



**KAJIAN JENIS LIMBAH DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP DAYA TAHAN *Pseudomonas diminuta***

**SKRIPSI**

**Oleh**

**Annasa Fadil Prabowo  
101510501029**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**KAJIAN JENIS LIMBAH DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP DAYA TAHAN *Pseudomonas diminuta***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Strata-1 Jurusan Agroteknologi dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh  
**ANNASA FADIL PRABOWO**  
**NIM 101510501029**

**ILMU HAMA PENYAKIT DAN TUMBUHAN  
JURUSAN AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Skripsi ini kepada :

1. Ayahanda Prpto Purnomo M.Pd, Ibunda Lusiana Nugrahenny Spd, Adinda Fawzia Aulia, yang senantiasa tulus ikhlas memberikan semangat, do'a, kasih sayang, cinta, saran dan dukungan baik moril, tenaga, maupun materil demi terselesaikannya skripsi ini.
2. Guru dan Dosen yang telah memberi bimbingan yang besar sepanjang hidup saya.
3. Almamater yang kubanggakan Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

*“Barangsiapa bertakwa kepada Allah niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar. Dan memberinya rizki dari arah yang tiada disangka-sangkanya.*

*Dan barangsiapa yang bertawakal kepada Allah niscaya Allah akan mencukupkan (keperluan)nya. Sesungguhnya Allah melaksanakan urusan yang (dikehendaki)Nya. Sesungguhnya Allah telah mengadakan ketentuan bagi tiap-tiap sesuatu.” (Ath-Thalaaq:2-3).*

*“Barangsiapa yang menginginkan kehidupan dunia, maka ia harus memiliki ilmu, dan barangsiapa yang menginginkan kehidupan akhirat maka itupun harus dengan ilmu, dan barangsiapa yang menginginkan keduanya maka itupun harus dengan ilmu.” (HR. Thabrani).*

*“Orang beriman itu bersikap ramah dan tidak ada kebaikan bagi seorang yang tidak bersikap ramah dan tidak ada kebaikan bagi seorang yang tidak bersikap ramah. Dan sebaik-baik manusia adalah orang yang paling bermanfaat bagi manusia.” (HR. Thabrani dan Daruquthni).*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annasa fadil Prabowo

NIM : 101510501060

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: **Kajian Jenis Limbah Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta***, adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap dan etika ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Maret 2014  
Yang menyatakan,

Annasa Fadil Prabowo  
NIM 101510501029

**SKRIPSI**

**KAJIAN JENIS LIMBAH DAN LAMA PENYIMPANAN  
TERHADAP DAYA TAHAN *Pseudomonas diminuta***

Oleh

Annasa Fadil Prabowo

NIM 101510501029

Pembimbing

Pembimbing Utama : Ir. Soekarto, MS.  
NIP : 195210211982031001

Pembimbing Anggota : Ir. Paniman Ashna Miharja, M.P.  
NIP : 19500903 198003 1001

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “**Kajian Jenis Limbah Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta***”, telah diuji dan disahkan pada :

Hari : Jumat

Tanggal : 20 Maret 2015

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

**Penguji,**

**Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D.**

NIP 19521217 198003 2001

**DPU,**

**DPA,**

**Ir. Soekarto, MS.**

NIP 19521021 198203 1001

**Ir. Paniman Ashna Miharja, M.P.**

NIP 19500903 198003 1001

**Mengesahkan  
Dekan,**

**Dr. Ir. Jani Januar, M.T.**

NIP 19590102 198803 1002

## RINGKASAN

**Kajian Jenis Limbah Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta*:** Annasa Fadil Prabowo. 101510501029; 2014; 17 Halaman; Program Studi Agroteknologi; Minat Hama dan Penyakit Tumbuhan; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

*Pseudomonas diminuta* adalah agen hayati yang efektif mengendalikan Nematoda Sista Kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*) secara laboratorium dan di lapangan. *P. diminuta* merupakan bakteri yang bersifat saprofit, yaitu dapat hidup dan berkembang pada sisa-sisa bahan organik. *P. diminuta* disimpan pada media limbah organik cair selama 9 minggu untuk mengetahui daya tahan bakteri tersebut. Untuk menguji viabilitas dan efektivitas *Pseudomonas diminuta* maka dilakukan suatu penyimpanan dengan beberapa jenis media yang berasal dari limbah organik cair.

Tujuan dari penelitian ini mengetahui jenis media limbah organik cair yang efektif untuk pembiakan bakteri *P. diminuta* serta mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan. Penggunaan media limbah organik cair untuk media *P. diminuta*, karena media ini ekonomis, dan mudah di dapat serta bisa menambah nilai tambah yang baik. Limbah organik cair ini ada di sekitar daerah industri, yang mana bisa mencemari lingkungan dan tidak diolah kembali menjadi limbah yang bermanfaat. Penelitian ini menggunakan 3 jenis limbah cair organik dari limbah tahu, air kelapa dan tetes tebu. Viabilitas dan populasi *P. diminuta* didapatkan setelah disimpan selama 9 minggu pada minggu ke-1, ke-3, ke-5, ke-7, dan minggu ke-9.

Uji kepadatan populasi atau daya tahan menggunakan metode pengenceran berseri yang kemudian didapatkan hasil bakteri yang hidup pada setiap media limbah yang telah di tumbuhkan pada media padat phikovskaya. Uji viabilitas dapat dihitung dari jumlah sel total yang tidak membedakan jumlah sel hidup atau mati, dan jumlah sel hidup (*viable count*). Jumlah total sel mikrobial dapat ditetapkan secara langsung dengan pengamatan mikroskopis, dalam sampel cairan yang diamati menggunakan metode counting chamber. Setelah di tumbuhkan selama 9 minggu maka dapat di ketahui media mana yang paling



efektif baik dari populasi dan viabilitasnya untuk dijadikan media tumbuh bakteri *Pseudomonas diminuta*.

Penggunaan berbagai media alternatif untuk pertumbuhan *P. diminuta* menghasilkan pertumbuhan yang berbeda-beda. Media air kelapa merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan *P. diminuta*, karena pertumbuhan yang stabil dan cukup tinggi setiap minggunya membuat limbah ini menjadi media yang terbaik dibandingkan media yang lain. Lengkapnya nutrisi yang ada pada media limbah ini, membuat hasil dari pertumbuhan bakteri lebih stabil. Media air tahu merupakan media yang mempunyai populasi yang paling tinggi pada minggu ke-5. Kenaikan dan penurunan yang drastis membuat media ini tidak bagus untuk dijadikan media *P. diminuta*. Media terendah pertumbuhannya ada pada media tetes tebu dengan pertumbuhan yang relatif stabil. Adanya sumber karbon yang cukup banyak menyebabkan media tersebut tidak dapat langsung digunakan, yang berakibat tidak maksimalnya pertumbuhan *P. diminuta* pada media tetes tebu.

## SUMMARY

**THE STUDY OF KINDS AND DURATION STORING OF WASTE TOWARDS THE ENDURANCE OF *Pseudomonas diminuta*:**  
AnnasaFadilPrabowo. 101510501029; 2015; 17 Pages; Study Program Agrotechnology; Department of Plant Pest and Disease; Faculty of Agriculture; University of Jember.

*Pseudomonas diminuta* is a biological agent that effectively control potato cyst nematode / NSK (*Globodera rostochiensis*) in the laboratory and in the field. *P. diminuta* is a bacteria that is saprophyte, that can live and thrive on remnants of organic materials. *P. diminuta* is stored on the media liquid organic wastes for 9 weeks to determine the durability of the bacteria. To test the viability and effectiveness of *Pseudomonas diminuta* then made a deposit with some media types derived from organic waste liquid.

The purpose of this study to know the type of organic waste liquid media effective for culturing *P. diminuta* bacteria and determine the effect of storage time on the viability of *P. diminuta* bacteria were cultured. The use of organic waste liquid media for *P. diminuta* media, because the media is economical, and accessible and can add value-added good. This liquid organic waste in the vicinity of the industry, which can pollute the environment and not reprocessed into useful waste. This study uses three kinds of organic liquid waste from the waste out, coconut water and molasses. Viability and populations of *P. diminuta* obtained after being stored for 9 weeks at week 1. 3rd, 5th, 7th, and 9th week.

Population density test or durability using serial dilutions were then showed the bacteria that live on any media waste that has been in phikovskaya grow on solid media. Viability test can be calculated from the total number of cells that do not distinguish between the number of cells live or die, and the number of living cells (*viable count*). The total number of microbial cells can be set directly by microscopic observation, in a fluid sample is observed using a counting chamber method. Once grow for 9 weeks, it can be in the know where the most effective media both from the population and its viability to be used as a medium to grow the bacteria *Pseudomonas diminuta*.

The use of various alternative media for the growth of *P. diminuta* generate growth vary. Media coconut water is the best medium for the growth of *P. diminuta*, due to steady growth and high enough each week make this waste into the best media than other media. Full of nutrients that exist in the media of this waste, making the result of bacterial growth is more stable. Water media know is a medium that has the highest population in the 5th week. The rise and fall drastically makes this media is not good to be a media *P. diminuta*. Lowest growth media exist on the media molasses with a relatively stable growth. The existence of carbon sources that much enough caused the media can not be directly used, which results not maximal growth of *P. diminuta* on media molasses.

## PRAKATA

Puji syukur kepada Allah SWT., akhirnya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul Kajian Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) sebagai sarjana pertanian di Fakultas Pertanian Universitas Jember. Pada kesempatan ini disampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Jani Januar, MT. selaku dekan Fakultas Pertanian dan Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan untuk menyelesaikan pendidikan Program Sarjana (S1);
2. Ir. Soekarto, MS, selaku Dosen Pembimbing Utama, Ir. Paniman Ashna Mihadjo, MP. selaku Dosen Pembimbing Anggota, dan Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan dalam penyelesaian karya ilmiah tertulis ini;
3. Dr. Ir. Mohammad Hosein., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama studi;
4. Semua dosen FAPERTA Prodi Agroteknologi, atas semua ilmu yang diberikan selama menjadi mahasiswa Agroteknologi.
5. Keluarga Al-Fatih, F-SIAP, ASPG, Relawan RZ, ODOJ, KUTUB, IKAPEMMA, Ashabul Café yang telah memberikan ilmu, pengalaman, doa dan perbaikan diri pada penulis.
6. Semua pihak yang telah membantu terselesainya karya ilmiah tertulis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Penulis menyadari bahwa skripsi ini sangat jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang bersifat konstruktif sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, 10 Maret 2015

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>1.5 Hipotesis</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Pengendalian Hayati</b> .....	4
<b>2.2 <i>Pseudomonas diminuta</i></b> .....	4
2.2.1 Klasifikasi <i>Pseudomonas diminuta</i> .....	4
2.2.2 Biologi <i>Pseudomonas diminuta</i> .....	5
<b>2.3 <i>Limbah Organik Cair</i></b> .....	6
2.3.1 Tetes Tebu.....	6
2.3.2 Limbah Tahu.....	7
2.3.3 Air kelapa .....	7

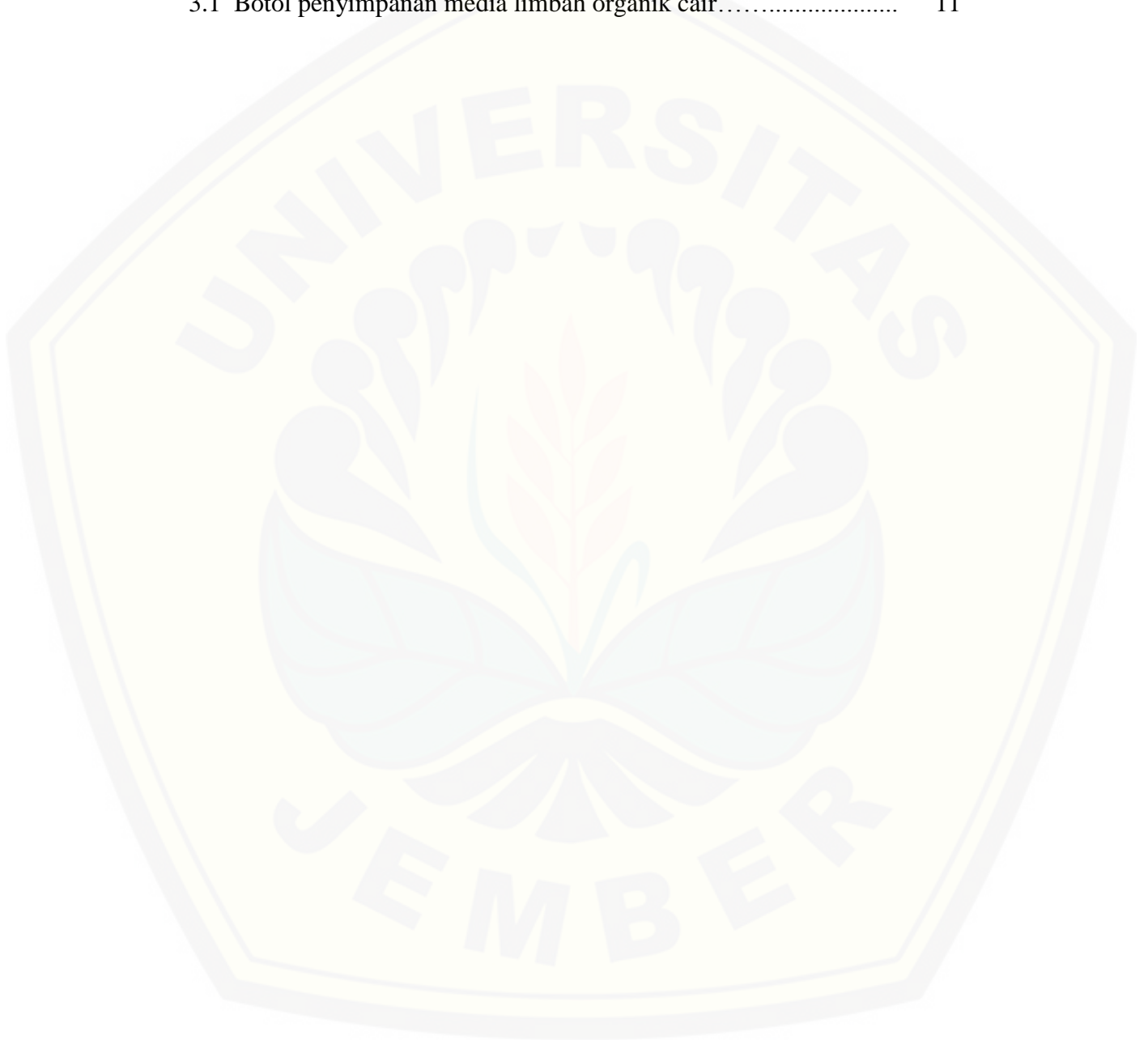
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	9
<b>3.1 Waktu dan Tempat</b> .....	9
<b>3.2 Bahan dan Alat</b> .....	9
<b>3.3 Metode Penelitian</b> .....	9
3.3.1 Pembiakan <i>P. diminuta</i> .....	9
3.3.2 Persiapan Limbah Organik Cair sebagai Media Alternatif untuk <i>P. diminuta</i> .....	9
<b>3.4 Rancangan percobaan</b> .....	10
<b>3.5 Pembiakan dan Penyimpanan <i>P. diminuta</i> pada Media Limbah         Organik Cair</b> .....	10
<b>3.6 Uji Daya Tahan <i>P. diminuta</i> pada Media Limbah Organik         Cair</b> .....	11
3.6.1 Uji Kepadatan Populasi .....	11
3.6.2 Uji Jumlah Total Sel .....	12
3.6.3 Viabilitas .....	12
<b>BAB 4. HASIL dan PEMBAHASAN</b> .....	13
<b>4.1 Hasil Pengaruh Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan         terhadap daya tahan bakteri <i>P. diminuta</i></b> .....	13
<b>4.2 Pengaruh Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan terhadap         daya tahan bakteri <i>P. diminuta</i></b> .....	14
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	17
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	17
<b>5.2 Saran</b> .....	17
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	18
<b>LAMPIRAN</b> .....	20

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Karakteristik Kandungan Ampas Tahu dan Limbah Cair per 100 gram Ampas Tahu dan 100 ml Limbah Cair.....	7
2.2 Komposisi air buah kelapa.....	8
4.1 Populasi ( $10^9$ cfu/ml) bakteri <i>P. diminuta</i> yang hidup dalam media limbah air tahu, tetes tebu, air kelapa, NB (kontrol).....	13
4.2 Viabilitas (%) bakteri <i>P. diminuta</i> yang hidup dalam media limbah air tahu, tetes tebu, air kelapa, NB (kontrol).....	13

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Penampang mikroskopi bakteri <i>Pseudomonas diminuta</i> , dengan ukuran antara 3,5 $\mu\text{m}$ hingga 4,4 $\mu\text{m}$ .....	5
3.1 Botol penyimpanan media limbah organik cair.....	11





**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
1. Data asli perolehan jumlah total sel dan populasi bakteri.....	20
2. Data asli perhitungan viabilitas.....	22
3. Data Viabilitas Bakteri Transformasi Arcsin.....	22
4. Analisis Ragam Viabilitas Bakteri.....	23
5. Data Populasi bakteri.....	23
6. Analisis Ragam Populasi Bakteri.....	24
7. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A1.....	24
8. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A2.....	25
9. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A3.....	25
10. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A4.....	26
11. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A1....	26
12. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A2....	27
13. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A3....	27
14. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A4....	28

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penggunaan pestisida kimia telah menimbulkan dampak negatif dalam mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT), yaitu munculnya hama sekunder, resistensi hama, resurgensi hama, musnahnya musuh alami, gangguan kesehatan bagi manusia, keseimbangan ekosistem dan pencemaran lingkungan. Oleh karena itu diperlukan alternatif cara pengendalian lain yang lebih aman dan ramah lingkungan. Pengembangan metode pengendalian alternatif di dalam teknik pengendalian hama dan penyakit yaitu dengan menggunakan pengendalian biologi yang sesuai dengan prinsip pengendalian hama terpadu (PHT) .

Salah satu agen hayati yang dapat dikembangkan untuk pengendalian hayati adalah dengan menggunakan bakteri. Bakteri yang di gunakan dalam penelitian ini yaitu *Pseudomonas diminuta*. Menurut Asyiah dkk., (2009), *Pseudomonas diminuta* ini mampu menurunkan jumlah populasi Nematoda Sista Kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*) sampai 49% secara *in vitro* di rumah kaca yang berasal dari isolasi di tanah perkebunan kentang. Bakteri yang lainnya yaitu *B. stearothermophilus*, dan *Bacillus alvei*. Pengujian dengan HPLC menunjukkan bahwa ketiga rizobakter tersebut menghasilkan sitokinin dan giberellin yang cukup tinggi sehingga bakteri tersebut dapat dikategorikan sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR). PGPR banyak dipakai sebagai bahan aktif bioformula aplikasi lapang di Indonesia saat ini. Bakteri tersebut terbukti mampu menurunkan NSK dan tanaman perangkap *S. sisymbriifolium*. Menurut Nurjanah (2009) spesies *G. rostochiensis* dan *G. pallida* sudah ditemukan di Wonosobo Jawa Tengah. Penyebaran dan peningkatan jumlah populasi NSK sangat cepat di Jawa Tengah di sekitar Banjarnegara dan Wonosobo dimana pertanaman kentang ada sepanjang tahun. Oleh karena itu bakteri *P. diminuta* perlu diperbanyak secara massal tanpa menghabiskan biaya yang tinggi dengan mencari media alternatif yang paling efektif dalam memproduksi bakteri. Media alternatif yang lebih ekonomis dan mudah didapat akan lebih menguntungkan dibandingkan media skala laboratorium.

*P. diminuta* merupakan bakteri yang bersifat saprofit, yaitu dapat hidup dan berkembang pada sisa-sisa bahan organik. Berdasarkan sifat tersebut bakteri *P. diminuta* memungkinkan hidup pada limbah organik cair. Di sekitar daerah industri terdapat limbah cair yang mencemari lingkungan dan tidak diolah kembali menjadi limbah yang bermanfaat. Hanya sebagian kecil saja yang diolah dan dimanfaatkan. Contohnya seperti pengolahan limbah air beras yang dijadikan media alternatif bagi *Bacillus subtilis* B12, pengolahan limbah cair tahu menjadi nata de soya dan limbah air kelapa menjadi nata de coco (Ahmadi, 2007). Limbah tebu yang berupa ampas tebu, molasse, daun dan pucuk, bisa dimanfaatkan untuk pakan ternak yang bergizi. Seperti molasse yang mengandung gula, kandungan protein, dan total pencernaan yang tinggi (Khuluq, 2012).

*P. diminuta* disimpan pada media limbah organik cair selama 9 minggu untuk mengetahui daya tahan bakteri tersebut. Sehingga diketahui berapa lama bakteri tersebut berkembang, maka di lakukan uji viabilitas. Diperlukan informasi untuk aplikasi di lapang mengenai daya tahan bakteri *P. diminuta* dibiakan pada limbah organik cair dalam jangka waktu dan suhu tertentu. Untuk menguji viabilitas dan efektivitas *Pseudomonas diminuta* maka dilakukan suatu penyimpanan dengan beberapa jenis media yang berasal dari limbah organik.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut,

1. Apakah media limbah organik cair yang efektif untuk pembiakan bakteri *P. diminuta* ?
2. Bagaimana pengaruh lama penyimpanan terhadap daya tahan bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan pada media limbah organik cair ?

### 1.3 Tujuan

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini yaitu,

1. Mengetahui media limbah organik cair yang efektif dari limbah tahu, air kelapa dan tetes tebu untuk pembiakan bakteri *P. diminuta*.
2. Mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan pada media limbah organik cair.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut,

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai penggunaan limbah organik cair sebagai media alternatif pertumbuhan *P. diminuta*.
2. Pemanfaatan limbah organik cair sebagai media alternatif bagi pertumbuhan *P. diminuta* diharapkan akan memberikan nilai tambah yang baik terhadap limbah organik cair dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan.

### 1.5 Hipotesis

Penggunaan limbah cair organik tetes tebu, air kelapa, dan air tahu dapat digunakan untuk media pertumbuhan bakteri *P. diminuta*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pengendalian Hayati

Dalam Peraturan Menteri Pertanian Nomor 411 tahun 1995 disebutkan bahwa agen hayati adalah setiap organisme yang meliputi spesies, subspecies, varietas, dan semua jenis nematoda, bakteri, protozoa, cendawan (fungi), mikoplasma, serangga, virus, serta semua mikroorganisme lainnya dalam semua tahap perkembangannya yang dapat dipergunakan untuk keperluan pengendalian hama dan penyakit atau organisme pengganggu, pengolahan hasil pertanian, proses produksi, serta untuk keperluan lainnya (Supriadi, 2006).

Salah satu contoh pengaplikasian pengendalian hayati yaitu penggunaan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Manfaat PGPR yaitu dapat meningkatkan perkecambahan benih dan perkembangan akar pada tanaman. Rhizobakter ini dapat membantu pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan hormon pertumbuhan. Di samping itu PGPR juga melindungi tanaman dari penyakit yang disebabkan oleh bakteri, cendawan, dan nematoda. PGPR mempengaruhi pertumbuhan tanaman dengan cara fiksasi nitrogen, sintesis hormon, pelarutan zat-zat mineral dan sintesis enzim yang dapat mengatur hormon pada tanaman (Siddiqui dalam Kusumowardani, 2008).

### 2.2. *Pseudomonas diminuta*

#### 2.2.1 Klasifikasi *Pseudomonas diminuta*

Kedudukan *Pseudomonas diminuta* menurut Holt, et al. (1994) dalam sistematika (taksonomi) Bakteria diklasifikasikan sebagai berikut:

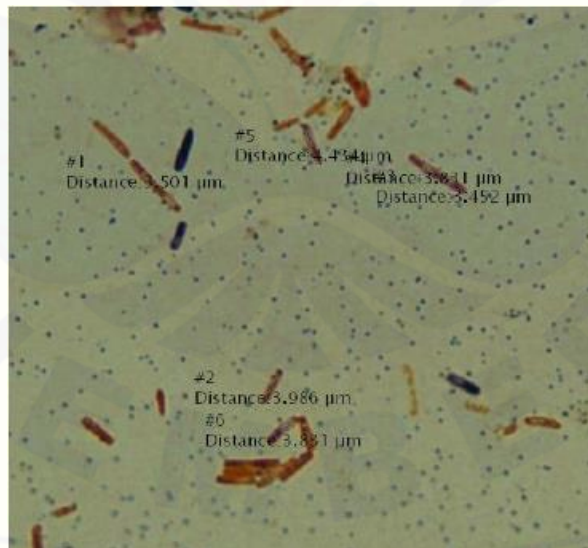
Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Alphaproteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas diminuta</i>

*Pseudomonas diminuta* adalah bakteri gram negatif yang dapat membantu mikoriza untuk berkembang di dalam tanah, sehingga bakteri ini disebut dengan *Micorrhiza Helper Bacteria* (MHB).

### 2.2.2 Biologi *Pseudomonas diminuta*

Bakteri *Pseudomonas diminuta* yang memiliki bentuk batang lurus dengan panjang 1,5 - 5  $\mu\text{m}$  dan lebar antara 0,5 – 1  $\mu\text{m}$ . Kelompok bakteri *Pseudomonas* termasuk bakteri gram negatif, kelompok bakteri ini memiliki bentuk batang lurus. Pergerakan bakteri *P. diminuta* dilakukan dengan menggunakan 1 flagella ditubuhnya. Bakteri ini juga tidak membentuk pertunasan ditubuhnya, dan juga tidak memiliki selubung disekitar tubuhnya (Holt *et al*, 1994).

*P. diminuta* mengakumulasi *poly- $\beta$ -hydroxybutyrate* sebagai bahan cadangan karbon, selain itu bakteri ini juga membutuhkan bahan organik untuk pertumbuhan seperti (biotin, pantothetane, dan yang lainnya). *P. diminuta* termasuk bakteri aerob yang memanfaatkan oksigen untuk akseptor elektronnya, selain itu bakteri ini tidak bisa memanfaatkan nitrat sebagai sumber nitrogen. (Holt *et al*, 1994).



**Gambar 2.1** Penampang mikroskopi bakteri *Pseudomonas diminuta*, dengan ukuran antara 3,5  $\mu\text{m}$  hingga 4,4  $\mu\text{m}$  (Fauzi, 2014).

Bakteri *P. diminuta* mampu menghidrolisis arginin, dekarboksilase lysine, dekarboksilase ornithine, serta tidak mampu memproduksi senyawa  $\text{H}_2\text{S}$ , tidak

mampu memproduksi urea, deaminase triptophane, mampu memproduksi acetoin, memiliki enzim gelatin, mengoksidasi glukosa, mengoksidasi manitol, mengoksidasi sucrose, mengoksidasi cytochrome, motil, dapat tumbuh pada media MacConkey, serta dapat memfermentasi dan mengoksidasi glukosa. *P. diminuta* merupakan bakteri yang dapat meningkatkan produksi ko-enzim Q10, CoQ10 yang berfungsi sebagai sistem transport elektron pada prokariota dan eukariota, dan bersifat aerobik (Bule and Rekha, 2009). Produk ekstraseluler yang dihasilkan berupa enzim-enzim, yaitu elastase, protease, dan dua hemolisin, fosfolipase C yang tidak tahan panas, phenazine dan rhamnolipid (Johnson, 1994).

### 2.3 Limbah Organik Cair

Produksi agens antagonis seperti *P. fluorescens* dan *B. subtilis* tidak hanya dapat dilakukan pada media laboratorium saja. Sifat saprofitik yang dimiliki agens antagonis tersebut memungkinkan penggunaan media alternatif dari limbah organik cair. Limbah organik cair banyak yang dapat dimanfaatkan sebagai media alternative seperti limbah cair peternakan dapat dijadikan media untuk pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* (Ratdiana 2007), limbah air beras dapat dijadikan media alternatif bagi *Bacillus subtilis* B12 (Ahmadi 2007), selain itu guano yang merupakan feses dari kelelawar juga dapat digunakan sebagai agens antagonis terhadap penyakit bercak coklat oleh *Alternaria solani* (Sari 2007).

#### 2.3.1 Tetes Tebu

Produksi tebu di Indonesia termasuk tinggi. Limbah yang dihasilkan seperti pucuk, daun, bagas, dan molasse bisa digunakan untuk pakan ternak sedangkan limbah lain seperti abu dan blotong dapat dimanfaatkan sebagai pupuk organik (Pancawati, 2000; Yuliani dan Nugraheni dalam Khuluq, 2012). Komposisi nutrisi yang terkandung dalam tetes tebu meliputi 0 % air; 0,8% kalsium; 2,5 % protein kasar; 10,5 % mineral; 58 % karbohidrat dan 0,1 % fosfor. Tetes tebu juga mengandung riboflavin 3 mg/kg; tiamin 0,8 mg/kg; niacin 28 mg/kg, dan asam panthotenet 35 mg/kg (Kusumowardani, 2008).

### 2.3.2 Limbah Tahu

Limbah tahu banyak di hasilkan oleh pabrik-pabrik tahu. Limbah tahu ini pun penggunaannya juga sangat terbatas dan umumnya limbah ini juga di buang ke sungai, yang kemudian sungai dan lingkungan sekitar tercemar karenanya. Seiring berjalannya teknologi, limbah tahu ini bisa memproduksi enzim dan zat antibiotika dengan cara memanfaatkan limbah tersebut sebagai substrat untuk menumbuhkan mikroba untuk memproduksi berbagai jenis bahan yang bermanfaat bagi industri. Selain itu pembuatan nata de soya merupakan salah satu pemanfaatan limbah tahu yang telah dilakukan. Pengolahan tersebut melibatkan bakteri *Acetobacter xylinum* yang memanfaatkan protein dan karbohidrat dalam limbah itu sebagai sumber energi untuk hidup dan berkembang biak (Kusumowardani, 2008). Maka dari pada itu limbah tahu ini sangat berpotensi dihasilkan sebagai substrat pembiakan bakteri.

Tabel 2.1. Karakteristik Kandungan Ampas Tahu dan Limbah Cair per 100 gram Ampas Tahu dan 100 ml Limbah Cair

Limbah	Energi (kalori)	Air (gr)	Protein (gr)	Lemak (gr)	C (gr)	N (gr)	Mineral (gr)	K (mg)	P (mg)
Ampas	393	4,9	17,4	5,9	66,6	0,8	4,3	19	29
Cair	79	53,4	10,4	4,9	24,1	0,5	62	55	365

Kandungan yang terdapat pada air tahu ini yaitu kadar air 99,28%; kadar abu 0,06%; total padatan 0,67%; protein 0,17%; lemak 0,09%; karbohidrat 0,35%; dan pH 4,27. Limbah cair tahu merupakan sumber media yang baik untuk pertumbuhan mikroba, termasuk bakteri antagonis, tetapi untuk memperoleh hasil pertumbuhan yang optimal diperlukan tambahan nutrisi berupa sumber karbon dan sumber nitrogen (Hariyadi *et al.*, 2002).

### 2.3.4 Air Kelapa

Tanaman kelapa di indonesia begitu banyak tumbuh di belahan negeri ini. Produksi dari tanaman ini pun begitu banyak, namun untuk air kelapa tua pemanfaatannya masih kurang. Karena menimbulkan polusi asam asetat yang terbentuk dari fermentasi air kelapa yang di sebabkan oleh air kelapa tua yang terbuang percuma (Yolanda *et al.*, 2011).



Maka dari pada itu air kelapa perlu di manfaatkan dengan mengolah nya jadi lebih bermanfaat. Salah satunya di gunakan untuk media tumbuh bakteri tertentu. Pemanfaatan limbah organik cair sebagai media tumbuh bakteri tertentu telah dilakukan sejak lama. Misalnya nata de coco yang terbuat dari limbah air kelapa dengan penambahan bakteri *Acetobacter xylinum*. Komposisi nutrisi air kelapa termasuk bagus dan lengkap. Semakin tua umur buah kelapa, maka semakin baik nutrisinya. Komposisi tersebut yaitu 95,5% air; 4% karbohidrat; 0,1% lemak; 0,02% kalsium; 0,01% fosfor; 0,5% besi, asam amino, vitamin C, vitamin B kompleks, dan garam-garam mineral (Vigliar *et al.*, 2006).

Tabel 2.2 Komposisi air buah kelapa (Palungun, 2006)

Sumber Air (dalam 100 g)	Kelapa Muda	Kelapa Tua
Kalori	17,0 Kal	-
Protein	0,2 g	0,14 g
Lemak	1,0 g	1,5 g
Karbohidrat	3,8 g	4,6 g
Kalsium	15,0 mg	-
Fosfor	8,0 mg	0,5 mg
Besi	0,2 mg	-
Air	95,5 g	91,5 g
Bagian yang dapat dimakan	100 g	-

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Mei sampai bulan September tahun 2014.

### 3.2 Alat dan bahan

Alat-alat yang di gunakan pada penelitian ini yaitu: kertas saring, cawan petri, autoklaf, vortex, lemari pendingin, *shaker*, tabung plastik, mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: media *Nutrient Agar* (NA), air tetes tebu, air kelapa, limbah tahu, NaOH 0,1 M, *Nutrient Broth*, glukosa, micro pipet, hemasitometer, aquades.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Pembiakan *P. diminuta*

*P. diminuta* yang dibiakan yaitu dari kultur stok koleksi dari Dr. Iis Nur Asyiah, SP.,MP. Sebanyak satu lup. *P. diminuta* diambil, dilakukan secara aseptik dari kultur stok dan digoreskan pada cawan petri steril yang berisi media Na padat dan diinkubasi pada suhu ruang.

#### 3.3.2 Persiapan Limbah Organik Cair sebagai Media Alternatif untuk *P. diminuta*

Ada 4 macam media yang berbeda yang di gunakan di dalam penelitian ini, yaitu tiga macam media alternatif, dan satu media laboratorium sebagai kontrol. Media alternatif yang digunakan yaitu air tetes tebu, air kelapa, dan limbah air tahu, sedangkan media NB (*Nutrient Broth*) digunakan sebagai kontrol.

1. Air kelapa: Media air kelapa diperoleh dari buah kelapa yang sudah tua, dan diambil airnya. Air kelapa yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring dan disesuaikan pH-nya menjadi 7 dengan menambahkan NaOH 0,1 M. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf.

2. Limbah air tahu: Limbah air tahu yang digunakan sebagai media alternatif yaitu limbah cair hasil dari proses pembuatan tahu. Limbah tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring. Kemudian dimodifikasi dengan komposisi akhir 2 % glukosa; 18 % aquades; dan 80 % limbah tahu dengan pH 7 dengan menambahkan NaOH 0,1 M. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf.
3. Tetes tebu: Tetes tebu yang digunakan memiliki konsentrasi 30 % dan dimodifikasi dengan penambahan 70 % aquades dengan pH 7 dengan menambahkan NaOH 0,1 M. Kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf.

### 3.4 Rancangan percobaan

Pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor yang pertama adalah Jenis limbah (A) yang terdiri dari 4 macam dan faktor yang kedua adalah lama penyimpanan (B) yang terdiri dari 5 taraf. Kombinasi dari faktor yang diuji adalah 20 kombinasi perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali, sehingga total kombinasi perlakuan sebanyak 60 plot.

1. Faktor pertama : Jenis limbah terdiri dari 4 macam (A) yaitu :  
A1 = Air tahu, A2 = Tetes tebu, A3 = Air kelapa, A4 = Kontrol (*Nutrient Broth*)
2. Faktor kedua : Lama penyimpanan (B) terdiri dari 5 taraf yaitu :  
B1 = 1 Minggu, B2 = 3 Minggu, B3 = 5 Minggu, B4 = 7 Minggu, B5 = 9 Minggu

### 3.5 Pemiakan dan Penyimpanan *P. diminuta* pada Media Limbah Organik Cair

Isolat *P. diminuta* yang ditumbuhkan pada media NA selama 24 jam diambil sebanyak satu lup dan dimasukkan ke dalam 20 ml media *Nutrient Broth*. Kemudian diinkubasi dengan menggunakan shaker selama 13 jam dengan kecepatan 100 rpm. Suspensi *P. diminuta* diinokulasikan ke dalam masing-masing media alternatif dan NB sebagai kontrol dengan perbandingan 1:100 ml. Media disimpan pada suhu ruang. Pada proses penyimpanan, media yang telah

ditambahkan *P. diminuta* ditempatkan pada botol untuk penyimpanan selama sebelas minggu yang kemudian akan diuji daya tahannya pada minggu ke-1, 3, 5, 7, 9. Masing-masing botol berisi 25 ml/media dari media kontrol, limbah tahu, tetes tebu dan air kelapa.



**Gambar 3.1** Botol penyimpanan media limbah organik cair

### 3.6 Uji Daya Tahan *P. diminuta* pada Media Limbah Organik Cair

#### 3.6.1 Uji Kepadatan Populasi

Untuk uji kepadatan populasi atau daya tahan menggunakan metode pengenceran berseri. Caranya yaitu sebanyak 1 ml *P. diminuta* yang dibiakan pada media limbah organik cair diinokulasikan ke dalam 9 ml aquades steril lalu dicampur secara merata dengan menggunakan vorteks, maka didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril dan dicampur kembali dengan menggunakan vorteks, dan seterusnya hingga pengenceran  $10^{-8}$ .

*Plating* hanya dilakukan pada pengenceran  $10^{-8}$  yaitu dengan cara menyebar 100 micro liter ( $100 \mu\text{l} = 10^{-1} \text{ ml}$ ) suspensi yang telah diencerkan ke dalam cawan dengan media Pikovskaya padat. Pengujian ini dilakukan dengan tiga kali ulangan. Pengamatan yaitu dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh setelah 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh selanjutnya dikonversikan ke bentuk cfu/ml dengan rumus :

$$\Sigma \text{Populasi} = \frac{\text{Jumlah koloni pada pengenceran ke-}}{\text{faktor pengenceran} \times \text{volume suspensi yang disebar (ml)}}$$

### 3.6.2 Uji Viabilitas

Uji viabilitas yaitu jumlah sel dapat dihitung dari jumlah sel total yang tidak membedakan jumlah sel hidup atau mati, dan jumlah sel hidup (*viable count*). Jumlah total sel mikrobial dapat ditetapkan secara langsung dengan pengamatan mikroskopis, dalam sampel cairan yang diamati menggunakan metode counting chamber, dengan alat haemocytometer. Dengan perhitungan sebagai berikut:

$$S = \frac{t.d}{n.0,25} \cdot 10^{-6}$$

- S : Jumlah bakteri
- t : Rata-rata jumlah bakteri dalam kotak kecil
- d : Faktor pengenceran
- n : Jumlah kotak kecil yang di amati
- $10^{-6}$  : Standar haemocytometer
- 0,25 : Volume cairan dalam kotak kecil

Perhitungan viabilitas dilakukan untuk mengetahui berapa persen bakteri yang hidup seluruhnya pada media.

Setelah di temukan hasil nya maka di lakukan penghitungan sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel seluruhnya}} \times 100\%$$

### 3.6.3 Lama Penyimpanan

Lama penyimpanan diamati untuk mengetahui populasi bakteri pada jenis limbah yang dijadikan media bakteri *P. diminuta* selama 9 minggu. Populasi diamati dengan menggunakan colony counter dan viabilitas menggunakan haemocytometer. Setelah di amati selama 9 minggu pada minggu ke-1, minggu ke-3, minggu ke-5, minggu ke-7, minggu ke-9 maka dapat di ketahui media mana yang paling efektif untuk dijadikan media tumbuh bakteri *Pseudomonas diminuta*.

**BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN**

**4.1 Hasil Pengaruh Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan terhadap daya tahan bakteri *P. diminuta***

Hasil pada penyimpanan 9 minggu dengan beberapa jenis limbah berupa limbah air tahu, tetes tebu, air kelapa dan NB (kontrol) dengan diamati dengan 2 metode pengamatan didapatkan hasil sebagai berikut.

**Tabel 4.1** Populasi ( $10^9$  cfu/ml) bakteri *P. diminuta* yang hidup dalam media limbah air tahu, tetes tebu, air kelapa, NB (kontrol).

Jenis Limbah	Lama Penyimpanan pada minggu ke				
	1	3	5	7	9
A1	92,00 b	170,33 b	332,33 a	169,33 b	166,33 b
A2	48,67 b	224,33 a	235,00 a	125,00 ab	105,33 b
A3	73,67 c	270,33 ab	304,33 a	136,67 bc	102,00 c
A4	101,67 a	257,33 a	215,00 a	190,00 a	164,67 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

**Tabel 4.2** Viabilitas (%) bakteri *P. diminuta* yang hidup dalam media limbah air tahu, tetes tebu, air kelapa, NB (kontrol).

Jenis Limbah	Lama Penyimpanan pada minggu ke				
	1	3	5	7	9
A1	1,22 c	2,62 ab	3,63 a	2,46 ab	2,38 b
A2	1,46 b	2,99 a	3,31 a	2,00 b	2,11 b
A3	1,78 b	3,13 a	2,94 ab	2,22 ab	2,16 ab
A4	1,73 a	2,62 a	2,97 a	2,46 a	2,45 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Pengaruh lama penyimpanan pada suhu ruang *P. diminuta* pada setiap media cair organik (Tabel 4.2) menunjukkan hasil yang berbeda-beda terhadap kontrol (NB). Untuk viabilitas rata-rata tertinggi bakteri ada pada media air kelapa dengan nilai 1,78% pada minggu ke-1, dan 3,13% pada minggu ke-3 kemudian nilai tertinggi ada pada media limbah air tahu pada minggu ke-5 dengan nilai 3,63% dan terendah ada pada media limbah Tetes tebu pada minggu ke-9 dengan 2,11%. Pada minggu ke-9 nilai tertinggi ada pada media kontrol NB dengan nilai 2,45%. Secara keseluruhan, *P. diminuta* yang dibiakkan pada media air tahu menunjukkan daya tahan yang paling tinggi di antara media lainnya. Tetapi perbedaan daya tahan di berbagai jenis limbah tersebut tidak terlalu signifikan.

Untuk populasi jumlah bakteri yang hidup pada minggu ke-1 jumlah tertinggi ada pada media kontrol NB dengan  $101 \times 10^9$  cfu/ml, dan terendah ada pada media limbah tetes tebu dengan  $48 \times 10^9$  cfu/ml. pada minggu ke-3 tertinggi ada pada media air kelapa dengan  $270 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada air tahu dengan  $170 \times 10^9$  cfu/ml. Kemudian pada minggu ke-5 tertinggi ada pada media air tahu dengan  $332 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada media kontrol NB dengan  $215 \times 10^9$  cfu/ml tetapi pada minggu ke-7 media kontrol NB tertinggi dengan  $190 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah pada media tetes tebu dengan  $125 \times 10^9$  cfu/ml. Pada minggu ke-9 tertinggi ada pada media air tahu dengan  $166 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada media air kelapa dengan  $102 \times 10^9$  cfu/ml. Secara keseluruhan yang terendah tetap ada pada media tetes tebu dan tertinggi ada pada air kelapa.

#### **4.2 Pengaruh Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan terhadap daya tahan bakteri *P. diminuta***

Populasi dan viabilitas *P. diminuta* pada 9 minggu penyimpanan tidak mengalami penurunan yang sangat drastis, atau dengan kata lain bakteri agens hayati tersebut mampu bertahan hingga 9 minggu setelah dibiakkan pada limbah cair organik baik pada suhu ruang. Hal ini memberikan keuntungan tersendiri dimana formulasi bakteri ini pada limbah organik cair dapat dilakukan untuk jangka waktu yang cukup lama. Dinamika populasi yang tinggi ada pada air kelapa. Data dinamika populasi *P. diminuta* yang dibiakkan pada berbagai media limbah cair serta dilakukan penyimpanan pada suhu ruang menunjukkan pertumbuhan populasi yang rendah.

Pertumbuhan *P. diminuta* pada media tetes tebu yang stabil tapi lebih rendah jumlah populasi dan viabilitasnya karena pada media ini ada karbohidrat sebesar 58 %. Menurut Kusumowardani (2008), Adanya sumber karbon yang cukup banyak menyebabkan media tersebut tidak dapat langsung digunakan, yang berakibat tidak maksimalnya pertumbuhan *P. diminuta* pada media ini. Tetes tebu mempunyai kandungan C kompleks sehingga sulit untuk dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi *P. diminuta*. Oleh karena itu puncak pertumbuhan *P. diminuta* pada media tetes tebu rendah sampai minggu ke-9. Komposisi kimia dari tetes

tebu disebutkan oleh ESHA research (2010) yang menyebutkan bahwa 12 mg/ 100gr abu dalam tetes tebu terkandung mineral kalsium 11,75%; copper 14%; iron 13,28%; magnesium 7,34%; manganase 18%; fosfor 0,55%; potasium 9,37%; selenium 3,47% sodium 0,31% dan zinc 0,93% . Menurut Margantis and Pace (1985) Dalam Rusdan (2011) bahwa dalam 100gr tetes tebu terdapat kandungan protein 0,81%, karbohidrat 24,42% serta glukosa 27,14%. Pertumbuhan bakteri pada media ini untuk populasinya cenderung lebih rendah, walaupun tetap stabil. Tetapi untuk viabilitasnya pada minggu ke-5 mengalami kenaikan yang lebih tinggi. Tapi untuk minggu yang lain tetap lebih rendah dari pada air kelapa yang pertumbuhan bakterinya lebih tinggi namun tetap stabil.

Pertumbuhan *P. diminuta* pada media limbah air tahu menurut Hariyadi *et al.* (2002) karena adanya kadar abu 0,06%, protein 0,17%, total padatan 0,67%, pH 4,27, karbohidrat 0,35%, kadar air 99,28%, dan lemak 0,09%. Karbohidrat yang ada pada limbah air tahu berfungsi sebagai sumber karbon merupakan senyawa kompleks, oleh karena itu pada media limbah tahu ini tidak bisa langsung digunakan. Maka dari pada itu agar dapat langsung digunakan perlu penambahan glukosa sebagai sumber karbon. Sumber karbon dari penambahan glukosa tersebut membuat pertumbuhan bakteri pada limbah air tahu ini mengalami pertumbuhan yang drastis penurunan dan kenaikannya karena sumber karbon dari glukosa tersebut menjadi sederhana dan bisa langsung digunakan. Dari minggu ke-3 langsung naik pada minggu ke-5 dengan nilai yang tinggi. Tapi untuk minggu ke-7 langsung turun dengan drastis juga. Maka dengan pertumbuhan seperti ini walaupun nilai pertumbuhan yang lebih tinggi, maka bisa terjadi penurunan bakteri yang lebih banyak. Menurut hamdiyanti (2010), Pada minggu ke-3 menuju ke-9 mengalami fase log atau pertumbuhan eksponensial, dimana fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Dan kemudian mengalami fase stationer pada minggu ke-5. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Berdasarkan Tabel 4.1 dan 4.2 pertumbuhan air tahu begitu drastis kenaikan dan penurunannya. Sehingga pertumbuhannya tidak stabil walaupun tinggi jumlahnya.



Menurut Hidayat, *et al*, (2010) air kelapa mengandung gula (1,7-2.6%) dan protein (0,14-0,2%). Secara khusus, air kelapa kaya akan kalsium, beberapa vitamin seperti vitamin C, riboflavin, asam folat, biotin, tiamin, asam nikonat, asam panthotenat sehingga selain bisa berpotensi digunakan sebagai bahan produk makanan dan minuman air kelapa bisa digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Lengkapnya nutrisi yang ada pada media limbah ini, membuat hasil dari pertumbuhan bakteri lebih stabil.

Fase lag (fase adaptasi) bisa di lihat dari minggu ke-1, yang kemudian pada minggu ke-3 mengalami fase log (fase pertumbuhan cepat), kemudian pada minggu ke-5 mengalami fase stationer (fase statis) dan terus mengalami fase penurunan populasi (decline) pada minggu ke-7 dan minggu ke-9. Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu tertentu. Di antara setiap fase terdapat suatu periode peralihan dimana waktu dapat berlalu sebelum semua sel memasuki fase yang baru. Pertumbuhan bakteri yang stabil, baik dari populasi dan viabilitasnya menunjukkan bahwa media limbah air kelapa merupakan jenis limbah yang baik untuk pertumbuhan *P. diminuta* selama 9 minggu pertumbuhan yang stabil.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Media air kelapa merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan *P. diminuta*. Pertumbuhan selama 9 minggu baik dari viabilitas dan populasinya yang stabil dan cukup tinggi, membuat limbah ini menjadi media yang terbaik dibandingkan *P. diminuta* yang dibiakkan pada media air tahu dan tetes tebu. Media terendah pertumbuhannya ada pada media tetes tebu dengan pertumbuhan yang relatif stabil.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya tahan *P. diminuta* secara maksimal pada media limbah organik cair pada air kelapa, tetes tebu, dan air tahu di lapangan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, Heri. 2007. Skrining, Pembiakan masal, dan induksi sporulasi agens antagonis penyakit kudis (*Streptomyces scabies*) pada kentang. Skripsi. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Asyiah, N.I, Soekarto, Husain, M, dan Wijaya. 2009. *Pemanfaatan Rizobakter dan Mikoriza Vesicular Arbuskular (MVA) dalam Pengendalian Nematoda Sista Kentang (Globodera rostochiensis)*. Laporan Penelitian KKP3T.
- Bule, M.V., Rekha S. Singhal. 2009. Use of carrot juice and tomato juice as natural precursors for enhanced production of ubiquinone-10 by *Pseudomonas diminuta* NCIM 2865. *J. Food Chemistry*. 116, 302–305.
- ESHA reaserch., 2010. Blackstrap Molasses. Food Records Containers, ESHA Foods Database, Salem, Oregon, USA.
- Fauzi, I. 2014. *Pengaruh Micorrhiza Helper Bacteria (Pseudomonas diminuta L. dan Bacilus subtilis C.) Terhadap Populasi Nematoda Parasit (Pratylenchus coffeae Z.) Dan Pertumbuhan Tanaman Kopi Arabika*. Skripsi. Jember: Jurusan Pendidikan Mipa Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas jember.
- Hariyadi P, Budijanto S, & Permana AW. 2002. *Pemanfaatan limbah cair tahu untuk memproduksi ingredient pangan fungsional [LP]*. Bogor: Lembaga Penelitian, Institut Pertanian Bogor.
- Hamdiyanti, Yanti. 2010. *Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II*. Pendidikan Biologi. FPMIPA. UPI.
- Hidayat, T., D. Sumangat dan A. N. Alamsyah. 2010. *Produksi, Pangsa Pasar, dan Diversifikasi Produk Olahan Kelapa*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A, James, T.S., Williams, S.T.1994. *Bergeys Manual® of Determinative Bacteriology: Ninth edition*. Baltimore: William & Wilkins.
- Johnson, Arthur. G dkk. 1994, *Mikrobiologi dan Immunologi*. Jakarta: Binarupa Aksara. Hlm 81.
- Khuluq, A.I. 2012. Potensi Pemanfaatan Limbah Tebu sebagai Pakan Fermentasi Probiotik. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri* 4(1),. ISSN: 2085-6717.

- Kusumowardani, A. 2008. *Kajian Jenis Limbah, Suhu, Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan Dan Potensi Antagonisme Pseudomonas fluoresces*. Skripsi, Jurusan Hama Dan Penyakit Tumbuhan Fakultas pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- May, N.L. 2011. *Diversitas Bakteri Asal Spora Fungi Mikoriza Arbuskula Gigaspora SP. Dan Glomus SP. Serta Potensinya Sebagai Mycorrhiza Helper Bacteria*. Tesis, Institut Pertanian Bogor.
- Nurjanah. 2009. *Sebaran Spesies Nematoda Sista Kentang (Globodera pallida (Stone) Behrens dan Globodera rostochiensis (Woll.) Behrens) Berdasarkan Ketinggian Tempat di Dataran Tinggi Dieng Jawa Tengah*. Tesis. Bogor: Sekolah Pasca sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Palungkun, R. 2006. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Perdana, D.A., Ebriyanto, A.l., dan Sari, I.t. 2013. Penggunaan Starter Envirosolve dan Biodekstran Untuk Memproduksi Biogas Dari Bahan Baku Ampas Tahu. *J Teknik Kimia* 1(19): 16 – 20.
- Rusdan, H.I. 2011. *Karakterisasi Parsial Enzim Renin Dari Mucor miehei Yang Ditumbuhkan Pada Media Bekatul dan Tetes Tebu Serta Aplikasinya Pada Pembuatan Keju Mozzarella (Kajian Konsentrasi Penambahan Tetes Tebu dan Lama Waktu Inkubasi)*. Skripsi. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
- Supriadi. 2006. Analisis Resiko Agens Hayati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman. *J Litbang Pertanian* 25(3): 75-80.
- Yolanda, H., dan Mulyana, Y. 2011. Uji Coba Penggunaan Limbah Air Kelapa Tua sebagai Bahan Dasar Media Isolasi. Jakarta Utara: Departemen Parasitologi, Unika Atma Jaya. *MKB*. 2011;43(3):117–21].
- Vigliar R, Sdepanian VL, & Neto UF. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. *J de Pediatria* 82(4): 308-312.

**LAMPIRAN****1. Data asli perolehan jumlah total sel dan populasi bakteri**

Lama Penyimpanan (B)	Jenis limbah (A)	Ul	Jumlah total sel (Bakteri yang hidup dan mati)	Populasi Bakteri yang hidup
Minggu ke-1	Air tahu (AT)	1	$8 \times 10^{12}$	$112 \times 10^9$
		2	$9 \times 10^{12}$	$128 \times 10^9$
		3	$6,5 \times 10^{12}$	$36 \times 10^9$
	Tetes Tebu (TT)	1	$2 \times 10^{12}$	$42 \times 10^9$
		2	$3 \times 10^{12}$	$35 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$69 \times 10^9$
	Air Kelapa (AK)	1	$4 \times 10^{12}$	$72 \times 10^9$
		2	$2 \times 10^{12}$	$128 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$21 \times 10^9$
	Nutrient Broth (Kontrol)	1	$5 \times 10^{12}$	$73 \times 10^9$
		2	$2 \times 10^{12}$	$19 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$213 \times 10^9$
Minggu ke-3	Air tahu (AT)	1	$2 \times 10^{12}$	$181 \times 10^9$
		2	$3 \times 10^{12}$	$231 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$99 \times 10^9$
	Tetes Tebu (TT)	1	$3 \times 10^{12}$	$145 \times 10^9$
		2	$2 \times 10^{12}$	$172 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$356 \times 10^9$
	Air Kelapa (AK)	1	$3 \times 10^{12}$	$253 \times 10^9$
		2	$4 \times 10^{12}$	$320 \times 10^9$
		3	$2 \times 10^{12}$	$238 \times 10^9$
	Nutrient Broth (Kontrol)	1	$3 \times 10^{12}$	$196 \times 10^9$
		2	$5 \times 10^{12}$	$480 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$96 \times 10^9$
Minggu ke-5	Air tahu (AT)	1	$2 \times 10^{12}$	$374 \times 10^9$
		2	$3 \times 10^{12}$	$282 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$341 \times 10^9$
	Tetes Tebu (TT)	1	$3 \times 10^{12}$	$211 \times 10^9$
		2	$2 \times 10^{12}$	$279 \times 10^9$
		3	$2 \times 10^{12}$	$215 \times 10^9$
Air Kelapa (AK)	1	$3 \times 10^{12}$	$366 \times 10^9$	

		2	$4 \times 10^{12}$	$338 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$209 \times 10^9$
	Nutrient Broth (Kontrol)	1	$3 \times 10^{12}$	$249 \times 10^9$
		2	$3 \times 10^{12}$	$203 \times 10^9$
		3	$2 \times 10^{12}$	$193 \times 10^9$
		1	$4 \times 10^{12}$	$152 \times 10^9$
	Air tahu (AT)	2	$2 \times 10^{12}$	$225 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$131 \times 10^9$
		1	$3 \times 10^{12}$	$183 \times 10^9$
	Tetes Tebu (TT)	2	$4 \times 10^{12}$	$104 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$88 \times 10^9$
		1	$3 \times 10^{12}$	$263 \times 10^9$
Minggu ke-7	Air Kelapa (AK)	2	$2 \times 10^{12}$	$94 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$53 \times 10^9$
		1	$5 \times 10^{12}$	$186 \times 10^9$
	Nutrient Broth (Kontrol)	2	$3 \times 10^{12}$	$328 \times 10^9$
		3	$2 \times 10^{12}$	$56 \times 10^9$
		1	$3 \times 10^{12}$	$225 \times 10^9$
	Air tahu (AT)	2	$3 \times 10^{12}$	$157 \times 10^9$
		3	$4 \times 10^{12}$	$117 \times 10^9$
		1	$2 \times 10^{12}$	$84 \times 10^9$
	Tetes Tebu (TT)	2	$3 \times 10^{12}$	$135 \times 10^9$
		3	$3 \times 10^{12}$	$97 \times 10^9$
		1	$2 \times 10^{12}$	$131 \times 10^9$
Minggu ke-9	Air Kelapa (AK)	2	$3 \times 10^{12}$	$102 \times 10^9$
		3	$2,5 \times 10^{12}$	$75 \times 10^9$
		1	$3 \times 10^{12}$	$189 \times 10^9$
	Nutrient Broth (Kontrol)	2	$3 \times 10^{12}$	$236 \times 10^9$
		3	$2 \times 10^{12}$	$169 \times 10^9$

**2. Data asli perhitungan viabilitas**

VIABILITAS	UL	MINGGU 1	MINGGU 2	MINGGU 3	MINGGU 4	MINGGU 5
AIR TAHU	1)	1.40%	9.05%	18.70%	3.80%	7.50%
	2)	1.42%	7.70%	9.40%	11.25%	5.23%
	3)	0.55%	3.30%	11.37%	3.28%	2.93%
TETES TEBU	1)	2.10%	4.83%	7.03%	6.10%	4.20%
	2)	1.17%	8.60%	13.95%	2.60%	4.50%
	3)	1.73%	11.87%	10.75%	2.20%	3.23%
AIR KELAPA	1)	1.80%	8.43%	12.20%	8.77%	6.55%
	2)	6.40%	8.00%	8.45%	4.70%	3.33%
	3)	0.70%	11.90%	5.23%	1.33%	3.00%
Nb (KONTROL)	1)	1.46%	6.53%	8.30%	3.72%	6.30%
	2)	0.95%	9.60%	6.77%	10.93%	7.87%
	3)	7.10%	3.20%	9.65%	2.80%	3.45%

**3. Viabilitas Bakteri Transformasi Arcsin**

A	B	Ulangan			Jumlah	Rerata
		1	2	3		
A1	1	1.22	1.22	1.22	3.66	1.22
	2	3.08	2.92	1.87	7.87	2.62
	3	4.42	3.08	3.39	10.89	3.63
	4	2.12	3.39	1.87	7.38	2.46
	5	2.92	2.35	1.87	7.14	2.38
A2	1	1.58	1.22	1.58	4.38	1.46
	2	2.35	3.08	3.54	8.97	2.99
	3	2.74	3.81	3.39	9.94	3.31
	4	2.55	1.87	1.58	6	2
	5	2.12	2.35	1.87	6.34	2.11
A3	1	1.58	2.55	1.22	5.35	1.78
	2	2.92	2.92	3.54	9.38	3.13
	3	3.54	2.92	2.35	8.81	2.94
	4	3.08	2.35	1.22	6.65	2.22
	5	2.74	1.87	1.87	6.48	2.16
A4	1	1.22	1.22	2.74	5.18	1.73
	2	2.74	3.24	1.87	7.85	2.62
	3	2.92	2.74	3.24	8.9	2.97
	4	2.12	3.39	1.87	7.38	2.46
	5	2.55	2.92	1.87	7.34	2.45
<b>Total</b>		50.51	51.41	43.97	145.89	2.4315

**4. Analisis Ragam Viabilitas Bakteri.**

ANOVA		FK= 354.73				
Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhit	F5%	Notasi
Perlakuan	19	22.09	1.16	3.22	1.85	*
A	3	0.07	0.02	0.06	2.84	tn
B	4	19.23	4.81	13.33	2.61	*
A x B	12	2.79	0.23	0.64	2	tn
Error	40	14.43	0.36			
Total	59	36.51				
cv	0.2					
SD	0.35					

**5. Data Populasi Bakteri**

A	B	Ulangan			Jumlah	Rerata
		1	2	3		
A1	1	112	128	36	276	92
	2	181	231	99	511	170.33
	3	374	282	341	997	332.33
	4	152	225	131	508	169.33
	5	225	157	117	499	166.33
A2	1	42	35	69	146	48.67
	2	145	172	356	673	224.33
	3	211	279	215	705	235
	4	183	104	88	375	125
	5	84	135	97	316	105.33
A3	1	72	128	21	221	73.67
	2	253	320	238	811	270.33
	3	366	338	209	913	304.33
	4	263	94	53	410	136.67
	5	131	100	75	306	102
A4	1	73	19	213	305	101.67
	2	196	480	96	772	257.33
	3	249	203	193	645	215
	4	186	328	56	570	190
	5	189	236	69	494	164.67
<b>Total</b>		3,687.00	3,994.00	2,772.00	10,453.00	174.22



**6. Analisis Ragam Populasi Bakteri.**

ANOVA	FK=	1821087				
Sumber Keragaman	DB	JK	KT	Fhit	F5%	Notasi
Perlakuan	19	354232.9	18643.83	2.78	1.85	*
A	3	14821.38	4940.46	0.74	2.84	tn
B	4	284045.4	71011.36	10.58	2.61	*
A x B	12	55366.03	4613.84	0.69	2	tn
Error	40	268369.3	6709.23			
Total	59	622602.2				
cv	0.47					
SD	47.29					

**7. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A1**

KT Galat = 2889.0667  
 dB Galat = 10  
 SD = Akar [KT Galat/Ulangan] = 31.03260

Perlakuan	B1	B5	B4	B2	B3
Rata-rata	92.000	166.333	169.333	170.333	332.333
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		97.753	102.408	104.580	106.442
Beda rata-rata					
B1		74.333	77.333	78.333	240.333
B5			3.000	4.000	166.000
B4				1.000	163.000
B2					162.000
B1	-----	-----	-----	-----	
B5		-----	-----	-----	
B4			-----	-----	
B2				-----	
Notasi	b	b	b	b	a

**8. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A2**

KT Galat	=	3650.4
dB Galat	=	10
SD	=	Akar [KT Galat/Ulangan] = 34.88266

Perlakuan	B1	B5	B4	B2	B3
Rata-rata	48.667	105.333	125.000	224.333	235.000
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		109.880	115.113	117.555	119.648
Beda rata-rata					
B1		56.667	76.333	175.667	186.333
B5			19.667	119.000	129.667
B4				99.333	110.000
B2					10.667
B1	-----	-----	-----		
B5		-----	-----		
B4			-----	-----	-----
B2				-----	-----
Notasi	b	b	ab	a	a

**9. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A3**

KT Galat	=	4992.0667
dB Galat	=	10
SD	=	Akar [KT Galat/Ulangan] = 40.79243

Perlakuan	B1	B5	B4	B2	B3
Rata-rata	73.667	102.000	136.667	270.333	304.333
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		128.496	134.615	137.470	139.918
Beda rata-rata					
B1		28.333	63.000	196.667	230.667
B5			34.667	168.333	202.333
B4				133.667	167.667
B2					34.000
B1	-----	-----	-----		
B5		-----	-----		
B4			-----	-----	
B2				-----	-----
Notasi	c	c	bc	ab	a

**10. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Populasi pada A4**

KT Galat = 15305.4  
 dB Galat = 10  
 SD = Akar [KT Galat/Ulangan] = 71.42689

Perlakuan	B1	B5	B4	B3	B2
Rata-rata	101.667	164.667	190.000	215.000	257.333
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		224.995	235.709	240.709	244.994
Beda rata-rata					
B1		63.000	88.333	113.333	155.667
B5			25.333	50.333	92.667
B4				25.000	67.333
B3					42.333
B1	-----	-----	-----	-----	-----
B5		-----	-----	-----	-----
B4			-----	-----	-----
B3				-----	-----
Notasi	a	a	a	a	a

**11. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A1**

KT Galat = 0.3729467  
 dB Galat = 10  
 SD = Akar [KT Galat/Ulangan] = 0.35258

Perlakuan	B1	B5	B4	B2	B3
Rata-rata	1.220	2.380	2.460	2.623	3.630
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		1.111	1.164	1.188	1.209
Beda rata-rata					
B1		1.160	1.240	1.403	2.410
B5			0.080	0.243	1.250
B4				0.163	1.170
B2					1.007
B1	-----	-----	-----	-----	-----
B5		-----	-----	-----	-----
B4			-----	-----	-----
B2				-----	-----
Notasi	c	b	ab	ab	a

**12. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A2**

$$\begin{aligned} \text{KT Galat} &= 0.1998933 \\ \text{dB Galat} &= 10 \\ \text{SD} &= \text{Akar [KT Galat/Ulangan]} = 0.25813 \end{aligned}$$

Perlakuan	B1	B4	B5	B2	B3
Rata-rata	1.460	2.000	2.113	2.990	3.313
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		0.813	0.852	0.870	0.885
Beda rata-rata					
B1		0.540	0.653	1.530	1.853
B4			0.113	0.990	1.313
B5				0.877	1.200
B2					0.323
B1	-----	-----	-----		
B4		-----	-----		
B5			-----		
B2				-----	-----
Notasi	b	b	b	a	a

**13. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A3**

$$\begin{aligned} \text{KT Galat} &= 0.4172267 \\ \text{dB Galat} &= 10 \\ \text{SD} &= \text{Akar [KT Galat/Ulangan]} = 0.37293 \end{aligned}$$

Perlakuan	B1	B5	B4	B3	B2
Rata-rata	1.783	2.160	2.217	2.937	3.127
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		1.175	1.231	1.257	1.279
Beda rata-rata					
B1		0.377	0.433	1.153	1.343
B5			0.057	0.777	0.967
B4				0.720	0.910
B3					0.190
B1	-----	-----	-----	-----	
B5		-----	-----	-----	-----
B4			-----	-----	-----
B3				-----	-----
Notasi	b	ab	ab	ab	a

**14. Uji Beda Jarak Berganda Duncan (DMRT) Viabilitas pada A4**

KT Galat = 0.4525667  
 dB Galat = 10  
 SD = Akar [KT Galat/Ulangan] = 0.38840

Perlakuan	B1	B5	B4	B2	B3
Rata-rata	1.727	2.447	2.460	2.617	2.967
p		2	3	4	5
SSR 5%		3.150	3.300	3.370	3.430
DMRT 5%		1.223	1.282	1.309	1.332
Beda rata-rata					
B1		0.720	0.733	0.890	1.240
B5			0.013	0.170	0.520
B4				0.157	0.507
B2					0.350
B1	-----	-----	-----	-----	-----
B5		-----	-----	-----	-----
B4			-----	-----	-----
B2				-----	-----
Notasi	a	a	a	a	a