

**PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI
ALTERNATIF MEDIA *NUTRIENT* AGAR UNTUK BAKTERI
*BACILLUS SUBTILIS***

KARYA TULIS ILMIAH



Oleh:

RIFATUL AULIYA USMAN

NIM.E.22.07.055

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN (STIKES) PANRITA HUSADA
BULUKUMBA
2025**

**PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI
ALTERNATIF MEDIA *NUTRIENT* AGAR UNTUK
BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS***

KARYA TULIS ILMIAH

Untuk Memenuhi Sebagai Persyaratan Mencapai Gelar Ahli Madya Teknologi
Analisis Kesehatan (A.Md.Kes) pada Program Studi DIII Teknologi
Laboratorium Medis STIKes Panrita Husada Bulukumba



Oleh:

RIFATUL AULIYA USMAN

NIM.E.22.07.055

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN (STIKES) PANRITA
HUSADA BULUKUMBA**

2025

LEMBAR PERSETUJUAN

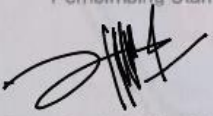

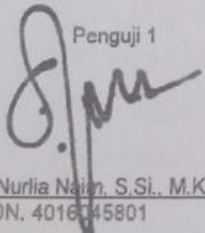
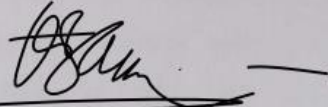
LEMBAR PERSETUJUAN

**PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI ALTERNATIF MEDIA
NUTRIENT AGAR UNTUK BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS***

PROPOSAL KTI

Disusun Oleh:
RIFATUL AULIYA USMAN
E.22.07.055

Proposal KTI ini Telah Disetujui
Pada Tanggal 12 Juli 2025

<p>Pembimbing Utama</p>  <p><u>Dzikra Arwie, S.Si., M.Kes</u> NIDN. 0924078805</p>	<p>Pembimbing Pendamping</p>  <p><u>DR. Asnidar S. KEP. NS. M. KES</u> NIDN. 0916068302</p>
<p>Penguji 1</p>  <p><u>Hj. Nurlia Najin, S.Si., M.Kes</u> NIDN. 4016045801</p>	<p>Penguji 2</p>  <p><u>Mun. Idris Mone, S. Si., M.Si</u> NIRK. 196907171992031014</p>

LEMBAR PENGESAHAN

LEMBAR PENGESAHAN

LEMBAR PENGESAHAN

PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI ALTERNATIF MEDIA NUTRIENT AGAR UNTUK BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS*

Disusun Oleh

RIFATUL AULIYA USMAN

NIM. E.22.07.055

Telah Dipertahankan Di Depan Tim Penguji

Pada Tanggal 2 AGUSTUS 2025

Dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

MENYETUJUI

1. Penguji I
Hj Nurlia Naim, S.Si, M.Kes
NIDN 4016045801
2. Penguji II
Muh Idnis Mone, S.Si, M.Si
NRK 196907171992031014
3. Pembimbing Utama
Dzikra Arwie, S.Si, M.Kes
NIDN 0924078805
4. Pembimbing Pendamping
DR. Asnidar, S.Kep, Ns, M.KES
NIDN 0916068302

([Signature])

([Signature])

([Signature])

([Signature])

Mengetahui,
Ketua STIKES Panrita Husada
Bulukumba

Dr. Muriyati, S.Kep, Ns, M.Kes
NIP 19770926 2002 12 2 007

Mengetahui,
Ketua Program Studi
Teknologi Laboratorium Medis

Andi Harmawati Novriani, HS, S.S.T, M.Kes
NIDN 0913119005

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : RIFATUL AULIYA USMAN

Nim : E.22.07.055

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Judul KTI : Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Sebagai Alternatif Media Nutrient Agar Untuk Bakteri *Bacillus Subtilis*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplak, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Bulukumba, 2 Agustus 2025



Rifatul Auliya Usman

E.22.07.055

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur saya panjatkan kehadira allah swt, berkat rahmat dan bimbingannya saya dapat menyelesaikan KTI dengan judul "Limbah cair tahu sebagai alternative media nutrient agar untuk pertumbuhan *bakteri bacillus subtilis*".KTI ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar ahli madya teknologi laboratorium medis (Amd.kes) pada program studi DIII teknologi laboratorium medis STIKes panrita Husada Bulukumba .

Bersama ini perkenalkan saya mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya dengan hati yang tulus kepada :

- A. H.Idris Aman,S.Sos selaku ketua yayasan panrita husada bulukumba yang telah menyiapkan sarana dan prasaranan sehingga proses belajar mengajar berjalan dengan baik.
- B. Dr.Muriyati.,S.Kep,M.Kes selaku STIKes panrita husada bulukumba yang memberikan motivasi dalam bentuk kepedulian sebagai orang tua yang membimbing penulis selama penyusunan proposal KTI ini.
- C. Dr .Asnidar.S,KEP,NS M.KES selaku wakil ketua 1 dalam bidang akademik yang telah memberikan arahan dalam menyusun proposal KTI ini.
- D. Andi Harmawati Novriani HS,S.ST,.M.Kes selaku ketua program studi DIII Teknologi Laboratorium Medis yang telah memberikan rekomendasi pada penulis dalam

penyusunan proposal KTI ini.

E. Dzikra Arwie, S.Si.,M.Si selaku pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan proposal KTI ini.

F. Dr. Asnidar S.KEP,NS.M.KES selaku pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktu untuk memeberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan proposal KTI ini.

G. Terimakasih Kepada Kedua orang tua saya tercinta usman ambo elleng dan rosniar, yang dengan tulusnya selalu mendoakan keberhasilan, mencurahkan kasih sayang,waktu, tenaga dan pikiran dalam pendidikan serta bimbinganya tanpa mengenal lelah bahkan mengeluh untuk memberikan yang terbaik untuk penulis dalasm menuntut ilmu. serta saudara saya dan seluruh keluarga yang saya sayangi, kepada mereka yang telah memberikan doa,motivasi,dukungan moral serta materi kepada penulis dalam menuntut ilmu.

H. Kepada Sahabatku Nurul Nafika, Nur Rahma Amalia, Risma Elviani, Waffiq Zaqiyah Ramadhani yang selalu memberikan semangat, motivasi, dukungan dan masukan dalam penyelesaikan proposal KTI ini.

I. Rekan-rekan mahasiswa Program Studi Teknologi Laboratorium Medis angkatan 2022 STIKes Panrita Husada Bulukumba yang banyak membantu dalam penulisan proposal ini.

Dan semua pihak yang telah membantu penyelesaian KTI ini. Mohon maaf atas segala kesalahan dan ketidak sopanan yang mungkin telah saya perbuat. Semoga Allah SWT senantiasa memudahkan setiap langkah-langkah kita menuju kebaikan dan selalu menganugerahkan kasih sayang-Nya untuk kita semua. Amin.

BULUKUMBA 2025

PENULIS

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	5
I. Latar belakang	5
II. Rumusan masalah.....	9
III. Tujuan penelitian.....	9
IV. Keaslian Penelitian.....	10
V. Manfaat Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
I. Tinjauan Teori.....	10
A. Bakteri.....	10
B. Bacillus Subtilis	18
C. Limbah Cair Tahu.....	23
D. Media Pertumbuhan Bakteri.....	26
II. Kerangka Teori	33
III. Kerangka Konsep	34
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	35
I. Desain Penelitian	35
II. Variabel Penelitian	35
III. Definisi Operasional	35
IV. Waktu Dan Lokasi.....	36
V. Populasi Dan Sampel.....	37
VI. Teknik Pengumpulan Data.....	37
VII. Instrument Penelitian	37
VIII. Alur Penelitian.....	46
IX. Pengolahan Data	47
X. Etika Penelitian	48
XI. Jadwal Penelitian	46
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	49
I. Hasil Penelitian	49
II. Pembahasan.....	49
III. Keterbatasan penelitian	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	58
I. Kesimpulan	58
II. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 keaslian penelitian	1
Tabel 3.1 Baku mutu air limbah.....	26
Tabel 3.3 Jadwal Penelitian.....	49
Tabel 4.1 Hasil pengamatan limbah cair tahu.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Bacillus subtilis</i>	19
Gambar 2.2 <i>Bacillus subtilis</i> dibawah mikroskop.....	20
Gambar 2.3 limbah cair tahu	23
Gambar 2.4 <i>nutrien</i> agar	31
Gamba 2.5 Kerangka Teori	33
Gambar 2.6 Kerangka Konsep.....	34
Gambar 2.7 Alur Penelitian	46
Gambar 4.1 kolonil <i>Bacillus subtilis</i> secara mikroskopis.....	50

DAFTAR SINGKATAN

Na : *Nutrien* agar

B.subtilis : *Bacillus subtilis*

ABSTRAK

PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI ALTERNATIF MEDIA NUTRIENT AGAR UNTUK BAKTERI *BACILLUS SUBTILIS*. Rifatul auliyah¹, Dzikra arwie², Asnidar³.

Latar Belakang : Tahu merupakan makanan olahan kedelai yang sangat di gemari masyarakat karena kandungan nutrisinya yang sangat tinggi. Namun, proses pembuatannya menghasilkan limbah cair tahu dalam jumlah besar yang sering dibuang tanpa pengolahan, sehingga mencemari lingkungan. limbah cair tahu diketahui mengandung nutrisi seperti protein, karbohidrat, dan lemak yang dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme.

Tujuan penelitian : Penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah limbah cair tahu dapat digunakan sebagai alternatif media nutrient agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*

Metode penelitian : Penelitian ini bersifat kualitatif yang digunakan untuk melihat bakteri *Bacillus subtilis* dengan menggunakan alternatif media limbah cair tahu.

HASIL : Menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* tidak tumbuh pada media limbah cair tahu. Dengan demikian, limbah cair tahu belum dapat digunakan sebagai media alternatif untuk bakteri *Bacillus subtilis*.

Kesimpulan : Dari konsentrasi 6%, 7%, 8%, 9% dan 10%, di dapatkan hasil konsentrasi tersebut tidak dapat menumbuhkan bakteri dan belum mampu mengganti media nutrient agar.

KATA KUNCI : *Bacillus subtilis*, limbah cair tahu, nutrient agar

ABSTRACT

USING TOFU LIQUID WASTE AS AN ALTERNATIVE NUTRIENT AGAR MEDIUM FOR *BACILLUS SUBTILIS*. Rifatul auliya usman¹, Dzikra arwie²,Asnidar³.

Background : Tofu is a highly popular soybean based food due to its high nutritional content. However, its production process produces large amounts of liquid tofu waste, which is often disposed of without treatment, polluting the environment. Liquid tofu waste is known to contain nutrient such as protein, carbohydrates, and fats, which can be used as a medium for the growth of microorganisms.

Research objective : This study aims to determine whether liquid tofu waste can be used as an alternative nutrient agar medium for *Bacillus subtilis* bacteria.

Research method: This qualitative study was conducted to observe *Bacillus subtilis* bacteria using liquid tofu waste as an alternative medium.

Result : *Bacillus subtilis* bacteria did not grow in liquid tofu wastewater. Therefore, liquid tofu wastewater cannot be used as an alternative medium for *Bacillus subtilis* bacteria.

Conclusion : At concentrations of 6%, 7%, 8%, 9%, and 10%, the results showed that these concentrations did not able to replace nutrient agar media.

Keywords : *Bacillus subtilis*, liquid tofu wastewater, nutrient agar.

BAB I PENDAHULUAN

I. Latar Belakang

Tahu merupakan salah satu produk olahan berbahan dasar kedelai yang sangat disukai oleh masyarakat karena kandungan nutrisinya yang tinggi serta harga yang terjangkau. Produk pembuatannya dikenal kaya akan protein dan asam amino, yang berperan penting dalam proses pertumbuhan, perbaikan sel tubuh, pembentukan antibodi, serta mendukung perkembangan mental anak. Konsumsi tahu secara rutin juga bermanfaat dalam mencegah berbagai penyakit degeneratif, seperti jantung, stroke, dan Alzheimer, berkat kemampuannya dalam mendukung fungsi trombosit dan sistem peredaran darah (Lubis, 2015 dalam Khofipah et al., 2023).

Akan tetapi, di balik kandungan gizinya yang tinggi, proses pembuatan produksi tahu dapat menimbulkan limbah cair dalam jumlah yang melimpah dan sering kali belum dimaksimalkan pemanfaatannya secara optimal. Limbah cair tahu mengandung nutrisi seperti karbohidrat, protein, dan lemak yang berasal dari sari kedelai yang belum terkoagulasi secara Sempurna (Aulia et al., 2024). Apabila dibuang langsung tanpa pengolahan, limbah cair tahu dapat mencemari perairan, menurunkan kadar oksigen

terlarut, serta mengganggu ekosistem air. Dapat menyebabkan masalah kesehatan pada manusia seperti diare, kolera, dan gangguan pada kulit akibat pencemaran air bersih (Lumbang Gaol & Franchitika, 2024).

Limbah cair dari produksi tahu kerap dibuang begitu saja tanpa proses pengolahan, sehingga menimbulkan aroma tidak sedap dan mencemarkan lingkungan sekitar. Oleh karena itu, pengolahan limbah sangat diperlukan untuk memanfaatkan limbah ini dalam kehidupan manusia, seperti sebagai media pertumbuhan bakteri. Limbah cair tahu mengandung nutrisi yang bisa dimanfaatkan sebagai media untuk pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme perlu asupan makroelemen seperti karbon, oksigen, hidrogen, sulfur, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, dan besi, dalam proses kehidupannya yang berperan dalam pembentukan karbohidrat, lipid, protein, dan asam nukleat.

Sebagai bahan yang melimpah dan murah dari industri tahu, limbah cair ini dapat mengurangi biaya produksi media kultur seperti *nutrient* agar. Selain itu, pemanfaatannya membantu mengurangi pencemaran lingkungan dengan mengubah limbah menjadi sumber daya bermanfaat. Dengan kemampuan menggantikan media komersial tanpa mengurangi efisiensi, pemanfaatan limbah cair tahu diharapkan dapat mendorong inovasi dan pertumbuhan industri bioteknologi lokal yang

berkelanjutan. Salah satu mikroorganisme yang berpotensi untuk dikembangkan pada media alternatif adalah bakteri *Bacillus subtilis*.

Bakteri *Bacillus subtilis* adalah bakteri yang memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati. Menurut Rahma (2008) dalam Agusta et al. (2023), bakteri ini bersifat penghambat berbagai jenis patogen dan memiliki ketahanan hidup yang baik pada lingkungan yang ekstrim. Bakteri ini juga mudah ditumbuhkan, sehingga dapat dikembangkan dalam skala industri. dengan menumbuhkan di media limbah cair tahu berpotensi mengandung cukup nutrisi seperti protein, nitrogen dll. yang mendukung pertumbuhan bakteri.

Penelitian oleh Juariah, S., & Sari, W, P. (2018) menunjukkan bahwa limbah cair tahu dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme, khususnya bakteri dari genus *Bacillus*. Penelitian tersebut membuktikan bahwa bakteri *Bacillus sp.* dapat tumbuh dengan baik pada media ini dan berpotensi digunakan sebagai pengganti *nutrient* agar. spesies *Bacillus* yang digunakan dalam penelitian sebelumnya belum diidentifikasi secara spesifik. Oleh karena itu, penelitian ini memilih *Bacillus subtilis* sebagai salah satu spesies dalam genus *Bacillus*. dalam media limbah cair tahu.

Pemilihan *Bacillus subtilis* tidak hanya didasarkan pada kemampuannya untuk tumbuh dalam media, tetapi juga pada

potensi industri yang dimilikinya, seperti dalam produksi enzim, probiotik, dan aplikasi bioteknologi lainnya. Dengan menjadikan limbah cair tahu sebagai bahan dasar media pertumbuhan, penelitian ini diharapkan dapat memberikan solusi yang berkelanjutan dalam pengelolaan limbah serta meningkatkan nilai ekonomi dari limbah cair tahu.

Beberapa penelitian juga telah menunjukkan bahwa limbah cair tahu mampu mendukung pertumbuhan mikroorganisme seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan hasil yang mendekati media komersial.

Media pertumbuhan seperti *nutrient* agar (NA) banyak digunakan dalam menumbuhkan bakteri yang telah melalui uji klinis. Namun, media ini memiliki harga yang cukup tinggi, sehingga menjadi suatu permasalahan yang membuat para peneliti ingin mengembangkan media alternatif dari bahan dasar alami yang dapat dibuat dari bahan yang mudah di dapatkan dan tidak memerlukan biaya yang mahal seperti limbah cair tahu (Dina Andriyana Thawil, 2020).

Berdasarkan hal tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah limbah cair tahu dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti media *nutrient* agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*. Penelitian ini akan dilakukan dengan metode eksperimen.

II. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah penelitian ini adalaah apakah limbah cair tahu dapat dijadikan sebagai alternatif penganti media *nutrient* agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*.

III. Tujuan penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah limbah cair tahu dapat dijadikan sebagai alternatif penganti media *nutrient* agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*.

2. Tujuan Khusus

Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan alternatif media limbah cair tahu dengan kosentrasi 6% ,7%,8%,9% dan 10% terhadap media *nutrient* agar pada bakteri *Bacillus subtilis* Keaslian Penelitian

IV. Keaslian Penelitian

Tabel 1.1.keaslian penelitian

No	Penulis	Judul	Persamaan	Perbedaan	Hasil
1	Rahmawati I & Anliza S (2024)	Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai media alternatif untuk pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> .	Metode eksperimen	bakteri <i>Escherichia coli</i>	Limbah cair tahu dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> . Konsentrasi limbah cair tahu yang paling efektif dalam pertumbuhan bakteri <i>Escherichia coli</i> yaitu konsentrasi 17,5%.
2	Thawil,D.A.,& Novalina,D (2020)	Studi literatur pertumbuhan bakteri pada media alternatif pengganti <i>nutrient agar</i>	mengeksplorasi limbah tahu sebagai media alternatif.	Mencakup berbagai media alternatif dan berbagai jenis bakteri.	Literatur menunjukkan bahwa media alternatif yang digunakan berasal dari karbohidrat (bengkuang, umbi kuning, umbi ungu), protein (limbah cair tahu, kacang hijau, kacang kedelai, tauge), dan sayuran (wortel)
3	Adlina,s.,rah mawati,L.R.,& Yuliana,A. (2021)	Penggunaan limbah cair tahu sebagai nutrisi subsitusi pada media pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .	menggunakan limbah cair tahu sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan bakteri.	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah tahu padat dan cair dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi alternatif untuk pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> . Limbah dengan konsentrasi 50% memiliki potensi lebih besar sebagai nutrisi substitusi dalam media pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> , dengan jumlah koloni bakteri yang lebih tinggi dibandingkan media lainnya, yaitu rata-rata 64 cfu.

4	Juariah,S.,&S ari ,W,P. (2018)	Pemanfaatan limbah cair industri tahu sebagai media alternatif bakteri <i>Bacillus sp.</i>	kosentrasi 6%, 7%, 8%, 9% dan 10%	Metode Spread Plate	Kosentrasi 8%, pada limbah cair tahu sangat efektif untuk mendukung pertumbuhan <i>Bacillus sp.</i> Ditandai dengan peningkatan jumlah bakteri yang baik, penyebaran koloni yang merata, serta hasil yang hampir sama dengan media kontrol positif.
---	-----------------------------------	---	--	------------------------	---

I. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberikan kontribusi dalam memperkaya pengetahuan di bidang bakteriologi, terutama mengenai pemanfaatan limbah cair tahu sebagai media alternatif untuk menunjang pertumbuhan *Bacillus subtilis*.

2. Manfaat Aplikatif

a. Terhadap peneliti

Meningkatkan pemahaman mengenai penggunaan limbah cair tahu sebagai media alternatif bagi pertumbuhan *Bacillus subtilis* dapat membuka kesempatan bagi penelitian lanjutan.

b. Terhadap tenaga kesehatan

Menambah wawasan kepada tenaga kesehatan khususnya di bagian profesi ATLM bahwa limbah cair tahu dapat dijadikan sebagai media alternatif pengganti media

nutrient agar untuk perkembangan bakteri *Bacillus subtilis*

,mendukung metode pengujian yang lebih ramah lingkungan.

c. Terhadap lembaga pendidikan

Mendorong inovasi dalam pengembangan media kultur bakteri yang lebih murah dan mudah diakses,serta mendorong kreativitas mahasiswa dan dosen.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

I. Tinjauan Teori

1. Definisi bakteri

Bakteri merupakan jenis mikroorganisme yang berukuran sangat kecil sehingga tidak bisa dilihat dengan mata telanjang, jumlahnya yang sangat banyak melebihi makhluk hidup lainnya. Terdapat ratusan ribu jenis udapat di temukan di laut, udara, dan bisa berada di tempat lingkungan yang ekstriem. (Sriyono & SE, 2020).

2. Morfologi bakteri

Adapun morfologi bakteri yaitu :

a. Bakteri bentuk batang (*basil*)

Bentuk basil dapat dibedakan menjadi tiga yaitu :

1. Basil tunggal merupakan bakteri berbentuk satu batang tunggal, contohnya *Salmonella typhi*, dapat menyebabkan penyakit tipus. (Sriyono & SE, 2020).
2. Diplobasil merupakan bakteri berbentuk batang dengan bergandengan dua. (Sriyono & SE, 2020).
3. Streptobasil merupakan bakteri berbentuk batang dengan bergandengan dan memanjang membentuk rantai contohnya *Bacillus anthracis* dapat menyebabkan penyakit antraks. (Sriyono & SE, 2020).

b. Bakteri bentuk bulat (*coccus*)

Bentuk coccus dapat dibedakan menjadi lima yaitu :

1. Monokokus adalah jenis bakteri berbentuk bulat yang berdiri sendiri, contohnya *Neisseria gonorrhoeae*, yang diketahui sebagai penyebab penyakit gonore atau kencing nanah (Sriyono & SE, 2020).
2. Diplokokus merupakan bakteri berbentuk bulat yang tersusun berpasangan, seperti *Diplococcus pneumoniae*, yang dapat menimbulkan infeksi pneumonia atau peradangan paru-paru (Sriyono & SE, 2020).
3. Sarkina adalah bakteri berbentuk bulat yang tersusun dalam kelompok beranggotakan empat sel, sehingga tampilannya menyerupai bentuk kubus (Sriyono & SE, 2020).
4. Streptokokus ialah bakteri berbentuk bulat yang tersusun dalam formasi memanjang menyerupai rantai (Sriyono & SE, 2020).
5. Stafilokokus merupakan bakteri berbentuk bulat yang membentuk koloni tidak beraturan dan menyerupai kelompok buah anggur (Sriyono & SE, 2020).

c. Bentuk spiral

Bentuk spiral dapat dibedakan menjadi tiga, sebagai berikut :

1. Spiral adalah jenis bakteri yang memiliki bentuk tubuh menyerupai spiral atau pilin, contohnya Spirillum (Sriyono & SE, 2020).
2. Vibrio merupakan bakteri dengan bentuk spiral yang tidak sempurna, misalnya Vibrio cholerae, yang menjadi penyebab penyakit kolera (Sriyono & SE, 2020).
3. Spiroseta adalah bakteri berbentuk spiral yang memiliki sifat lentur, di mana saat bergerak, tubuhnya dapat memanjang dan berkontraksi (Sriyono & SE, 2020).

3. Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

Faktor dari lingkungan dapat dipengaruhi pertumbuhan bakteri yaitu:

1. Suhu/temperature

Suhu merupakan faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Setiap bakteri memiliki rentang suhu tertentu yang mendukung pertumbuhan optimal, mencakup suhu minimum, optimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya. (Sriyono & SE, 2020).

- a. Psikrofilik adalah jenis bakteri yang mampu tumbuh pada suhu rendah, yakni antara -5°C hingga 3°C , dengan suhu optimum berkisar antara 10°C hingga 20°C (Sriyono & SE, 2020).

- b. Mesofilik tumbuh optimal pada kisaran suhu 20°C hingga 40°C, dan mampu hidup dalam rentang suhu 10°C hingga 45°C (Sriyono & SE, 2020).
- c. Termofilik dapat berkembang pada suhu antara 25°C hingga 80°C, dengan suhu ideal untuk pertumbuhan berada di kisaran 50°C hingga 60°C. Suhu optimum mencerminkan kondisi terbaik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Sebagian besar bakteri patogen yang berbahaya bagi manusia berkembang secara efektif pada suhu 37°C (Sriyono & SE, 2020)..

2. pH

pH medium Pada bakteri patogen optimalnya yaitu 7,2 – 7,6. dan tahap pertumbuhan mikroba dapat dibatasi oleh senyawa hasil metabolisme yang di hasilkan.(Sriyono & SE,2020).

3. Kelembapan

Mikroorganisme cenderung tumbuh secara optimal pada tingkat kelembapan tertentu, terutama dalam media yang bersifat basa dan lingkungan dengan kelembapan tinggi. Kadar air bebas yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan bakteri berkisar antara 0,90 hingga 0,999. (Sriyono & SE, 2020).

4. Ketersediaan Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen mikroba di bagi menjadi beberapa kelompok sebagai berikut:

- a. Aerobik : hanya hidup dan berkembang jika tersedia oksigen bebas.
- b. Anaerob : hanya tumbuh dalam kondisi tanpa oksigen.
- c. Anaerob fakultatif : mampu tumbuh baik dengan, maupun tanpa kehadiran oksigen.
- d. Mikroaerofilik : Tumbuh optimal saat oksigen tersedia dalam jumlah terbatas (Sriyono & SE, 2020).

5. Nutrisi

Mikroorganisme membutuhkan nutrisi untuk pertumbuhan dan pembentukan sel. unsur seperti karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, serta logam lainnya diperlukan. Berdasarkan sumber energi dan karbon bakteri dibedakan menjadi tiga golongan yaitu :

- a. Kemoheterotrof : bakteri yang menggunakan karbon dan energi dari senyawa organik seperti protein, karbohidrat dan lipid.
- b. Kemoautotrof : bakteri yang menggunakan dari CO₂ dan memperoleh energy dari reaksi kimia anorganik.
- c. Fototrof : bakteri yang menggunakan sumber karbon dari CO₂. (Sriyono & SE, 2020).

II. Tinjauan Teori *Bacillus subtilis*

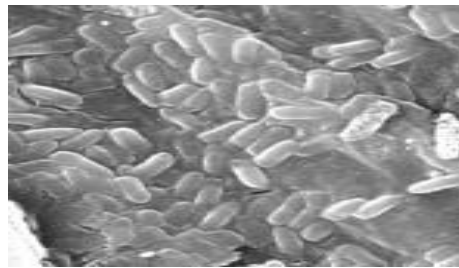
1. Definisi *Bacillus subtilis*

Menurut Soesanto (2008) dalam Agusta et al. (2023) *Bacillus subtilis* adalah bakteri yang berbentuk batang yang termasuk kelompok gram positif, aktif yang bersifat katalase positif dan mampu bertahan hidup secara anaerob fakultatif, dan bersifat heterotrof.

Bakteri *Bacillus subtilis* dapat memproduksi bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pesaing lainnya. Selain itu, *Bacillus subtilis* juga menghasilkan protein kompleks yang bersifat antagonis terhadap spesies lain. Temuan ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Chen et al. (2013), yang menunjukkan melalui uji coba di rumah kaca bahwa *Bacillus subtilis* memiliki kemampuan untuk melawan berbagai jenis patogen tanaman dan dapat bertahan hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrem.

2. Klasifikasi *Bacillus subtilis*

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



Gambar 2.1 Sel *B.subtilis* (p =40.000x)(Schmiedeknecht,2008)
dalam (Agusta et al. (2023)

3. Morfologi *Bacillus subtilis*

Menurut soesanto (2008) dalam Agusta et al. (2023) Sel bakteri *Bacillus subtilis* memiliki morfologi berbentuk batang dengan ukuran sekitar 0,5-2,5 x 1,2-10 μm dan dapat bergerak menggunakan flagela. Bakteri ini juga menghasilkan endospor berbentuk oval yang memberikan ketahanan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. *Bacillus subtilis* bersifat aerobik dan termasuk dalam kelompok mesofilik, yang mampu bertahan pada suhu antara 10 hingga 40°C dan pH minimal 4,5.

Koloni *Bacillus subtilis* yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* umumnya berbentuk batang tidak beraturan dan sering kali menyebar berkerumun, terutama bila berasal dari isolat tanah. Ukurannya bervariasi sekitar 2–3 mm, dengan koloni muda tampak lebih besar dibandingkan koloni tua yang cenderung menyusut.

Tepi koloni dapat bergelombang atau bergerigi, sedangkan permukaannya terlihat buram, kusam, dan kadang berkerut. Warna koloni umumnya putih, namun dapat juga berwarna krem hingga cokelat. Beberapa strain menghasilkan pigmen tambahan seperti kuning, jingga, merah muda, merah, cokelat, atau hitam, tergantung jenis media dan asal sampel. Strain dengan pigmen cokelat atau hitam disebut *B. subtilis* var. *aterrimus*, sedangkan strain yang menghasilkan pigmen hitam kecokelatan pada media mengandung tirosin dikenal sebagai *B. subtilis* var. *niger* (Cutting, 2017).



Gambar 2.2 bakteri *Bacillus subtilis* di bawah mikroskopis
Sumber Madya 2013 (dalam Balande,2023)

Adapun bakteri *Bacillus subtilis* dalam pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui bentuk morfologi sel ,serta sifat bakteri pengamatan dilakukan menggunakan metode pewarnaan gram.pewarnaan gram adalah cara untuk mengenali yang berperan penting dalam menemukan tipe bakteri.

Pewarnaan gram di bedakan menjadi dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif yaitu bakteri yang mempunyai lapisan peptidoglikan tebal, tidak mempunyai membra luar, mempertahankan cat warna Kristal violet dan tampak berwarna ungu tua. Sedangkan gram negatif yaitu memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga warna Kristal violetnya mudah hilang dan menyerap warna merah dari cat warna safrani. (Balande, 2023).

Adapun unsur dan syarat yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu:

1. Nutrisi merupakan asupan bagi bakteri yang berasal dari zat karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, unsur logam, vitamin serta cairan yang berperan dalam proses metabolisme dan mendukung pertumbuhan sel mikroba. (Hadimani dan Kulkarni, 2017,dalam Balande, 2023).
2. Suhu merupakan unsur lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap aktivitas mikroorganisme. Suhu dapat menentukan kecepatan perkembangan, berdampak pada jumlah hasil

perkembangan, mengubah jalannya metabolisme tertentu, juga mempengaruhi penampilan luar (morfologi) sel. Berdasarkan kisaran habitatnya, bakteri digolongkan menjadi beberapa jenis, yaitu psikrofil yang tumbuh pada suhu 0-20°C, mesofil pada suhu 25- 40°C dan suhu optimal 37°C, serta termofil yaitu bakteri yang tumbuh pada suhu antara 50-60°C. *Bacillus subtilis* termasuk dalam kelompok mesofil dengan suhu pertumbuhan optimum yaitu 30-37°C. (Hadimani dan Kulkarni, 2017, dalam Balande, 2023)

3. Bakteri *Bacillus subtilis* tumbuh pada pH antara 7-8, yang kisarannya ideal bagi pertumbuhannya. (Hadimani dan Kulkarni, 2017, dalam Balande, 2023).
4. Bakteri *Bacillus subtilis* termasuk aerob yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan optimal, namun tanpa oksigen hanya dapat bertahan dalam bentuk endospora. (Soedarto, 2015, dalam Balande 2023.)
5. Tekanan osmotik berperan penting dalam menjaga kelangsungan hidup bakteri. Media yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri adalah media yang bersifat isotonik terhadap cairan sel bakteri. Apabila bakteri berada dalam medium yang kadar zat terlarut lebih tinggi dibandingkan dengan isi selnya, maka cairan di dalam sel dapat keluar melalui membran sitoplasma, yang dikenal dengan istilah plasmolisis. (Dwijoseputro, 2018, dalam Balande 2023).

III. Tinjauan Teori Limbah Cair Tahu

1. Definisi limbah cair tahu

Limbah tahu merupakan hasil buangan dari pengolahan kedelai yang tidak terbentuk menjadi tahu. Limbah tahu ini terdiri atas dua jenis yakni dalam bentuk padat dan cair. Limbah padat yang berasal dari kotoran saat pencucian kedelai dan sisa pengilingan yang dikenal sebagai ampas tahu, sementara itu, limbah cair menghasilkan dari proses pencucian dan pengolahan tahu, umumnya jumlahnya lebih banyak dibanding limbah padat. limbah cair ini dapat mencemari sungai atau saluran air. pembuatan tahu, limbah cairnya di dapat dari kegiatan pencucian kedelai, perendaman, pencetakan, hingga pencucian peralatan. apabila limbah ini dibuang langsung ke lingkungan, akan menimbulkan bau menyengat dan dapat mencemari area sekitarnya (pagoray et al., 2021).



Gambar 2.3 limbah cair industri tahu.
sumber :Herawati,N.,Rifdah,R.,& Muthiah,N.M (2023).

2. Karakteristik limbah cair tahu

Buangan yang dihasilkan melalui tahapan pembuatan tahu terdiri atas dua jenis karakteristik, yang berbeda yakni secara fisik dan kimia. Dari aspek kimia, limbah tersebut bisa berupa gas, senyawa organik, maupun anorganik. Sementara itu, secara fisik, limbah ditandai oleh bau menyengat, perubahan warna, suhu, serta kandungan padatan, baik yang tersuspensi maupun total. Jenis limbah padat yang umum ditemukan mencakup ampas tahu, kulit kedelai, dan air yang tersisa dari ampas. Meskipun ampas tahu mengandung protein yang relatif tinggi, maka kerap dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak, air limbahnya sering kali langsung dibuang tanpa dilakukan proses pemanfaatan atau pengolahan lebih lanjut.(Lumban Gaol & Franchitika,2024).

3. Kandungan limbah cair tahu

Limbah cair tahu mengandung zat organik dengan kadar yang cukup besar, di antaranya protein berkisaran antara (40-60%),karbohidrat (25- 50%), dan lemak (10 %).kandungan tersebut berpotensi meningkatkan kadar fosfor ,nitrogen,dan sulfur di dalam air.(Putri et al.,2022)

Air limbah hasil produksi tahu terkandung senyawa organik dan sejumlah gas misalnya oksigen terlarut, hidrogen sulfida (H_2S), karbon dioksida (CO_2), dan amonia (NH_3). Bila

kadar gas-gas tersebut melewati batas yang diperbolehkan, maka dapat berdampak buruk terhadap kelangsungan hidup ekosistem perairan.(Herlambang, 2021).

Limbah cair yang dihasilkan mengandung zat padat terlalu dan tersuspensi yang dapat mengalami perubahan fisika, kimia, maupun biologis, sehingga berpotensi memicu gangguan kesehatan karena menghasikan racun atau menjadi tempat berkembangnya mikroorganisme penyebab penyakit. kondisi ini tidak hanya berdampak buruk pada kualitas produk tahu, tetapi juga membahayakan kesqewhatan manusia jika tidak segera ditangani.

4. Dampak limbah cair tahu

Limbah cair tahu berdampak terhadap lingkungan mencakup pencemaran air, tanah, dan udara, serta dapat merusak ekosistem yang perlu diatasi oleh karena itu, pengelolaan limbah air tahu yang efektif sangat penting untuk menjaga keberlanjutan lingkungan dan mengurangi dampak negatif yang di timbulkan (Vicky & nurudin 2024).

5. Penyakit yang disebabkan

Menurut Rijal dkk (2025) limbah cair tahu apabila dibuang ke sungai tanpa diolah terlebih dahulu, berpotensi mencemari air dan mengakibatkan dampak negative terhadap kesehatan masyarakat sekitar seperti gatal, diare serta penyakit lainnya.

Berdasarkan peraturan menteri lingkungan hidup no 5 tahun 2014. pembuangan limbah cair industri harus sesuai dengan baku mutu lingkungan gina menegah terjadinya pencemaran lingkungan hidup. (Ashari et al. 2020).

Tabel 2.1 Baku mutu air limbah industri tahu

PARAMETER	SATUAN	KADAR MAKSIMUM
BOD	mg/L	150
COD	mg/L	300
Ph	-	6-9
TSS	mg/L	200

Sumber ; Ashari et al.(2020) ; Permen LH No. 5 Tahun 2024

IV. Tinjauan teori media pertumbuhan bakteri

1. Definisi pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan dan perkembangan bakteri bergantung pada nutrisi pada media yang mengandung molekul kecil untuk membentuk struktur selnya, prosqews isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni dapat dilakukan melalui media kultur, yang komposisinya disesuaikan dengan jenis bakteri tertentu. perbedaan karakteristik bakteri ini yang mendorong dibuatnya beragam media pertumbuhan dalam bidang mikrobiologi. (Atmanto, et al., 2022).

2. Jenis-jenis media pertumbuhan bakteri

Media untuk pertumbuhan bakteri dapat di bedakan berdasarkan bentuknya yaitu:

a. Media padat / solid

Media ini mengandung agar sebanyak 15%. saat didinginkan, media akan menjadi padat, seperti media nutrient agar. Umumnya, media padat digunakan untuk menumbuhkan bakteri, ragi, jamur serta mikroalga. Media padat. dibedakan menjadi tiga jenis yaitu:

- 1) Media tegak.; Dituang ke dalam tabung reaksi yang ditegakkan sebagai wadahnya.
- 2) Media miring ; Dibuat dengan memiringkan tabung reaksi saat media masih panas.
- 3) Media lempeng.; Menggunakan cawan petri (petridish) sebagai wadahnya. (Atmanto, et al., 2022)

b. Media Semi padat Semi Solid.

Media ini mengandung agar sekitar 0,3-0,4%, sehingga memiliki tekstur agak kenyal, tidak terlalu padat, dan tidak terlalu cair. media semi padat ini dirancang untuk memungkinkan mikroorganisme tumbuh menyebar ke seluruh permukaan media tanpa tercampur sempurna ketika mengalami guncangan. Contohnya bakteri yang tumbuh pada media NfB (Nitrogen free Bromthymol Blue) semisolid dapat membentuk

cincin hijau kebiruan di bawah permukaan media, apabila media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur (Atmanto, et al., 2022).

c. Media Cair.

Media cair merupakan jenis media yang tidak mengandung bahan pematat dan umumnya digunakan untuk menumbuhkan mikroalga, seperti NB (Nutrient Broth) dan LB (Lactose Broth),

Keuntungan penggunaan media cair antara lain:

- 1) Memungkinkan pertumbuhan bakteri dari sampel darah atau air, terutama jika volume yang diperiksa cukup besar.
- 2) Digunakan dalam persiapan kultur untuk pembuatan antigen atau vaksin.
- 3) Bermanfaat dalam mempelajari kecepatan pertumbuhan serta proses sedimentasi sel bakteri.

Adapun Kerugian media cair yaitu :

- 1) Sulit untuk mengisolasi jenis bakteri yang berbeda dari campuran populasi.
- 2) Menyulitkan dalam pengamatan karakteristik koloni (Atmanto, et al., 2022).

Media pertumbuhan bakteri juga dapat diklasifikasikan menurut fungsi atau tujuan penggunaannya, sebagai berikut:

a. Media basal (media dasar)

Media yang dapat di dimanfaatkan sebagai dasar pembuatan

media yang lebih rumit . Dan bisa memfasilitasi perkembangan hampir seluruh tipe mikroorganisme. seperti nutrient broth, kaldu pepton (Atmanto, et al., 2022).

b. Media non selektif

Media ini dapat dimanfaatkan untuk aneka jenis mikroba dengan laju pertumbuhan yang cukup . Seperti : BHIB dan *Nutrient Agar*, untuk mengemaskan atau melipat gandakan mikroba yang akan dianalisis lebih detail.(Atmanto, et al., 2022).

c. Media selektif

Media ini dirancang agar mendukung pertumbuhan mikroba tertentu sekaligus menghambat mikroorganisme lainnya. Sifat selektif dari media dicapai melalui berbagai cara, seperti penggunaan gula sebagai sumber karbon utama, penambahan zat pewarna, antibiotik, garam, atau senyawa penghambat lain yang dapat memengaruhi proses metabolisme atau sistem enzimatik mikroorganisme. Contoh media selektif antara lain Thayer Martin agar dan Lowenstein Jensen agar. (Atmanto, et al., 2022)

d. Media diferensial

Untuk mengidentifikasi perbedaan antara organisme atau kelompok organisme yang memiliki kerkaitan dekat. Digunakan media yang mengandung zat pewarna atau senyawa kimia tertentu yang menghasilkan ciri khas atau pola

pertumbuhan spesifik. Karakteristik tersebut bisa berbentuk perbedaan warna atau bentuk koloni. Perbedaan karakteristik ini berperan penting pada tahap pembeda dan menjadi dasar utama dalam tahap identifikasi selanjutnya seperti : Mannitol Salt Agar (MSA), Mac Conkey agar, Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) Hektoen Enteric (HE) agar Xylose Lysine Desoxycholate (XLD) agar, dan Blood agar (Atmanto, et al., 2022).

e. Media diperkaya (*enrichment*)

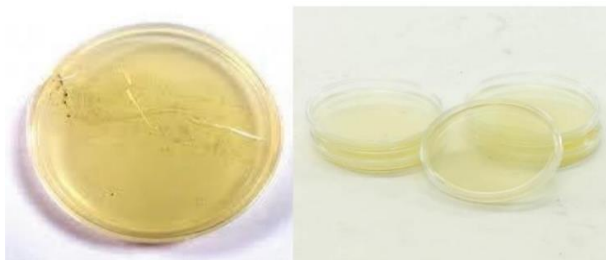
Media ini dibuat untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme tertentu karena memiliki kandungan zat gizi yang sesuai untuk mendukung pertumbuhan mikroba seperti: kaldu selenit dan kaldu tetrasonat yang memisahkan bakteri *Salmonella typhosa* dari sampel tinja. Media diperkaya (*enrichment media*) merupakan media yang telah ditambahkan komponen tertentu untuk mempercepat pertumbuhan mikroorganisme yang ditargetkan. Proses ini bertujuan untuk membantu perkembangan mikroorganisme dalam jumlah terbatas pada campuran yang mengandung aneka macam mikroorganisme seperti pada media Chocolate media, Yeast- Extract-potasium Nitrat Agar, Alkali pepton water (APW) (Atmanto, et al., 2022).

3. Media untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*

Media *nutrient* agar merupakan campuran Nutrisi yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme media ini memiliki kandungan yang dibutuhkan mikroorganisme yaitu karbohidrat, protein dan mineral yang akan diserap untuk membentuk komponen sel mikroorganisme (Atmanto et al. 2022).

Media pertumbuhan akan mendukung perkembangan mikroorganisme secara maksimal apabila memenuhi beberapa kondisi, seperti tingkat kelembapan yang cukup, pH yang sesuai, ketersediaan oksigen yang memadai, sterilitas media, serta kandungan zat gizi yang mudah diserap oleh mikroorganisme.

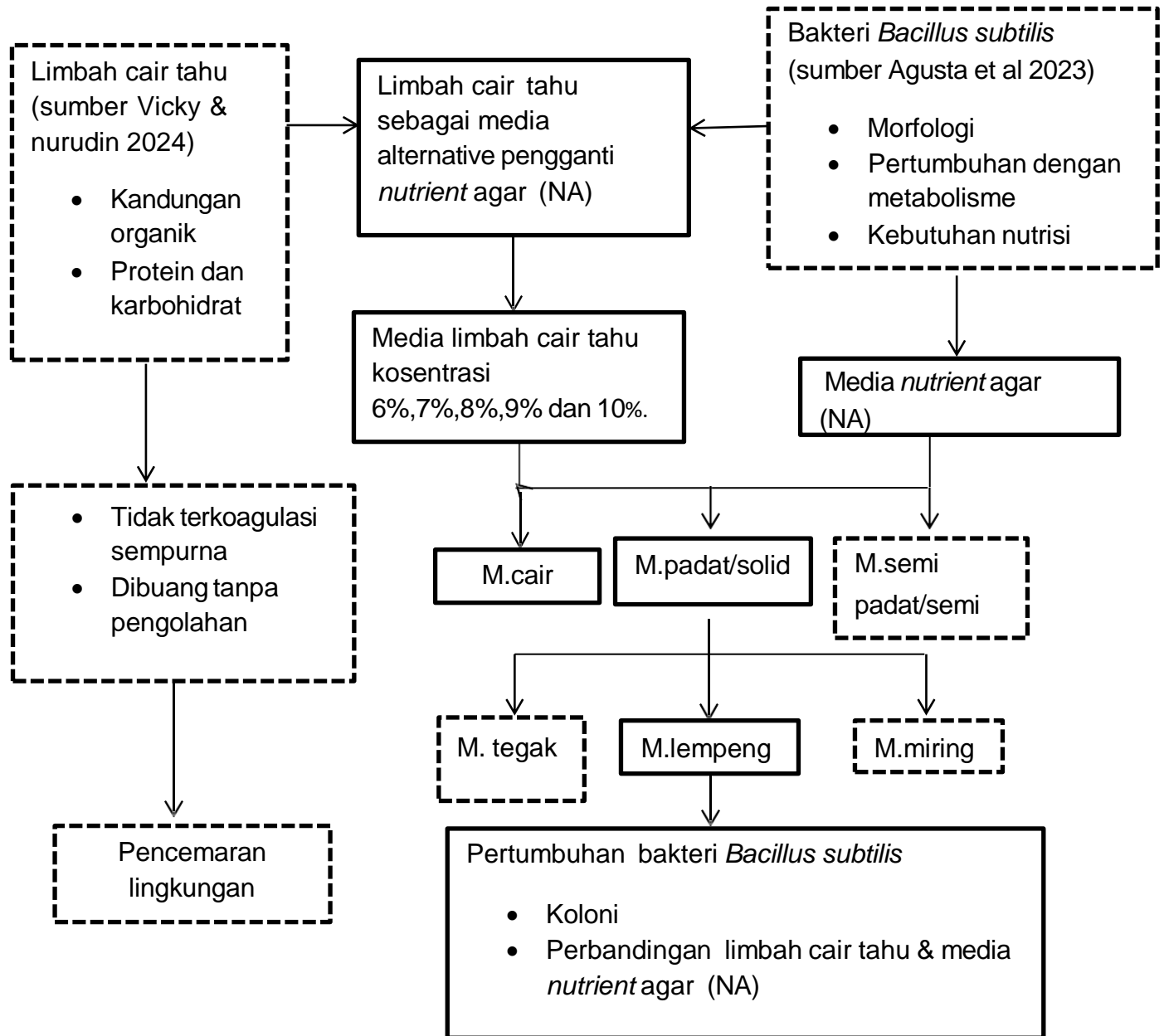
Nutrien penting yang diperlukan dalam proses pertumbuhan meliputi unsur karbon, nitrogen, unsur non-logam seperti fosfor dan sulfur, serta unsur logam seperti kalsium (Ca), seng (Zn), natrium (Na), kalium (K), tembaga (Cu), mangan (Mn), magnesium (Mg), dan besi (Fe). Selain itu, mikroorganisme juga membutuhkan vitamin, cairan, dan sumber energi. Media ini bisa berupa media cair, media padat, atau semi padat.



Gambar 2.4 Sumber : (Atmanto, et al., 2022)

Media yang di gunakan pada penelitian ini yaitu *nutrient agar.nutrient* agar (NA) merupakan media yang bisa digunakan untuk pertumbuhan mikroorganismenya, yang mengandung ekstrak daging, pepton, dan nutrient agar yang banyak di gunakan sebagai media pertumbuhan bakteri karena telah terbukti mendukung proses metabolisme yang optimal (Hasanah et al., 2024).

V. Kerangka Teori



Gambar 2.5 Kerangka teori

Ket:

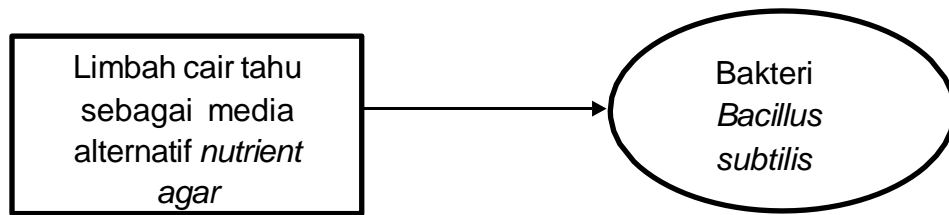


: Diteliti




: Tidak Diteliti

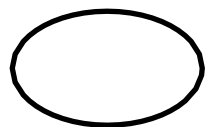
VI. Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka Konsep

Ket:

 : Variabel Independen

 : Variabel Dependen

BAB III

METEDOLOGI PENELITIAN

I. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen laboratorium yang bersifat deskriptif, dimana penelitian ini akan melihat gambaran bakteri *Bacillus subtilis* yang tumbuh di media yang terbuat dari limbah cair tahu sebagai alternatif media *nutrient agar* dengan variasi tingkat konsentrasi 6%, 7% ,8%,9% dan 10%.

II. Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini adalah variabel dependent yaitu bakteri *Bacillus subtilis* dan variabel independen yaitu limbah cair tahu, media *nutrient agar*.

III. Definisi Operasional

1. Limbah cair tahu adalah bahan alami yang limbahnya belum dimaksimalkan pemanfaatannya secara optimal. variabel yang diteliti dan digunakan sebagai media alternatif pengganti *nutrient agar*.
2. Bakteri *Bacillus subtilis* adalah jenis bakteri gram positif yang berbentuk batang. variabel yang akan diteliti pertumbuhannya menggunakan media alternatif limbah cair tahu dan *nutrient agar*.

3. *Nutrient* agar merupakan media yang digunakan untuk memperkaya pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. variabel yang digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan limbah cair tahu yang telah dibuat.

IV. Waktu Dan Lokasi Penelitian

1. Waktu penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada Juli 2025

2. Lokasi tempat pengambilan limbah cair tahu

Sampel limbah cair tahu pada penelitian ini di dapatkan dari industri tahu skala rumah tangga yang berlokasi di dusun matoanging Kabupaten Bulukumba, sampel yang diambil merupakan limbah cair tahu yang tidak terpakai dan akan di buang ke perairan sungai.

3. Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Stikes Panrita Husada Bulukumba.

V. Populasi Dan Sampel

- a. Populasi

Populasi penelitian ini adalah seluruh media pertumbuhan yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis*. Media tersebut seperti *nutrient* agar maupun media alternatif seperti limbah cair tahu.

b. Sampel

Sampel penelitian ini adalah media limbah cair tahu dengan konsentrasi 6%,7%,8% ,9% dan 10%, kontrol positif yang digunakan adalah *nutrient* agar dan bakteri *Bacillus subtilis*. serta kontrol negatife yang digunakan adalah media limbah cair tahu tanpa bakteri *Bacillus subtilis*.

VI. Teknik Pengumpulan Data

1. Data Primer

Data primer adalah data yang dikumpulkan secara langsung oleh seseorang maupun kelompok dari objek penelitian demi kepentingan studi yang berhubungan dan dapat berupa wawancara ataupun observasi (innayah,et al 2023).

2. Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang didapatkan secara tidak langsung dari objek yang diteliti yang dapat melalui literasi dan studi pustaka (innayah, et al , 2023).

VII. Instrumen penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tabung reaksi, Cawan petri, Hotplate, Autoklaf, Pipet, Ose, Aluminium foil, Inkubator, Neraca Analitik, Botol Steril, Bunsen, Saringan, Beker Glas, Oven, Sendok Tanduk, Magnetic Stirrer, Mikroskop,Objek Glass, Pipet Tetes, Rak Pewarnaan, lebel, korek api, box sterfoam, plastic warpping.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Limbah cair tahu, Agar agar Media *Nutrient Agar* (NA) NaCl 0,9 % Bakteri *Bacillus Subtilis*, Aquades. Alkohol, Kristal Violet, Lugo, Safranin, Alkohol, Akuades dan Kertas pH.

3. Prosedur penelitian

a. Pra analitik

1) Pengambilan limbah cair tahu

- b. Disiapkan bahan dan alat yang telah disterilkan sebelumnya.
- c. Dipastikan alat yang di gunakan untuk pengambilan limbah cair tahu telah disterilkan untuk mencegah kontaminasi
- d. Digunakan hands sanitizer pada telapak tangan ,kemudian kenakan sarung tangan.
- e. Dekatkan botol ke sumber limbah cair tahu.
- f. Dibuka tutup botol dengan hati-hati, dengan mensterilkan menggunakan korek api pada bibir botol saat penuangan jangan menyentuh bagian dalam botol agar tidak terkontaminasi.

- g. Kemudian pastikan untuk mengisi botol hingga batas yang di tentukan, agar saat pengisian tidak terlalu penuh untuk menghindari tumpahan.
- h. Segera tutup, setelah pengambilan sampel kemudian sterilkan dengan korek api pada penutup botol. agar mencegah kontaminasi dan pastikan tutup botol terpasang dengan rapat
- i. Setelah pengambilan sampel, catat tanggal, waktu saat pengambilan limbah cair tahu.

2) Pembuatan kosentrasi limbah cair tahu

Penelitian ini dibuat dengan 5 tingkat konsentration yaitu 6%, 7%, 8%, 9% dan 10% yang menggunakan rumus pengenceran sebagai berikut : $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$, (Indrawati et al., 2023).

V_1 : Volume limbah cair tahu yang diencerkan dengan konsentration 6%

M_1 : Konsentration limbah cair tahu yang akan diencerkan yakni 100%

V_2 : Volume ekstrak limbah cair tahu yang akan dibuat yakni 100 mL

M_2 : Konsentration larutan yang akan dibuat.

- a) Disiapkan 5 beaker gelas
- b) Tabung pertama diisi 6 mL limbah cair tahu di tambahkan dengan 94 mL aquades untuk konsentrasi 6 %
- c) Tabung kedua diisi 7 mL limbah cair tahu di tambahkan dengan 93 mL aquades untuk konsentrasi 7%
- d) Tabung ketiga diisi 8 mL limbah cair tahu ditambahkan 92 mL aquades untuk konsentrasi 8%
- e) Tabung ketiga diisi 9 mL limbah cair tahu ditambahkan 91 mL aquades untuk konsentrasi 9%
- f) Tabung ketiga diisi 10 mL limbah cair tahu ditambahkan 90 mL aquades untuk konsentrasi 10%.

3) Pembuatan media limbah cair tahu

- a) Ditimbang agar sebanyak 3 gram dengan menggunakan neraca analitik.
- b) Dimasukkan agar yang sudah di timbang kedalam masing – masing beaker glas yang berisi larutan limbah cair tahu.
- c) Dihomogenkan larutan dengan memaanaskan di atas hot plat hingga larut .
- d) Setelah agar larut ,tutup beaker glas dengan aluminium foil dan sterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.
- e) Disiapkan 10 cawan petri pada meja datar bersih ,dan keringkan kemudian di beri label, lalu tuangkan media

pada masing - masing cawan petri sebanyak 15-20 mL setelah proses sterilisasi selesai, penuangan media dilakukan secara steril.

f) Media didiamkan sampai dingin dan memadat.

4) Pembuatan media *nutrient* agar

a) Ditimbang media *nutrient* agar sebanyak 1,4 gram

menggunakan neraca analitik (dihitung menggunakan

$$\text{rumus } \frac{W1}{V1} = \frac{W2}{V2}$$

b) Dimasukkan serbuk media kedalam beaker glas dan tambahkan aquades 50 mL.

c) Dihomogenkan larutan dengan cara memanaskan di atas hot plate dan menggunakan magnetic stirrer.

d) Setelah agar larut ,tutup beaker glas dengan menggunakan aluminium foil dan sterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °c.

e) Disiapkan cawan petri pada meja datar ,bersih ,dan kering kemudian di beri label, lalu tuangkan media pada masing - masing cawan petri sebanyak 15-20 mL setelah proses sterilisasi selesai, penuangan media dilakukan secara steril

5) Pembuatan Suspensi bakteri

- a) Dipersiapkan alat dan bahan yaitu ose, Bunsen, tabung reaksi, biakan bakteri biakan *Bacillus subtilis*, rak tabung, kapas, plastic wrap. larutan NaCl.
- b) Dimasukkan 5 mL larutan NaCl kedalam tabung reaksi .
- c) Disterilisasikan jarum ose di atas nyala api bunsen hingga berubah warna menjadi merah.
- d) Diambil biakan bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan ose yang telah disterilkan.
- e) Dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl,sampai warna menjadi keruh.
- f) Ditutup menggunakan kapas dan dibungkus dengan plastic wrapping.
- g) Diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 37° C.

b. Analitik

1) Uji Pewarnaan Gram

Dilakukan untuk memastikan karakteristik bakteri *Bacillus subtilis* yang di gunakan untuk penelitian.

- a) Disterilisasikan ose dengan cara memanaskan diatas nyala api bunsen hingga membara, lalu diginkan sejenak.
- b) Diambil satu kultur bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan ose steril.
- c) Dibuat olesan tipis pada kaca objek yang bersih,diamkan

sampai kering.

- d) Difiksasi preparat dengan menyentuh bagian bawah kaca objek pada api bunsen sebanyak tiga kali .
- e) Ditetaskan larutan Kristal violet ke preparat dan diamkan selama 1 menit.
- f) Dicuci dengan aquades secara perlahan.
- g) Ditetaskan larutan lugol dan diamkan selama 1 menit.
- h) Dicuci kembali dengan aquades.
- i) Kemudian teteskan dengan alkohol 96%. hingga warna luntur, lalu segera cuci dengan aquades.
- j) sssDitetaskan larutan safrani sebagai pewarnaan kontras,diamkan sekitar 30-60 detik ,lalu cuci dengan aquades.
- k) Dikeringkan kaca objek dan amati di bawah mikroskop .
- l) Jika pewarnaan Kristal violet tidak luntur oleh alkohol dan bakteri tampak berwarna ungu, maka bakteri tersebut adalah gram positif, seperti bakteri *Bacillus subtilis*.

2) Inokulasi bakteri *Bacillus subtilis*

- a) Proses inokulasi harus dilakukan dengan sterilisasi didekat api Bunsen dan di lakukan proses disinfeksi agar menghindari kontaminasi pada alat dan meja.
- b) Disterilisasikan jarum ose di atas nyala api bunsen hingga berubah warna menjadi merah dan dilakukan biakan dingin.

- c) Diambil biakan pengenceran bakteri *Bacillus subtilis* menggunakan ose yang telah disterilkan.
- d) Dilakukan inokulasi biakan bakteri *Bacillus subtilis* dengan menggunakan teknik gores.
- e) Ditutup kembali cawan petri kemudian dilakukan proses sterilisasi kembali mulut cawan petri dengan api Bunsen.
- f) Disterilkan kembali jarum ose agar bakteri biakan yang tertinggal mati.
- g) Mulut cawan petri yang sudah ditanami biakan Bakteri *Bacillus subtilis* dibungkus dengan plastic wrapping
- h) Diinkubasi pada inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C.

3) Pengamatan bakteri *Bacillus subtilis*

a) Makroskopis

Pengamatan bakteri secara makroskopis yaitu dengan melihat secara langsung apakah media biakan alternatif limbah cair tahu dan media nutrient agar sebagai kontrol positif tersebut di tumbuhi koloni. apabila ditumbuhi maka dilanjutkan dengan pengamatan mikroskop.

b) Mikroskopis

- a) Dilakukan proses sterilisasi jarum ose dengan membakar di atas api Bunsen sampai merah dan biakan dingin.

- b) Ditetaskan 1-2 tetes pada objek gelas dengan oil imersi
- c) Diambil kultur biakan pada media cawan petri dengan jarum ose yang sebelumnya mulut cawan petri telah disterilisasikan dengan api Bunsen.
- d) Kemudian ditempelkan jarum ose yang telah ada kultur bakteri pada objek glass yang telah ditetesi oil imersi dan ditutupi dengan cover glas.
- e) Dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan pembesaran lensa okuler 100x.

c. Pasca Analitik

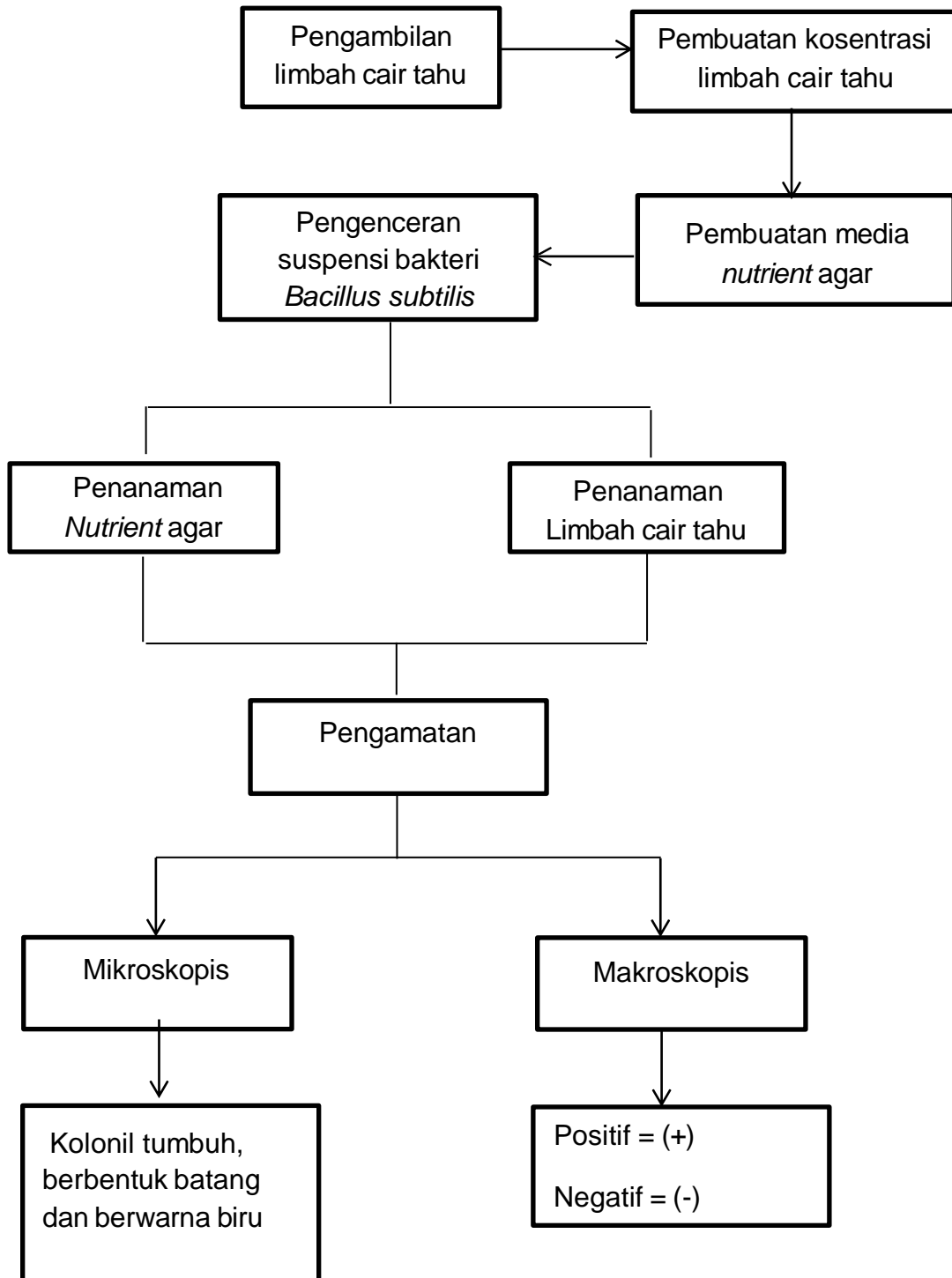
a. Pemeriksaan makroskopis

- Positif (+) : Berbentuk batang tidak beraturan dengan tepi bergelombang atau bergerigi. Warna koloni bervariasi dari putih, krem, hingga coklat, dan dapat menghasilkan pigmen kuning, jingga, merah muda, merah, coklat, atau hitam.
- Negatif (-) : Koloni tidak tumbuh.

b. Pemeriksaan mikroskopis

- Positif (+) : Berbentuk batang, dan berwarna ungu tua
- Negatif (-) : Koloni tidak tumbuh

VIII. Alur Penelitian



Gambar 2.5 Alur Penelitian (Sumber Data Pribadi)

IX. Pengolahan Dan Analisa Data

1. Pengolahan data

Data yang terkumpul diolah dan dianalisis melalui langkah sebagai berikut:

a. Editing

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium kemudian diselesaikan pemeriksaan dan di periksa kembali hasil pemeriksaan laboratorium akhir penelitian yang tujuannya untuk melihat munculnya kesalahan ketik pada laboratorium.

b. Coddling

Sampel yang diambil diberi kode untuk memudahkan pengolahan data lebih lanjut.

c. Tabulasi data

Untuk memperkirakan jumlah hasil yang di peroleh dari survey ,caranya adalah dengan mengorganisasikan data - data tersebut agar mudah digabungkan ,kemudian hasilnya diolah dan dicatat dalam sebuah table.

2. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan mengolah data yang telah terkumpul dengan cara mengelompokkan data sesuai dengan katagori penelitian ,dengan melihat bakteri *bacillus subtilis* pada

media alternatif limbah cair tahu dengan pengenceran dapat tumbuh atau tidak dengan melihat bentuk makroskopisnya selanjutnya data akan dianalisis deskriptif.

X. Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan mendapatkan izin penelitian dari program studi DIII Teknologi Laboratorium Medis Stikes Panrita Husada Bulukumba. Setelah mendapatkan persetujuan barulah peneliti perlu melakukan beberapa persiapan yaitu :

- a. Memperoleh persetujuan resmi dari pemerintah kota dengan menjelaskan tujuan penelitian.
- b. Memperlakukan partisipan penelitian dengan hormat dan sebagai mitra setara, bukan sebagai objek penelitian semata.
- c. Menjunjung tinggi norma, nilai, adat istiadat, dan budaya masyarakat di lokasi penelitian.
- d. Menjaga kerahasiaan data partisipan penelitian dan mematuhi peraturan privasi yang berlaku (Saryono & Anggraeni, 2013).

XI. Jadwal Penelitian

Tabel 3.3 jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan												
	Sep	Okt	Nov	Des	Jan	Feb	mar	Apr	Mei	jun	Jul	Agus	
Pengajuan Judul	■	■											
Screening Judul dan ACC Judul			■	■	■	■							
Pembimbingan Proposal					■	■	■	■	■	■			
ACC Proposal									■				
Ujian Proposal										■			
Perbaikan Proposal											■		
Pelaksanaan Penelitian												■	
Bimbingan Hasil Penelitian												■	
Ujian Hasil													■

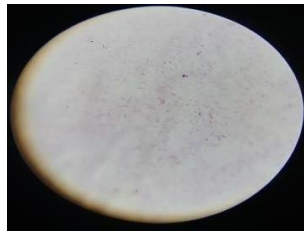
(Sumber Data Pribadi)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

I. Hasil Penelitian


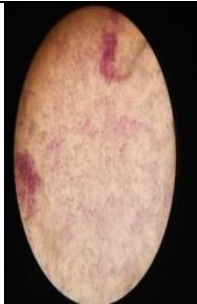
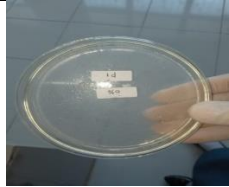
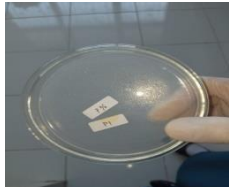
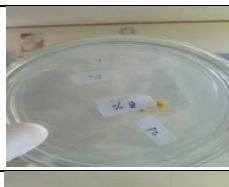


Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah limbah cair tahu dapat dimanfaatkan sebagai alternatif media *nutrient* agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*. pada tahap awal penelitian, dilakukan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop untuk melihat morfologi sel bakteri *Bacillus subtilis*. Adapun hasil yang diperoleh adalah :



Gambar 4.1 Koloni Bakteri *Bacillus subtilis* Secara Mikroskopis.
Sumber (Dokumentasi Pribadi, 2025)

Berdasarkan gambar 4.1 menunjukkan bahwa pengamatan secara mikroskopis hasil yang didapatkan yaitu koloninya berbentuk batang (basil), berwarna ungu tua. hal ini menunjukkan bahwa ciri-ciri ini termasuk kedalam golongan bakteri gram positif , tersusun berantai, Hasil tersebut sesuai dengan ciri-ciri yang dilaporkan oleh (Balande,2023). Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bawah ciri-ciri yang dimaksud adalah ciri-ciri dari bakteri *Bacillus subtilis*.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan bakteri *Bacillus subtilis* pada limbah cair tahu

NO	MEDIA	KONSENTRASI	MAKROSKOPIS		MAKROSKOPIS	
			GAMBAR	HASIL IDENTIFIKASI	GAMBAR	HASIL IDENTIFIKASI
1	Nutrient agar	Kontrol positif		Berbentuk bulat, tidak beraturan menyebar berkerumunan dan bergerigi, berwarna putih		Berbentuk batang, berg erombol, berwarna ungu tua,
2	Limbah cair tahu	6%		Tidak tumbuh bakteri	-	-
3	Limbah cair tahu	7%		Tidak tumbuh bakteri	-	-
4	Limbah cair tahu	8%		Tidak tumbuh bakteri	-	-
5	Limbah cair tahu	9%		Tidak tumbuh bakteri	-	-
6	Limbah cair tahu	10%		Tidak tumbuh bakteri	-	-

7	Kontrol negatif	-		Tidak tumbuh bakteri	-	-
---	-----------------	---	---	----------------------	---	---

Setelah dilakukan pengamatan pada tabel 4.1 terlihat bahwa media limbah cair tahu pada konsentrasi 6%,7%,8%,9% dan 10% tidak menunjukkan pertumbuhan koloni *Bacillus subtilis*, sehingga tidak dilakukan pengamatan mikroskopis. Sebaliknya, pada media kontrol positif menggunakan *nutrient* agar, secara makroskopis terlihat koloni Berbentuk bulat, tidak beraturan menyebar berkerumunan dan bergerigi atau bergelombang, serta berwarna putih.

Pengamatan mikroskopis menunjukkan koloni berbentuk batang, bergerombol, berwarna ungu tua. Sementara itu, pada media kontrol negatif yang tidak diinokulasi bakteri, tidak ditemukan pertumbuhan baik secara makroskopis dan mikroskopis. Hal ini sesuai karena media tersebut memang tidak diberi bakteri, Sehingga tidak terjadi pertumbuhan.

Hasil ini menunjukkan bahwa *nutrient* agar efektif untuk pertumbuhan karna sudah diuji klinis untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis*, sedangkan limbah cair tahu pada konsentrasi 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%. Belum mampu mendukung pertumbuhan *Bacillus subtilis* secara optimal sebagai media alternatif. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, kandungan nutrisi seperti protein dan karbon dalam limbah

cair tahu belum mencukupi untuk mendukung kebutuhan metabolisme bakteri. Selain itu, pH limbah cair tahu cenderung asam dan juga dapat menjadi faktor penghambat karena bakteri *Bacillus subtilis* tumbuh optimal pada pH netral 7- 8

II. Pembahasan

Pada penelitian ini mengenai pemanfaatan limbah cair tahu sebagai alternatif media nutrient agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*. Telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Stikes Panrita Husada, pada tanggal 21-23 juli 2025. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah limbah cair tahu dapat dimanfaatkan sebagai alternatif media nutrient agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*. Pengamatan dilakukan untuk melihat morfologi bakteri *Bacillus subtilis* pada alternatif media limbah cair tahu dengan konsentrasi 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%. Pengamatan morfologi dilakukan secara makroskopis untuk melihat bentuk, warna, dan karakteristik permukaan koloni *Bacillus subtilis* pada media limbah cair tahu. Selain itu, morfologi mikroskopis diamati melalui pewarnaan gram untuk mengetahui bentuk dan warna pada bakteri *Bacillus subtilis*.

Proses pembuatan media limbah cair tahu dimulai dengan menyaring limbah cair tahu menggunakan kertas saring untuk memisahkan kotoran dan partikel padat yang masih tersisa. Setelah bersih, limbah cair tahu diukur pH- nya menggunakan kertas pH untuk mengetahui tingkat keasaman. Selanjutnya, dibuat media alternatif dengan konsentrasi limbah cair tahu 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10%, serta

kontrol negatif. Cara pembuatannya adalah dengan mencampurkan limbah cair tahu dengan aquades. Untuk konsentrasi 6%, digunakan 6 mL limbah cair tahu dan 94 mL aquades; untuk konsentrasi 7%, digunakan 7 mL limbah cair tahu dan 93 mL aquades; konsentrasi 8% dibuat dengan mencampurkan 8 mL limbah cair tahu dan 92 mL aquades; konsentrasi 9% menggunakan 9 mL limbah cair tahu dan 91 mL aquades; sedangkan untuk konsentrasi 10%, digunakan 10 mL limbah cair tahu dan 90 mL aquades.

Setelah semua larutan tercampur rata, masing-masing ditambahkan agar-agar sebanyak 3 gram. Kontrol negatif terdiri dari 25 mL limbah cair tahu, 25 mL aquades, dan 1,5 gram agar-agar. Media positif, yaitu media nutrient agar, ditimbang 1,4 gram dan dicampurkan dengan 50 mL aquades untuk membuat media padat, kemudian dipanaskan di atas hot plate. Setelah mendidih, media ditutup menggunakan aluminium foil dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Setelah menyiapkan media nutrient agar dan media alternatif limbah cair tahu, bakteri *Bacillus subtilis* diinokulasi ke dalam kedua media tersebut dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu bakteri *Bacillus subtilis* akan diamati melalui makroskopis dengan kasat mata dan secara mikroskopis menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x untuk melihat morfologi dari bakteri *Bacillus subtilis*.

Berdasarkan hasil penelitian, limbah cair tahu pada konsentrasi 6%, 7%, 8%, 9%, dan 10% tidak menunjukkan pertumbuhan *Bacillus subtilis*. Hal ini menandakan adanya faktor-faktor utama yang menghambat pertumbuhan bakteri pada media alternatif tersebut. Salah satu penyebab utama adalah kandungan nutrisi dalam limbah cair tahu yang masih belum mencukupi. Pada konsentrasi rendah, jumlah nutrisi esensial seperti karbon (misalnya dari glukosa atau senyawa organik sederhana), nitrogen (dari asam amino atau pepton), dan senyawa organik lainnya belum memenuhi kebutuhan metabolisme dan pertumbuhan bakteri. *Bacillus subtilis* memerlukan nutrisi minimal yang setara dengan media Nutrient Agar (NA), yang mengandung pepton dan ekstrak daging sapi sebagai sumber energi untuk pembentukan dinding sel, enzim, dan proses metabolisme. Apabila kebutuhan dasar ini tidak terpenuhi, bakteri cenderung mengalami kematian akibat kekurangan nutrisi (starvation).

Selain nutrisi, faktor lingkungan juga berperan signifikan. pH media limbah cair tahu cenderung asam (berkisar 4-5), *Bacillus subtilis* tumbuh optimal pada pH netral (7-8). Kondisi pH asam dapat mengganggu fungsi enzim, transportasi nutrisi, dan integritas membran sel. Sebagai bakteri aerob, *Bacillus subtilis* juga memerlukan suhu optimal 30-37°C dan ketersediaan oksigen yang cukup. Jika suhu atau kadar oksigen tidak sesuai, ditambah dengan pH asam, proses metabolisme bakteri akan terganggu, sehingga pertumbuhan tidak terjadi.

Hasil ini sejalan dengan penelitian Permatasari et al. (2021), yang menyatakan bahwa pertumbuhan *Escherichia coli* baru terlihat pada konsentrasi limbah cair tahu 12,5%, sedangkan di bawah konsentrasi tersebut, pertumbuhan tidak terjadi karena nutrisi yang tidak mencukupi. Oleh karena itu, tidak adanya pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada konsentrasi 6%-10% menunjukkan bahwa konsentrasi minimal yang dibutuhkan bakteri ini kemungkinan berada di atas 10%, mulai dari 12,5% ke atas.

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah media Nutrient Agar (NA), yang banyak digunakan untuk membiakkan bakteri termasuk *Bacillus subtilis* karena kandungannya yang kaya protein (dari ekstrak daging sapi dan pepton) serta agar-agar sebagai sumber energi. Sebaliknya, kontrol negatif menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme karena tidak diberikan inokulum bakteri, yang mengonfirmasi bahwa media cukup steril dan tidak terjadi kontaminasi selama proses pembuatan serta inkubasi.

Meskipun demikian, penelitian Juariah dan Sari (2018) menunjukkan bahwa limbah cair tahu pada konsentrasi 6%-10% mampu mendukung pertumbuhan *Bacillus sp.* Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan oleh variasi spesies bakteri, di mana *Bacillus subtilis* mungkin memerlukan nutrisi dan kondisi lingkungan yang lebih spesifik dibandingkan *Bacillus sp.*

III. Keterbatasan Penelitian

1. Belum dilakukan perhitungan jumlah koloni.
2. Tidak dilakukan pemeriksaan kadar nutrisi pada media.

BAB V

KESIMPULAN

I. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pemanfaatan limbah cair tahu sebagai alternatif media nutrient agar untuk bakteri *Bacillus subtilis*, pada konsentrasi 6%,7%,8%,9% dan 10%, belum mampu untuk mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal sehingga tidak dapat di jadikan sebagai alternatif pengganti nutrient agar.

II. Saran

1. Untuk peneliti selanjutnya, disarankan agar menggunakan konsentrasi limbah cair tahu yang lebih tinggi dari penelitian ini, guna mengetahui apakah peningkatan konsentrasi dapat mendukung pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* secara optimal.
2. Bagi institusi STIKes Panrita Husada Bulukumba di harapkan penelitian ini dapat menjadi salah satu sumber bacaan ilmiah yang tersedia di perpustakaan.
3. Bagi tenaga kesehatan khususnya TLM di harapkan media alternatif limbah cair tahu dapat di terapkan dalam praktikum

DAFTAR PUSTAKA

- Prihartantyo,A. .(2020).Uji Kuantitatif asam pada media fermentasi limbah cair tahu menggunakan *Bacillus subtilis*
- Asyrofi,A.A.,Syaroni,D.R.,& Putro,A.B.P (2023).Pengujian kualitas air limbah industri tahu di desa kuncen kecamatan padangan.
- Rahmawati I,I.,& Anliza,S.(2024).Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai media alternative pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
- Agusta,A,A.,Faisalma,M.W.,&Pramana,O.(2023).Optimasi Bacillus subtilis sebagai agensia boi coating untuk meningkatkan kualitas dan viabilitas benih jagung manis (*zea mays saccharata strurt*).
- Juariah,S.,& Sari,W.P. (2018).Pemanfaatan limbah cair industri tahu sebagai media alternative pertumbuhan *bacillus sp. Jurnal analis kesehatan klinikal sains ,6(1) ,24 .*
- Indrawati ,. W.et al (2023).Pelatihan pembuatan larutan dengan sebagai kosentrasi di pondok pesantren nurul ilman parung abdi laksana : *jurnal pengabdian kepada masyarakat 4(2),.pp.371-376 available at:http:*
- Innayah,Mustofa,dan Mukminin. (2023). Upaya Peningkatan Keterampilan Siswa Melalui Program Kellas Keterampilan TKR (Tata Kecantikan Kulit Dan Rambut) Dan TOKR (Teknik Otomotif Dan Kendaraan Ringan Di MAN 2 Ngawi.JurnalTawadhu.7(1).
- Atmanto, Asri, dan Kadir. (2022). Media Pertumbuhan Kuman. Jurnal Medika Utama. 04(01). 3069-3075.
- Lumban Gaol, S. E., & Franchitika, R. (2024). Perencanaan desain instalasi pengolahan air limbah (IPAL) industri tahu Kecamatan Batang Kuis Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Ilmiah Kohesi, 8(3), 11–18.*
- Pagoray, H., Sulistyawati, & Fitriyani. (2021). Limbah Cair Industri Tahu dan Dampaknya Terhadap Kualitas Air dan Biota Perairan. *Jurnal Pertanian Terpadu, 9(1),5365. <https://doi.org/10.36084/jpt.v9i1.312>.*

- Hasanah, I., Rasyidah, & Nasution, R. A. (2024). Pembuatan media pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan umbi ubi jalar putih *Ipomoea batatas*. *Jurnal Teknologi Sains*, 3(3), 77–83. <https://doi.org/xxxx>.
- Rijal, M., Surati, Rosmawati, Natsir, N. A., Tomia, R., Keliandan, A., & Rumbia, A. (2025). Limbah sagu dan tahu sebagai alternatif bahan bioplastik. *Uwais Inspirasi Indonesia*.
- Cutting, S. M. (Ed.). (2017). *Bacillus: Cellular and Molecular Biology* (3rd ed.). Caister Academic Press.
- Khofipah, N., Hartini, S., & Farpina, E. (2023). Gambaran kadar protein tahu direbus dan tidak direbus berdasarkan waktu penyimpanan di kulkas. *Borneo Journal of Science and Mathematics Education*, 3(3), 133–146.
- Putri, Y. E., Nggina, A. S., Tanul, T. T., Alus, A. H., & Rofita, D. (2022). Pemanfaatan limbah cair tahu menjadi pupuk organik cair (POC) di ruteng, Kecamatan Langke Rembong Kabupaten Manggarai. *Jurnal pendidikan dan Konseling*, 4(5), 145-149.
- Atmanto, Y. K. A., Amin Asri, L., & Abd. Kadir, N. (2022). Media pertumbuhan kuman. program pendidikan Dokter spesialis patologi klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar. Diakses dari <http://doi.org/10>.
- Sriyono, D. M., & SE, H. M. K. (2020), Buku Ajar Kuliah, In *Umsida Press Sidoarjo Universitas* (Vol., 1. Issue 1).
- Ashari, T. M., Nikho, M. A., & Darnas, Y. (2020). Perbandingan efektivitas tanaman lebang (*Typha angustifolia*) dan tanaman iris (*Iris pseudacorus*) pada constructed wetland terhadap limbah cair industri tahu. *Jurnal Phi: Jurnal Pendidikan Fisika dan Fisika Terapan*, 6(2), 46–55. <https://doi.org/10.22373/p-jpft.v6i2.9785>.
- Andayani, N., Nurhayati, D., & Saing, M. D. (2022). Optimalisasi pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Bacillus subtilis* pada media edamame agar. *Jurnal pengabdian dan penelitian lingkungan*

pertanian (JPPL),1 (1), 45-52.

Baland, G. O. (2022). *Uji viabilitas dan pengamatan morfologi liofilisat bakteri bacillus subtilis yang di simpan selama dua bulan pada suhu -20° C* (Skripsi, Poltekes Kemenkes Yogyakarta).

LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Pembuatan Konsentrasi limbah cair tahu

Adapun perhitungan pembuatan tingkat konsentrasi limbah cair tahu, sebagai berikut :

1. Konsentrasi 6 %

Diketahui :

$$M1 = 100\%$$

$$M2 = 6\%$$

$$V2 = 100 \text{ mL}$$

Ditanyakan : $V1 = \dots?$

Penyelesaian :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ mL} \times 6 \%$$

$$V1 = \frac{600}{100}$$

$$V1 = 6 \text{ mL}$$

Penambahan aquades, yakni;

$$V2 - V1 = \dots?$$

$$100 \text{ mL} - 6 \text{ mL} = 94 \text{ mL}$$

Jadi, dalam pembuatan konsentrasi 6% dalam 100 mL limbah cair tahu yang digunakan sebanyak 6 mL lalu ditambahkan 94 mL aquades.

2. Konsentrasi 7%

Diketahui :

$$M1 = 100\%$$

$$M2 = 7\%$$

$$V2 = 100 \text{ mL}$$

Ditanyakan : $V1 = \dots?$

Penyelesaian :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ mL} \times 7\%$$

$$V1 = \frac{700}{100}$$

$$V1 = 7 \text{ mL}$$

Penambahan aquades, yakni :

$$V2 - V1 = \dots?$$

$$100 - 7 \text{ mL} = 93 \text{ mL.}$$

Jadi, dalam pembuatan konsentrasi 7% dalam 100 mL limbah cair tahu yang digunakan sebanyak 7 mL lalu ditambahkan 93 mL aquades.

3. Konsentrasi 8%

Diketahui :

$$M1 = 100\%$$

$$M2 = 8\%$$

$$V2 = 100 \text{ mL}$$

Ditanyakan : $V_1 = \dots?$

Penyelesaian :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ mL} \times 8\%$$

$$V_1 = \frac{800}{100}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL}$$

Penambahan aquades, yakni :

$$V_2 - V_1 = \dots?$$

$$100 - 8 \text{ mL} = 92 \text{ mL}$$

Jadi, dalam pembuatan konsentrasi 8% dalam 100 mL limbah cair tahu yang digunakan sebanyak 8 mL lalu ditambahkan 92 mL aquades.

4. Konsentrasi 9%

Diketahui :

$$M_1 = 100\%$$

$$M_2 = 9\%$$

$$V_2 = 100 \text{ mL}$$

Ditanyakan : $V_1 = \dots?$

Penyelesaian :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 100\% = 100 \text{ mL} \times 9\%$$

$$V_1 = \frac{900}{100}$$

$$V1 = 9 \text{ mL}$$

Penambahan aquades, yakni :

$$V2 - V1 = \dots?$$

$$100 \text{ mL} - 9 \text{ mL} = 91 \text{ mL}$$

Jadi, dalam pembuatan konsentrasi 9% dalam 100 mL limbah cair tahu yang digunakan sebanyak 9 mL lalu ditambahkan 91 mL aquades.

5. Konsentrasi 10%

Diketahui :

$$M1 = 100\%$$

$$M2 = 10\%$$

$$V2 = 100 \text{ mL}$$

Ditanyakan : $V1 = \dots?$

Penyelesaian :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 100 \text{ mL} \times 10\%$$

$$V1 = \frac{1.000}{100}$$

$$V1 = 10 \text{ mL}$$

Penambahan aquades, yakni :

$$V2 - V1 = \dots?$$

$$100 \text{ mL} - 10 \text{ mL} = 90 \text{ mL}$$

Jadi, dalam pembuatan konsentrasi 10% dalam 100 mL

limbah cair tahu yang digunakan sebanyak 10 mL lalu ditambahkan 90 mL aquades.

Lampiran 2 Perhitungan Penimbangan Media *Nutrien* Agar

Adapun perhitungan penimbangan media *Nutrient* agar, sebagai berikut:

$$\frac{W_1}{V_1} = \frac{W_2}{V_2}$$

$$\frac{28}{1000} = \frac{W_2}{40}$$

$$28 \times 50 = W_2 \times 1000$$

$$1.400 = W_2 \times 1000$$

$$W_2 = \frac{1.400}{1000}$$

$$W_2 = 1,4 \text{ gram}$$

Lampiran 3 surat izin penelitian

 **YAYASAN PANRITA HUSADA BULUKUMBA**
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
PANRITA HUSADA BULUKUMBA
TERAKREDITASI BAN-PT 

Jln. Pendidikan Desa Taccorong Kec. Gantarang Kab. Bulukumba Telp. (0413), Email: www.stikepanritahusadabulukumba.ac.id

SURAT KETERANGAN

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Fani Dia Lestari, S.Tr. A.K

Jabatan : Laboran DIII TLM

Dengan ini menerapkan bahwa :

Nama : Rifatul Auliya usman

Nim : E.22.07.055

Judul Penelitian : Pemanfaatan Limbah Cair Tahu Sebagai Alternatif Media Nutrient
Agar Untuk Bakteri Bacillus Subtilis

Dengan ini menyatakan bahwa telah melakukan penelitian sejak tanggal 17 – 31 Juli 2025.
Demikian surat keterangan ini untuk dipergunakan sebagaimana semestinya.

Bulukumba, 28 Juli 2025

Laboran Prodi DIII TLM


(Fani Dia Lestari)





PEMERINTAH PROVINSI SULAWESI SELATAN
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU PINTU

Jl. Bougenville No.5 Telp. (0411) 441077 Fax. (0411) 448936
Website: <http://simap-new.sulselprov.go.id> Email: ptsp@sulselprov.go.id
Makassar 90231

Nomor : 15862/S.01/PTSP/2025 Kepada Yth.
Lampiran : - Bupati Bulukumba
Perihal : Izin penelitian

di-
Tempat

Berdasarkan surat Ketua Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKES Panrita Husada Bulukumba Nomor: 901/STIKES-PHB/SPm/05/VII/2025 tanggal 16 Juli 2025 perihal tersebut diatas, mahasiswa/peneliti dibawah ini:

Nama : RIFATUL AULIYA USMAN
Nomor Pokok : E.22.07.055
Program Studi : Teknologi Laboratorium Medis
Pekerjaan/Lembaga : Mahasiswa (D3)
Alamat : Jl. Pend. Desa Taccorong Kec. Gantarang, Bulukumba
PROVINSI SULAWESI SELATAN

Bermaksud untuk melakukan penelitian di daerah/kantor saudara, dengan judul :

"PEMANFAATAN LIMBAH CAIRTAHUSEBAGAIALTERNATIF MEDIANUTRIENTAGAR UNTUK BAKTERI BACILLUS SUBTILIS "

Yang akan dilaksanakan dari : Tgl. 17 Juli s/d 31 Juli 2025

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, pada prinsipnya kami *menyetujui* kegiatan dimaksud dengan ketentuan yang tertera di belakang surat izin penelitian.

Demikian Surat Keterangan ini diberikan agar dipergunakan sebagaimana mestinya.

Diterbitkan di Makassar
Pada Tanggal 17 Juli 2025

KEPALA DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU SATU
PINTU PROVINSI SULAWESI SELATAN



ASRUL SANI, S.H., M.Si.
Pangkat: PEMBINA UTAMA MUDA (IV/c) Nip :
19750321 200312 1 008

Tembusan Yth

1. Ketua Prodi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKES Panrita Husada Bulukumba di Bulukumba;
2. *Pertinggal.*



**PEMERINTAH KABUPATEN BULUKUMBA
DINAS PENANAMAN MODAL DAN PELAYANAN TERPADU
SATU PINTU**

Jl. Ahmad Yani, Kelurahan Caile No. Hp. 082348675757, Kode Pos 92512

**SURAT IZIN PENELITIAN
NOMOR : 437/DPMPSTP/IP/VII/2025**

Berdasarkan Surat Rekomendasi Teknis dari BAKESBANGPOL dengan Nomor: 074/0438/Bakesbangpol/VII/2025 tanggal 21 Juli 2025, Perihal Rekomendasi Izin Penelitian maka yang tersebut dibawah ini :

Nama Lengkap : Rifatul Auliya Usman
Nomor Pokok : E2207055
Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis
Jenjang : D3
Institusi : STIKES Panrita Husada Bulukumba
Tempat/Tanggal Lahir : Bulukumba / 2004-02-19
Alamat : BTN 2 Blok 3 no 6

Jenis Penelitian : Kualitatif
Judul Penelitian : Pemanfaatan limbah cair tahu sebagai alternatif media nutrient agar untuk bakteri bacillus subtilis
Lokasi Penelitian : Laboratorium mikrobiologi STIKES Panrita Husada Bulukumba
Pendamping/Pembimbing : Dzikra Arwie, S.Si., M.Kes, Dr. Asnidar S.Kep., M.Kes
Instansi Penelitian : STIKES Panrita Husada Bulukumba
Lama Penelitian : tanggal 17 juli 2025 s/d 31 juli 2025
Jenis Kelamin : Perempuan
No. Hp : 085824796582

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, pada prinsipnya kami mengizinkan yang bersangkutan untuk melaksanakan kegiatan tersebut dengan ketentuan sebagai berikut :

1. Mematuhi semua Peraturan Perundang - Undangan yang berlaku dan mengindahkan adat - istiadat yang berlaku pada masyarakat setempat;
2. Tidak mengganggu keamanan/ketertiban masyarakat setempat
3. Melaporkan hasil pelaksanaan penelitian/pengambilan data serta menyerahkan 1(satu) eksamplar hasilnya kepada Bupati Bulukumba Cq. Kepala Badan Kesatuan Bangsa dan Politik Kab.Bulukumba;
4. Surat izin ini akan dicabut atau dianggap tidak berlaku apabila yang bersangkutan tidak memenuhi ketentuan sebagaimana tersebut di atas, atau sampai dengan batas waktu yang telah ditentukan kegiatan penelitian/pengumpulan data dimaksud belum selesai.

Dikeluarkan di : Bulukumba
Pada Tanggal : 21 Juli 2025



Pt. Kepala DPMPSTP

Drs. MUHAMMAD DAUD KAHAL, M.Si
Pangkat : Pembina Utama Muda/IV.c
Nip : 196801051997031011



Balai
Sertifikasi
Elektronik

Dokumen ini telah ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat elektronik yang diterbitkan oleh Balai Sertifikasi Elektronik (BSrE), BSSN

Lampiran 4 dokumentasi penelitian

1. Proses pengambilan limbah cair tahu



2. Proses pengukuran volume konsentrasi limbah cair tahu



3. Proses penimbangan nutrient agar (kontrol positif) dan limbah cair tahu



4. Proses pemanasan,sterilisasi,dan penuagan media



5. Proses pembuatan suspensi bakteri *Bacillus subtilis*



6. Proses penggoresan dan inkubasi



7. Proses pewarnaan gram



DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Nama : Rifatul auliya usman
Nim : E. 22. 07. 055
Tempat/ Tanggal Lahir : Bulukumba, 19 february 2004
Alamat : Btn 2
Institusi : Stikes Panrita Husada Bulukumba
Angkatan : VII (2022/2025)
Biografi : - SDN 32 barabba tahun lulus 2016
- SMP Negeri 5 Bulukumba Tahun
Lulus 2019
- SMA Negeri 8 Bulukumba
Tahun Lulus 2022