

Pengaruh Pemberian Bakteri *Bacillus pumilus* pada kotoran Sapi Sebagai Pupuk terhadap Jumlah Kandungan Klorofil *Dunaliella salina*

The Effect of Bacteria *Bacillus pumilus* In Cow Dung As Fertilizer to Total Chlorophyll *Dunaliella salina*

Endang Dewi Masithah, Nuansa Adharia Ningrum dan Setiawati Sigit

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031 - 5911451

Abstract

Dunaliella salina is one type of natural food used in the hatchery business. Production stability *D. salina* with an abundance of nutrients can be supported. The purpose of this study was to determine the effect and how many doses of the bacteria *Bacillus pumilus* best fermented in cow dung as fertilizer in increasing the population of *D. salina*. Research conducted at the Laboratory of Education Faculty of Fisheries and Marine Fisheries, Airlangga University Surabaya. The research design used was Completely Randomized Design (CRD) is followed by Duncan test. *D. salina* was cultured in 250 mL glass bottle with 5 treatments (2 treatments as a control) and four replications. Culture medium used contained 10 ppm cow dung. The concentration of cow manure are given in the study, namely A (12.5% *Bacillus pumilus*), B (10% *Bacillus pumilus*), C (7.5% *Bacillus pumilus*), control 1 (without fermentation), control 2 (fertilizer Walne). The results showed that the addition of *Bacillus pumilus* on cow dung that were cultured in culture medium *D. salina* can increase the amount of chlorophyll content of *D. salina*. Addition of *Bacillus pumilus* by 10% in the culture medium to produce the amount of chlorophyll-*a* *D. salina* high of 0.014055 µg/mL and chlorophyll-*b* of 0.009657142 µg/mL on the first day.

Keywords : *Dunaliella salina*, cow dung, *Bacillus pumilus*

Latar Belakang

Dunaliella salina termasuk salah satu jenis fitoplankton dalam kelas Chlorophyceae (alga hijau) yang sering disebut flagellata hijau bersel satu (*green unicellulair flagellata*). Keberadaan fitoplankton jenis ini berperan penting dalam lingkungan perairan sebagai produsen primer karena *D. salina* bersifat fotosintetik, mempunyai klorofil untuk menangkap energi matahari dan karbon dioksida menjadi karbon organik yang berguna sebagai sumber energi bagi kehidupan organism air.

Setiap media kultur mempunyai komposisi unsur hara yang berbeda-beda dan masing-masing mempunyai fungsi yang berbeda pula bagi fitoplankton yang akan dibudidayakan (Prihatini *et al.*, 2007). Nutrisi merupakan sumber utama fitoplankton yang menghasilkan klorofil. Nutrisi akan dimanfaatkan oleh *D. salina*, makin tinggi kepadatan fitoplankton maka makin tinggi kandungan klorofil (Arinardi, 1997).

Kotoran sapi merupakan limbah kaya lignohemiselulosa yang mempunyai potensi cukup besar bagi proses industri yang memerlukan bahan baku mengandung lignohemiselulosa. Limbah lignohemiselulosa yang mengandung xilan, manan, arabinan dan arabinogalaktan pada kotoran sapi dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon, substrat dan *inducer* pada media pertumbuhan *Bacillus pumilus* untuk menghasilkan enzim-enzim lignohemilanase (Gunawan dan Sundari, 2003).

Guna meningkatkan kualitas kotoran sapi maka dilakukan proses fermentasi menggunakan bakteri *Bacillus pumilus*. *Bacillus pumilus* dapat mensekresikan enzim selulase untuk mendegradasi selulosa menjadi glukosa atau oligosakarida (Naved *et al.*, 1998). Manfaat dari fermentasi kotoran sapi dengan penggunaan *Bacillus pumilus* adalah untuk menambah ketersediaan nutrisi media kultur (Indrawan, 2003).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian fermentasi kotoran sapi oleh bakteri *Bacillus pumilus* sebagai pupuk terhadap peningkatan kandungan klorofil *D. salina* dan mengetahui dosis terbaik bakteri *Bacillus pumilus* pada fermentasi kotoran sapi yang memberikan kandungan klorofil *D. salina* tertinggi.

Materi dan Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan pada awal September sampai dengan Oktober 2010 di Laboratorium Pendidikan Perikanan, Program Studi Budidaya Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga.

Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan terdiri dari bahan dan alat penelitian. Bahan penelitian yang digunakan adalah isolat *D. salina* berasal dari Balai Budidaya Air Payau Situbondo, isolat bakteri

lignohemiselulolitik *Bacillus pumilus* berasal dari isi rumen sapi (hasil penelitian Lamid, 2006), pupuk Walne, kotoran sapi yang diperoleh dari kandang hewan Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Airlangga, molases, air laut, air tawar, aquadest, alkohol, klorin, Na Thiosulfat, $MgCO_3$, aceton 90% dan media peremajaan *Bacillus pumilus* yaitu menggunakan nutrisi agar.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah toples kaca (sebagai wadah penelitian), aerator set, *sterefoam*, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, mikroskop, *handcounter*, *autoclave*, spektrofotometer, centrifuge, *haemocytometer*, *test tube*, *cuvet*, refraktometer, pH *paper*, pipet volume, kapas, kasa, tisu, corong air, erlenmeyer, timbangan digital, termometer, lampu TL neon dengan panjang 1 meter, *shaker incubator*, *aluminium foil* dan kertas saring.

Metode Penelitian

Penelitian ini semua dikondisikan sama kecuali perlakuan dosis pupuk kotoran sapi. Rancangan penelitian utama yang digunakan adalah Rancangan acak lengkap (RAL) (Kusriningrum, 1989). Penelitian ini menggunakan kotoran sapi yang difermentasi dengan penambahan dosis bakteri *Bacillus pumilus*, pada perlakuan A (12,5%), B(10%), C (7,5%), kontrol 1 (tanpa fermentasi) dan kontrol 2 (pupuk Walne). Setiap perlakuan mendapat ulangan sebanyak 4 kali.

Prosedur Kerja

Persiapan Penelitian

Sterilisasi peralatan yang akan digunakan untuk kultur dilakukan dengan terlebih dahulu mencuci sampai bersih kemudian dibilas dengan air tawar. Peralatan berukuran besar yang sudah bersih direndam dengan larutan klorin 150 ppm selama 24 jam. Setelah itu, peralatan dikeringkan di bawah sinar matahari. Peralatan berukuran kecil dan terbuat dari kaca tahan panas yang akan digunakan untuk kultur disterilkan dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Peralatan ini harus ditutup dengan kapas dan kasa kemudian dibungkus dengan *aluminium foil* (Ekawati, 2005).

Sterilisasi air laut dilakukan dengan menggunakan larutan klorin. Air laut terlebih dahulu disaring dengan kapas yang diletakkan dalam corong air lalu disterilkan dengan memberikan klorin sebanyak 60 ppm dan diaerasi selama 24 jam lalu Na Thiosulfat 20 ppm diberikan untuk menghilangkan sisa-sisa klorin (Ekawati, 2005).

Nutrien yang akan digunakan juga dilakukan proses sterilisasi yaitu dengan menggunakan *autoclave*. Nutrien dimasukkan kedalam botol erlenmeyer atau *test tube* steril yang kemudian ditutup dengan menggunakan kapas + *gauze* dilapisi dengan *aluminium foil*. Setelah itu erlenmeyer atau *test tube* yang berisi nutrisi disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Persiapan Kotoran Sapi

Kotoran sapi yang akan digunakan untuk penelitian diperoleh dari kandang hewan, Fakultas Kedokteran Hewan (FKH), Universitas Airlangga, Surabaya. Kotoran sapi yang akan digunakan dikeringkan terlebih dahulu di bawah sinar matahari selama kurang lebih 4-5 hari sampai kering. Kotoran sapi kemudian digiling. Sebelum kotoran sapi dipergunakan, kotoran sapi yang telah kering terlebih dahulu dilakukan proses analisis laboratorium untuk mengetahui kadar N dan kadar P. Setelah itu kotoran sapi tersebut diberi molases, kemudian ditambahkan dengan bakteri *Bacillus pumilus* sebagai fermentor sesuai dengan perlakuan.

Persiapan Bakteri *Bacillus pumilus*

Sediaan isolat bakteri *Bacillus pumilus* yang akan digunakan adalah hasil isolasi Lamid (2006) berasal dari isi rumen sapi yang diremajakan kembali pada nutrisi agar dan dikultur selama 24 jam. Isolat bakteri *Bacillus pumilus* dilakukan peremajaan untuk mendapatkan isolat yang tetap bertahan hidup dan stabil dalam pertumbuhannya (Schlegel, 1994).

Fermentasi Kotoran Sapi dengan Menggunakan Bakteri *Bacillus pumilus*

Kotoran sapi yang telah kering dan sudah ditimbang sebanyak 5 gr difermentasi menggunakan isolat bakteri *Bacillus pumilus* dan sebagai aktivator adalah molases dan air. Proses ini diawali dengan kotoran sapi ditambahkan 4% molases (Lamid, 2006). Setelah itu ditambahkan 1,5 ml air dan isolat bakteri *Bacillus pumilus* dengan dosis yang sesuai dengan perlakuan, kemudian diaduk secara merata. Sesudah itu dimasukkan dalam plastik hitam dalam kondisi tertutup rapat dengan jangka waktu yaitu 7 hari dengan suhu 27 – 32°C. Setelah mencapai jangka waktu fermentasi yang ditentukan, kotoran sapi yang telah difermentasi dikeringkan dan siap dipakai (Nurjariah, 2005).

Persiapan Pembuatan Stok Kotoran Sapi Terfermentasi *Bacillus pumilus*

Kotoran sapi yang sudah kering dan telah difermentasi dengan isolat bakteri *Bacillus pumilus* ditimbang sebanyak 5000 mg, kemudian kotoran sapi tersebut dilarutkan dalam 500 mL aquadest. Konsentrasi larutan kotoran sapi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ppm (Masithah, 2008) dengan volume penggunaan 1 mL/L. Kemudian dilakukan proses sterilisasi pada stok yaitu dengan cara larutan kotoran sapi dimasukkan ke dalam erlenmeyer sambil disaring dengan kertas saring. Erlenmeyer yang berisi larutan kotoran sapi ditutup dengan gause (kapas yang dibalut dengan kasa) dan dibalut dengan aluminium foil lalu disterilkan menggunakan autoclave. Pembuatan larutan kotoran sapi terfermentasi bakteri *Bacillus pumilus* untuk kultur *D. salina* menggunakan rumus :

$$Q = \frac{V}{P} \times K \quad (\text{Satyantini dan Masithah, 2008})$$

Keterangan:

Q = berat bahan yang dilarutkan (mg, gram)
 V = volume pelarut/ aquadest (ml, L)
 P = volume penggunaan dalam media kultur (ml/L)
 K = konsentrasi pupuk yang diketahui (ppm, mg/L)

Persiapan Media Kultur *Dunaliella salina* dengan Pupuk Kotoran Sapi

Media kultur yang digunakan dalam penelitian adalah air yang mempunyai salinitas 33 ppt sebanyak 250 ml yang dimasukkan dalam toples kaca. Selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan kotoran sapi yang telah difermentasi dengan bakteri *Bacillus pumilus* sesuai dengan dosis perlakuan. Kemudian media kultur diletakkan di rak kultur lalu diberi aerasi dan siap dimasukkan bibit *D. salina* dengan kepadatan yang diinginkan.

Lingkungan Kultur

Lingkungan kultur dapat mempengaruhi pertumbuhan *D. salina*, oleh karena itu lingkungan dikondisikan sama untuk setiap perlakuan. Lingkungan kultur *D. salina* dalam penelitian adalah suhu 25 – 30°C, salinitas 33 ppt, intensitas cahaya 1300 – 2300 lux, pH 7 – 9 dan photoperiod 18 jam dalam keadaan terang dan 6 jam dalam keadaan gelap (Yurong, 2005).

Rak kultur ditutupi dengan plastik hitam, agar suhu ruang tetap stabil menghindari terjadinya fluktuasi suhu yang ekstrim, menghindari kontaminan dan mengatur *photoperiod*.

Kultur *Dunaliella salina*

D. salina yang digunakan untuk penelitian diperoleh dari Balai Besar Budidaya Air Payau Situbondo. Media kultur yang telah siap selanjutnya dimasukkan ke dalam botol kultur dengan kepadatan 5×10^5 sel/ml dan diaerasi. Bibit *D. salina* murni kemudian dimasukkan ke dalam botol sesuai dengan jumlah kepadatan. Wadah tersebut kemudian diletakkan pada rak-rak kultur lalu diberi pencahayaan dengan lampu TL 20 watt sebanyak 2 buah untuk setiap perlakuan.

Selama penelitian berlangsung wadah ditutup dan air medianya diberi aerasi terus menerus bertujuan untuk menjaga kestabilan pemenuhan oksigen terlarut (DO). Volume bibit atau jumlah bibit yang dibutuhkan untuk penebaran dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V1 = \frac{N2 \times V2}{N1} \quad (\text{Ekawati, 2005})$$

Keterangan:

V1 = Volume bibit untuk penebaran awal (ml)
 N1 = Kepadatan bibit/ stock *Dunaliella salina* (unit/ ml)
 V2 = Volume media kultur yang dikehendaki (L)
 N2 = Kepadatan bibit *Dunaliella salina* yang dikehendaki (unit/ ml)

Pengukuran Kandungan Klorofil

Pengukuran kandungan klorofil *D. salina* dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan metode modifikasi dari Sterman, 1988. Sampel diambil sebanyak 80 ml, selanjutnya dihitung kepadatan sel per ml *D. salina*. Sampel dibagi menjadi 8 bagian (kode A-H), masing-masing sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam cuvet sentrifuge. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit.

Setelah proses sentrifuge selesai, supernatan dibuang hingga tersisa pelletnya. Sampel A ditambah $MgCO_3$ dan 1 ml acetone 90% untuk proses ekstraksi. Sample dihomogenkan secara manual selama kurang lebih 10-15 menit. Sample kode A (1 tabung) merupakan blanko. Sedangkan pellet dari sample kode B-H (7 tabung), dijadikan satu dalam satu kuvet, selanjutnya ditambahkan $MgCO_3$ dan 1 ml acetone 90%. Sample tersebut merupakan sample kandungan klorofil yang akan dihitung pada spektrofotometer.

Sebelum digunakan, spektrofotometer dikalibrasi terlebih dahulu, sesuai dengan panjang

gelombang yang akan digunakan yaitu A_{664} dan A_{647} . Selanjutnya blanko dan sample diukur serapan cahayanya pada spektrofotometer. Selanjutnya kandungan klorofil dihitung menggunakan rumus berikut:

Kandungan klorofil-a dan klorofil-b (larutan acetone 90%) :

- a) Klorofil-a = $11,93 A_{664} - 1,93 A_{647}$
- b) Klorofil-b = $20,63 A_{647} - 5,50 A_{664}$

Sterman (1988) menyatakan bahwa setelah nilai absorban diketahui, selanjutnya nilai absorban dimasukkan ke dalam rumus di bawah ini :

$$\mu\text{g klorofil dalam ekstrak} = (\text{volume dalam ekstrak, mL})(\mu\text{g klorofil mL}^{-1})$$

$$\mu\text{mol klorofil dalam ekstrak} = \frac{\mu\text{g klorofil dalam absorban}}{\text{Berat molekul klorofil}}$$

Berat molekul : chl-a 894, chl-b 908

Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian adalah kandungan klorofil *D. salina*. Perhitungan kandungan klorofil *D. salina* dilakukan setiap dua hari yaitu pada hari pertama, ketiga dan kelima. Kandungan klorofil dihitung dengan menggunakan spektrofotometer.

Parameter Pendukung

Parameter pendukung dalam penelitian adalah suhu, pH dan salinitas. Pengamatan terhadap

suhu, pH dan salinitas dilakukan setiap hari. Parameter pendukung digunakan untuk melengkapi data dari parameter utama.

Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan ANAVA. Data yang dihasilkan bila terdapat perbedaan dapat dilakukan uji lanjutan. Uji lanjutan dengan Uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) digunakan untuk mengetahui signifikansi pengaruh perlakuan satu dengan perlakuan yang lain (Kusriningrum, 2008).

Hasil dan Pembahasan

Klorofil - a

Data pertumbuhan dan hasil Analisis Varian (ANAVA) pada hari pertama yang ditunjukkan pada tabel 1 menunjukkan bahwa masing – masing perlakuan memberi pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah kandungan klorofil-a *D. salina*. Jumlah kandungan klorofil *D. salina* hari pertama meningkat dan terus mengalami penurunan sampai pada hari kelima. Puncak yang terjadi pada hari pertama diperoleh pada perlakuan B yaitu penambahan dosis bakteri *Bacillus pumilus* sebanyak 10%.

Tabel 1. Jumlah rata-rata klorofil-a *Dunaliella salina* ($\mu\text{g/ml}$) pada hari pertama, ketiga, dan kelima

Perlakuan	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5
	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)
Kontrol 1 (tanpa fermentasi)	0.0073211 ^c \pm 0.0007963	0.007375 ^a \pm 0.0022774	0.00464 ^{ab} \pm 0.0016352
Kontrol 2 (walne)	0.012785 ^{ab} \pm 0.0008151	0.0088675 ^a \pm 0.0020201	0.00643 ^a \pm 0.0013880
Perlakuan A (12,5% <i>B. pumillus</i>)	0.0080375 ^c \pm 0.0009290	0.00672 ^a \pm 0.0006007	0.00342 ^{bc} \pm 0.0013634
Perlakuan B (10% <i>B. pumillus</i>)	0.014055 ^a \pm 0.0006668	0.00765 ^a \pm 0.0015769	0.00673 ^a \pm 0.0005061
Perlakuan C (7,5% <i>B. pumillus</i>)	0.0118225 ^b \pm 0.0008007	0.0064525 ^a \pm 0.0009294	0.00106 ^c \pm 0.0005172

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan ($p < 0,05$)

Tabel 2. Jumlah rata-rata klorofil-b *Dunaliella salina* ($\mu\text{g/ml}$) pada hari pertama, ketiga, dan kelima

Perlakuan	Hari ke-1	Hari ke-3	Hari ke-5
	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)
Kontrol 1 (tanpa fermentasi)	0.011308 ^b \pm 0.0015605	0.007375 ^a \pm 0.0022774	0.00464 ^{ab} \pm 0.0016352
Kontrol 2 (walne)	0.022361 ^a \pm 0.00128890	0.0088675 ^a \pm 0.0020201	0.00643 ^a \pm 0.0013880
Perlakuan A (12,5% <i>B. pumillus</i>)	.009657 ^b \pm 0.0027681	0.00672 ^a \pm 0.0006007	0.00342 ^{bc} \pm 0.0013634
Perlakuan B (10% <i>B. pumillus</i>)	0.021579 ^a \pm 0.0013277	0.00765 ^a \pm 0.0015769	0.00673 ^a \pm 0.0005061
Perlakuan C (7,5% <i>B. pumillus</i>)	0.009122 ^b \pm 0.0068903	0.0064525 ^a \pm 0.0009294	0.00106 ^c \pm 0.0005172

Keterangan : Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan ($p < 0,05$)

Klorofil - b

Data pertumbuhan dan hasil Analisis Varian (ANOVA) pada hari pertama yang ditunjukkan pada tabel 1 menunjukkan bahwa masing – masing perlakuan memberi pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah kandungan klorofil-a *D. salina*. Jumlah kandungan klorofil *D. salina* hari pertama meningkat dan terus mengalami penurunan sampai pada hari kelima. Puncak yang terjadi pada hari pertama diperoleh pada kontrol 2 yaitu penambahan pupuk Walne.

Kandungan Nutrien Kotoran Api

Uji laboratorium kadar nitrogen dan phosphor sebelum fermentasi adalah 1,3333 dan 1,48. Kadar unsur nitrogen kotoran sapi setelah fermentasi menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* terjadi peningkatan menjadi 1,470 sedangkan kadar unsur phosphor mengalami penurunan menjadi 0,04. Data kandungan bahan organik dapat dilihat pada tabel 4.

	Nitrogen (ppm)	Phospor (ppm)	Rasio N:P
Sebelum	1,333	1,48	1 : 1
Sesudah	1,470	0,04	37 : 1

Kualitas Air

Hasil analisis kualitas air meliputi pH, suhu dan salinitas yang memberikan pengaruh terhadap populasi *Dunaliella salina*. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari selama kegiatan penelitian. Pengukuran suhu air selama penelitian berkisar antara antara 26 – 28 °C, salinitas berkisar antara 36 – 45 ppt dan pH berkisar antara 6 – 8.

Hasil penghitungan Anova pada penelitian pengaruh pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada kotoran sapi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah klorofil-a *D. salina*. Hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*) pada hari pertama memberikan pengaruh terbaik dibandingkan dengan hari ketiga dan kelima, yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan lainnya.

Hasil penghitungan Anova pada penelitian pengaruh pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada kotoran sapi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah klorofil-b *D. salina*. Hasil uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa kontrol 2 (walne) pada hari pertama memberikan pengaruh terbaik yang berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan A (12,5%

Bacillus pumilus), C (7,5% *Bacillus pumilus*) dan kontrol 1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada kotoran sapi memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah klorofil-a dan klorofil-b *D. salina* antara perlakuan.

Hasil dari penelitian pemberian bakteri *Bacillus pumilus* pada kotoran sapi terhadap jumlah klorofil-a terendah pada kontrol 1 (tanpa fermentasi). Hal ini dikarenakan kandungan unsur hara dalam kotoran sapi masih dalam bentuk senyawa kompleks yang belum dapat memenuhi kebutuhan nutrisi *D. salina*. Denault *et al.*, (2000) juga menyatakan bahwa jumlah klorofil-a menurun seiring dengan menurunnya unsur hara pada media pemeliharaan. Kurangnya unsur hara dapat menyebabkan proses fotosintesis terhambat dan berpengaruh terhadap jumlah klorofil (Latif, 2008).

Kandungan klorofil pada hari pertama tertinggi pada perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*) bila dibandingkan dengan yang lainnya. Hal tersebut disebabkan pada perlakuan C (7,5% *Bacillus pumilus*) diduga dosis bakteri *Bacillus pumilus* yang ditambahkan pada media kultur kurang, sehingga belum mencukupi kebutuhan nutrisi yang diperlukan *D. salina* untuk tumbuh lebih baik dibandingkan perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*), sedangkan pada perlakuan A (12,5% *Bacillus pumilus*) diduga mengandung dosis *Bacillus pumilus* yang lebih banyak, mengakibatkan populasi *Bacillus pumilus* meningkat sehingga terjadi persaingan nutrisi oleh bakteri akibatnya nutrisi yang ada pada kotoran sapi menurun. Sedangkan pada kontrol 1 (tanpa fermentasi) tidak dilakukan penambahan *Bacillus pumilus*, sehingga belum mencukupi kebutuhan nutrisi yang diperlukan *D. salina* diduga karena komponen-komponen serat kasar masih belum terurai sehingga belum dapat dimanfaatkan oleh *D. salina* untuk sumber nutrisi. Pada kontrol 2 (walne) memberikan hasil yang tidak jauh berbeda dengan perlakuan B, hal ini dikarenakan komposisi kimia Walne mencukupi kebutuhan nutrisi yang diperlukan *D. salina*.

Kandungan klorofil terbaik pada perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*) hari pertama. Hal ini diduga bahwa bakteri *B. pumilus* mampu menguraikan semua komponen organik terutama lignohemisellulosa yang merupakan serat kasar yang sulit dipecah. Oleh karena itu dengan penambahan *Bacillus pumilus* diharapkan mampu memecah menjadi komponen yang lebih sederhana. Lamid, 2006 menyatakan bahwa peningkatan kandungan nutrisi kotoran sapi dapat terjadi apabila adanya

degradasi ikatan lignin dengan xilan, mannan, arabinogalaktan dan arabinan.

Berdasarkan penelitian pendahuluan, perlakuan lama fermentasi terbaik adalah perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*) yaitu fermentasi 7 hari. Hal ini menunjukkan bahwa dengan waktu fermentasi tersebut, nutrisi tersedia bagi plankton adalah optimal dibanding perlakuan lama fermentasi 5 hari dan 9 hari. Pada fermentasi 5 hari, diduga proses fermentasi belum berjalan sempurna, sehingga nutrisi tersedia lebih rendah. Pada fermentasi yang lebih lama (9 hari), diduga nutrisi hasil fermentasi digunakan untuk kehidupan dan pertumbuhan bakteri sehingga nutrisi menjadi berkurang. Lama fermentasi untuk masing-masing bahan organik dapat berbeda-beda bergantung asal bahan organik dan bakteri fermentor itu sendiri. Prasojito (2010) mendapatkan waktu fermentasi terbaik untuk kotoran ayam adalah 5 hari. Bila dibandingkan dengan penelitian ini, maka waktu fermentasi penelitian ini lebih lama. Hal ini diduga karena perbedaan asal pakan yang berbeda. Makanan ayam ternak umumnya berupa pellet dan dedak yang mengandung serat lebih rendah dibanding sapi yang mengkonsumsi rumput pakan hijauan lainnya.

Hasil uji laboratorium kadar nitrogen dan fosfor sebelum fermentasi adalah 1,3333 dan 1,48. Kadar unsur nitrogen kotoran sapi setelah fermentasi menggunakan *Bacillus pumilus* terjadi peningkatan menjadi 1,470. Sedangkan kadar fosfor setelah fermentasi mengalami penurunan menjadi 0,04. Rasio N:P sebelum fermentasi adalah 1:1. Sedangkan rasio N:P setelah fermentasi adalah 37:1. Perubahan rasio N:P setelah fermentasi, menyebabkan komposisi nutrisi menjadi lebih sesuai untuk pertumbuhan *D. salina*. Rachmawati (2002) mengatakan bahwa rasio N:P optimal untuk pertumbuhan Chlorophyceae adalah 25:1. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan B (10% *Bacillus pumilus*) memberikan hasil N tertinggi yang merupakan komponen penting bagi pertumbuhan fitoplankton (Anggadireja dkk., 2006). Hal ini disebabkan N merupakan faktor pembatas bagi pertumbuhan mikrolaga (Hanisak, 1983). Novizan (2000) dalam Latif (2008) menyatakan bahwa pupuk N di dalam perairan menyebabkan fitoplankton mengalami kepadatan yang tinggi, sehingga produksinya meningkat. N berfungsi membantu proses pembentukan klorofil-*a*, fotosintesis, protein, lemak dan persenyawaan organik lainnya (Salundik dan Simamora, 2006). Unsur P setelah fermentasi mengalami penurunan diduga aktivitas bakteri untuk

penggunaan unsur P lebih banyak daripada yang diproduksi didalam proses fermentasi.

Kesimpulan

Penggunaan pupuk kotoran sapi yang difermentasi dengan bakteri *B. pumilus* berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah kandungan klorofil *D. salina*.

Penggunaan pupuk kotoran sapi yang difermentasi dengan bakteri *B. pumilus* terhadap klorofil *D. salina* yang memberikan hasil tertinggi terdapat pada perlakuan B (pupuk kotoran sapi dengan dosis 10% bakteri *B. pumilus*).

Pada kultur *D. salina*, untuk meningkatkan jumlah kandungan klorofil *D. salina* dapat digunakan kotoran sapi yang difermentasi oleh *B. pumilus* dengan dosis 10 % sehingga limbah dapat dimanfaatkan sehingga dapat mengurangi pencemaran lingkungan.

Daftar Pustaka

- Anggadireja, J. T., A. Zatinika., H. Purwanto dan S. Istini. 2006. Rumput Laut. Penebar Swadaya. Jakarta. hal. 39-47.
- Arinardi, O.H., A.B. Sutomo, S.A. Yusuf, Trimaningsih, E. Asnaryanti dan S.H. Riyono, 1997. Kisaran Kelimpahan dan Komposisi Plankton Predominan di Perairan Kawasan Timur Indonesia. Puslitbang Oseanologi-LIPI, Jakarta.
- Denault, M., E. Stieve and I. Valiela. 2000. Effects of Nitrogen Load and Irradiance on Photosynthetic Pigment Concentration in *Cladophora vagabunda* and *Gracillaria tikvahiae* in Estuaries of Waquoit Bay. *Biology Bulletin*. 199 : 223-225.
- Ekawati, A. W. 2005. Diktat Kuliah Budidaya Pakan Alami. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. hal. 3 – 48.
- Gunawan dan Sundari. 2003. Pengaruh Penggunaan Probiotik dalam Ransum terhadap Produktivitas Ayam. <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/133-2.pdf>. 25/10/2009. 7 hal.
- Hanisak, 1983. The Nitrogen Relationships of Marine Macroalgae. In : Carpenter, E. J and D. G. Capone. Nitrogen in The Marine Environment. Academic Press Inc. New York. p. 703
- Kusriningrum, R. 1989. Dasar Perencanaan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Universitas Airlangga. Surabaya. hal.53–90.

- Lamid, M., S. Chuzaemi, N. Nyoman T. P. dan Kusmartono. 2006. Inokulasi Bakteri Xilanolitik Asal Rumen sebagai Upaya Peningkatan Nilai Nutrisi Jerami Padi. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. <http://www.mirnilamid@yahoo.com>. 11/03/2010. 7 hal.
- Nurjariah. 2005. Kelimpahan Bakteri dalam Budidaya Cacing Sutra *Limnodrilus* sp. Yang Dipupuk Kotoran Ayam Hasil Fermentasi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 34 hal.
- Prasojo, R. 2010. Pengaruh Penggunaan Pupuk Kotoran Ayam yang Difermentasi EM4 Terhadap Pertumbuhan Populasi *Dunaliella salina*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga.
- Satyantini, W.H dan E. D. Masithah. 2007. Diklat Penuntun Praktikum Budidaya Pakan Alami. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. hal. 2 – 28.
- Sterman, T. N. 1988. Spectrophotometric and Fluorometric Chlorophyll Analysis. In : Lobban, S. C., D.J. Chapman and B. P. Kremer. Experimental phycology, A Laboratory Manual Cambridge University Press. New York. P. 35-39
- Yurong, C., L. Yumin, W. Tianyun, H. Weihong and X. Lexun. 2007. Heterologous Gene Expression Driven by Carbonic Anhydrase Gene Promoter in *Dunaliella salina*. <http://www.sciencedirect.com>. 25/10/2009. 6pp.

