

FKH UWKS

(Ajeng Pramesthi Cahyani_21820029)

 FKH UWKS Vitek Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3228190376

Submission Date

Apr 25, 2025, 3:25 PM GMT+7

Download Date

Apr 25, 2025, 3:27 PM GMT+7

File Name

Ajeng_Pramesthi_Cahyani_21820029.docx

File Size

323.9 KB

36 Pages**6,227 Words****40,871 Characters**

21% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Top Sources

- 20%  Internet sources
- 3%  Publications
- 4%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Top Sources

- 20% Internet sources
- 3% Publications
- 4% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	jurnalsolum.faperta.unand.ac.id	6%
2	Internet	e-journal.unmas.ac.id	2%
3	Internet	erepository.uwks.ac.id	1%
4	Internet	repository.ub.ac.id	1%
5	Internet	repository.radenintan.ac.id	1%
6	Internet	jurnal.untan.ac.id	1%
7	Internet	idoc.pub	<1%
8	Internet	doku.pub	<1%
9	Internet	www.researchgate.net	<1%
10	Internet	kimia.fmipa.unand.ac.id	<1%
11	Internet	123dok.com	<1%

12	Student papers	Universitas Wijaya Kusuma Surabaya	<1%
13	Internet	text-id.123dok.com	<1%
14	Internet	www.coursehero.com	<1%
15	Internet	zombiedoc.com	<1%
16	Internet	id.scribd.com	<1%
17	Internet	jurnalsaintek.uinsby.ac.id	<1%
18	Internet	www.scribd.com	<1%
19	Internet	dokumen.tips	<1%
20	Student papers	Sriwijaya University	<1%
21	Internet	fr.slideshare.net	<1%
22	Internet	adoc.pub	<1%
23	Internet	docplayer.info	<1%
24	Internet	jatp.ift.or.id	<1%
25	Publication	Jamin Saputra. "Potensi Biochar dari Limbah Biomassa Perkebunan Karet Sebagai...	<1%

26	Internet	etheses.uin-malang.ac.id	<1%
27	Internet	digilib.uinsby.ac.id	<1%
28	Internet	ejurnal.itats.ac.id	<1%
29	Internet	id.wikipedia.org	<1%
30	Internet	trijurnal.lemlit.trisakti.ac.id	<1%
31	Internet	www.biotifor.or.id	<1%
32	Publication	Alexandru Dumitrache, Hannah Akinosho, Miguel Rodriguez, Xianzhi Meng et al. ...	<1%
33	Internet	etd.repository.ugm.ac.id	<1%
34	Internet	journal.bio.unsoed.ac.id	<1%
35	Internet	jurnal.polinela.ac.id	<1%
36	Internet	repository.unhas.ac.id	<1%
37	Internet	garuda.ristekdikti.go.id	<1%
38	Internet	media.neliti.com	<1%
39	Internet	ojs.uho.ac.id	<1%

40	Internet	pt.scribd.com	<1%
41	Internet	usaha321.net	<1%
42	Internet	www.chapraisrotonde.fr	<1%
43	Publication	Aminullah Aminullah, Nurkania Kresna Puspa, Raden Siti Nurlaela. "Nitrite levels ...	<1%

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nitrit adalah senyawa kimia yang merupakan bentuk garam dari asam nitrit (HNO_2), dengan rumus kimia NO_2^- . Senyawa ini memiliki peran penting dalam berbagai proses biogeokimia di alam dan dapat ditemukan di berbagai lingkungan. Senyawa ini dapat ditemukan di atmosfer, air, tanah, serta dalam organisme hidup seperti mikroorganisme, tanaman dan hewan (Ningrum, 2021). Di lingkungan perairan, nitrit dapat terbentuk melalui proses nitrifikasi, di mana amonia (NH_3) diubah menjadi nitrit oleh mikroorganisme nitrifikasi. Nitrit yang terbentuk kemudian dapat diubah lebih lanjut menjadi nitrat (NO_3^-). Konsentrasi nitrit yang tinggi dalam air dan makanan dapat berbahaya bagi masyarakat karena sifatnya yang toksik (Gao *et al.*, 2023; Ningrum, 2022). Menurut Ningrum, (2023) bahwa terdapat minimal kandungan nitrit dalam pangan yaitu dengan kadar kurang dari 30 ppm, hal ini menjadi fokus penting dalam konsentrasi nitrit yang memiliki dampak bagi masyarakat.

Nitrifikasi adalah proses kunci dalam siklus nitrogen yang sangat penting untuk keseimbangan ekosistem dan pengelolaan limbah. Proses ini dilakukan oleh bakteri nitrifikasi yang mengkonversi amonia (NH_3) menjadi nitrit (NO_2^-) dan kemudian nitrit menjadi nitrat (NO_3^-). Nitrat yang dihasilkan dari nitrifikasi berperan penting dalam kesuburan tanah, membantu tanaman dalam proses pertumbuhan, dan mengurangi dampak polusi nitrogen di lingkungan (Arp *et al.*, 2014). Dalam konteks pengolahan limbah, nitrifikasi membantu mengurangi konsentrasi amonia yang berbahaya dalam limbah cair, sehingga mengurangi potensi pencemaran air

dan dampak negatif terhadap kehidupan akuatik (Wunderlin *et al.*, 2022). Media pertumbuhan yang optimal sangat penting untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas bakteri nitrifikasi. Meskipun telah banyak penelitian tentang media padat untuk bakteri nitrifikasi, penggunaan media cair memiliki beberapa keunggulan, seperti distribusi nutrisi yang lebih merata dan kemudahan dalam pengambilan sampel (Li *et al.*, 2022). Namun, optimasi media cair untuk pertumbuhan bakteri nitrifikasi masih menjadi tantangan karena kompleksitas kebutuhan nutrisi dan faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan mereka.

Optimalisasi media cair untuk pertumbuhan bakteri nitrifikasi sangat penting karena media yang tepat dapat memperbaiki efisiensi proses nitrifikasi, mengurangi waktu respons, dan meningkatkan stabilitas sistem. Media cair berfungsi sebagai lingkungan nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri, dan oleh karena itu, formulasi media yang tepat dapat mengoptimalkan laju nitrifikasi dan hasil akhir yang diinginkan (Gao *et al.*, 2021).

Faktor-faktor seperti pH, suhu, konsentrasi nutrisi, serta jenis dan konsentrasi sumber karbon memiliki pengaruh signifikan terhadap pertumbuhan dan aktivitas bakteri nitrifikasi (Islam *et al.*, 2021). Proses nitrifikasi dapat berlangsung jika NH_4^+ tersedia. Proses nitrifikasi pada umumnya berlangsung secara aerob di dalam tanah. Keberadaan populasi bakteri nitrifikasi di dalam tanah sering digunakan sebagai indikator kualitas tanah karena jumlah jenisnya terbatas. Bakteri nitrifikasi merupakan bakteri yang berperan penting dalam meningkatkan kandungan bahan organik dan yang berperan penting dalam meningkatkan kandungan bahan organik dan ketersediaan unsur hara pada tanah dengan

1 menyediakan nitrat yang diserap oleh akar tanaman (Kiding *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa media cair yang dioptimalkan dapat meningkatkan aktivitas bakteri nitrifikasi hingga 30% dibandingkan dengan media standar (Silva dan Pereira, 2023). Misalnya, penyesuaian pH dalam media kultur dapat memengaruhi ketersediaan nutrisi dan metabolisme bakteri nitrifikasi secara signifikan. Selain itu, konsentrasi dan jenis sumber karbon dalam media juga dapat memengaruhi efisiensi konversi amonia menjadi nitrit dan nitrat (Patel dan Patel., 2024).

28 Dengan pemahaman yang lebih mendalam tentang bagaimana komposisi media memengaruhi pertumbuhan bakteri nitrifikasi, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi dan mengoptimalkan berbagai komponen media cair guna meningkatkan efisiensi proses nitrifikasi. Melalui pengembangan formulasi media yang lebih baik, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pengelolaan limbah dan praktik pertanian yang lebih berkelanjutan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah media cair yang di optimasi mampu menumbuhkan bakteri nitrifikasi?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini untuk menumbuhkan bakteri nitrifikasi menggunakan media cair.

1.4 Hipotesa

Berdasarkan dari rumusan masalah tersebut, hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Media pertumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini tidak mampu menumbuhkan bakteri nitrifikasi.

H1 : Media pertumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini mampu menumbuhkan bakteri nitrifikasi.

1.5 Manfaat

1. Menemukan formula media cair yang optimum untuk menumbuhkan bakteri nitrifikasi.
2. Penelitian ini juga diharapkan memberikan wawasan lebih dalam tentang media pertumbuhan bakteri khususnya bakteri nitrifikasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Nitrifikasi

Bakteri nitrifikasi merupakan kelompok mikroorganisme autotrofik yang berperan penting dalam siklus nitrogen, terutama dalam proses konversi senyawa nitrogen anorganik di tanah (Kiding *et al.*, 2015). Bakteri nitrifikasi terdiri dari dua kelompok utama, yakni bakteri pengoksidasi amonia (AOB) dan bakteri pengoksidasi nitrit (NOB). AOB, seperti *Nitrosomonas* sp., mengkatalisis oksidasi amonia (NH_3) menjadi nitrit (NO_2^-) melalui serangkaian reaksi biokimia yang dikendalikan oleh enzim amonia monooxygenase. Selanjutnya, nitrit yang terbentuk dioksidasi oleh NOB, seperti *Nitrobacter* sp., menjadi nitrat (NO_3^-) melalui aksi enzim nitrit oksidase. Nitrit ini kemudian tersedia bagi tanaman sebagai salah satu bentuk nitrogen yang dapat diserap secara langsung oleh akar melalui mekanisme transportasi aktif.

Nitrit merupakan senyawa yang tersebar luas di alam (Singh *et al.*, 2019), dapat ditemukan dalam berbagai lingkungan seperti atmosfer, air, tanah, serta pada mikroorganisme, tanaman (Ren *et al.*, 2018), dan hewan (Safa *et al.*, 2017). Keberadaan nitrit dalam makanan diketahui dapat menimbulkan risiko kesehatan bagi manusia, terutama jika dikonsumsi dalam jumlah besar, yang berpotensi menyebabkan kematian (Cvetković *et al.*, 2019). Selain itu, konsumsi makanan yang mengandung nitrit secara berkelanjutan dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker saluran pencernaan.

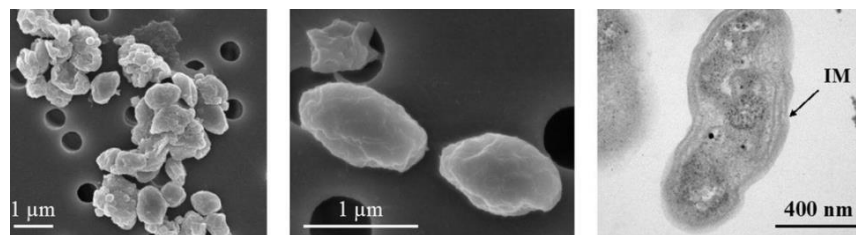
Proses nitrifikasi berdampak pada peningkatan kandungan bahan organik di tanah, karena bakteri nitrifikasi mendorong penguraian senyawa organik kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan dapat diakses oleh tanaman. Selain itu, bakteri nitrifikasi turut berperan dalam mengatur keseimbangan nitrogen di ekosistem, mengurangi akumulasi amonia yang bersifat toksik pada konsentrasi tinggi dan meminimalkan potensi dampak negatifnya terhadap struktur tanah serta organisme lain. Oleh karena itu, bakteri nitrifikasi memegang peran penting dalam meningkatkan kesuburan tanah dan keberlanjutan ekosistem pertanian.

Proses nitrifikasi di dalam tanah dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, termasuk ketersediaan amonium (NH_4^+), pH tanah, tingkat kelembaban, aerasi, dan suhu (Antriana, 2015). Nitrifikasi hanya dapat terjadi bila terdapat amonium yang cukup, karena senyawa ini merupakan substrat utama bagi bakteri nitrifikasi. Proses ini umumnya berlangsung dalam kondisi aerob, yang berarti tanah harus memiliki pasokan oksigen yang memadai agar bakteri nitrifikasi dapat mengoksidasi amonium menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat.

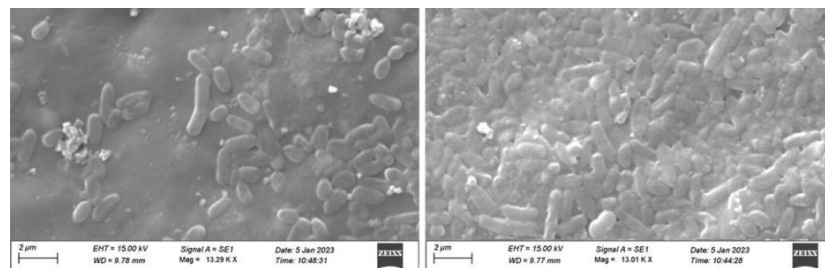
Jumlah populasi mikroba dalam suatu lingkungan sangat dipengaruhi oleh ketersediaan sumber energi serta kemampuan mikroba tersebut dalam bersaing dengan mikroorganisme lain yang memanfaatkan sumber energi yang sama untuk tumbuh dan berkembang (Islam *et al.* 2021). Ketersediaan substrat dalam jumlah yang memadai juga menjadi faktor kunci dalam meningkatkan populasi bakteri nitrifikasi (Saifullah, 2013). Selain itu, faktor eksudat akar lain yang memengaruhi populasi bakteri adalah senyawa-senyawa yang dihasilkan dari eksudat akar tanaman serta senyawa terlarut dalam tanah, seperti *nitrapyrin*, *asetilena*, *kloret*,

dan sikloheksimid, yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri nitrifikasi (Antriana, 2015).

Populasi bakteri nitrifikasi yang ditemukan dalam penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Atriana (2015), yang melaporkan jumlah bakteri nitritasi (*Nitrosomonas* sp.) pada tanaman karet berkisar $0,28 \times 10^5$ cfu/g tanah dan bakteri nitratasi (*Nitrobacter* sp.) berkisar $0,09 - 0,39 \times 10^5$ cfu/g tanah. Menurut Kiding *et al.* (2015), yang menemukan kepadatan bakteri nitrifikasi tertinggi pada tanah gambut fibrik di kawasan hutan lindung Gunung Ambawang sebesar 160×10^5 cfu/g tanah, dan terendah pada tanah gambut saprik sebesar 19×10^5 cfu/g tanah.



Gambar 2.1. Bakteri *Nitrosomonas* sp. (Kikuchi *et al.*, 2023)



Gambar 2.2. Bakteri *Nitrobacter* sp. (Nagaraja *et al.*, 2024)

2.2 Media Cair Penumbuh Bakteri Nitrifikasi

Menurut Gao *et al.* (2021), media cair penumbuh bakteri nitrifikasi dirancang untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang terlibat dalam proses nitrifikasi, yaitu *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB) dan *Nitrite-Oxidizing*

11 *Bacteria* (NOB). Berikut adalah beberapa media cair yang umum digunakan, beserta kelebihan dan kekurangan masing-masing:

1. Media Nitrat-Media (*Nitrogen-Free Basal Medium, NFBM*)

Komposisi: Media ini biasanya mengandung amonium klorida sebagai sumber amonia, fosfat, kalium, dan magnesium, serta biaya *trace elements* yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri nitrifikasi. Kelebihan media ini, yaitu menyediakan lingkungan yang stabil dan terstandarisasi untuk studi pertumbuhan bakteri nitrifikasi. Efisiensi tinggi pada media ini, yaitu mendukung pertumbuhan cepat bakteri nitrifikasi dengan konsentrasi nutrisi yang optimal. Kekurangan media ini, yaitu media ini tidak menyediakan variasi yang luas dalam sumber karbon dan nutrisi, yang bisa membatasi aplikasi pada bakteri yang memerlukan kondisi lebih spesifik. Biaya untuk media ini, yaitu penggunaan komponen *trace elements* dan media khusus dapat menjadi mahal.

2. Media *Modified DSMZ Medium*

Menurut Patel (2024), media ini dimodifikasi dari DSMZ medium dengan menambahkan sumber karbon, seperti glukosa atau asetat, dan modifikasi konsentrasi nutrisi untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri nitrifikasi. Kelebihan media ini, yaitu Modifikasi dapat disesuaikan dengan kebutuhan spesifik bakteri nitrifikasi tertentu. Beragam Nutrisi: Memungkinkan penyesuaian dalam konsentrasi berbagai nutrisi untuk studi lebih mendalam. Kekurangan media ini, yaitu Kompleksitas: Modifikasi media dapat menjadi rumit dan memerlukan pemantauan yang cermat untuk menjaga

kondisi optimal. Keterbatasan dalam Skalabilitas: media yang kompleks mungkin tidak selalu ideal untuk aplikasi skala besar atau produksi industri.

3. Media *Inorganic Nitrogen Medium (INM)*

Menurut Silva Dan Pereira (2023), media ini mengandung amonium sulfat, nitrat, dan fosfat sebagai sumber nitrogen, serta *trace elements* dan vitamin yang diperlukan. Kelebihan media ini, yaitu menyediakan berbagai nitrogen yang dapat mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri nitrifikasi. Kondisi media yang dapat diulang membuatnya berguna untuk eksperimen berulang. Kekurangan media ini, yaitu pengendalian pH yang ketat karena perubahan pH dapat memengaruhi ketersediaan nutrisi.

4. Media *Organic Carbon Medium (OCM)*

Wunderlin *et al.* (2021), media ini menggunakan sumber karbon organik seperti glukosa atau asetat dan menyediakan amonia sebagai sumber nitrogen untuk bakteri nitrifikasi. Kelebihan media ini, yaitu sumber karbon organik dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri yang membutuhkan karbon organik untuk metabolisme. Adaptasi untuk Bakteri Khusus pada media ini dapat disesuaikan untuk bakteri nitrifikasi yang memerlukan sumber karbon organik khusus. Penggunaan sumber karbon organik dapat meningkatkan resiko kontaminasi oleh mikroorganisme lain. Kompleksitas pada media ini memerlukan pemantauan yang lebih teliti untuk memastikan keseimbangan nutrisi.

5. Media *Synthetic Nitrification Medium (SNM)*

Menurut Zhang Dan Yang (2023), media ini merupakan formulasi sintetis yang mengandung amonium nitrat sebagai sumber utama nitrogen, serta elemen mikro dan makro untuk mendukung pertumbuhan bakteri nitrifikasi. Kelebihan media ini, yaitu memberikan kontrol yang baik atas kondisi media dan memungkinkan studi detail tentang faktor-faktor yang memengaruhi pertumbuhan bakteri. Formulasi sintetis dapat diproduksi dengan konsistensi tinggi dan digunakan dalam eksperimen berulang.

Kekurangan media ini yaitu, biaya produksi pada media ini menggunakan bahan kimia sintetis dapat menambah biaya produksi media.

PH tanah memengaruhi aktivitas enzim yang terlibat dalam nitrifikasi, dengan kondisi pH netral hingga sedikit basa lebih optimal untuk bakteri ini. Kelembaban tanah yang cukup diperlukan untuk mempertahankan aktivitas mikroba. Kelebihan air yang menyebabkan kondisi anaerob dapat menghambat proses ini. Suhu tanah juga berperan penting, di mana nitrifikasi berlangsung lebih cepat pada suhu sedang hingga tinggi. Populasi bakteri nitrifikasi di tanah sering digunakan sebagai indikator kualitas tanah, karena jenis dan jumlah bakteri ini cenderung terbatas, dan keberadaannya mencerminkan kapasitas tanah untuk mendukung proses nitrifikasi yang esensial bagi siklus nitrogen. media penumbuh bakteri nitrifikasi dirancang secara spesifik untuk mengoptimalkan pertumbuhan kelompok mikroorganisme yang berperan dalam siklus nitrifikasi, seperti *Nitrosomonas* sp. (bakteri nitritasi) dan *Nitrobacter* sp. (bakteri nitratasi). Media ini mengandung amonia atau amonium sebagai substrat utama, yang merupakan sumber nitrogen untuk bakteri nitritasi, serta nitrit yang diperlukan oleh bakteri

nitratasi. Untuk mendukung metabolisme bakteri nitrifikasi, media juga diperkaya dengan berbagai garam mineral penting seperti magnesium, kalsium, dan fosfat, yang diperlukan untuk menjaga keseimbangan ionik dan fungsi enzimatik.

Isolasi bakteri nitrifikasi, diperoleh sepuluh isolat yang diuji menggunakan berbagai media untuk mengevaluasi aktivitas biokimia mereka. dan memiliki bentuk sel bulat (Kiding *et al.*, 2015). Morfologi sel Hasil identifikasi mengungkapkan lima genus bakteri, yaitu *Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp., *Nitrosococcus* sp., *Nitrosocystis* sp., dan *Nitrospina* sp.. Genus *Nitrosomonas* sp. (isolat BNS1) termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif dan memiliki bentuk sel bulat (Kiding *et al.*, 2015). Morfologi sel *Nitrosomonas* sp. ditandai dengan bentuk bulat, tepian halus, elevasi cembung, dan warna putih. Bakteri ini bersifat motil dan menunjukkan reaksi positif terhadap tes katalase, urea, gelatin, serta indol. Pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), bakteri ini menunjukkan reaksi A/A, menandakan fermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. *Nitrosomonas* sp. adalah bakteri gram negatif yang biasanya memiliki bentuk bulat atau kadang elips, bersifat motil atau non-motil, serta memiliki reaksi positif terhadap katalase dan indol. Bakteri ini adalah aerob, dengan metabolisme yang menghasilkan enzim katalase. *Nitrosomonas* sp. memainkan peran penting dalam proses nitrifikasi dengan menghasilkan ion nitrat yang esensial bagi tanaman. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu antara 5-30°C dan pH 5,8 - 8,5, serta dapat ditemukan di habitat air laut, air tawar, dan tanah.

PH media diatur pada kondisi netral hingga sedikit basa, biasanya antara pH 7 hingga 8, yang merupakan kisaran optimal untuk aktivitas enzim kunci dalam

proses nitrifikasi seperti amonia monooxygenase dan nitrit oksidase. Aerasi yang cukup juga esensial, karena proses oksidasi yang terjadi pada nitrifikasi memerlukan oksigen (Hayatsu *et al.* 2021). Faktor lain yang diperhatikan dalam pengembangan media ini adalah ketersediaan karbon. Dalam tanaman, nitrogen ditemukan dalam berbagai bentuk, termasuk asam anorganik, seperti bikarbonat, karena bakteri nitrifikasi umumnya autotrofik dan memanfaatkan karbon anorganik untuk sintesis biomolekul.

2.3 Metabolisme Nitrogen

Menurut Harahap (2012), sebagian besar tanaman mengandung nitrogen dalam jumlah yang bervariasi, antara 1 hingga 25% dari berat keringnya. Dalam tanaman, nitrogen ditemukan dalam berbagai bentuk, termasuk asam amino, protein, amida, klorofil, alkaloid, serta basa nitrogen seperti purin dan pirimidin. Meskipun atmosfer bumi mengandung sekitar 80% nitrogen, kandungan nitrogen di tanah relatif rendah. Ketersediaan nitrogen untuk organisme, terutama tanaman, sering kali terbatas karena hanya mikroorganisme tertentu yang mampu mengasimilasi molekul nitrogen dan mengubahnya menjadi bentuk yang dapat digunakan oleh tanaman. Mikroorganisme ini terbagi dalam empat kategori utama, yaitu:

1. Mikroorganisme yang hidup dalam simbiosis dengan akar tanaman tertentu, membentuk bintil akar, seperti bakteri *Rhizobium* pada tanaman polong-polongan, atau *Actinomycetes* pada tanaman non-polongan seperti *Alnus* dan *Myrica*.

5 2. Bakteri tanah heterotrofik yang hidup bebas, seperti *Clostridium pasteurianum* (anaerob) dan *Azotobacter* (aerob).

5 3. Bakteri fotosintetik, seperti *Rhodospirillum rubrum*. Beberapa ganggang hijau yang juga melakukan fotosintesis, termasuk *Nostoc*, *Anabaena*, dan *Oscillatoria*.

25 Metabolisme nitrogen adalah proses biologis yang kompleks dan esensial dalam siklus nitrogen di lingkungan, melibatkan konversi nitrogen antara berbagai bentuk kimiawi yang dapat digunakan oleh organisme. Menurut Taroreh (2016), proses ini dimulai dengan fiksasi nitrogen, di mana nitrogen atmosfer (N_2) diubah menjadi amonia (NH_3) oleh mikroorganisme tertentu, seperti bakteri *Rhizobium* dan *Azotobacter*, serta oleh proses sintesis industri. Amonia yang dihasilkan dapat diubah menjadi amonium (NH_4^+) melalui interaksi dengan tanah. Selanjutnya, dalam proses nitrifikasi, amonium dioksidasi menjadi nitrit (NO_2^-) oleh bakteri nitritasi, seperti *Nitrosomonas* sp., dan kemudian nitrit dioksidasi menjadi nitrat (NO_3^-) oleh bakteri nitrifikasi, seperti *Nitrobacter* sp.. Nitrat ini merupakan bentuk nitrogen yang dapat diserap dan digunakan oleh tanaman untuk sintesis asam amino, protein, dan molekul biologis lainnya. Selain itu, proses denitrifikasi mengembalikan nitrogen ke atmosfer dalam bentuk gas nitrogen (N_2) melalui pengurangan nitrat dan nitrit oleh bakteri denitrifikasi, seperti *Pseudomonas* sp. dan *Paracoccus* sp.. Proses ini penting dalam mengatur keseimbangan nitrogen di lingkungan dan mengurangi akumulasi nitrat yang dapat menyebabkan pencemaran air. Metabolisme nitrogen juga melibatkan transformasi nitrogen

organik dalam tubuh organisme, di mana senyawa nitrogen, seperti asam amino dan urea, diubah dan dikeluarkan dari tubuh melalui proses deaminasi dan siklus urea. Keseluruhan proses metabolisme nitrogen tidak hanya mendukung pertumbuhan dan fungsi biologis organisme, tetapi juga selanjutnya nitrit memainkan peran penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem dan kesehatan lingkungan.

2.3.1 Nitrification

Menjaga ketersediaan unsur hara, terutama nitrogen, dalam tanah sangat penting bagi pertumbuhan tanaman. Nitrogen organik yang terakumulasi dalam tanah berbentuk bahan organik tidak dapat langsung digunakan oleh tanaman. Oleh karena itu, diperlukan proses konversi nitrogen (N_2) menjadi amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-) melalui proses nitrifikasi. Nitrifikasi adalah proses oksidasi amonium menjadi nitrit dan selanjutnya nitrit dioksidasi menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi. Proses ini terdiri dari dua tahapan utama, di mana tahap pertama melibatkan oksidasi amonium menjadi nitrit oleh bakteri *Nitrosomonas* sp., dan tahap kedua adalah oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter* sp. (Islam *et al*, 2021). Kedua bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri autotrof, yang menggunakan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbon dioksida sebagai sumber karbon (Pratiwi, 2011).

Faktor lingkungan yang memengaruhi proses nitrifikasi dalam tanah mencakup ketersediaan amonium (NH_4^+), pH tanah, kelembaban, aerasi, dan suhu (Antriana, 2015). Nitrifikasi dapat berlangsung jika amonium tersedia, dan umumnya terjadi secara aerob di dalam tanah. Proses ini bergantung pada oksigen

1 yang cukup untuk mendukung aktivitas bakteri nitrifikasi. Populasi bakteri nitrifikasi dalam tanah sering dijadikan indikator kualitas tanah, karena keberagaman jenis bakteri ini oksigen, cenderung terbatas. Nitrifikasi terdiri dari dua tahap utama. 4 Tahap pertama adalah oksidasi amonia menjadi nitrit yang dilakukan oleh bakteri amonia-oksidasi, seperti *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrosospira* sp.. Tahap kedua melibatkan oksidasi nitrit menjadi nitrat, yang dilakukan oleh bakteri nitrit-oksidasi, seperti *Nitrobacter* sp. dan *Nitrospira* sp.. Menurut studi terbaru, *Nitrospira* sp. menunjukkan kemampuan yang lebih fleksibel dalam beradaptasi dengan lingkungan ekstrem dibandingkan *Nitrobacter* sp., sehingga sering ditemukan di berbagai habitat tanah dan perairan (Daims *et al.*, 2016).

Menurut (Koch *et al.*, 2019), faktor-faktor lingkungan, seperti pH, suhu, dan ketersediaan oksigen, memengaruhi aktivitas dan keberagaman populasi bakteri nitrifikasi. Pengelolaan yang tepat atas faktor-faktor ini sangat penting untuk meningkatkan efisiensi nitrifikasi di sistem pertanian dan mengurangi dampak negatif seperti akumulasi nitrat di tanah dan air, yang dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. 9 nitrat merupakan nutrisi paling dominan (Adyasari *et al.*, 2018), yang dapat memengaruhi produktivitas perairan. Oleh karena itu, reaksi nitrifikasi sangat penting bagi keseimbangan nitrogen dan faktor penentu kualitas perairan (Paul *et al.*, 2020).

2.3.2 Denitrification

Denitrifikasi memainkan peran kunci dalam produksi primer di ekosistem perairan dan termasuk dalam siklus nutrisi utama yang memengaruhi keseimbangan ekosistem tersebut (Paul *et al.*, 2020). Dalam proses ini, nitrat (NO_3^-) diubah

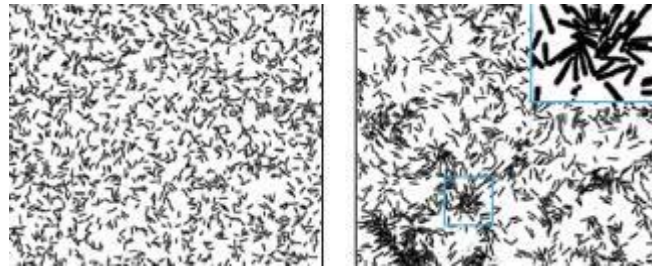
menjadi gas dinitrogen oksida atau air yang (N_2O) dan nitrogen (N_2), yang kemudian dilepaskan ke atmosfer (Herlambang dan Marsidi, 2003). Proses ini berbeda dengan siklus amonia, yang melibatkan nitrifikasi dan asimilasi amonia oleh mikroorganisme untuk diubah menjadi nitrit dan nitrat. Pentingnya *denitrifikasi* dalam mengurangi kelebihan nitrogen di perairan, yang dapat menyebabkan eutrofikasi, atau pertumbuhan alga berlebihan. Proses denitrifikasi sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti ketersediaan oksigen, jenis substrat organik, serta populasi mikroba denitrifikasi. Dalam lingkungan anaerob, seperti lapisan bawah sedimen atau air yang kekurangan oksigen, denitrifikasi berlangsung lebih efisien, membantu menjaga keseimbangan nitrogen di ekosistem perairan dan mengurangi potensi pencemaran nitrogen. Selain itu, senyawa nitrogen seperti amonia lebih sering dihasilkan melalui aktivitas mikroorganisme lain dalam siklus nitrogen yang berbeda dari denitrifikasi, seperti nitrifikasi, yang mengubah amonia menjadi nitrit dan nitrat. denitrifikasi memainkan peran kunci dalam menjaga keseimbangan nitrogen di ekosistem perairan dan tanah. Koch *et al.* (2019) menyebutkan bahwa denitrifikasi berperan penting dalam mengurangi akumulasi nitrat yang berlebih, yang dapat menyebabkan eutrofikasi pada perairan, yaitu ledakan pertumbuhan alga yang mengurangi kadar oksigen dalam air dan berpotensi mematikan kehidupan akuatik.

Proses denitrifikasi dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, termasuk ketersediaan oksigen, pH, suhu, dan kandungan bahan organik. Menurut penelitian Van Groenigen *et al.* (2015), kondisi anaerob, seperti yang ditemukan di sedimen dasar atau tanah tergenang air, lebih kondusif bagi proses denitrifikasi. Selain itu,

mereka menekankan bahwa penggunaan pupuk nitrogen yang berlebihan dalam pertanian dapat meningkatkan risiko emisi gas nitrogen oksida (N_2O), salah satu gas rumah kaca yang kuat, jika denitrifikasi tidak dikelola dengan baik. Penelitian lain oleh Kuypers *et al.* (2018) menunjukkan bahwa denitrifikasi tidak hanya terjadi di tanah dan ekosistem perairan tawar, tetapi juga di lautan dalam, di mana bakteri denitrifikasi berkontribusi pada pengurangan nitrat di zona oksigen minimum (OMZ). Hal ini berimplikasi penting pada siklus nitrogen global dan pada kemampuan laut dalam mengurangi polusi nitrogen yang dihasilkan dari aktivitas manusia di darat. Bakteri denitrifikasi merupakan kelompok mikroorganisme yang mengubah nitrat (NO_3^-) menjadi nitrogen gas (N_2) atau gas nitrogen oksida (N_2O), terutama dalam kondisi anaerob atau kekurangan oksigen. Berikut beberapa contoh bakteri denitrifikasi:

1. *Pseudomonas*

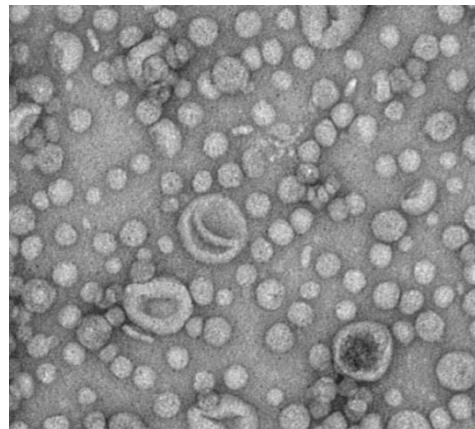
Pseudomonas sp. adalah salah satu genus bakteri denitrifikasi yang paling umum. Bakteri ini bersifat gram negatif, berbentuk batang, dan dapat hidup dalam lingkungan anaerob fakultatif. Mereka menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron dalam respirasi anaerob, mengurangi nitrat menjadi nitrogen gas (N_2). Menurut penelitian, *Pseudomonas* sp. banyak hidup ditemukan di lingkungan tanah dan air, terutama di daerah dengan kadar oksigen rendah atau tergenang air.



Gambar 2.3. Bakteri *Pseudomonas* sp. (Kühn *et al.*, 2021)

2. *Paracoccus denitrificans*

Paracoccus denitrificans sp. adalah bakteri gram negatif yang juga melakukan denitrifikasi. Mikroorganisme ini sangat efisien dalam mengubah nitrat menjadi dinitrogen gas, terutama dalam kondisi anaerob. *Paracoccus denitrificans* sp. sering digunakan sebagai model dalam penelitian tentang denitrifikasi karena memiliki kemampuan yang baik dalam menggunakan nitrat sebagai sumber energi alternatif ketika oksigen terbatas.

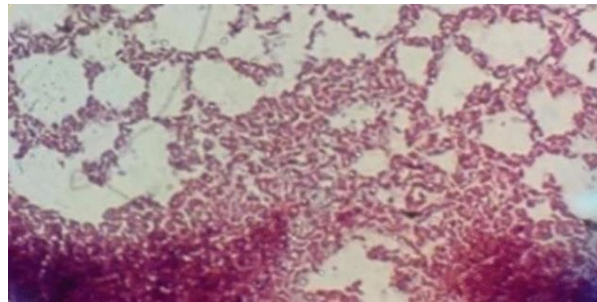


Gambar 2.4. Bakteri *Paracoccus denitrificans* sp. (Morinaga *et al.*, 2020)

3. *Bacillus*

Beberapa spesies *Bacillus* sp., seperti *Bacillus subtilis* sp., merupakan bakteri denitrifikasi yang ditemukan di tanah. Mereka adalah bakteri gram positif dan berbentuk batang. *Bacillus* sp. seringkali hidup di lingkungan

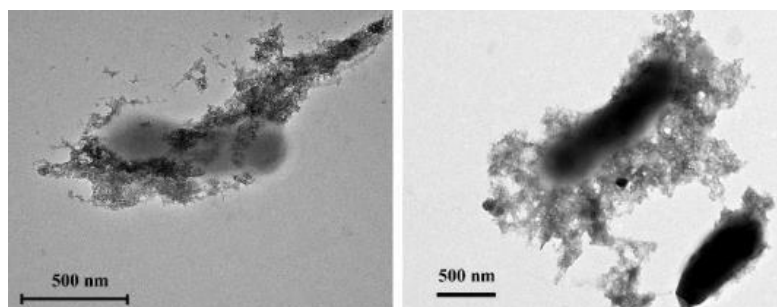
yang bervariasi, termasuk tanah dengan kondisi anaerob parsial. Dalam kondisi tersebut, mereka mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit dan akhirnya menjadi nitrogen gas.



Gambar 2.5. Bakteri *Bacillus* sp. (Akindahunsi *et al.*, 2021)

4. *Thiobacillus denitrificans*

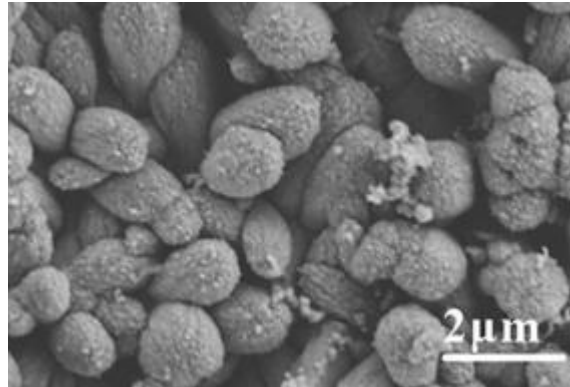
Thiobacillus denitrificans sp. adalah bakteri kemolitotrof yang mampu melakukan denitrifikasi. Bakteri ini tidak hanya menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron, tetapi juga mengoksidasi senyawa sulfur untuk menghasilkan energi. Ini membuatnya unik karena *Thiobacillus* sp. mampu bertahan dalam lingkungan dengan kandungan sulfur tinggi, seperti tanah atau perairan tercemar logam berat.



Gambar 2.6. Bakteri *Thiobacillus denitrificans* sp. (Chen *et al.*, 2020)

5. *Alcaligenes*

Alcaligenes sp. adalah bakteri gram negatif yang hidup dalam lingkungan tanah dan air. Mereka mampu menggunakan nitrat sebagai akseptor elektron dalam kondisi anaerob. *Alcaligenes* sp. sering ditemukan di tanah pertanian dan perairan limbah, di mana mereka berperan dalam siklus nitrogen.



Gambar 2.7. Bakteri *Alcaligenes* sp. (Shi & Wang, 2023)

2.3.3 Anammox

Menurut Chen *et al.* (2014), penghilangan senyawa nitrogen secara optimal dapat dicapai dengan mengubah nitrat menjadi gas nitrogen oksida (N_2O) dan gas dinitrogen (N_2). Salah satu metode yang efektif untuk menghilangkan nitrogen adalah melalui proses *anaerobic ammonium oxidation* (Anammox). Anammox merupakan proses biokimia di mana amonium diubah secara biologis menjadi gas nitrogen (N_2) dengan nitrit sebagai akseptor elektron. Proses ini dilakukan oleh bakteri autotrof, mirip dengan proses nitrifikasi, sehingga hanya memerlukan sedikit sumber karbon (Hauck *et al.*, 2016). Keunggulan utama dari proses Anammox meliputi rendahnya kebutuhan oksigen, tidak memerlukan sumber organik, serta menghasilkan lumpur dalam jumlah rendah (Malamis *et al.*, 2013).

Kehadiran amonium dan nitrat dalam air limbah dapat menyebabkan eutrofikasi pada ekosistem perairan. Pengolahan air limbah domestik yang tidak

efektif dalam menurunkan konsentrasi nitrogen, terutama amonium dan nitrat, berisiko mencemari lingkungan perairan jika konsentrasinya melebihi ambang batas yang pada sedimen laut. *Brocadia* sp. merupakan genus bakteri yang sering dijumpai dalam sistem pengolahan ditentukan. Proses *Anammox* menjadi salah satu solusi yang dapat meningkatkan efisiensi penghilangan nitrogen dari air limbah, dan terus dikembangkan karena keunggulannya dalam pengolahan limbah.

Proses *Anaerobic Ammonium Oxidation* (*Anammox*) adalah salah satu jalur biologis yang penting dalam siklus nitrogen, di mana amonium (NH_4^+) dioksidasi langsung menjadi nitrogen gas (N_2) menggunakan nitrit (NO_2^-) sebagai akseptor elektron dalam kondisi anaerob. Proses ini menjadi salah satu metode pengolahan air limbah yang efektif karena tidak memerlukan oksigen dan hanya membutuhkan sedikit atau bahkan tidak memerlukan sumber karbon organik. Oleh karena itu, proses ini hemat energi dan menghasilkan sedikit lumpur residu.

Bakteri autotrof yang terlibat memainkan peran sentral. Bakteri ini mampu mengubah amonium menjadi nitrogen gas melalui reaksi kimia yang efisien. Salah satu bakteri yang paling terkenal dalam proses ini adalah *Candidatus Brocadia anammoxidans* sp., yang pertama kali ditemukan pada sedimen laut. *Brocadia* sp. merupakan genus bakteri yang sering dijumpai dalam sistem pengolahan limbah *Anammox*. Menurut Ma et al. (2023), bakteri *Anammox* sp. lainnya seperti *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* sp. dan *Candidatus Scalindua* sp. juga memainkan peran penting dalam proses ini. *Kuenenia* banyak ditemukan di reaktor pengolahan limbah domestik, sementara *Scalindua* sp. lebih umum pada

lingkungan laut dan estuarine. Kedua bakteri ini dikenal mampu bertahan dalam kondisi lingkungan ekstrem dengan efisiensi konversi nitrogen yang tinggi.

2.3.4 Ammonification

Amonifikasi (*ammonification*) adalah proses penguraian senyawa nitrogen organik menjadi amonia (NH_3) atau amonium (NH_4^+) oleh aktivitas mikroorganisme, terutama bakteri dan jamur, dalam tanah dan ekosistem perairan. Proses ini merupakan salah satu tahap penting dalam siklus nitrogen, di mana nitrogen yang terdapat dalam bentuk organik seperti dalam protein, asam amino, dan urea diuraikan menjadi bentuk anorganik yang dapat kembali digunakan oleh tumbuhan. Amonifikasi terjadi melalui proses dekomposisi materi organik, terutama oleh mikroorganisme heterotrof. Contoh bakteri yang berperan dalam proses amonifikasi adalah *Bacillus subtilis* sp., *Clostridium* sp., dan *Pseudomonas* sp. (Prakash, 2021).

Bakteri Amonifikasi ditemukan di tanah dan air dan memiliki kemampuan untuk memecah senyawa organik nitrogen menjadi amonia atau amonium melalui enzim proteolitik dan urease. *Bacillus subtilis* sp. adalah salah satu bakteri tanah yang banyak digunakan dalam penelitian, dikenal memiliki kemampuan dekomposisi yang baik terhadap senyawa organik dan nitrogen. Sedangkan *Clostridium* sp., yang merupakan bakteri anaerob obligat, sering ditemukan dalam lingkungan anaerobik seperti lumpur atau tanah yang kekurangan oksigen. Menurut Wang *et al.* (2023), amonifikasi memiliki peran penting dalam meningkatkan ketersediaan nitrogen dalam ekosistem alami dan buatan, seperti tanah pertanian dan sistem pengolahan limbah. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa amonifikasi

18 dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, termasuk suhu, pH, dan kandungan organik tanah. Proses amonifikasi yang optimal terjadi pada pH netral hingga sedikit asam, dan dalam kondisi tanah yang lembap dengan kandungan bahan organik yang cukup. Selain itu, dalam sistem pengolahan air limbah, bakteri seperti *Pseudomonas* sp. juga berperan penting dalam mengubah nitrogen organik yang terdapat dalam air limbah domestik dan industri menjadi amonia, yang kemudian dapat digunakan dalam proses nitrifikasi lebih lanjut. Penelitian yang semakin berkembang juga menunjukkan bahwa manipulasi populasi bakteri amonifikasi dalam tanah atau air limbah dapat meningkatkan efisiensi penggunaan nitrogen, sehingga mengurangi dampak pencemaran nitrogen yang berlebihan pada ekosistem.

III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian skripsi di lakukan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian berlangsung pada bulan November 2024 sampai Januari 2025.

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan yaitu erlenmeyer, timbangan digital elektronik, spatula spalel, kertas perkamen, *magnetic stirrer*, digital Ph meter, bunsen, *UV sterilizer*, keranjang, kapas, kertas, plastic, karet (sumbat), spidol permanen, kain lap/sarung tangan anti panas, autoclaf, plastik anti panas, kulkas penyimpanan, mikropipet, dan tabung ukur 1L.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan yaitu ammonium sulfat, dikalium fosfat, natrium klorida, magnesium (II) sulfat heptahidrat, besi (III) klorida, besi (II) sulfat heptahidrat, kalsium karbonat, dan aquadest.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian metode deskriptif eksperimental yakni penelitian bertujuan untuk mengetahui informasi

secara alamiah tentang media pertumbuhan yang mampu menumbuhkan bakteri nitrifikasi.

3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas yaitu tipe media cair bakteri nitrifikasi.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media Spesifik (Media Nitrifikasi)

Langkah pertama dalam pembuatan media nitrifikasi adalah siapkan alat timbangan, erlenmeyer, dan aquades sebanyak 100 ml. Media nitrifikasi mengandung: 0.1 g ammonium sulfat, 0.1 g dikalium fosfat, 0.2 g natrium klorida, 0.05 g magnesium (II) sulfat heptahidrat, 0.5 g besi (III) klorida, dan 1 g kalsium karbonat. Semua bahan ditimbang sesuai dengan takaran dan kemudian di campurkan dengan aquades sebanyak 100 ml homogenkan dan dilakukan pengecekan pH menggunakan pH meter hingga pH mencapai 7, setelah mencapai pH yang di inginkan dan lanjut diautoklaf selama 15 menit kemudian dinginkan media di dalam lemari pendingin media siap digunakan.

3.4.2 Pembuatan Media Subkultur

Langkah pertama dalam pembuatan media subkultur adalah siapkan alat timbangan, erlenmeyer, dan aquades sebanyak 90 ml. Media subkultur mengandung: 0.66 g ammonium sulfat, 0.03 g besi (II) sulfat heptahidrat, 0.3 g natrium klorida, dan 0.14 g magnesium (II) sulfat heptahidrat. Semua bahan ditimbang sesuai dengan takaran dan kemudian di campurkan

dengan aquades sebanyak 90 ml dan kemudian ditambahkan *monopotassium fosfat* sebanyak 10 ml . Total volume media yang dibuat 100 ml, kemudian larutan 10 ml diencerkan sampai 100 ml. Untuk menggunakan media di tambahkan 1 g kalsium karbonat dan lanjut diautoklaf media siap digunakan.

3.4.3 Kultur Bakteri

Langkah pertama dalam proses kultur bakteri adalah siapkan alat dan bahan. Setelah di lakukan pengkulturan bakteri ke media pertumbuhan bakteri, selanjutnya bakteri di inokulasi dan di inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C.

3.4.4 Pengujian menggunakan Uji Amonia

Sampel media spesifik bakteri *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. di ambil sebanyak 5ml, selanjutnya di teteskan reagen pertama NH_4 sebanyak tiga tetes dan kemudian di tambahkan reagen kedua dan ketiga NH_4 sebanyak tiga tetes, setelah homogen dan diamkan selama 3 menit, kemudian hasil sudah bisa di baca sesuai dengan standar pada kertas standarisasi uji amonia.

3.4.5 Pengujian menggunakan Uji Spektrofotometer

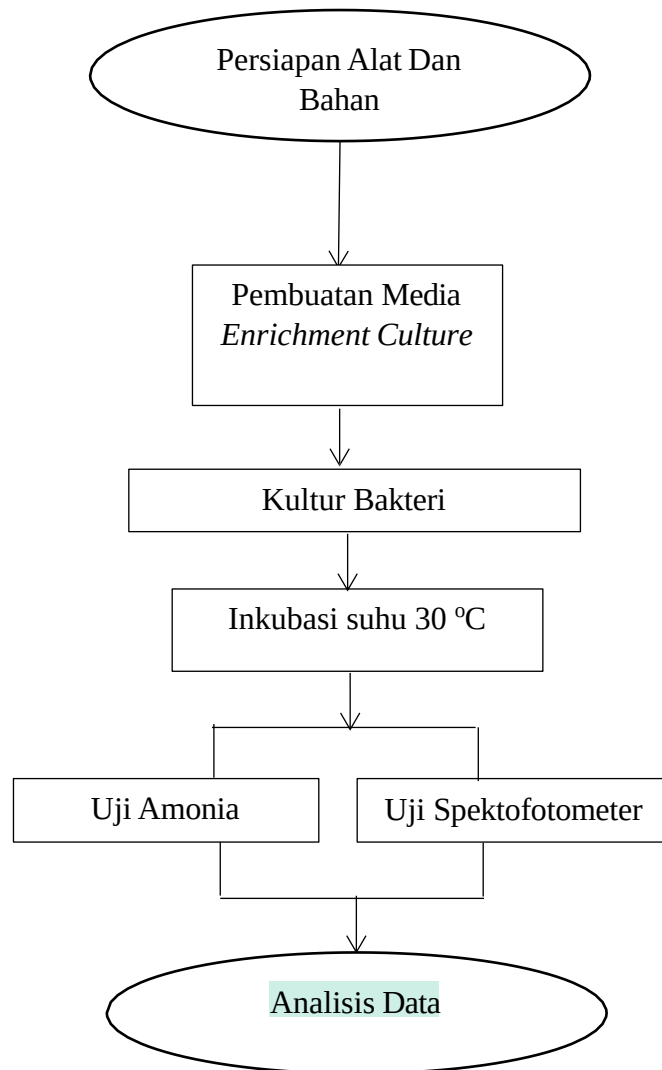
Seluruh sampel sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50 mL, kemudian ditambahkan 3 mL larutan NaCl jenuh dan aquades hingga mencapai tanda batas. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan mesin ultrasonik selama 30 menit pada suhu 40°C. Setelah proses sonikasi selesai, larutan dibiarkan berada pada suhu ruang.

Selanjutnya, larutan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 42.

Sebanyak 10 mL filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan 0,5 mL larutan sulfanilamida dan dibiarkan selama lima menit.

Setelah itu, 0,5 mL larutan NED ditambahkan, dan campuran tersebut didiamkan selama 15 menit. Kandungan nitrit dalam larutan kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 541 nm (Ningrum, 2021).

3.5 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1. Kerangka Penelitian

3.6 Analisis Data

Semua hasil dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif menggunakan grafik dan gambar.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

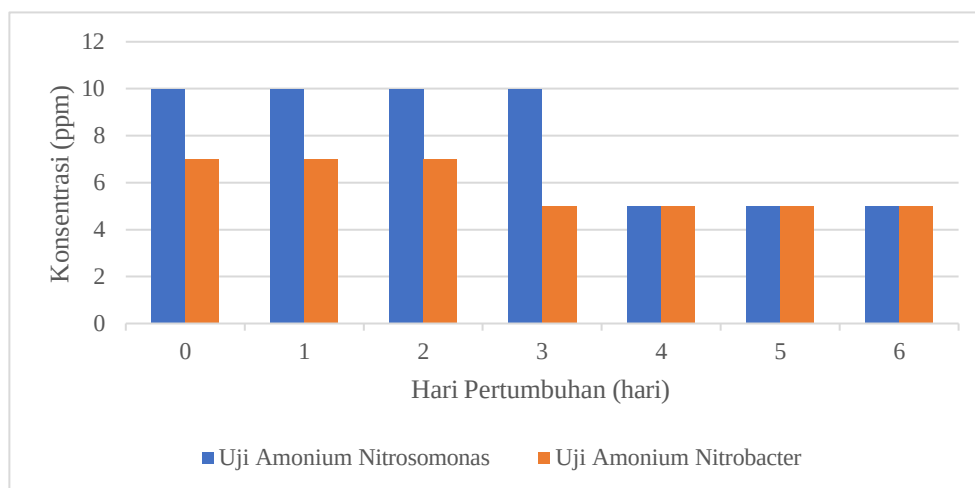
4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Uji Amonia

Grafik pada uji amonium *Nitrosomonas* sp. menunjukkan hasil pada hari ke-0 hingga ke-2, kadar amonium tetap stabil di 10. Mulai hari ke-3 hingga hari ke-4, kadar amonium turun signifikan menjadi 5. Setelah hari ke-4 hingga ke-6, kadar amonium stabil di 5. Grafik pada uji amonium *Nitrobacter* sp. menunjukkan hasil pada hari ke-0 hingga hari ke-2, kadar amonium stabil di 7. Setelah hari ke-3 hingga ke-6, kadar amonium tetap stabil di 5.

Nitrosomonas sp. mengoksidasi amonium menjadi nitrit (NO_2^-). Penurunan signifikan kadar amonium pada hari ke-3 hingga ke-4 menunjukkan aktivitas enzimatik *Nitrosomonas* sp. yang meningkat, sehingga banyak amonium diubah menjadi nitrit. Stabilitasnya kadar amonium di hari ke-5 dan ke-6 menunjukkan bahwa sebagian besar substrat amonium sudah diubah atau bahwa laju konsumsi amonium mendekati stabilitas. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Islam *et al.*, (2021) bahwa sktivitas isolat bakteri nitrifikasi paling optimal terjadi pada waktu inkubasi 4 hari. Dimana hasil dalam penelitian ini menemukan bahwa penurunan signifikan kadar amonium terjadi pada hari ke-3 hingga ke-4, yang menunjukkan aktivitas enzimatik tinggi dari *Nitrosomonas* sp. Konsentrasi amonium menurun hingga 7 hari inkubasi pada berbagai perlakuan sumber karbon, sejalan dengan hasil dalam penelitian ini bahwa kadar amonium menurun secara signifikan hingga hari ke-4, kemudian stabil pada hari ke-5 dan ke-6. Ini menunjukkan bahwa proses konsumsi amonium mulai melambat setelah fase awal inkubasi. *Nitrobacter* sp. tidak menggunakan amonium secara langsung, tetapi memanfaatkan nitrit yang

1 dihasilkan oleh *Nitrosomonas* sp. untuk diubah menjadi nitrat (NO_3^-). Stabilitas kadar amonium pada grafik ini menunjukkan bahwa *Nitrobacter* sp. tidak terlibat langsung dalam konsumsi amonium, tetapi tetap dipengaruhi oleh hasil proses *Nitrosomonas* sp. Menurut penelitian Islam *et al.*, (2021) pada hari ke-4 inkubasi, terjadi peningkatan signifikan konsentrasi nitrat pada medium khusus untuk *Nitrobacter* sp. Namun, pada hari ke-8, jumlah nitrat yang dihasilkan menurun. *Nitrobacter* sp. menunjukkan hasil pada hari ke-0 hingga hari ke-2, kadar amonium stabil di 7. Setelah hari ke-3 hingga ke-6, kadar amonium tetap stabil. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan hasil dari peneliti Islam *et al.* (2021) memiliki kesamaan dalam pola aktivitas nitrifikasi, bahwa aktivitas nitrifikasi intensif terjadi di awal inkubasi (hari ke-3 hingga ke-6), diikuti dengan stabilisasi atau penurunan aktivitas di hari-hari berikutnya.



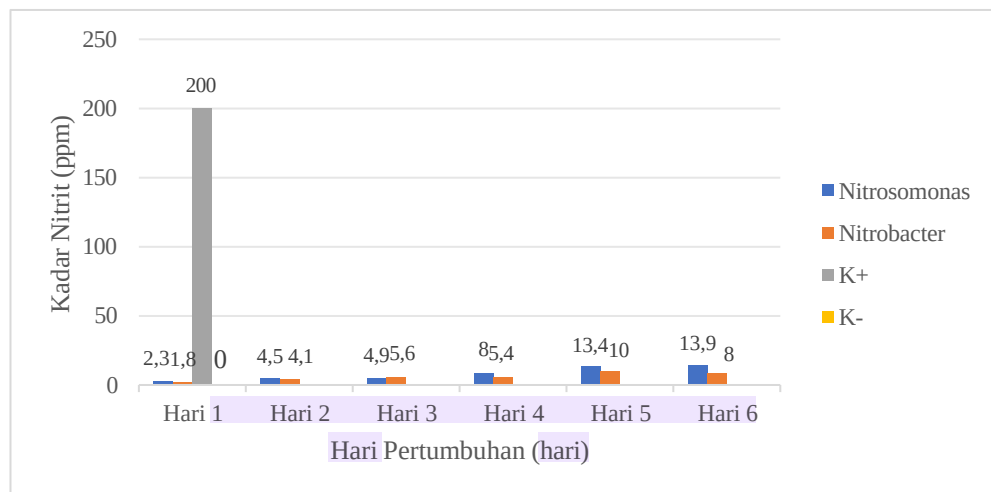
Gambar 4.8. Hasil Uji Amonium

4.1.2 Hasil Uji Spektrofotometer

Pertumbuhan bakteri *Nitrosomonas* sp. meningkat secara signifikan dari hari ke-1 (2,3) hingga hari ke-6 (13,9), hal ini menunjukkan bahwa *Nitrosomonas* sp. tumbuh lebih cepat dibandingkan *Nitrobacter* sp. *Nitrobacter* sp. mengalami

pertumbuhan dan peningkatan, tetapi dengan kecepatan lebih lambat, dari hari ke-1 (1,8) hingga hari ke-6 (8,0) pada gambar. *Nitrosomonas* sp. adalah bakteri yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit (proses awal nitrifikasi), sedangkan *Nitrobacter* sp. mengubah nitrit menjadi nitrat.

Menurut Widiyani *et al.*, (2021) hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar amonium meningkat pada hari ke-3, yang kemungkinan disebabkan oleh proses lisis mikroba aerobik dan heterotrofik akibat perubahan kondisi lingkungan. Pada hari ke-7, terjadi penurunan kadar amonium bersamaan dengan peningkatan kadar nitrit dan nitrat, yang mungkin disebabkan oleh aktivitas mikroba *Nitrosomonas* sp. Sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa pertumbuhan bakteri *Nitrosomonas* sp. meningkat secara signifikan dari hari ke-1 (2,3) hingga hari ke-6 (13,9). Hasil penelitian terdapat pada (Gambar 4.8).



Gambar 4.9. Hasil Uji Spektrofotometer

4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan dua metode utama untuk mengukur aktivitas nitrifikasi, yaitu uji amonia dan uji spektrofotometer. Uji amonia bertujuan untuk

mengetahui konsentrasi amonia yang tersisa selama proses nitrifikasi oleh *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp., sedangkan uji spektrofotometer digunakan untuk mendeteksi kadar nitrit yang terbentuk sebagai hasil oksidasi amonia.

Hasil uji amonia menunjukkan bahwa terdapat penurunan konsentrasi amonia dari hari ke-3 hingga hari ke-4 (dari 10 menjadi 5 mg/L) pada kultur *Nitrosomonas* sp., yang kemudian stabil hingga hari ke-6. Penurunan ini mengindikasikan bahwa amonia telah diubah menjadi nitrit. Sebaliknya, pada kultur *Nitrobacter* sp., kadar amonia cenderung stabil, menunjukkan bahwa bakteri ini tidak secara langsung mengonsumsi amonia, melainkan memanfaatkan nitrit sebagai substrat utama. Uji spektrofotometer mendukung hasil tersebut dengan menunjukkan peningkatan kadar nitrit seiring waktu, yang mengonfirmasi adanya aktivitas oksidasi amonia oleh *Nitrosomonas* sp.. Dengan demikian, kedua metode saling melengkapi: uji amonia mengindikasikan konsumsi substrat, sementara spektrofotometer menunjukkan produk dari reaksi oksidasi.

Keberhasilan proses nitrifikasi tidak lepas dari peran media yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp.. Dalam penelitian ini, media spesifik yang digunakan mengandung 0.1 g amonium sulfat, 0.1 g dikalium fosfat, 0.2 g natrium klorida, 0.05 g magnesium (II) sulfat heptahidrat, 0.5 g besi (III) klorida, dan 1 g kalsium karbonat. Media ini mendukung pertumbuhan dengan menyediakan sumber nitrogen, mineral esensial, serta menjaga kestabilan pH. Adapun pH yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 6-7 dengan suhu 30°C. Beberapa referensi menunjukkan komposisi media nitrifikasi yang lebih kompleks, seperti media Sukmawati *et al.*, (2022), media spesifik yang

digunakan mengandung 2 g amonium sulfat, 0.5 g natrium karbonat, 0.5 g dikalium fosfat, 50 mg magnesium (II) sulfat heptahidrat, 5 mg kalsium klorida dihidrat, 2 mg mangan sulfat tetrahydrae, 0.2 g EDTA, 0,18 g Besi(II) sulfat 0.1 mg Tembaga sulfat pentahidrat, 0.05 mg natrium molybdate, 0.001 mg cobalt chloride hexahydrate, 0.1 mg zinc sulfate heptahydrate, dan 0.5 g glukosa. Menurut Hayatsu *et al.*, (2021), pertumbuhan bakteri nitrifikasi sangat dipengaruhi oleh perubahan pH, karena bakteri ini umumnya tumbuh optimal pada kondisi pH netral yaitu pada kisaran 6-6,3.

Komposisi medium spesifik untuk *Nitrobacter* sp. terdiri dari 1000 ml air suling, 0,2 g natrium nitrit, 0,50 g kalium dihidrogen fosfat, 0,50 g natrium klorida, 0,50 g magnesium sulfat heptahidrat, 0,50 g besi (II) sulfat heptahidrat, 1,0 g natrium karbonat, dan 15 g agar dengan pH 7 (Zhang *et al.*, 2014). Pembuatan media nitrifikasi untuk medium spesifik *Nitrosomonas* sp. memiliki komposisi sebagai berikut 0,5 gram amonium sulfat, 0,2 gram kalium dihidrogen fosfat, 0,04 gram kalsium klorida dihidrat, 0,04 gram magnesium sulfat heptahidrat, 0,5 gram besi sitrat, 0,5 gram fenol merah (pH 6,2–8,4), dan 20 gram bakto agar (Fahrudin, 2024). Media spesifik *Nitrosomonas* sp. yaitu *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Tandiono *et al.*, 2024).

Media yang digunakan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang melakukan nitrifikasi dan menguji kemampuan mereka mengurai amonium terdiri dari 725 mg KH_2PO_4 (Kalium dihidrogen fosfat), 1136 mg $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Natrium hidrogen fosfat dodekahidrat), 50 mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Magnesium sulfat heptahidrat), 20 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Kalsium klorida dihidrat), dan 1,0 mg

$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Natrium etilendiamintetraasetat dihidrat). Semua bahan ini dicampur dan dilarutkan dalam air bersih (aquades) (Agustiyani *et al.*, 2018).

Pemeriksaan ini menggunakan uji amonia untuk menganalisis aktivitas *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. Uji amonia dilakukan untuk menentukan konsentrasi amonia yang tersisa atau yang diubah selama proses nitrifikasi (Yanqoritha, 2022). *Nitrosomonas* sp., uji ini mengukur penurunan kadar amonia yang dioksidasi menjadi nitrit, sedangkan pada *Nitrobacter* sp., uji ini membantu memahami laju konversi nitrit menjadi nitrat. *Nitrosomonas* sp. adalah bakteri nitrifikasi yang termasuk dalam kelompok bakteri kemoautotrof. Bakteri ini mampu mengoksidasi amonia (NH_3) menjadi nitrit (NO_2^-) melalui proses nitrifikasi.

Aktivitas *Nitrosomonas* sp. sangat penting dalam siklus nitrogen, terutama dalam tahap awal konversi nitrogen dari bentuk amonia yang lebih sederhana menjadi senyawa yang dapat dimanfaatkan oleh organisme lain. *Nitrobacter* sp. adalah bakteri kemoautotrof yang berperan dalam tahap kedua proses nitrifikasi. Bakteri ini mengoksidasi nitrit (NO_2^-), yang dihasilkan oleh *Nitrosomonas* sp., menjadi nitrat (NO_3^-). Nitrat merupakan bentuk nitrogen yang lebih stabil dan lebih mudah diserap oleh tumbuhan untuk pertumbuhan.

Meskipun hasil penelitian menunjukkan adanya aktivitas nitrifikasi, data yang diperoleh masih belum optimal, terutama dalam konsistensi konversi amonia dan nitrit antar hari. Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan metode serupa, yaitu uji amonia dan spektrofotometer, belum ditemukan laporan yang identik dalam hal media dan pendekatan eksperimental yang digunakan. Oleh karena itu, penelitian ini merupakan laporan pertama yang

menguji kadar amonia dan kadar nitrit menggunakan kombinasi metode dan media yang spesifik ini, sehingga membuka peluang untuk eksplorasi lebih lanjut dalam pengembangan media dan teknik pengukuran.

Media yang digunakan dalam penelitian ini mengandung nutrien esensial seperti amonium sulfat sebagai sumber nitrogen, fosfat untuk buffer dan metabolisme, serta garam mineral seperti magnesium, natrium, kalsium, dan besi yang penting untuk aktivitas enzim dan pertumbuhan sel. Namun, jika dibandingkan dengan media yang digunakan oleh Sukmawati *et al.*, (2022), media dalam penelitian ini relatif lebih sederhana, untuk meningkatkan efisiensi pertumbuhan dan aktivitas bakteri nitrifikasi, beberapa komponen tambahan yang bisa dipertimbangkan antara lain, Glukosa (0.5 g) sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan awal, EDTA (0.2 g) untuk membantu ketersediaan ion logam melalui kelasi, trace element seperti Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , dan MoO_4^{2-} yang penting untuk aktivitas enzimatik bakteri. Indikator pH (seperti fenol merah) untuk memantau perubahan pH selama proses nitrifikasi berlangsung.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Bahwa media *enrichment* dalam penelitian ini mampu menumbuhkan bakteri nitrifikasi, khususnya *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp.

5.2 Saran

Media *enrichment* pada penelitian ini masih memerlukan optimasi dengan menggunakan bahan kimia lain seperti kalium dihidrogen fosfat, EDTA, glukosa, dipotassium hydrogen phosphate, magnesium chloride hexahydrate, kalsium klorida dihidrat, ethylenediaminetetraacetic acid, sodium karbonat, iron (III) chloride hexahydrate, dan amonium klorida serta suhu dan pH bervariasi.