat aerobik. Medium ini digunakan untuk berbagai tujuan yang mencakup pemeliharaan stok budidaya, isolasi berbagai macam spesies mikroorganisme, serta sebagai dasar untuk media termasuk darah (Becton, Dickinson and Company 2007). Komposisi dari TSA ini antara lain *Approximate Formula\* Per Liter Purified Water, Pancreatic Digest of Casein, Papaic Digest of Soybean, Sodium Chloride, Agar*.

*Trypticase Soy Broth (TSB)* adalah medium dasar untuk menumbuhkan berbagai mikroorganisme aerobik. *Trypticase Soy Broth* digunakan untuk medium pertumbuhan dengan tujuan mengamati morfologi koloni, mengembangkan kultur murni, serta pertumbuhan untuk tes biokimia (Alken-Murray Co, 2006). Komposisi dari media TSB ini adalah *Bacto Tryptone (Pancreatic Digest of Casein)* 17.0 g, *Bacto Soytone (Peptic Digest of Soybean Meal)* 3.0 g, *Glucose (Dextrose)* 2.5 g, *Sodium Chloride* 5.0 g dan *Dipotassium Hydrogen Phosphate* 2.5 g.

SWC (*Sea Water omplete*) adalah media yang berbentuk padat yang dapat digunakan untuk menumbuhkan semua mikroba air laut dipermukaan sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung dan diisolasi. Komposisi dari media SWC ini adalah 5 gram bakto pepton, 1 gram ekstrak khamir, 3 ml gliserol, 250 aquades, 750 air laut dan 15 gram agar.

TCBS adalah media yang solid selektif untuk isolasi dan budidaya *Vibrio cholerae* dan *Vibrio* patogen lainnya. Media ini hanya digunakan untuk mendiagnosa bakteri secara *in vitro* saja. Prinsip kerjanya yaitu bakteri gram positif akan dihambat oleh oxbile, natrium tiosulfat dan sitrat besi akan mendeteksi produksi H<sub>2</sub>S dan bromthymol biru dan timol biru adalah sebagai indikator pH (QUEBACT Laboratories, 2012). Formula untuk pembuatan 1 liter TCBS adalah *Yeast Extract* 5 g, *Casein Peptone* 5 g, *Meat Peptone* 5 g, *Sodium Citrate* 5 g, *Sodium Thiosulfate* 10 g, *Oxbile* 5 g, *Sodium Cholate* 3 g, *Sucrose* 20 g, *Sodium Chloride* 3 g, *Ferric Citrate* 1 g, *Bromthymol Blue* 0.04 g, *Thymol Blue* 0.04 g, dan *Agar* 14 g.

Eosin Methylen Blue Agar (EMBA) adalah medium selektif dan diferensial digunakan untuk mengisolasi *coliform*. Eosin Y dan biru metilen adalah pewarna indikator pH yang bergabung membentuk endapan ungu tua pada pH rendah, mereka juga berfungsi untuk menghambat pertumbuhan sebagian besar organisme gram positif. Fermentor kuat laktosa atau sukrosa akan menghasilkan jumlah asam yang cukup untuk membentuk kompleks pewarna ungu tua. Formulasi dari EMBA adalah, *Pancreatic digest of gelatin, Lactose, Dipotassium phosphate, Eosin Y, Methylene blue, dan Agar*.

Media *Glucose Yeast Aga* (GYA) merupakan media untuk pembiakan cendawan atau fungi. Media GYA terdiri dari glukosa, yeast ekstrak, dan bacto agar. Glukosa dalam media ini banyak digunakan sebagai media untuk hidup cendawan atau fungi sehingga jumlahnya diperbanyak.

## 2.5. Penanaman Bakteri pada Media

Dalam teknik biakan murni tidak saja diperlukan bagaimana memperoleh suatu biakan yang murni, tetapi juga bagaimana memelihara serta mencegah pencemaran dari luar. Inokulasi dimaksudkan untuk menumbuhkan, meremajakan mikroba dan mendapatkan populasi mikroba yang murni.

Penanaman bakteri atau biasa disebut juga inokulasi adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi. Untuk melakukan penanaman bakteri (inokulasi) terlebih dahulu diusakan agar semua alat yang ada dalam hubungannya dengan medium agar tetap steril, hal ini agar menghindari terjadinya kontaminasi.

Teknik yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme pada media agar memungkinkannya tumbuh dengan agak berjauhan dari sesamanya, juga memungkinkan setiap selnya berhimpun membentuk koloni, yaitu sekelompok massa sel yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Bahan yang diinokulasikan pada medium disebut inokulum, dengan menginokulasi medium agar nutrien (nutrien agar) dengan metode agar tuang atau media agar sebar, sel-sel mikroorganisme akan terpisah sendiri-sendiri. Setelah inkubasi, sel-sel mikroba individu memperbanyak diri secara cepat sehingga dalam waktu 18 sampai 24 jam terbentuklah massa sel yang dapat dilihat dan dinamakan koloni. Koloni dapat

Media Mente: Mente Agar (MBA) adalah medium selektif dan  
 diferensial digunakan untuk mengisolasi *coliform*. Eschin Y dan biru metilen  
 adalah zat warna indikator yang digunakan membentuk endapan ungu tua pada  
 di mana eschin juga berfungsi untuk menghambat pertumbuhan sebagian  
 dari organisme gram positif. Fermentasi gula laktosa atau sukrosa akan  
 menghasilkan gas yang cukup untuk membentuk kompleks pewarna  
 ungu tua. Formula dari MBA adalah: *Peccreatic digest of gelatin, Lactose,*  
*Agar, Potassium phosphate, Eschin Y, Methylene blue, dan Ayar.*

Media Mente: Mente Agar (MA) merupakan media untuk penanaman  
 mikroorganisme gram negatif. Media MA terdiri dari gula, yeast ekstrak, dan bacto  
 agar. Media ini digunakan sebagai media untuk hidup  
 mikroorganisme gram negatif.

III. Peranan Bakteri pada Manusia

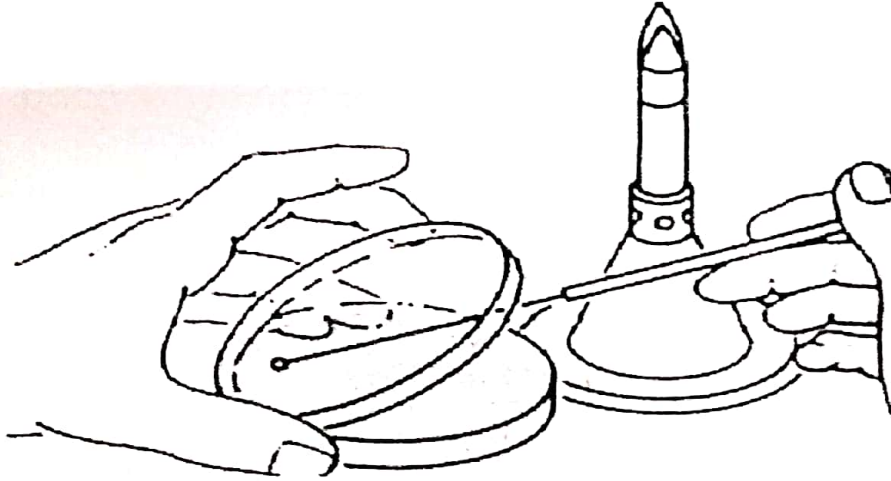
Bakteri memiliki peranan yang sangat penting bagi manusia. Bakteri membantu  
 dalam proses pencernaan yang normal. Juga bakteri membantu serta melindungi  
 tubuh manusia dari infeksi. Bakteri juga membantu dalam metabolisme, memisahkan  
 nutrisi yang diperlukan untuk kehidupan yang normal.

Peranan bakteri pada tubuh manusia juga melibatkan aspek kesehatan  
 reproduksi. Bakteri dan manusia yang sama ke medium yang baru dengan  
 daya resistensi yang sangat tinggi. Untuk melakukan perjalanan bakteri  
 manusia melalui tubuh manusia yang sama dan yang ada dalam tubuhnya  
 dengan cara yang normal, bakteri yang menginfeksi tubuhnya konstanitas.

Untuk yang berkaitan untuk pertumbuhan mikroorganisme pada manusia  
 yang normalitasnya adalah sangat penting dari semuanya, juga  
 pertumbuhan yang sangat penting untuk bakteri, yaitu sel-sel yang  
 ada di yang sangat tinggi sangat tinggi, bakteri yang dikumpulkan  
 pada manusia bakteri adalah. Sangat penting untuk manusia yang normal  
 (bakteri yang) sangat penting yang sangat, dan manusia yang normal, sel-sel  
 pertumbuhan yang sangat penting untuk bakteri, sel-sel bakteri  
 adalah sangat penting untuk manusia yang normal. Bakteri yang  
 pertumbuhan yang sangat penting untuk manusia yang normal.



terlihat oleh mata telanjang. Setiap koloni merupakan biakan murni satu macam mikroorganisme (Pelczar dan Chan, 2007).



### Metode inokulasi mikroba pada cawan Petri

Gambar 3. Metode inokulasi mikroba pada media

Sumber : <https://belajarbiokimia.wordpress.com/2013/08/31/teknik-dasar-mikrobiologi/> (2016)

Suatu jenis koloni mikroba yang terpisah dari koloni campurannya akan lebih mudah untuk diamati. Selain itu teknik untuk memisahkan dan mendapatkan koloni tunggal serta pemeliharannya terdapat beberapa jenis. Teknik-teknik tersebut memiliki kelebihan dan kelemahan. Beberapa cara dapat dilakukan untuk menentukan jumlah bakteri yang terdapat pada bahan pemeriksaan. Cara yang paling sering digunakan adalah cara penghitungan koloni pada lempeng pembiakan (plate count) atau juga dapat dilakukan penghitungan langsung secara mikroskopis (Burrows, 2004).

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan suatu hal yang penting untuk diketahui. Pengetahuan tentang faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba sangat penting di dalam mengendalikan mikroba. Berikut ini faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan

mikroba, suplai energi, Suhu/temperatur, keasaman atau kebasaaan (pH), ketersediaan oksigen (suriawiria, 2005)

Ada beberapa metode yang digunakan untuk mengisolasi biakan murni mikroorganisme yaitu :

#### 1. Metode gores

Teknik ini lebih menguntungkan jika ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapimemerlukan ketrampilan-ketrampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Inokulum digoreskan di permukaan media agar nutrisi dalam cawan petri dengan jarum pindah (lup inokulasi). Di antaragaris-garis goresan akan terdapat sel-sel yang cukup terpisah sehingga dapat tumbuh menjadi koloni. Cara penggarisan dilakukan pada medium pembiakan padat bentuk lempeng. Biladilakukan dengan baik teknik inilah yang paling praktis. Dalam pengerjaannya terkadang berbeda pada masing-masing laboratorium tapi tujuannya sama yaitu untuk membuat goresan sebanyak mungkin pada lempeng medium pembiakan (Kus Irianto, 2006)

#### 2. Metode tebar/ sebar

Setetes inokulum diletakan dalam sebuah medium agar nutrisi dalam cawan petri dan dengan menggunakan batang kaca yang bengkok dan steril. Inokulasi itu disebarkan dalam medium batang yang sama dapat digunakan dapat menginokulasikan pinggan kedua untuk dapat menjamin penyebaran bakteri yang merata dengan baik. Pada beberapa pinggan akan muncul koloni koloni yang terpisah-pisah. Metode tuang Isolasi menggunakan media cair dengan cara pengenceran. Metode tuang ini dilakukan dengan cara nutrient agar terlebih dahulu di tuang lalu diberi mikroba (Prescott, 2009)

#### 3. Teknik Aseptik

Sebelum benar-benar dilakukan proses kultur mikroorganisme, pertama kali kita harus mempertimbangkan bagaimana agar tidak terjadi kontaminasi. Mikroorganisme adadimana-mana. Karena ukurannya yang sangat kecil, mereka mudah lepas dalam udara dan permukaan. Maka dari itu, kita harus mensterilisasikan medium kultur secepatnya setelah preparasi untuk pemindahan mikroorganisme siap dikontaminasikan, ini biasanya terbunuh. Bagaimanapun, itu sama pentingnya untuk tindakan pencegahan sampai penanganan berikutnya

medium kultur harus tetap steril. Demikian materi yang lain yang akan kontak juga harus tetap terjaga kesterilannya.

Teknik yang digunakan dalam pencegahan kontaminasi hingga kultur manipulasi media kultur steril disebut teknik aseptik. Keunggulan itu dibutuhkan keberhasilan dalam laboratorium mikrobiologi, dan salah satu cara belajar dengan pendamping mikrobiologi. Kontaminasi udara paling sering menjadi masalah karena udara selalu kontak dengan partikel debu dan umumnya banyak komunitas mikroorganisme di dalamnya. Ketika wadah dibuka maka segera ditangani agar tidak terkontaminasi dengan udara sekitar. Transfer aseptik pada kultur dari salah satu medium ke medium yang lain harus dilakukan dengan loop inokulasi atau jarum harus disterilkan oleh pembakaran pada nyala api. Dalam pertumbuhan kultur dibutuhkan tempat yang mudah dipindahkan ke permukaan agar datar, dimana pertumbuhan suatu koloni berasal dari pertumbuhan dan pembelahan sel tunggal.

Bakteri yang digunakan dalam proses inokulasi *Escherichia coli* Menurut (Kenneath, 2008), termasuk dalam family *Enterobacteraceae* yang termasuk gram negatif dan berbentuk batang yang fermentatif. *E. coli* hidup dalam jumlah besar di dalam usus manusia, yaitu membantu sistem pencernaan manusia dan melindunginya dari bakteri patogen. Akan tetapi pada strain baru dari *E. coli* merupakan patogen berbahaya yang menyebabkan penyakit diare dan sindrom diare lanjutan serta hemolitik uremic (HUS). Peranan yang menguntungkan adalah dapat dijadikan percobaan limbah di air, indikator pada level pencemaran air serta mendeteksi patogen pada feses manusia yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* (Mikrolibrary, 2008)

## **BAB 3 METODELOGI**

### **3.1. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian tentang pengaruh penambahan olase (*tetes Tebu*) pada pertumbuhan koloni Bakteri *Bacillus Sp di mata media TSA (iTrytone Soya Agar)* dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Dr. Soetomo Surabaya Jawa Timur. Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2019.

### **3.2. Materi Penelitian**

#### **3.2.1. Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Cawan Petri
- b. Bunsen dan Korek Api
- c. Batang L
- d. Hot plat
- e. Incubator
- f. Tabung Erlenmeyer
- g. Alumunium Foil
- h. Magnet Stirer
- i. Timbangan analitik
- j. Mikro pipet
- k. Wadah nafis
- l. Kertas kayu
- m. Blong kultur probiotik

- n. Ember
- o. Pengaduk kultur
- p. Wadah sampel probiotik
- q. Aerator
- r. Batu aerator
- s. Selang aerator

- Selanjutnya tutup dengan rapat tabung Erlenmeyer dengan menggunakan Alumuniumfoil.
- Siapkan Hot Plat dengan suhu 200°C.
- Kemudian letakkan tabung Erlenmeyer diatas pada hot plat, dan ditunggu sampai mendidih
- Setelah mendidih, diangkat dari hot plat dan didinginkan.
- Selanjutnya meyiapkan Bunsen, dan menyemprot tanan dan meja dengan alcohol.
- Mengambil cawan petri, panaskan pingir cawan petri dengan gerakan memutar.
- Kemudian tunggu media sampai membeku, lalu masukkan kedalam lemari pendingin.

### 3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang di gunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Aquadest 100 ml
- b. KCL 0,075 gr
- c. MgSO<sub>4</sub> 0,694 gr
- d. NaCl 1,84 gr
- e. TSA 4 gr
- f. Alkohol
- g. Susu skim
- h. Molase
- i. Fermipan
- j. Bubuk probiotik *Bacillus sp*
- k. Sampel Probiotik *Bacillus sp*

### 3.3. Variabel Penelitian

#### 3.3.1. Klasifikasi variable

- a. Variabel bebas yaitu konsentrasi molasis pada kultur Bakteri *Bacillus sp* sebanyak 5 liter, 10 liter, 15 liter.
- b. Variabel tergantung adalah Pertumbuhan koloni bakteri Bakteri *Bacillus sp*
- c. Variabel control adalah Koloni Bakteri *Bacillus sp* dan kultur probiotik

#### 3.3.2. Batasan variable

- a. *Bacillus sp* adalah golongan bakteri pengurai bahan organic (heterotrof) dan penghasil senyawa antimikroba serta hasil metabolisme yang membantu proses penguraian limbah.
- b. Probiotik merupakan produk yang disusun oleh mikroba yang bersifat menguntungkan dan memberikan dampak proteksi penyakit, serta mampu untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain yang merugikan seperti *Vibrio* dan *aeromonas*.

### 3.4. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen yaitu observasi di bawah kondisi buatan dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh si peneliti, dengan kata lain penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Natzir, 2005). Studi eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesis tentang adanya hubungan antara variabel dan sebab-akibat. Persoalan dirumuskan dengan jelas dalam bentuk hipotesis dan percobaan dilakukan dengan menguji hipotesis tersebut.

### 3.5. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dan 8 kali ulangan. penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang merupakan rancangan yang digunakan apabila bahan atau lingkungan percobaan relatif seragam, atau dapat diusahakan seragam, maka penelitian ini dapat dilakukan tanpa pengelompokan (suhaemi, 2011). Penelitian ini menggunakan media sebanyak 24 media yang dilakukan pada incubator, serta dilakukan pengamatan/penghitungan setelah 24 jam.

### 3.6. Prosedur Penelitian

#### 3.6.1. Persiapan Penelitian

##### a. Persiapan Media

- Membersihkan tabung Erlenmeyer, cawan petri, incubator dari debu atau kotoran yang menempel.
- Kemudian dikeringkan dan cawan petri dibungkus dengan kertas kayu, kemudian di sterilisasi.
- Menyiapkan Bunsen, alkohol, batang L, aluminium foil, mikropipet, Nafis, kertas label dan magnet stirrer.

##### b. Pembuatan media TSA

- Memasukkan bahan yang sudah ditimbang seperti, KCL : 0,075 gr, MgSO<sub>4</sub> : 0,694 gr, NaCl : 1,84 gr, TSA : 4 gr, dan Aquadest 100 ml kedalam tabung Erlenmeyer.
- Masukkan magnet stirrer kedalam tabung Erlenmeyer.

**c. Proses pembuatan kultur Probiotik Bakteri *Bacillus sp***

- Mengisi air sebanyak 35 liter pada masing-masing drum kultur.
- Menimbang bahan berupa, susu skim sebanyak 1 kg, fermipan sebanyak 100gr, serta molasis sebanyak 5 liter, 10 liter, 15 liter, untuk masing-masing kultur.
- Menyiapkan bibit bakteri, masing-masing drum kultur sebanyak 1 kg.
- Selanjutnya semua bahan dicampur didalam drum kultur yang sudah terisi air.
- Diaduk sampai semua bahan tercampur merata, kemudian diberi aerasi secukupnya, dan selanjutnya ditutup rapat.
- Setelah 24 jam, dilakukan pengambilan sampel pada masing-masing drum kultur untuk dilakukan pengamatan pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* yang dilakukan di di Laboratorium Biologi Universitas Dr. Soetomo Surabaya.



2. **Penyusunan Jadwal pada Vektor**
  - a. **Menentukan waktu TGT yang sudah ada**
  - b. **Menentukan jumlah dan kedudukan vektor yang akan ditugaskan**
  - c. **Menentukan kegiatan yang akan dilakukan dan mengambill tempat**
  - d. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**
  - e. **Menentukan jumlah vektor yang akan digunakan untuk setiap kegiatan**
  - f. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**
  - g. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**
  - h. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**
  - i. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**
  - j. **Menentukan waktu TGT yang akan digunakan untuk setiap vektor**

**2.4.2. Pelaksanaan Function**

Function dilakukan untuk menilai kemampuan masing-masing 10 guru yang akan ditugaskan dalam menilai dan melakukan perkembangan serta perkembangan belajar mengajar pada masing-masing kelas, kemudian dihitung jumlah nilai hasil belajar mengajar dengan menggunakan nilai yang akan digunakan untuk menilai kemampuan belajar mengajar yang akan dihitung dan diolah dan diolah dengan menggunakan software yang akan digunakan untuk melakukan penilaian yang akan dilakukan.

Setelah itu, data yang akan digunakan untuk melakukan penilaian akan diolah dengan menggunakan software yang akan digunakan untuk melakukan penilaian yang akan dilakukan.

### 3.7. Teknik Pengumpulan Data

Data yang diambil berupa data kuantitatif, yaitu pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* yang ditanam selama 24 jam pada media TSA.

### 3.8. Analisis Data

Data pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* dianalisis menggunakan uji analisis keragaman (ANOVA) atau uji F. Apabila perlakuan memberikan pengaruh maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui pengaruh pemberian molasis dengan dosis yang berbeda terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp*.

Tabel 1. Sidik Ragam Rancangan Penelitian

| Sumber Keragaman | Db                    | JK         | KT         | F.Hit      | F. Tabel |    |
|------------------|-----------------------|------------|------------|------------|----------|----|
|                  |                       |            |            |            | 5%       | 1% |
| Perlakuan Galat  | (LP - 1)<br>LP(n - 1) | JKP<br>JKG | KTP<br>KTG | KT(LP)/KTG |          |    |
| Total            | (nLP) - 1             | JKT        |            |            |          |    |

Sumber : Suhaemi (2011)

Keterangan :

FK = Faktor Koreksi

$$= Y^2Pu$$

JKT = Jumlah Kuadrat Total

$$= Yij^2 - FK$$

JKP = Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$= 1u Yi.2 - FK$$

JKG = Jumlah Kuadrat Galat

$$= JKT - JKP$$

KTP = Kuadrat Tengah Perlakuan

$$= JKPP - 1$$

KTG = Kuadrat Tengah Galat

$$= JKG(u - 1)$$

Setelah melengkapi tabel sidik ragam , maka akan diperoleh nilai F Hitung untuk dibandingkan dengan nilai F tabel sehingga dapat dilakukan pengujian hipotesis dan kesimpulan. Adapun ketentuan dalam membandingkan F hitung dengan F tabel adalah sebagai berikut :

- a. Hasil perhitungan F hitung, kemudian dibandingkan dengan F tabel 5% dan 1% untuk menentukan apakah ada pengaruh diantara perlakuan yang diberikan terhadap hasil pengamatan F hitung dibandingkan F tabel.
- b. Apabila nilai F hitung > F tabel 1%, maka terdapat perbedaan sangat nyata diantara perlakuan (*highly significant*).
- c. Apabila nilai F hitung > F tabel 5% tetapi F hitung < F tabel 1%, maka terdapat perbedaan nyata diantara perlakuan (*significant*).
- d. Apabila nilai F hitung < F tabel 5%, maka perbedaannya tidak nyata diantara perlakuan (*non significant*).

Jika dari hasil analisis sidik ragam diketahui perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Menurut Suhaemi (2011) menyatakan bahwa Uji beda nyata terkecil (BNT) adalah prosedur perbandingan dari nilai tengah perlakuan (rata-rata perlakuan) dengan menggunakan gabungan kuadrat tengah sisa (KTG/S) dari hasil sidik ragam. Nilai uji menggunakan nilai-nilai pada tabel t, rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$BNT = t_{\alpha/2} \sqrt{\frac{2KTG}{u}}$$

Keterangan:

- $t_{\alpha/2}$  : nilai tabel t pada tingkat kepercayaan ( $\alpha$ ) 0,05 pada uji satu arah atau 0,025 pada uji dua arah, pada derajat bebas sisa sesuai yang dihasilkan pada tabel sidik ragam, dengan db=16
- KTG : Kuadrat Tengah Galat
- U : rata-rata umum perlakuan.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pertumbuhan Koloni Bakteri *Bacillus sp*

Berdasarkan penanaman dan pengamatan pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* yang dilakukan setelah 24 jam mengalami pertumbuhan koloni bakteri dengan rata-rata pertumbuhan  $2,61 \times 10^9$  untuk dosis molase 5 liter (Perlakuan A), sedangkan dosis molase 10 liter didapatkan rata-rata pertumbuhan  $3,73 \times 10^9$  (Perlakuan B) dan dosis molase 15 liter diperoleh rata-rata pertumbuhan  $4,9 \times 10^9$  (Perlakuan C).

Pemberian Molase pada kultur probiotik mampu meningkatkan pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* Pada setiap sampel yang ditanam menunjukkan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri tertinggi diperoleh pada perlakuan molase dengan dosis 15 liter (Perlakuan C).

Tabel 2. Pertumbuhan koloni Bakteri

| Perlakuan | Pertumbuhan Koloni Bakteri ( $10^9$ ) |      |      |      |      |      |      |      | Total | Rata-rata<br>Pertumbuhan |
|-----------|---------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|--------------------------|
|           | 1                                     | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    |       |                          |
| A         | 3,14                                  | 2,43 | 3,19 | 2,47 | 2,63 | 2,54 | 2,21 | 2,32 | 20,93 | 2,61                     |
| B         | 3,78                                  | 4,02 | 4,14 | 3,67 | 3,21 | 3,88 | 3,73 | 3,47 | 29,9  | 3,73                     |
| C         | 4,9                                   | 5,15 | 4,45 | 5,12 | 4,98 | 4,75 | 4,82 | 5,07 | 39,24 | 4,9                      |

Sumber : Data Primer (2016)

Adapun kandungan total bakteri yang tertera pada bungkus bibit probiotik adalah  $4,5 \times 10^9$  cfu.

Berdasarkan data hasil penelitian mengenai pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp*, maka selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam, dimana hasil perhitungan analisis sidik ragam disajikan pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp*

| Sumber Ragam | Db | JK          | KT       | F hitung   | F tabel |      |
|--------------|----|-------------|----------|------------|---------|------|
|              |    |             |          |            | 5%      | 1%   |
| Perlakuan    | 2  | 20,95635833 | 10,47818 | 0.087566 * | 3,44    | 5,72 |
| Galat/sisa   | 21 | 2512,870938 | 119,6605 |            |         |      |
| Total        | 23 | 2533,827296 |          |            |         |      |

Keterangan : \* = tidak berpengaruh (non signifikan)

Berdasarkan Analisis Sidik Ragam (ANOVA) pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp* pada tabel 3 diatas, menunjukkan bahwa perlakuan penambahan molase dengan dosis yang berbeda pada kultur Probiotik Quick Pro dari TAIKESHU yang merupakan kandungan bakterinya adalah *Bacillus sp*. setelah dilakukan penelitian tidak berpengaruh (non signifikan), sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut BNT.

#### 4.2. Pembahasan

Pemberian Molase pada kultur probiotik meningkatkan pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus* sp pada perlakuan C yaitu  $4,9 \times 10^9$  pada Molase dosis 15 liter, kultur Probiotik Quick pro produk TAIKESHU. Hasil penelitian non signifikan dari tiga perlakuan tersebut.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat saya ambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut : hasil penanaman dari ketiga jenis sampel atau ketiga dosis yang berbeda semuanya tumbuh pada media TSA, akan tetapi jumlah koloni yang tumbuh berbeda-beda setiap dosisnya, karena di pengaruhi oleh unsur karbonyang dimanfaatkan oleh bakteri untuk tumbuhan berbeda.

Hasil perhitungan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan dosis 5 liter (perlakuan A) ditemukan sebanyak  $2,61 \times 10^9$ , sedangkan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan dosis 10 liter (perlakuan B) ditemukan sebanyak  $3,73 \times 10^9$ , untuk perhitungan rata-rata pertumbuhan koloni bakteri dengan dosis 15 liter (Perlakuakn C) ditemukan sebanyak  $4,9 \times 10^9$ .

Sedangkan hasil perhitungan berdasarkan analisa sidik ragam (ANOVA) hasilnya non signifikan (tidak berpengaruh) artinya nilai F hitung  $< F$  tabel 5%.

Pemberian dosis yang berbeda pada setiap perlakuan tidak berpengaruh (non signifikan), sehingga untuk lebih praktis dan lebih ekonomis dari segi biaya maka dosis yang lebih baik digunakan adalah perlakuan kultur probiotik Quick Pro dari TAIKESHU. Karena penelitian hasil ini hasilnya tidak berpengaruh (non signofikan) maka tidak diperlukan uji lanjut BNT.

## 5.2. Saran

1. Dalam menentukan dosis melose harus mmempertimbangkan tingkat kebutuhan sumber karbon dan nitrogen yang dibutuhkan oleh bakteri.
2. Diperlukan pertimbangan yang tepat dalam melakukan kultur probiotik agar bakteri yang akan di kultur akan tumbuh dengan baik.
3. Sebaiknya dalam melakukan kultur probiotik di tempat yang terkontrol dan tidak dilakukan di tempat yang terbuka
4. Dapat juga dengan penggunaan jenis maupun merk dari probiotik lain, dehingga dapat mebandingkannya.
5. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap jenis bakteri yang lain.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. <http://dunia-mikro.blogspot.com/2008/08/pengecatan-endoapora.html>.  
Diakses pada tanggal 29 Mei 2016.
- Anonim.2011. <http://gurungeblog.wordpress.com/2008/11/17/bakteri-ciri-ciri-Struktur-perkembangbiakan-bentuk-dan-manfaatnya/>.  
Diakses pada tanggal 29 Mei 2016
- Anonim.2011. <http://id.wikipedia.org/wiki/bakteri>.  
Diakses pada tanggal 29 Mei 2016.
- Anonim.2011. <http://ekmom-saurus.blogspot.com/2010/12/pengambilan-dan-Preparasi-sampel.html>.  
Diakses pada tanggal 30 Mei 2016
- Anonim.2011. [http://eprint.undip.ac.id/13402/1/laporan\\_penelitian.pdf](http://eprint.undip.ac.id/13402/1/laporan_penelitian.pdf).  
Diakses pada tanggal 1 Juni 2016
- Becton, Dickinson and Company. 2007. *Trypticase<sup>TM</sup> Soy Agar (Soybean-Casein Dogest Agar)*. <http://www.bd.com/sd/productcenter/221283.asp> diakses pada tanggal 2 Juni 2016
- Becton, Dickinson and Company. 2018. *Trypticase<sup>TM</sup> Soy Broth (Soybean-CaseinMedium)*. <http://www.bd/ds/productCenter/221283.asp> (16 Juni 2016)
- Burrows, 2004, *Prinsip-prinsip Fisiologi Mikroba*. Biologi FMIPA ITM : Bandung
- Dewi,I. M. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktifitas Kinitase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun, Sumatera Utara. Tesis Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara, Medan
- Hiroshi, Agi, 2014 <http://www.alamikan.com/2012/05/molasses-tetes-tebu.html>  
Diakses pada tanggal 30 Mei 2016
- Irianto Kus. 2006. *Kamus Biologi. Edisi Pertama*. Bumi Aksara : Jakarta
- Irianto Kus. 2006. *Buku Pegangan Kuliah Patologi Klinik I Jilid 1*. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro : Semarang
- ISI/TS 11133-1. 2009. *Microbiologi of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of cultur media – part 1 : cultur media in the laboratory*, Ed ke-2.

- Kenneth, 2008, "*Bacterial Structure in Relationship to Pathogenicity*", Todar's Online Textbook of Bacteriology.
- Mikrolirary. 2008. *Molectular adn Biotechological Aspects of Mikrobiabal Prateases* *Microb. Mol. Biol. Rev.*62
- Murray, Alken. 2006. *Quality Control Method-22, Preparation of Trypticase Soy Broth (ATCC Culture Medium 18)* <http://www.alken-murray.com/QC22.pdf>  
(1 Januari 2016)
- Natzir, 2005. *Metode Penelitian*. Ghalia Indonesia. Jakarta Timur. 543 hlm.
- Pelczar. M.J., dan Chan, E. S. 2007. *Analisa Mikroba pada Inokulasi*. Edisi Kelima. Erlangga: Jakarta.
- Pelczar. M.J., dan Chan, E.S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jakarta : UI Press.
- Prescott, 2009. *Comprehensive Tutorial and Reference*. Prentice Haa : New Jersey.
- QOEBACT. 2012. <http://www.quebact.com/index.php/en/support/technical-data/236-1-22> (2 Juni 2016)
- Suriawiria 2005. *Buku Penuntun Praktikum Mikrobiologi Farmasi*. Jurusan Farmasi : Bandung.
- Waluyo, L, 2007, *mikrobiologi Umum*, mm press : malang
- Wongsa P, Werukhamkul P. 2007. *Product development and tecnical servise, biosolution internasional*. Bangkadi Industrial Park 134/4, Thailand.