

III. METODE PENELITIAN.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2001 – Januari 2002. Pada laboratorium Mikrobiologi laut Stasiun Kelautan Dumai. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Rancangan percobaan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat tarap : Yaitu dengan penambahan bakteri nitrifikasi (ammonia oksidizer dan nitrit oksidizer) dalam akuarium yang sudah disediakan yang berukuran 60 x 60 x 40 cm sebanyak 12 buah diisi tanah dasar tambak yang diambil dari Tambak di Dumai. Tanah tersebut sebelumnya sudah dibersihkan dilakukan penjemuran, sehingga terbebas dari bakteri penyebab penyakit pada udang. Hewan uji yang digunakan adalah Udang Windu pada stadia post larva (PL) 20.

Perlakuannya adalah sebagai berikut :

Perlakuan A : Kontrol. Tanpa penambahan bakteri nitrifikasi, hanya udang dengan padat penebaran yang sama dilakukan petani tambak (15 ekor PL20/ akuarium).

Perlakuan B : isolat ammonium oksidizer dengan kepadatan akhir (10^2 /ml) Ditambah nitrit oksidizer (10^3 /ml) ditambah udang dengan padat penebaran yang sama dilakukan petani tambak 15 ekor PL20/ akuarium).

Perlakuan C : isolat ammonium oksidizer dengan kepadatan akhir (10^3 /ml) ditambah isolat nitrit oksidizer (10^5 /ml) ditambah udang dengan padat penebaran yang sama dilakukan petani tambak, 15 ekor PL20/ akuarium).

Perlakuan D : isolat ammonium oksidizer dengan kepadatan akhir (10^4 /ml) ditambah isolat nitrit oksidizer (10^4 /ml) ditambah udang dengan padat

penebaran yang sama dilakukan petani tambak, 15 ekor PL20/ akuarium).

Isolasi bakteri nitrifikasi, dilakukan di perairan tambak Dumai. Pengambilan sampel dilakukan pada bagian permukaan dan bagian dasar tambak, pada tiga titik sampling untuk setiap tambaknya yaitu inlet, pertengahan dan outlet. Dengan demikian diharap seluruh spesies bakteri nitrifikasi tambak dapat terisolasi.

Komposisi media kultur berdasarkan metoda Feliatra dan Bianchi (1993) yaitu untuk bakteri Ammonium Oksidizer dan Nitrit Oksidizer adalah sebagai berikut : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaNO_2 , NaHCO_3 , K_2HPO_4 , komposisi oligoelemen adalah EDTA monosidic, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Molybdate $\text{NH}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, B_3H_3 . Komposisi larutan vitamin adalah Cobalamin, biotin, thiamin, Riboflavin, Pyridoxin, asam folat, asam nicotin, thirosin, asam pentatolat. Sedangkan komposisi oligo elemen yaitu Edta monosidique, $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Molybdate $\text{NH}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 .

Isolat-isolat yang didapat dilakukanlah identifikasian bakteri dengan berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt, et al, 1994) dengan melakukan serangkaian uji fisika dan biokimia yaitu: uji pewarnaan Gram, uji motilitas, pengamatan bentuk sel, tipe pengandungan sel, sifat aerobik dan anerobik kemampuan tumbuh pada suhu 5°C , 20°C , dan 30°C . Pengamatan dilakukan juga pada warna koloni, ukuran koloni, bentuk koloni

yang dilihat dari dalam, samping dan atas, kemampuan memproduksi catalase dan oksidase, uji halofilik dan oksidase citochrom.

Purifikasi dan Penyimpanan Isolat Bakteri.

Setelah pengembangan koloni pada cawan petri, setiap koloni yang diperoleh dibuat tiga ulangan. Akhir dari beberapa kali pengulangan minimal lima kali ulangan setiap strain, sehingga ditemukan isolat murni dari bakteri nitrifikasi. Kemudian dilanjutkan dengan identifikasi isolat. Penyimpanan koloni bakteri dilakukan pada suhu 4°C dan siap untuk digunakan pada pengujian selanjutnya.

Parameter yang dianalisis :

Analisis konsentrasi ammonia (solorzano, 1969), nitrit (Bendscheined dan Robinson, 1952) nitrat (Strickland dan Parson (1972), laju pertumbuhan udang windu dan parameter lingkungan seperti suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut.

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah thermometer, refraktometer, DO meter, kertas pH, autoklaf, timbangan analitik, inkubator, mikroskop, lampu bunsen, cawan petri, alat pemanas, gelas ukur, batang kaca, pipet transfer, tabung reaksi, erlenmeyer, pemusing magnetik, jarum ose, cover glass, objek glass, kapas, aluminium foil, akuarium ukuran 60 X 40 X 40 cm sebanyak 14 buah, kertas filter 0,45 µm , aerator, selang plastik, fiber glass, botol sampel , spektrofotometer dan haemositometer.

Persiapan Media dan Alat

Pertama-tama akuarium yang berukuran 60 x 40 x 40 cm sebanyak 12 buah diisi tanah dasar tambak yang sudah dikeringkan dengan ketebalan 5 cm dan selanjutnya diisi air laut yang sudah disaring sebanyak 60 liter untuk masing-masing perlakuan, setelah itu dipasang aerator pada masing-masing akuarium sehingga suplai oksigen terjamin sebelum udang dimasukkan. Jumlah udang windu yang di masukkan pada setiap akuarium adalah 10 ekor per akuarium.

Alat untuk keperluan kultur sebelum digunakan terlebih dahulu disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit .

Analisa Data

Hasil penghitungan perkembangan jumlah bakteri amonium oksidizer, nitrit oksidizer, konsentrasi ammonia, nitrit, nitrat, pertumbuhan berat disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, selanjutnya dianalisis dan diuraikan secara deskriptif.