TA/TL/2022/1442

TUGAS AKHIR

ANALISIS JUMLAH DAN PENGARUH BAKTERI *NITROSOMONAS* sp. UNTUK REDUKSI AMONIA PADA TEKNOLOGI ECOLOGICAL FLOATING BED.

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan

ILHAM ARIF RIADI
16513005

PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA

2022

TUGAS AKHIR

ANALISIS JUMLAH DAN PENGARUH BAKTERI *NITROSOMONAS* sp. UNTUK REDUKSI AMONIA PADA TEKNOLOGI ECOLOGICAL FLOATING BED.

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan

ILHAM ARIF RIADI
16513005

Disetujui,
Dosen Pembimbing:

Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng.	**Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech, Ph.D**
NIK. 095130403	**NIK. 155130505**
Tanggal:	Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Prodi Teknik Lingkungan FTSP UII

Eko Siswoyo, ST., M.Sc.ES., Ph.D.
NIK. 025100406
Tanggal: 20 April 2022

HALAMAN PENGESAHAN

ANALISIS JUMLAH DAN PENGARUH BAKTERI *NITROSOMONAS* sp. UNTUK REDUKSI AMONIA PADA TEKNOLOGI ECOLOGICAL FLOATING BED.

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

Hari : Kamis
Tangggal : 7 April 2022

Disusun Oleh:

ILHAM ARIF RIADI
16513005

Tim Penguji :

Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng. ( )

Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech, Ph.D ( )

Dr. Joni Aldilla Fajri, ST, M.Eng. ( )

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Program *software* komputer yang digunakan dalam penelitian ini sepenuhnya menjadi tanggungjawab saya, bukan tanggungjawab Universitas Islam Indonesia.
5. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sangsi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sangsi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 7 April 2022

Yang membuat pernyataan,



Ilham Arif Riadi

NIM: 16513005

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tugas akhir ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak September 2020 ini ialah **ANALISIS JUMLAH DAN PENGARUH BAKTERI *NITROSOMONAS* sp. UNTUK REDUKSI AMONIA PADA TEKNOLOGI ECOLOGICAL FLOATING BED.**.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng selaku pembimbing 1, Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech, Ph.D selaku pembimbing 2, serta Bapak Dr. Joni Aldilla Fajri, ST, M.Eng. sebagai penguji yang telah banyak memberi saran dan arahan. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada teman teman Teknik Lingkungan 2016, teman teman Tugas Akhir EFB, serta staf Laboratorium Kualitas Lingkungan, yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, serta seluruh kerabat dan sahabat, atas segala doa dan kasih sayangnya.

Semoga tugas akhir ini bermanfaat.

Yogyakarta, 14 Desember 2020

Ilham Arif Riadi

"Halaman ini sengaja dikosongkan"

ABSTRAK

ILHAM ARIF RIADI. Analisis Jumlah Dan Pengaruh Bakteri Nitrosomonas sp. Untuk Reduksi Amonia Pada Teknologi Ecological Floating Bed. Dibimbing oleh DR. ENG. AWALUDDIN NURMIYANTO, S.T., M.ENG dan ANNISA NUR LATIFAH, S.Si., M. Biotech, Ph.D.

Pencemaran *greywater* pada badan air oleh pemukiman merupakan permasalahan lingkungan yang harus dihadapi saat ini. Penelitian ini dilakukan untuk melihat seberapa efektif total koloni *Nitrosomonas sp.* dalam reaktor *Ecological Floating Bed* (EFB) untuk mereduksi polutan ammonia *greywater*. Reaktor penelitian ini dirancang menjadi tiga jenis yaitu reaktor kontrol, reaktor diisi tanaman (EFB) dan reaktor yang ditambahkan media penyangga spons disekitar tanaman (EFB+Spons), hal ini bertujuan untuk melihat kemampuan reduksi ammonia pada setiap perlakuan reaktor. Perhitungan jumlah koloni *Nitrosomonas* menggunakan metode *Total Plate Count* dimana bakteri sudah diisolasi dalam media spesifik padat *Nitrosomonas sp.* Densitas koloni *Nitrosomonas* pada hari ke 0, 12, 24, dan 48 akan disandingkan dengan data konsentrasi ammonia selama durasi penelitian dilakukan. Reaktor EFB+Spons memperlihatkan hasil yang baik dibandingkan dengan dua reaktor lainnya. Dimana reaktor EFB+Spons menyisihkan ammonia sebesar 74.84mg/L menjadi 9.24 mg/L dengan koloni *Nitrosomonas* berjumlah 210 $x10^6$ CFU/mL pada hari ke 24 dan 223 $x10^6$ CFU/mL di hari 48. Teknologi EFB diasumsikan cukup efektif untuk mereduksi polutan ammonia dalam penelitian ini. Diperlihatkan dari hasil penelitian bahwa, Reaktor EFB yang ditambahkan dengan media penyangga akan memperbesar luas permukaan tempat bakteri untuk berkembang biak sehingga oksidasi ammonia yang dilakukan bakteri dan tanaman dinilai semakin efektif.

Kata kunci: Amonia, *Ecological Floating Bed*, *Nitrosomonas*

ABSTRACT

ILHAM ARIF RIADI. *NumberAnalysis and Effect of Nitrosomonas sp. For Ammonia Reduction in Ecological Floating Bed Technology. Supervised by* DR. ENG. AWALUDDIN NURMIYANTO, S.T., M.ENG *and* ANNISA NUR LATIFAH, S.Si., M. Biotech, Ph.D.

Greywater pollution in water bodies by community settlements is an environmental problem that must be faced at this time. This study aims to see how effective the total colony of Nitrosomonas sp. in an Ecological Floating Bed (EFB) reactor to reduce ammonia pollutants in greywater. This research reactor designed into three types, namely control reactor, plants filled reactor (EFB) and reactor added with sponge support media around the plants (EFB + Sponge). This aims to see the ability of ammonia reduction in each reactor treatment. Calculation of Nitrosomonas colonies using the Total Plate Count method where the bacteria have been isolated in a Nitrosomonas sp specific solid medium. The density of Nitrosomonas colonies on days 0, 12, 24, and 48 will be compared with the ammonia concentration data during the study. The EFB + Sponge reactor showed good results compared to the other two reactors. Where the EFB + Sponge reactor removes ammonia from 74.84mg / L to 9.24 mg / L with Nitrosomonas colonies totaling 210 x106 CFU / mL on day 24 and 223 x106 CFU / mL on day 48. EFB technology is assumed to be effective enough to reduce ammonia pollutants in this research. It was shown from the results that the EFB reactor added with support media would increase the surface area where the bacteria would breed so that ammonia oxidation by bacteria and plants was considered more effective..

Keywords: Amonia, Ecological Floating Bed, Nitrosomonas

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI v

DAFTAR TABEL vii

DAFTAR GAMBAR viii

DAFTAR LAMPIRAN ix

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Perumusan Masalah 2

1.3 Tujuan Penelitian 2

1.4 Manfaat Penelitian 3

1.5 Asumsi Penelitian 3

1.6 Ruang Lingkup 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

2.1 Air Limbah (*Greywater*) 4

2.2 Proses Nitrifikasi 4

2.3 Bakteri Penitrifikasi 5

2.4 Teknologi *Ecological Floating Bed* (EFB) 6

BAB III METODE PENELITIAN 9

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian 9

3.2 Alat dan Bahan 9

3.3 Prosedur Penelitian 9

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 15

4.1 Karakteristik Air Limbah 15

4.2 Operasional Reaktor 16

4.3 Jumlah Koloni Bakteri *Nitrosomonas* 18

4.4 Pengaruh Konsentrasi Amonia Terhadap Jumlah Koloni *Nitrosomonas* 22

BAB V SIMPULAN DAN SARAN 27

5.1 Simpulan 27

5.2 Saran 27

DAFTAR PUSTAKA 28

LAMPIRAN 31
Lampiran 31
RIWAYAT HIDUP **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

1. Media Spesifik untuk Isolasi *Nitrosomonas sp*. 9
2. Kode isolat dan Lokasi Pengambilan Bakteri 10
3. Kondisi Awal Parameter Uji Konsentrasi 13
4. Perbandingan Konsentrasi Dengan Baku Mutu 13
5. Parameter Umum 14
6. Perbandingan Karakteristik Air Limbah Buatan dan *Greywater* 14
7. Jumlah Koloni Bakteri 19
8. Konsentrasi Amonia Setiap Reaktor 20
9. Hasil Pewarnaan Gram 26

DAFTAR GAMBAR

1.	Skema Kerangka Berpikir	2
2.	Tahap Proses Nitrifikasi oleh Bakteri *Nitrosomonas sp.* dan *Nitrobacter sp.* (Spotte1979)	5
3.	Desain Reaktor EFB	7
4.	Metode Isolasi Koloni *Nitrosomonas* sp.	10
5.	Rumus Perhitungan Metode TPC	11
6.	Metode Perhitungan Koloni Nitrosomonas sp.	12
7.	Tahap Pengecatan Gram	13
8.	Tumbuhan Kangkung Air	15
9.	Reaktor Penelitian Ecological Floating Bed	15
10.	Perbandingan Media DNB Dengan Sampel dan Media DNB Tanpa Sampel	16
11.	Media Spesifik (S1) Menjadi Keruh Ditumbuhi Bakteri	16
12.	Media Spesifik (S0) Berubah Warna Menunjukkan Reaksi Positif	17
13.	Media Spesifik *Nitrosomonas* Padat	18
14.	Alat dan Bahan Pewarnaan Gram	25
15.	Bentuk dan Jenis Bakteri *Nitrosomonas sp.*	26

DAFTAR LAMPIRAN

1. Perhitungan Jumlah Bakteri Nitrosomonas sp
2. Inokulasi Bakteri Pada Media DNB
3. Isolat bakteri Pada Media Spesifik Nitrosomonas sp
4. Plating Media Spesifik Nitrosomonas sp Hari Ke 0
5. Plating Media Spesifik Nitrosomonas sp Hari Ke 12
6. Plating Media Spesifik Nitrosomonas sp Hari Ke 24
7. Plating Media Spesifik Nitrosomonas sp Hari Ke 48

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

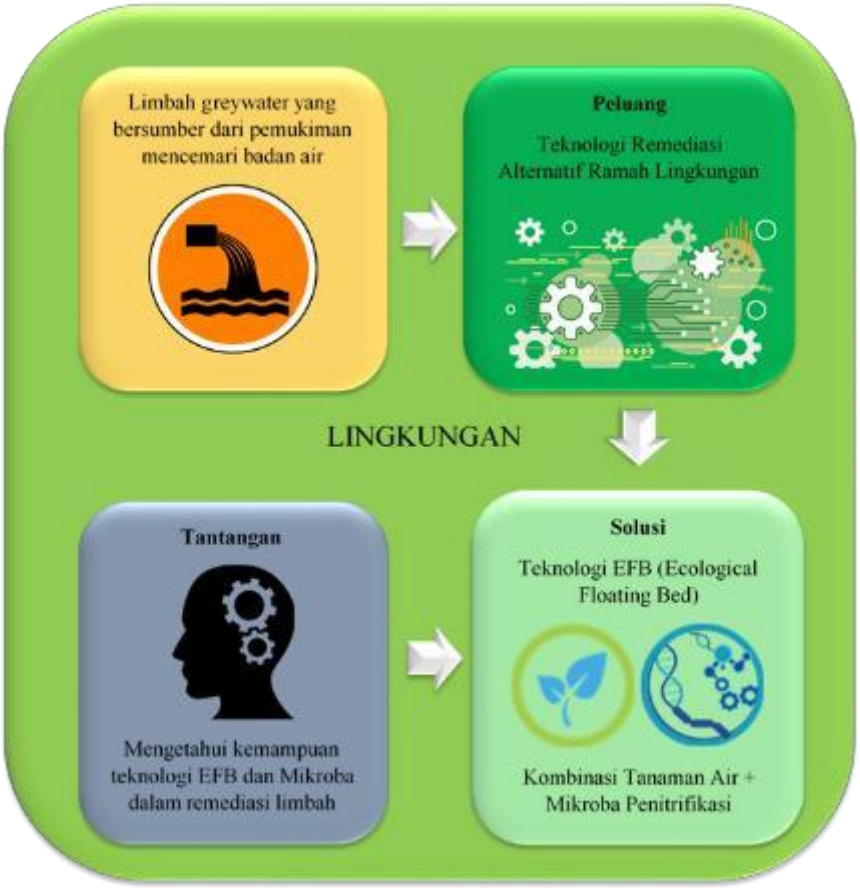
Krisis air dianggap sebagai masalah krusial secara internasional karena hubungannya dengan kesehatan, ekonomi masyarakat dan lingkungan. Pada abad terakhir, ajuan permintaan air bersih telah meningkat dua kali lipat laju pertumbuhan populasi (UN–Air, 2006). Menurut sumber asalnya, air limbah rumah tangga terbagi dua jenis dari pembuangannya, yaitu *Blackwater* dan *Greywater*. *Blackwater* (BW) didefinisikan sebagai limbah yang berasal dari toilet, kloset dan urinal, sedangkan *Greywater* (GW) mengacu air limbah domestik yang tidak diolah yang dihasilkan dari bak mandi, pancuran, baskom tangan, binatu mesin, mesin pencuci piring dan bak cuci piring, di rumah tangga, gedung perkantoran, sekolah, dll.(Eriksson et al., 2002).

Sumber nitrogen organik di perairan berasal dari buangan limbah di daratan diantaranya aktivitas rumah tangga, industri, pemupukan dan budidaya pertanian dan peternakan yang memicu peningkatan jumlah bahan organik yang masuk ke perairan (Golterman H.L, 2004).

Nitrifikasi merupakan sebuah proses perombakan amonia menjadi nitrit dan hasil akhirnya berupa nitrat. Nitrifikasi oleh bakteri melibatkan dua tahap proses reaksi yaitu nitritasi dan nitratasi. Penumpukan ammonium akan terjadi jika tidak ada proses nitrifikasi, hal ini akan berdampak negatif terhadap lingkungan ekosistem perairan. Proses amonifikasi merupakan proses perombakan nitrogen organik yang berasal dari limbah daratan menjadi ammonium, proses ini biasanya diikuti oleh proses nitrifikasi. *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* atau *Nitrosovibrio* merupakan bakteri nitrifikasi yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit dan pengoksidasi nitrit menjadi nitrat adalah bakteri *Nitrobacter*. Sedangkan bakteri yang berperan dalam amonifikasi adalah *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Pseudomonas* dan *Streptomyces* (NindrasariG, 2011). Bakteri-bakteri tersebut bersifat kemoautrotrof, dimana bakteri-bakteri tersebut akan merombak senyawa nitrogen organik menjadi sumber energi (Wielgosz et al,2010).

Teknologi EFB (*Ecological Floating Beds*) dalam proses remediasi air limbah *greywater* melibatkan proses fisik, kimia dan biologis yang kompleks. Secara umum diketahui bahwa cara kerja teknologi EFB untuk memulihkan limbah *greywater* adalah dengan memanfaatkan akar tanaman air yang dikembangkan untuk bersentuhan dengan air, membentuk lapisan penyaringan alami yang terkonsentrasi, menyerap, adsorpsi, mengubah dan mendegradasi polutan air. Akar tanaman juga dapat mengeluarkan enzim dan asam organik dalam jumlah besar untuk mempercepat penguraian polutan makromolekul dalam air dan meningkatkan ketersediaan hayati nitrogen dan fosfor. Sementara itu, akar tanaman menyediakan sumber oksigen dan tempat melekat bagi mikroorganisme serta meningkatkan metabolisme untuk mengurangi kandungan pencemar air (Fuquan Ni, 2013)

.



Gambar 1. Skema Kerangka Berpikir

1.2 Perumusan Masalah

Dari latar belakang yang disebutkan, dapat ditarik beberapa rumusan masalah, yaitu:

1. Apakah Metode EFB efektif menjadi teknologi alternatif ramah lingkungan dalam remediasi air limbah *greywater ?*
2. Berapa prosentase efektif koloni mikroba *Nitrosomonas* untuk menurunkan kandungan ammonium dalam reaktor EFB ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari Tugas Akhir ini yaitu:

1. Menganalisis kemampuan dan total koloni bakteri *Nitrosomonas* pada aplikasi teknologi EFB (*Ecological Floating Beds*) dalam mengoksidasi ammonium menjadi nitrit pada limbah *greywater.*

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh pada penelitian ini adalah:

1. Memberikan gambaran total kemampuan bakteri *Nitrosomonas* dalam mengoksidasi ammonium menjadi nitrit dalam penerapan teknologi EFB pada proses remediasi limbah greywater.
2. Sebagai refrensi pada peneliti berikutnya untuk mencoba berbagai variasi penelitian tentang kemampuan bakteri *Nitrosomonas* dalam mengoksidasi ammonium menjadi nitrit pada limbah *greywater*,sehingga data penelitian tentang kemampuan bakteri *Nitrosomonas* menjadi lengkap.

1.5 Asumsi Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada asumsi bahwa selain tumbuhan air, terdapat peran bakteri Nitrosomonas pada lapisan *biofilm* yang terbentuk pada bagian akar tanaman air yang juga membatu dalam mengoksidasi komposisi amonium *Greywater* pada teknologi EFB *(Ecological Floating Bed*), sehingga reaktor bekerja secara efektif dan komposisi amonia pada limbah terdegradasi.

1.6 Ruang Lingkup

Berdasarkan rumusan masalah yang ditentukan, agar penelitian dapat berjalan sesuai dengan tujuan penelitian, maka ruang lingkup pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Penelitian dilakukan dengan menggunakan limbah greywater.
2. Data yang dihasilkan berupa penurunan konsentrasi ammonia dan nitrogen yang terkandung dalam greywater.
3. Penelitian hanya terbatas pada penurunan konsentrasi ammonia dan nitrogen yang terkandung dalam greywater.
4. Melakukan pengujian pada media teknologi EFB (*Ecological Floating Beds*) untuk mengetahui seberapa besar konsentrasi ammonia dan nitrogen yang dioksidasi oleh bakteri *Nitrosomonas*.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Limbah (*Greywater*)

Menurut Peraturan Pemerintah RI No. 82 tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air menjelaskan pengertian dari limbah cair yaitu sisa dari suatu hasil usaha dan atau kegiatan yang berwujud cair . Air bekas mandi, air bekas mencuci pakaian , dan air bekas aktifitas dapur rumah tangga, gedung-gedung perkantoran maupun sekolah merupakan tempat – tempat sumber air limbah greywater (Erickson dkk, 2002). Umumnya, greywater mengandung konsentrasi tinggi bahan organik yang mudah terurai secara hayati dan beberapa bahan dasar yang sebagian besar dihasilkan dari rumah tangga. Ini termasuk nutrisi seperti nitrat dan semua turunannya, fosfor dan turunannya, tetapi yang lain termasuk senyawa organik xenobiotik (XOC) dan mikroba biologis seperti coliform fekal, salmonella dan konstituen hidrokimia umum(Fatta-Kassinos et al. 2011). Namun penelitian terbaru telah menemukan obat-obatan, produk kesehatan, kecantikan, aerosol, dan logam berat beracun seperti Pb, Ni Cd, Cu, Hg dan Cr dalam konsentrasi yang cukup besar dalam komponen *greywater (*Aonghusa et al 2002). Umumnya, limbah greywater dialirkan langsung ke selokan yang terdapat di sekitar pemukiman penduduk, tanpa diolah terlebih dahulu. Akibatnya, sungai yang menjadi aliran akhir dari selokan berpotensi tercemar; warna air menjadi coklat keruh dan berbau busuk. Selain kematian biota air, zat-zat polutan biologis dan organik yang terkandung di dalam limbah bisa menjadi vektor penyakit yang bersumber dari air (Water-Borne Disease), seperti kolera, disentri, dan berbagai penyakit lain

2.2 Proses Nitrifikasi

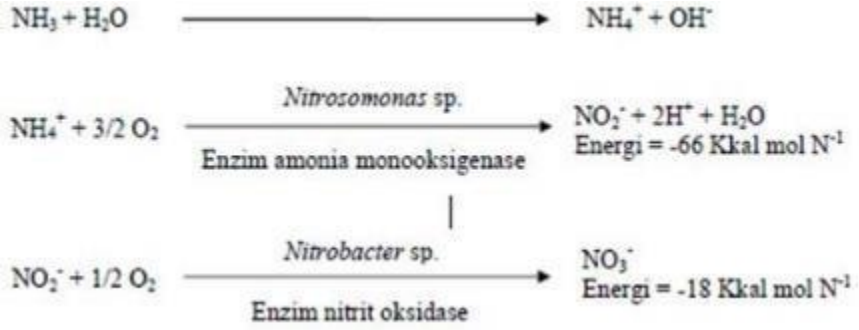
Nitrifikasi bisa dianggap sebagai satu-satunya proses terpenting dalam pengembangan pemahaman teoretis saat ini tentang proses pengolahan air limbah secara biologis (Stuven R, 2001). Tidak hanya merupakan proses penting dalam instalasi pengolahan air limbah tetapi juga berfungsi sebagai dasar untuk pengembangan dan pemodelan sejumlah proses pengolahan air limbah seperti lumpur aktif dan reaktor biofilm (Nelson, et al 2009)

Nitrifikasi adalah proses oksidasi amonia menjadi nitrit yang kemudian dirombak menjadi nitrat secara biologis oleh bakteri autotrof, umumnya berasal dari genus *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. Bakteri autotrof yang melakukan proses nitrifikasi membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbondioksida sebagai sumber karbon (Spotte, S. 1979).

Proses nitrifikasi diketahui melewati dua tahap yang terdiri dari oksidasi amonia (amonium menjadi nitrit) diikuti oleh oksidasi nitrit (nitrit menjadi nitrat), dan setiap tahap dilakukan oleh mikroba yang berbeda (Albertsen M et al. 2015).

Berbagai faktor yang mempengaruhi nitrifikasi dalam tanah dibahas dengan contoh dari alam dan agro-ekosistem. Jelasnya, beberapa faktor fisik, lingkungan, dan kimia serta interaksi di antaranya mempengaruhi nitrifikasi tanah secara

kompleks. Namun, di antara berbagai faktor tersebut, matriks tanah, status kelembaban, aerasi, pH, dan suhu memainkan peran utama dalam nitrifikasi tanah atau penambahan amonium ke nitrat (Sahrawat,2003).



Gambar 2. Tahap Proses Nitrifikasi oleh Bakteri *Nitrosomonas sp.* dan *Nitrobacter sp.* (Spotte1979)

2.3 Bakteri Penitrifikasi

Bakteri penitrifikasi merupakan kelompok bakteri yang mampu merombak ammonium menjadi nitrat yang umumnya berlangsung secara aerob di dalam tanah kelompok bakteri ini bersifat kemolitotrof karena menggunakan senyawa nitrogen inorganik sbeagai energi dalam siklus hidupnya. Karbon dioksida dibutuhkan sebagai sumber karbon untuk metabolisme senyawa nitrogen. Bakteri nitrifikasi bersifat nonmotil (tidak dapat bergerak), pada umunya, bakteri tersebut melekat pada permkuaan benda di sekelilingnya. Bakteri penitrifikasi dapat hidup tanpa nutrisi lebih dari satu tahun. Bakteri tersebut hanya perlu dipindahkan ke dalam media baru setiap bulan. Bakteri penitrifikasi berkmbang biak dengan cara membekah diri, namun tidak membentuk spora (Spieck E,2005)

Karakteristik bakteri pengoksidasi amonia pada umumnya adalah tergolong gram negatif, sel dapat berbentuk batang (panjang 0.6-4 µm), ellipsoid, sferikal, dan spiral. Fagella sel dapat bersifat tidak motil maupun motil dengan posisi flagella polar sampai subpolar atau peritrik. Semua spesies beraktivitas pada kondisi aerobik, pertumbuhan optimum bakteri terdpat pada suhu 25-30^{o}C, namun tidak aktif pada suhu 4^{o}C dan pH optimum bakteri berkisar 7.5-8.0. Bakteri hidup berkoloni pada media seperti kerikil, pasir, atau media sintetik lain, memerlukan oksigen untuk mengkonversi senyawa anorganik sebagai sumber energinya, dan memerlukan CO2 sebagai sumber karbon. Rasio reproduksi sangat lambat (waktu generasi 20- 40 jam) (Holt,et al 2000)

Nitrosomonas termasuk bakteri gram negatif, berbentuk bulat, kadang-kadang sel berbentuk elips, bisa bersifat motil maupun non motil, bersifat aerob. Metabolisme bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Bakteri *Nitrosomonas* berperan dalam proses nitrifikasi sebagai penghasil ion nitrat. Bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 5-30^{o}C dengan pH optimum 5,8 - 8,5. Serta hidup di air laut, air tawar, dan tanah (Cowan, et al 1993) Bakteri yang tergolong ke dalam Genus *Nitrosomonas* adalah *Nitrosomonas aestuarii*, *Nitrosomona scommunis*, *Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas eutropha*, *Nitrosomonas halophila*, *Nitrosomonas marina*, *Nitrosomonas nitrosa*, *Nitrosomonas oligotropha*, dan *Nitrosomonas ureae* (Magdalena. 2009).

Salah satu agen yang digunakan untuk bioremediasi yaitu jenis mikroorganisme seperti bakteri nitrifikasi (*Nitrosomonas sp*. dan *Nitrobacter sp*.) dan bakteri denitrifikasi (Bock E. 2005). Remediasi amonia dalam sistem akuakultur ataupun dalam limbah cair bisa dilakukan dengan beberapa cara, yaitu (1) nitrifikasi dan denitrifikasi secara biologis, yitu proses nitrifikasi dan denitrifikasi (2) amonia stripping, (3) breakpoint chlorination dan (4) ion exchange. Pemilihan metode yang digunakan dalam suatu pengolahan limbah cair tergantung pada tingginya konsentrasi amonia-nitrogen pada limbah tersebut (Devaraja, et al 2002).

2.4 Teknologi *Ecological Floating Bed* (EFB)

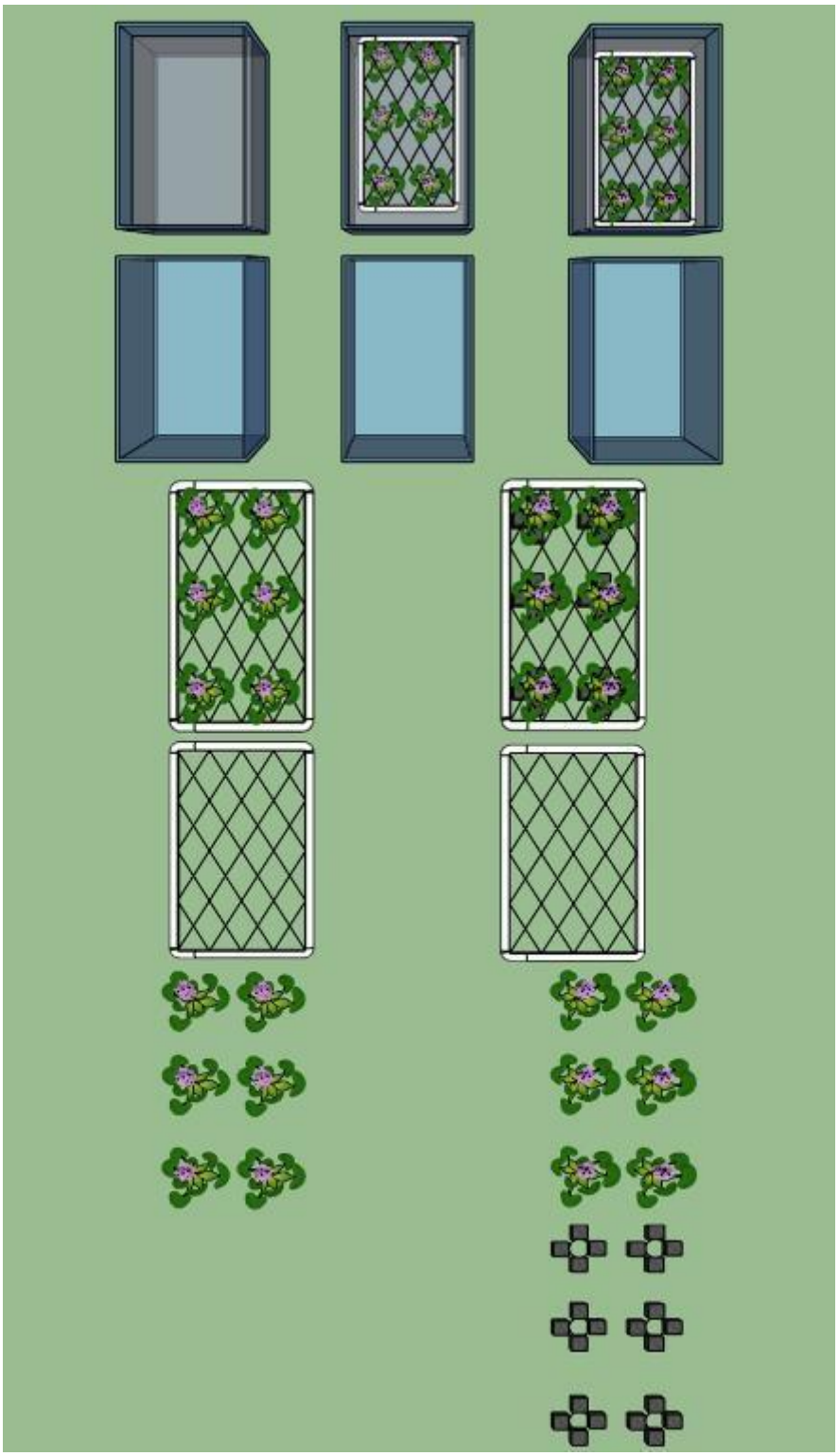
Teknologi pengolahan air limbah merupakan kunci dalam memelihara kelestarian lingkungan terutama ekosistem perairan. Teknik-teknik remediasi air limbah secara umum dapat dibagi menjadi tiga metode, yaitu pengolahan secara fisika, pengolahan secara kimia, dan pengolahan secara biologi (Petterson, 1990)

Salah satu metode biologis untuk mengolah air limbah yaitu melalui bioremediasi. Proses tersebut melibatkan aktivitas mikroba dan tanaman yang bertujuan untuk menurunkan polutan untuk mencapai tingkat konsentrasi yang aman (Suharto, 2010). Tanaman air memiliki efek yang jelas dalam menghilangkan unsur nitrogen dan fosfor dalam air eutrofik (Alexander, M.1999)

Ecological Floating Bed (EFB) adalah teknologi hijau ekonomis dan berkelanjutan berfungsi untuk memulihkan air yang tercemar. Prinsip teknologi EFB didasarkan pada kemampuan alami tumbuhan dalam mereduksi pencemar dan tidak ada produk sampingan beracun yang dihasilkan selama proses remediasi pencemar. Efisiensi penyisihan polutan dalam sistem EFB sering kali dipengaruhi oleh struktur, tingkat aerasi, suhu, dan kandungan polutan dalam air limbah. Ecological Floating Bed (EFB) dirancang dengan menggunakan tanaman air, mengapung seperti tikar di permukaan air. Akar tanaman menggantung di bawah alas apung dan menyediakan area permukaan yang luas untuk pertumbuhan biofilm. (Headley, et al 2012)

Dalam penelitian tentang mekanisme remediasi air limbah oleh tanaman air, ditemukan bahwa selain tanaman itu sendiri menyerap nitrogen dan fosfor dalam air, aktivitas mikroba pada akar tanaman merupakan cara penting untuk menghilangkan nitrogen dan fosfor dalam air, terutama karena aktivitas mikroba dapat mempercepat dekomposisi nitrogen dan fosfor di sekitar akar, dan meningkatkan ketersediaan bio dari nitrogen dan fosfor (Y. Z. Song, *et al* 2012). Oleh karena itu, penggunaan teknologi EFB dalam proses remediasi air limbah tidak hanya bergantung pada penyerapan nitrogen dan fosfor oleh tanaman, tetapi faktor yang lebih besar adalah bahwa EFB membangun ekosistem mikro yang mendukung tempat tinggal mikroba sehingga nitrogen dan fosfor dapat dihilangkan secara efektif (J. J. Liang, *et al*.,2010)

Reaktor pada penelitian ini dirancang dengan dinding berbahan dasar kaca, yang didalamnya terdapat komponen *floating bed* yang terbuat dari pipa PVC, dan jaring besi sebagai dudukan tanaman air untuk tumbuh. Reaktor dibuat mengikuti jenis *batch* reaktor dimana keuntungan reaktor batch terletak pada sifatnya yang multifungsional. Sebuah wadah tunggal dapat melakukan urutan jenis operasi yang berbeda tanpa merubah bentuk penampungan. (Liu, S. 2017).



Gambar 3. Desain Reaktor EFB

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kualitas Lingkungan, Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penelitian dimulai pada September 2020 sampai Desember 2020.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar flow*, a*utoclave*, *spectrophotometer*, oven, *inkubator*, timbangan, pipet, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas piala, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan utama penelitian ini adalah sampel air limbah pada reaktor EFB, alasannya adalah air limbah pada reaktor tersebut mengandung ammonia dan nitrat yang merupakan komponen pencemar air. Kandungan nitrat yang tinggi pada sampel air limbah tersebut diduga merupakan lingkungan yang sangat baik bagi populasi bakteri penitrifikasi. Media yang digunakan untuk isolasi adalah media spesifik untuk *Nitrosomonas* sp. (Tabel 1). Tahap pengukuran konsentrasi ammonium dengan bahan yang digunakan berupa larutan Buffer sitrat, Na- Fenolat, dan NaOCl 5%.

Tabel 1. Media Spesifik untuk Isolasi *Nitrosomonas sp*. (Iswandi, 1989*).*

Komposisi	Jumlah (per liter media)
$(NH_4)_2SO_4$	0.5 g
KH_2PO_4	0.2 g
$CaCl_2.2H_2O$	0.04 g
$MgSO_4.7H_2O$	0.04 g
Fe-sitrat	0.5 mg
Fenol-red (pH 6.2-8.4)	0.5 mg

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan Reaktor Ecological Floating Bed (EFB)

Reaktor yang digunakan pada penelitian ini terbuat dari akuarium kaca dengan dimensi 100cm x 40cm x 40cm. Selanjutnya reaktor diisi dengan dudukan tanaman eceng gondok (*Eichhornia crassipes*), terbuat dari rakitan pipa pvc yang dipasang jaring dan membentuk persegi panjang dimana pipa dan elbow yang digunakan berdiameter 0.5 inch. Reaktor yang dirancang menjadi tiga jenis yaitu reaktor kontrol yang hanya diisi limbah *greywater*, reaktor kedua hanya diisi dengan tanaman eceng gondok, dan reaktor ketiga yang dimana selain diisi dengan tanaman juga ditambahkan dengan media penyangga spons. Reaktor dirancang menjadi tiga jenis bertujuan untuk melihat performa masing-masing perlakuan yang diterapkan pada setiap reaktor. Desain reaktor ditunjukkan pada Gambar 3.

3.3.2 Pembuatan Limbah *Greywater*

Sampel air limbah yang digunakan pada penelitian ini bersifat sintetis menyerupai karakteristik air limbah *greywater*. Penggunaan sampel sintetis saat penelitian dilakukan karena kondisi lingkungan sekitar yang dilanda pandemi. Hal ini terpaksa dilakukan untuk mengurangi resiko peneliti terjangkit virus. Keunggulan limbah sintetis adalah komposisi polutan bisa diatur konsentrasinya disesuaikan dengan kebutuhan penelitian untuk melihat reaksi tanaman dan bakteri dalam mereduksi komponen polutan *greywater*. Pembuatan limbah sintetis ini menggunakan air yang diisi pada tiap reaktor dengan volume 100 liter, selanjutnya dicampur dengan bahan-bahan yang dianggap menjadi sumber polutan greywater. Bahan-bahan pada Tabel 2 menunjukkan komponen dan konsentrasi yang digunakan pada pembuatan *greywater* sintetis yang digunakan pada penelitian.

Tabel. 2 Komposisi air limbah

No	Larutan	Komposisi	Jumlah	Satuan	Konsentrasi
1	Larutan Induk Nitrat	0,722 gr KNO_3 + 2 mL $CHCl_3$ + 1000 mL Aquades	1	Liter	100 mg/L
2	Larutan Induk Nitrit	1,232 gr $NaNO_2$ + 1000 ml Aquades	1	Liter	250 mg/L
3	Larutan Induk Amonia	3,819 gr NH_4Cl + 1000 mL Aquades	250	ml	1000 mg/L
4	Larutan Induk Pospat	2,195 gr KH_2PO_4 + 1000 mL Aquades	100	ml	500 mg/L
5	Air Gula 0,1 M	-	1	Liter	-
6	Detergen	-	10	gram	-
7	Pupuk NPK	-	200	ml	-

3.3.3 Isolasi Bakteri Nitrosomonas

Proses isolasi bakteri penitrifikasi dilakukan dengan menggunakan metode *Enrichment Culture*. Pertama-tama, dilakukan pengambilan sampel air limbah pada reaktor EFB yang berjumlah tiga buah dengan perlakuan yang berbeda, pada reaktor nomor nol atau reaktor kontrol hanya terdapat air limbah, reaktor nomor satu hanya terdapat spons, reaktor nomor dua terdapat tanaman kangkung dan spons. Pengambilan sampel air limbah dilakukan secara komposit. Sampling dilakukan sebanyak empat kali yaitu hari ke- 0, hari ke-12, hari ke-24, hari ke-48. Selanjutnya sampel dilakukan isolasi untuk memperoleh bakteri pengoksidasi ammonium (*Nitrosomonas*).

Tabel 3. Kode isolat dan Lokasi Pengambilan Bakteri

Reaktor	Kode Isolat	Lokasi Pengambilan Sampel
Kontrol	NS0	Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta
EFB (Tanaman)	NS1	Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta
EFB (Spons + Tanaman)	NS2	Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

Sampel air yang telah diperoleh diinokulasikan ke dalam masing masing 45 ml media cair spesifik untuk *Nitrosomonas* sp. Kultur cair tersebut dikocok dengan menggunakan *shaker* dan diinkubasi selama 7-10 hari. Adanya bakteri pengoksidasi amonium diindikasikan dengan terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang disebabkan perubahan pH media akibat oksidasi amonium menjadi nitrit.



Gambar 4. Metode Isolasi Koloni *Nitrosomonas* sp.

3.3.4 Perhitungan Total Koloni *Nitrosomonas*

Kultur cair yang menunjukkan reaksi positif (ada perubahan warna) selanjutnya dilakukan pemindahan sebanyak satu kali ke dalam media yang baru kemudian di*shaker* secara terus-menerus. Kultur cair tersebut selanjutnya dilakukan pengenceraan (*serial dilution*) sampai pada pengenceran 10^{-7}. Sampel pada pengenceran 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7} selanjutnya di- *plating* pada media spesifik *Nitrosomonas* padat dalam cawan petri kemudian disimpan di inkubator pada suhu 30ºC. Koloni yang tumbuh kemudian dihitung menggunakan *colony counter*. Koloni yang menunjukkan morfologi koloni yang sama diambil satu dan diinokulasikan pada media agar miring untuk dijadikan stock koloni dan akan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Setelah diperoleh isolat bakteri penitrifikasi secara spesifik, kemudian masing-masing isolat tersebut dipindahkan ke dalam 45 ml kultur yang baru dengan cara sebanyak 1 ml kultur berisi isolat dimasukkan ke dalam media baru tersebut. Kemudian diinkubasi kembali selama 5-7 hari sambil dikocok dengan menggunakan *shaker*. Proses pemindahan kultur ke dalam media yang baru ini dilakukan sebanyak satu kali.

Pada tahap perhitungan jumlah total bakteri masing-masing sampel diambil 1 ml untuk dilakukan perhitungan total kandungan bakteri di dalam sampel dengan menggunakan metode TPC (Total Plate Count Agar). Sebanyak 1 ml sampel diencerkan secara bertingkat (serial dilution) sampai dengan pengenceran $10^{-7.}$ Selanjutnya, pengenceran $10^{-5,}10^{-6}$, dan 10^{-7} diplating ke dalam media *Plate Count Agar* (PCA) kemudian diinkubasi pada suhu 30ºC selama 48 jam (Pramudya 2018) Koloni yang tumbuh kemudian dihitung menggunakan rumus perhitungan TPC yaitu sebagai berikut:

$$\boldsymbol{N} = jumlah\ koloni\ per\ cawan\ x \frac{1}{faktor\ pengenceran}$$

Dengan:

Faktor pengenceran	=	pengenceran x jumlah yang ditumbuhkan
N	=	jumlah koloni produk (koloni per ml atau per gram)
Keterangan	=	Bila jumlah koloni per cawan lebih besar dari 250 pada seluruh pengenceran, maka melaporkan hasilnya sebagai terlalu banyak dihitung (TBUD)

Gambar 5. Rumus Perhitungan Metode TPC (*Total Plate Count*) (Aprilia Mustikaning Putri, et al.2018)



Gambar 6. Metode Perhitungan Koloni *Nitrosomonas sp.*

3.3.5 Identifikasi Isolat *Nitrosomonas sp*

Setelah perthitungan dilakukan tahap selanjutnya yaitu pewarnaan gram. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui morfologi sel dan spesies jenis gram bakteri yang diamati apakah termasuk gram negatif atau positif .

Pewarnaan gram diawali dengan membuat preparat ulas yang kemudian difiksasi dengan api. Selanjutnya ditetesi dan diamkan 1 menit dengan kristal violet, lalu bilas dengan aquades. Kemudian ditetesi dengan lugol dan diamkan selama 1 menit yang dilanjutkan dengan ditetesi larutan pemucat selama 20 detik, kemudian dibilas dengan aquades. Terakhir, preparat ditetesi larutan safranin selama 15 detik kemudian bilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas saring. Preparat yang sudah kering kemudian diamati menggunakan mikroskop (Hucker dalam lay, 1994).



Gambar. 7 Tahap Pengecatan Gram

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Karakteristik Air Limbah

Sampel air limbah yang digunakan pada penelitian ini bersifat sintetis menyerupai karakteristik air limbah *greywater*. Penggunaan sampel sintetis saat penelitian dilakukan karena kondisi lingkungan sekitar yang dilanda pandemi. Hal ini terpaksa dilakukan untuk mengurangi resiko peneliti terjangkit virus. Keunggulan limbah sintetis adalah komposisi polutan bisa diatur konsentrasinya disesuaikan dengan kebutuhan penelitian untuk melihat reaksi tanaman dan bakteri dalam mereduksi komponen polutan *greywater*. Pembuatan limbah sintetis ini menggunakan air yang diisi pada tiap reaktor dengan volume 100 liter, selanjutnya dicampur dengan bahan-bahan yang dianggap menjadi sumber polutan greywater.

Selanjutnya uji pendahuluan sampel air dilakukan pada masing masing reaktor, dengan tujuan mengetahui konsentrasi awal dari semua parameter khusus dan umum yang akan diuji. Pengujian dilakukan pada pukul 09.00-14.00 WIB di Laboratorium Kualitas Lingkungan Teknik Lingkungan FTSP UII. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahapan. Tahap pertama penelitian dilakukan dengan konsentrasi polutan rendah pada tiap reaktor dan tahap kedua penelitian dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi polutan pada tiap reaktor. Konsentrai awal dari limbah cair sintetis untuk tiap reaktor adalah sebagai berikut:

Tabel 3 Kondisi Awal Parameter Uji Konsentrasi

No	Parameter	Satuan	Kontrol	EFB	EFB+Spons
1	Amonia	mg/L	30,91	31,89	32,56
2	Fosfat	mg/L	3,47	3,77	3,59
3	Nitrat	mg/L	3,49	3,21	2,98
4	Nitrit	mg/L	4,97	4,96	4,77
5	COD	mg/L	98,33	95,83	94,15
6	TSS	mg/L	814	724	338,5
7	TDS	mg/L	596	629	555

Dari hasil uji pendahuluan diketahui bahwa nilai parameter ammonia (NH_3) dan fosfat (PO_4) melebihi baku mutu pada Permen LHK No.68 tahun 2018 untuk ammonia (NH_3) dan Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2001 baku mutu air kelas III untuk fosfat (PO_4). Pada tabel berikut adalah konsentrasi parameter baku mutu yang diijinkan

Tabel 4 Perbandingan Konsentrasi Dengan Baku Mutu

No	Parameter	Satuan	Kontrol	EFB	EFB+Spons	Baku Mutu
1	Amonia	mg/L	30,91	31,89	32,56	10 (Permen LHK No 68 tahun 2018)
2	Fosfat	mg/L	3,47	3,77	3,59	1 (PP No.82 Tahun 2001 baku mutu air kelas III)

Parameter umum seperti pH,suhu, *Dissolved Oxygen* (DO), kekeruhan (*Turbidity*) dan *Electrical Conductivity* (EC) merupakan faktor pendukung yang mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri, konsentrasi ammonia (NH_3), dan fosfat (PO_4). Maka dilakukan pengujian untuk diketahui nilai konsentrasi parameter umum. Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut:

Tabel 5 Parameter Umum

No	Parameter	Kontrol	EFB	EFB+Spons
1	pH	7,5	7,33	7,27
2	DO	1,2 mg/L	1,7 mg/L	2,2 mg/L
3	Suhu	27,1 ºC	27,3 ºC	27,52 ºC
4	*Turbidity*	2,32 NTU	3,58 NTU	3,11 NTU
5	EC	0,896 µs/cm	0,939 µs/cm	0,835 µs/cm

Data konsentrasi parameter umum dan khusus yang diperoleh akan dibandingkan dengan data konsentrasi limbah greywater yang sesungguhnya. Tujuan perbandingan ini dilakukan adalah untuk melihat konsentrasi yang terdapat pada limbah greywater sintetik sudah menyerupai greywater sesungguhnya. Perbandingan dapat dilihat pada table 6 berikut:

Tabel 6 Perbandingan Karakteristik Air Limbah Buatan dan *Greywater*

No	Parameter	Satuan	Kontrol	EFB	EFB+Spons	*Greywater*
1	Amonia	mg/L	30,91	31,89	32,56	4,14 [2]
2	Fosfat	mg/L	3,47	3,77	3,59	2,43 [2]
3	pH	-	7,5	7,33	7,27	6,6-8,7 [1]
4	DO	mg/L	1,2	1,7	2,2	6-7 [2]
5	Suhu	ºC	27,1	27,3	27,52	24-32 [1]
6	*Turbidity*	NTU	2,32	3,58	3,11	22-200 [1]
7	EC	µs/cm	0,896	0,939	0,835	325000-1140000 [1]

Sumber : 1. Greywater Characteristics Adapted from Canadian Guidelines for Household Reclaimed Water for Use in Toilet and Urinal Flushing, 2010. 2. Nurrohman, Rian. 2016. Oxidation Ditch Algae Reaktor (ODAR) Dalam Pengolahan Nutrien Pada Limbah Greywater Perkotaan. Universitas Islam Indonesia. Yogaykarta.

1.2 Operasional Reaktor

Setelah pembuatan limbah greywater sintetis dilakukan, tahap selanjutnya adalah aklimatisasi tanaman air. Tanaman air yang menjadi pilihan utama untuk diuji adalah Kangkung Air (*Ipomoea aquatic F*), namun mengalami kematian pada hari kelima fase aklimatisasi. Gejala kematian ditunjukkan dengan perubahan warna daun dari warna hijau menjadi kuning hal ini merupakan gejala klorosis. Diduga hal ini terjadi karena tumbuhan mengalami keracunan akibat kandungan toksisitas limbah buatan pada reaktor (Sandi et al., 2010)



Sumber : (Dokumentasi, 2020)

Gambar 8 Tumbuhan Kangkung Air *(Ipomoea aquatic F :* A. Hari pertama Aklimatisasi ; B. Tumbuhan Kangkung Mati Hari ke Lima

Tanaman alternatif pengganti tanaman utama penelitian adalah Eceng Gondok (*Eichornia cassipes)* karena dinilai memiliki daya tahan dan kemampuan menyerap polutan yang lebih baik daripada tanaman Kangkung Air (*Ipomoea aquatic F*) (Lutfiana, 2014). Eceng gondok pada penelitian ini berhasil melewati fase aklimatisasi selama delapan hari dan terlihat bahwa tidak terdapat tanda tanda kelayuan seperti tanaman sebelumnya.

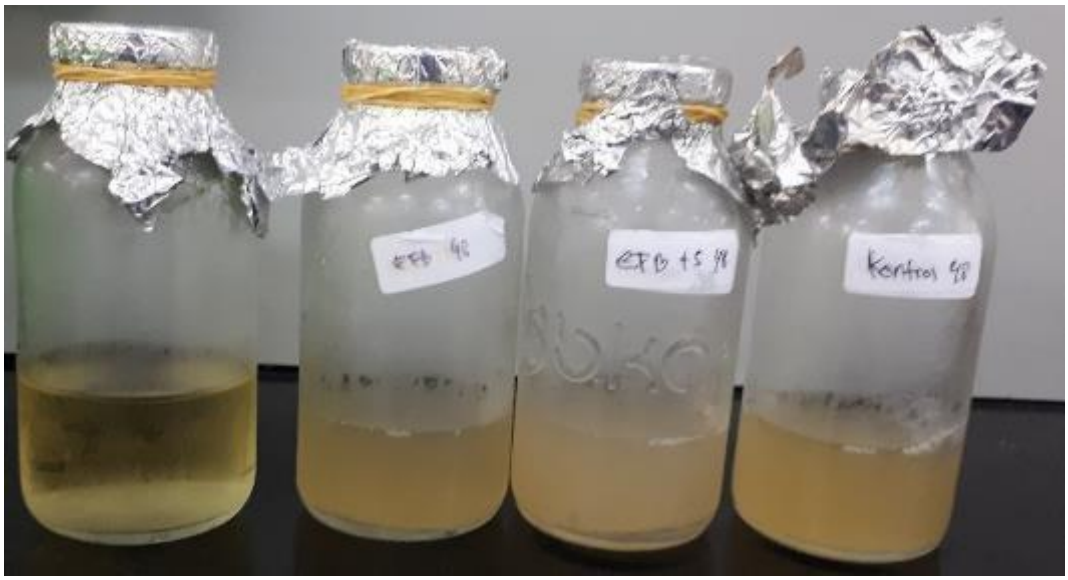


Sumber : (Dokumentasi,2020)

Gambar 9 Reaktor Penelitian Ecological Floating Bed

1.3 Jumlah Koloni Bakteri *Nitrosomonas*

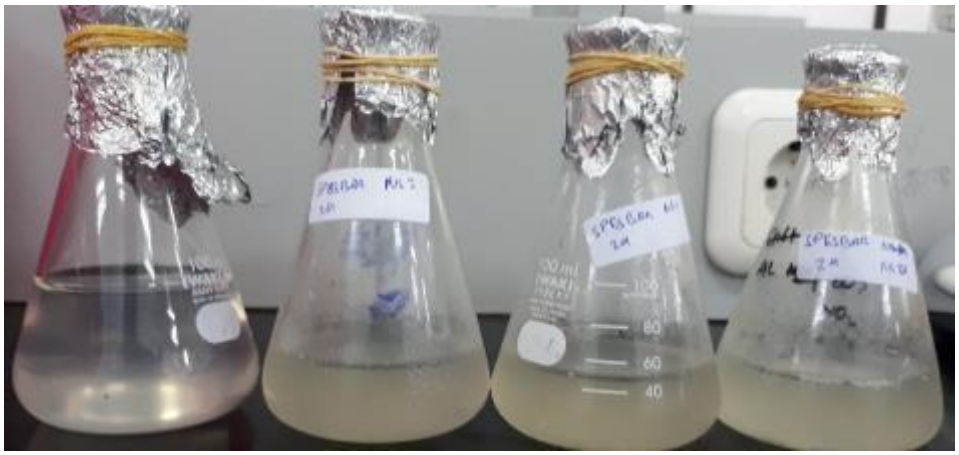
Untuk memperoleh jumlah koloni *Nitrosomonas sp*, terdapat beberapa tahapan penelitian yang harus dilakukan. Sampel air diambil pada hari ke 0, 12, 24, dan 48 penelitian. Kemudian sampel dipindahkan ke dalam media cair *Dilluted Nutrient Broth* (DNB) dan diinkubasi seminggu. Media yang ditumbuhi bakteri akan berwarna lebih keruh.



Sumber: (Dokumentasi 2020)

Gambar 10 Perbandingan Media DNB Dengan Sampel dan Media DNB Tanpa Sampel

Lalu, dari media DNB sampel dipindahkan ke media cair spesifik *Nitrosomonas* dan diinkubasi selama 21 hari. Reaksi media dinilai positif apabila warna media tersebut berubah warna atau keruh.



Sumber: (Dokumentasi 2021)

Gambar 11 Media Spesifik (S1) Menjadi Keruh Ditumbuhi Bakteri



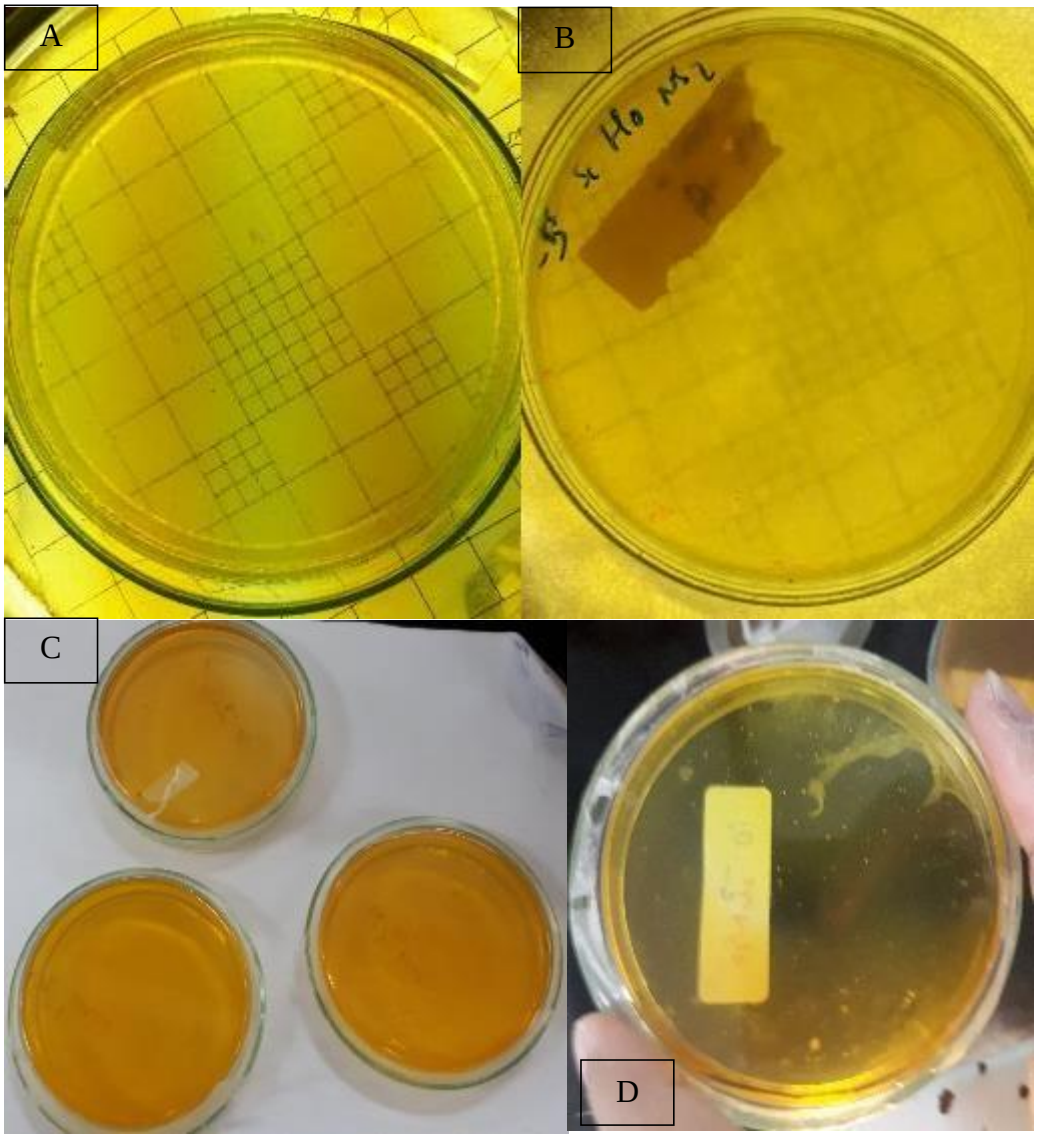
Sumber: (Dokumentasi 2020)

Gambar 12 Media Spesifik *Nitrosomonas* (S0) Berubah Warna Menunjukkan Reaksi Positif

Seperti yang terlihat dari gambar dokumentasi terdapat dua jenis media cair spesifik yang digunakan pada penelitian ini yaitu Media Spesifik 0 (S0) dan Media Spesifik 1 (S1). Media cair S0 dinilai kurang efektif sebab perubahan warna hanya ditunjukkan pada satu sampel dari reaktor kontrol hari 0. Hal itu diduga reaktor kontrol tidak terdapat tanaman eceng gondok sehingga bakteri tidak perlu bersaing dengan tumbuhan seperti yang terdapat pada dua reaktor lainnya. Penyerapan nutrisi juga dinilai kurang efektif pada media cair S0 karena perubahan warna hanya terjadi pada sampel reaktor kontrol hari 0. Media cair S1 dinilai efektif disebabkan reaksi positif mudah diamati sehingga penyerapan nutisi pada bakteri dalam media cair S1 dinilai lebih efektif, karena kekeruhan yang terjadi pada setiap sampel yang menggunakan media S1 menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri.

Setelah inkubasi dari media cair spesifik dilakukan, sampel di-*plating* dengan cara mengencerkan sampel hingga 10^{-7} dengan aquades, lalu pengenceran 10^{-7} sampai dengan 10^{-5} dimasukkan ke dalam cawan petri berisi media spesifik padat secara *Pour Plate* dan diinkubasi selama dua minggu. Media spesifik padat dibuat

dengan cara mencampurkan *bacto agar* dengan media spesifik cair. Plating yang ditumbuhi koloni akan dihitung menggunakan alat *Colony Counter*.



Sumber: (Dokumentasi 2020 & 2021)

Gambar13. Media Spesifik *Nitrosomonas* Padat: A.Agar S1 Tanpa Sampel; B.Agar S1 Ditumbuhi Sampel; C. Agar S0 Belum Ditumbuhi Koloni; D.Agar S0 Ditumbuhi Koloni

Setelah koloni bakteri dihitung menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) maka didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 7 Hasil Perhitungan Densitas dan Prosentase Pertumbuhan Bakteri *Nitrosomonas*

HARI	REAKTOR	DENSITAS BAKTERI TIAP REAKTOR (CFU/mL)			RASIO	DENSITAS BAKTERI YANG DIGUNAKAN (CFU/mL)	PROSENTASE PERTUMBUHAN NITROSOMONAS
		10^7	10^6	10^5			
0	KONTROL	$82x10^7$	$211x10^6$	$93 x10^5$	4	$211x10^6$	30%
	EFB	$49 x10^7$	$113 x10^6$	$222 x10^5$	4	$113 x10^6$	21%
	EFB DAN SPONS	$87 x10^7$	$109 x10^6$	$118 x10^5$	8	$109 x10^6$	17%
12	KONTROL	$63 x10^7$	$143 x10^6$	TBUD	4	$143 x10^6$	21%
	EFB	$79 x10^7$	$100 x10^6$	TBUD	8	$100 x10^6$	18%
	EFB DAN SPONS	$77 x10^7$	$112 x10^6$	$152 x10^5$	7	$112 x10^6$	17%
24	KONTROL	$95 x10^7$	$206 x10^6$	TBUD	5	$206 x10^6$	30%
	EFB	$171 x10^7$	$121 x10^6$	TBUD	14	$121 x10^6$	22%
	EFB DAN SPONS	$185 x10^7$	$210 x10^6$	TBUD	9	$210 x10^6$	32%
48	KONTROL	$52 x10^7$	$134 x10^6$	TBUD	4	$134 x10^6$	19%
	EFB	$113 x10^7$	$212 x10^6$	TBUD	5	$212 x10^6$	39%
	EFB DAN SPONS	$94 x10^7$	$223 x10^6$	TBUD	4	$223 x10^6$	34%

Terlihat bahwa pada hari ke 0 penelitian, jumlah bakteri pada reaktor kontrol merupakan yang terbanyak yaitu $211x10^6$CFU/mL dibandingkan dengan reaktor EFB dan EFB+Spons yang berjumlah $113 x10^6$ CFU/mL dan $109 x10^6$CFU/mL. Faktor yang menyebabkan hal ini terjadi dikarenakan pada reaktor kontrol tidak terdapat tanaman eceng gondok menyebabkan reaktor kontrol kaya akan nutrisi untuk menyokong pertumbuhan jumlah bakteri *Nitrosomonas*.

Sampel pada hari 12 menunjukkan bahwa jumlah bakteri tertinggi terdapat pada reaktor Kontrol namun mengalami penurunan menjadi $143x10^6$CFU/ml,. Jumlah koloni bakteri tertinggi kedua diperlihatkan oleh reaktor EFB+Spons dengan jumlah $112 x10^6$ CFU/mL. Reaktor EFB memiliki densitas koloni yang lebih sedikit yaitu $100 x10^6$ CFU/mL.

Sampel pada hari ke 24 menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan hari-hari sebelumnya karena pada saat sampling dilakukan, penelitian telah memasuki fase kedua dimana konsentrasi polutan ditingkatkan sehingga nutrien untuk bakteri juga ikut meningkat. Reaktor EFB+Spons memiliki jumlah tertinggi yaitu $210 x10^6$ CFU/mL. Jumlah tertinggi kedua ditunjukkan oleh sampel dari reaktor Kontrol

dengan total 206 x10^6 CFU/mL. Reaktor EFB menghasilkan koloni paling sedikit pada sampel ini dengan total 121 x10^6 CFU/mL.

Sampel pada hari ke 48 merupakan hari terakhir pengambilan sampel dilakukan. Jumlah koloni yang ada pada sampel hari ke 48 ini menunjukkan peningkatan di Reaktor EFB dan Reaktor EFB+Spons dibandingkan sampel pada hari sebelumnya. Total koloni pada reaktor EFB dan EFB+Spons berjumlah 212 x10^6CFU/mL dan 223 x10^6 CFU/mL. Sedangkan koloni pada reaktor Kontrol mengalami penurunan menjadi 134 x10^6CFU/mL.

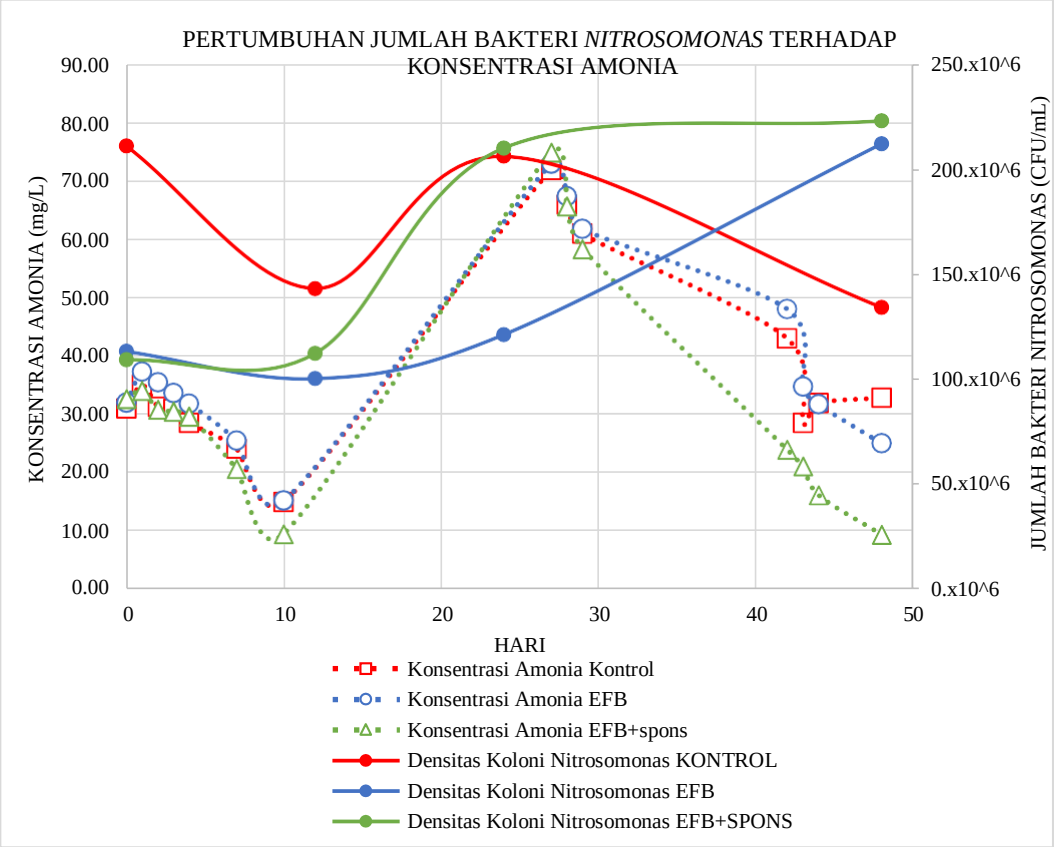
1.4 Pengaruh Konsentrasi Amonia Terhadap Jumlah Koloni *Nitrosomonas*

Koloni *Nitrosomonas* merupakan bakteri penitrifikasi yang mengoksidasi ammonia menjadi nitrogen. Pada penelitian ini telah didapatkan konsentrasi amonia untuk disandingkan dengan data koloni bakteri *Nitrosomonas*. Hal ini dilakukan untuk melihat kemampuan koloni bakteri dari setiap reaktor yang diteliti. Tabel berikut menunjukkan konsentrasi ammonia.

Tabel 8 Konsentrasi Amonia Setiap Reaktor (Ridwan 2021)

No	Hari Ke-	Kontrol	EFB	EFB+SPONS
Konsentrasi Rendah				
1	0	30.91	31.89	32.56
2	1	35.01	37.24	33.90
3	2	31.15	35.35	30.66
4	3	30.74	33.50	30.38
5	4	28.40	31.69	29.55
6	7	24.02	25.35	20.53
7	10	14.84	15.06	9.34
8	14	4.57	6.72	3.40
9	20	0.24	3.09	0.14
Efisiensi Removal (%)		99.23	90.30	99.58
Konsentrasi Tinggi				
16	27	71.85	72.95	74.84
17	28	65.82	67.36	65.60
18	29	60.89	61.71	58.27
19	42	42.95	47.98	23.81
20	43	28.41	34.68	20.94
21	44	31.78	31.63	16.00
22	48	32.73	24.91	9.24
23	51	31.63	13.71	4.82
24	55	33.11	4.66	0.57
Efisiensi Removal (%)		53.91	93.61	99.25

Data konsentrasi ammonia pada tabel 8 akan disandingkan dengan data jumlah koloni nitrosomonas ke dalam grafik seperti berikut



Grafik 1. Pertumbuhan Bakteri *Nitrosomonas* Terhadap Konsentrasi Amonia

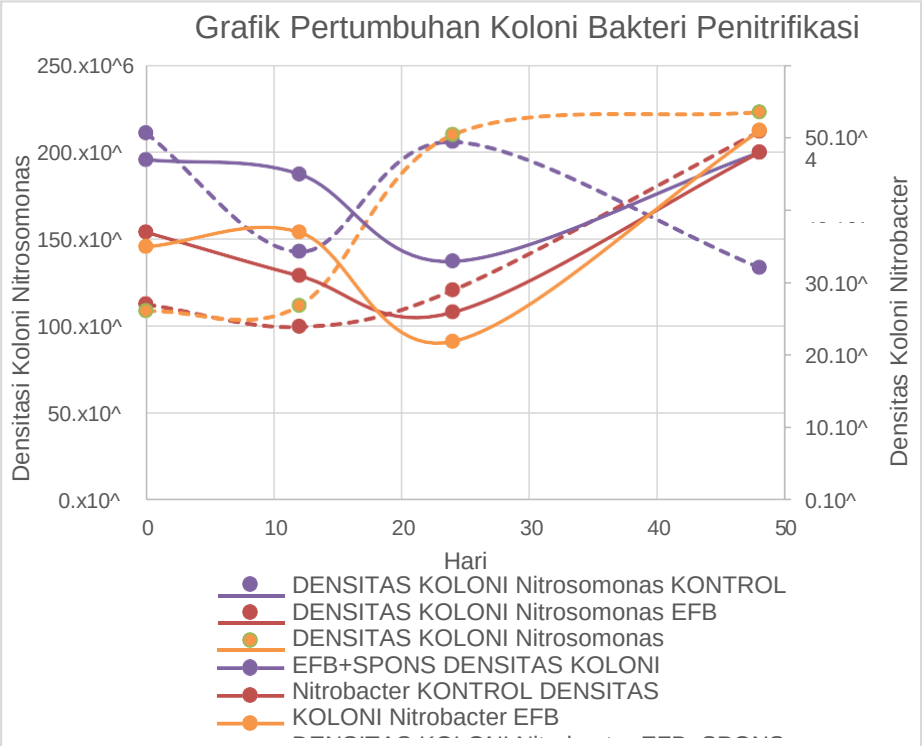
Dapat diperhatikan bahwa grafik hari ke 0 sampai ke 10 menunjukkan durasi fase lag bakteri *Nitrosomonas*, dimana bakteri beradaptasi dengan kondisi masing masing reaktor, sehingga terlihat perbedaan fluktuasi sesuai dengan perlakuan yang terjadi pada tiap reaktor. Grafik koloni bakteri pada reaktor kontrol hari ke 0 berjumlah 211x10^6 CFU/mL turun menjadi 143 x10^6 CFU/mL pada hari ke 12, konsentrasi ammonia pada reaktor kontrol yang awalnya berjumlah 30,91 mg/L turun menjadi 14,84 mg/L pada hari ke 10. Bakteri pada reaktor EFB juga mengalami penurunan dari 113 x10^6 CFU/mL menjadi 100x10^6CFU/mL, diikuti dengan penurunan konsentrasi ammonia dengan total 32,56 mg/L menjadi 9,34 mg/L. Namun grafik koloni bakteri pada reaktor EFB+Spons mengalami kenaikan dari 109 x10^6 CFU/mL menjadi 112 x10^6CFU/mL, kenaikan ini diikuti dengan penurunan ammonia yang total awal berjumlah 31.89 mg/L menjadi 15,06 mg/L.

Fase exponensial merupakan tahap dimana bakteri mengalami pertumbuhan jumlah yang konstan dan cukup cepat, fase ini ditunjukkan pada durasi hari ke 10 hingga ke 20 dengan arah grafik yang relatif naik. Koloni bakteri terlihat mengalami kenaikan ditahap ini dikarenakan pada durasi ini konsentrasi polutan pada setiap reaktor ditingkatkan jumlahnya untuk menguji kemampuan masing-masing reaktor. Peningkatan koloni bakteri pada reaktor EFB+Spons merupakan yang paling tinggi dengan jumlah 210 x10^6 CFU/mL dengan konsentrasi ammonia pada awal tahap dua penelitian ini adalah 74.84mg/L. Reaktor Kontrol memiliki jumlah koloni

tertinggi kedua dengan total 206 x10^6CFU/mL dengan konsentrasi ammonia 72.95 mg/L.Jumlah bakteri paling sedikit pada sampel hari ke 24 ini terdapat pada reaktor EFB dengan jumlah 121 x10^6 CFU/mL dengan konsentrasi ammonia 71.85 mg/L.

Dari fase exponensial, pertumbuhan bakteri akan mengalami fase stasioner dimana laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya. Terlihat dari grafik pertumbuhan bakteri bahwa fase ini terjadi pada durasi hari ke 20 sampai dengan hari ke 30 penelitian.Sampel bakteri pada hari ke 24 merupakan sampel pada saat fase stasioner. Setelah fase stasioner, koloni bakteri memasuki fase kematian yang ditandai dengan tinggingya kematian bakteri daripada laju pertumbuhannya diikuti dengan menurunnya konsentrasi nutrient yang dibutuhkan bakteri. Durasi fase kematian pada penelitian ini terdapat pada hari ke 30 sampai dengan 50. Bakteri terlihat penurunan jumlahnya pada sampel hari ke 48. Pada reaktor kontrol jumlah bakteri menurun menjadi 134 x10^6 CFU/mL diikuti dengan penuruan konsentrasi ammonia menjadi 32,73 mg/L. Bakteri pada reaktor EFB terlihat masih mengalami fase exponensial, terlihat di grafik yang mengalami kenaikan menjadi 212 x10^6 CFU/mL dengan konsentari ammonia menurun menjadi 24,91 mg/L. Bakteri pada reaktor EFB+Spons terlihat masih mengalami fase stasioner dimana jumlahnya sedikit meningkat menjadi 223x10^6 CFU/mL dengan konsentrasi ammonia paling rendah yaitu 9,24 mg/L.

Selain bakteri Nitrosomonas sp penelitian juga mengamati pertumbuhan Nitrobacter sp yang mengoksidasi nitrit menjadi nitrat oleh Isnaini 2021. Seperti yang ditunjukkan pada Grafik 2 pertumbuhan Nitrobacter umumnya mengalami kenaikan pada hari ke-48 dikarenakan pada hari ke-24 konsentrasi polutan ditingkatkan dibandingkan dengan hari ke 0 sehingga jumlah bakteri meningkat dan waktu yang dibutuhkan untuk mengoksidasi polutan semakin lama.



Grafik 2 Pertumbuhan Nitrosomonas sp dan Nitrobacter sp

1.5 Karakteristik Sel Bakteri



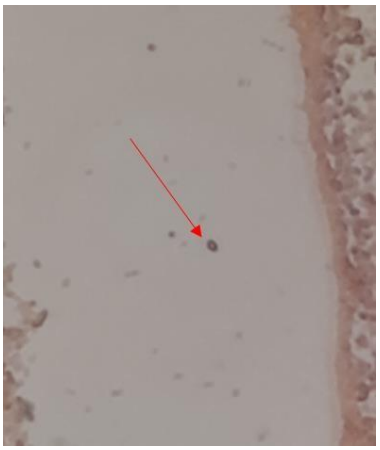
Sumber: (Dokumentasi, 2021)

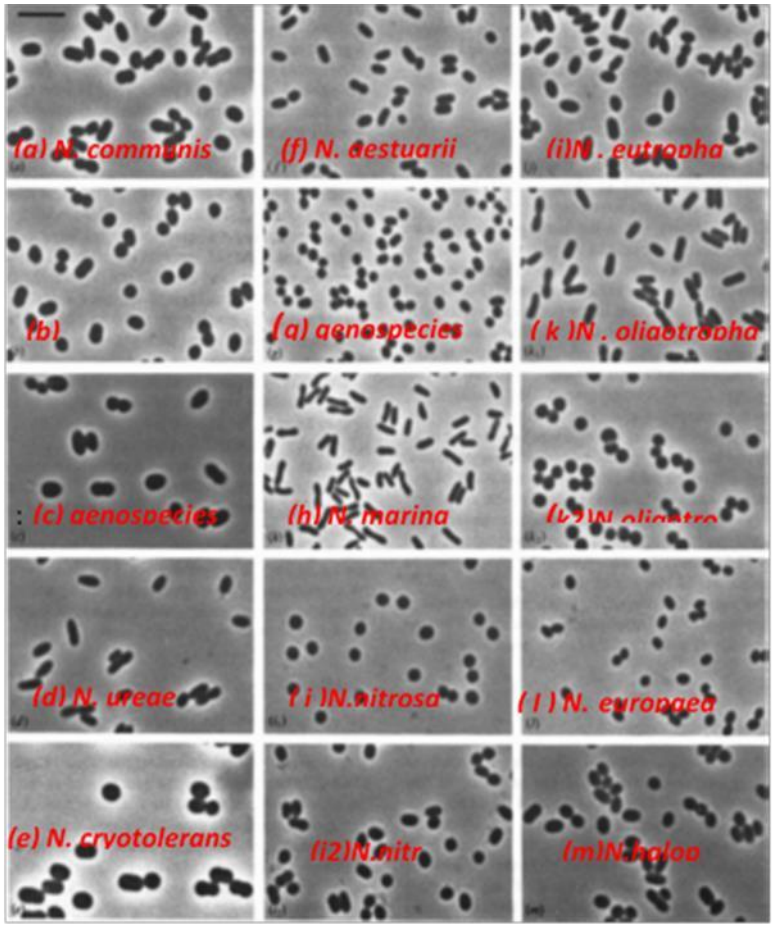
Gambar 14 Alat dan Bahan Pewarnaan Gram

Pengamatan sel bakteri diawali dengan pewarnaan gram dimana yang diamati adalah bentuk, ukuran dan hasil pewarnaan gram untuk mengetahui apakah bakteri termasuk jenis gram negatif atau positif. Pewarnaan gram diawali dengan menyiapkan preparat *Nitrosomonas* yang kemudian difiksasi dengan api. Selanjutnya ditetesi dengan kristal violet (gram A) dan diamkan 1 menit, lalu bilas dengan aquades. Fungsi dari Kristal violet itu sendiri adalah sebagai pewarna primer, bakteri gram positif akan mengikat warna ungu dan tidak akan luntur saat ditetesi alkohol. Tahap berikutnya preparat akan ditetesi dengan lugol (gramb B) yang berfungsi sebagai pengikat warna. Setelah 1 menit dilanjutkan dengan ditetesi larutan pemucat (Alkohol 70%) selama 20 detik yang berfungsi sebagai pembilas, apabila bakteri yang diamati tidak mengikat kristal violet. Setelah dibilas dengan akuades, preparat akan ditetesi larutan safranin (gram d) selama 15 detik, apabila bakteri yang diamati berjenis gram negatif maka warna safranin akan melekat pada bakteri. Setelah dibilas dengan aquades, preparat yang sudah kering kemudian diamati menggunakan mikroskop.

Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 9 bahwa sel bakteri yang diamati berbentuk basil, dan berjenis gram negatif. Seperti yang dicantumkan dalam Cowan et.al 1993 bahwa *Nitrosomonas* termasuk bakteri gram negatif, berbentuk bulat, kadang-kadang sel berbentuk elips, bisa bersifat motil maupun non motil, bersifat aerob.

Tabel.9 Hasil Pewarnaan Gram

No	Isolat	Gambar	Gram	Bentuk	Perbesaran
1	NS1 (EFB)		Negatif	Basil	100x10



Sumber : H.-P. Koops and others Journal of General Microbiology (199l)

Gambar 15 Bentuk dan Jenis Bakteri *Nitrosomonas sp.*

BAB V
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode EFB dinilai cukup efektif untuk menghilangkan polutan ammonia pada badan air. Seperti yang diperlihatkan pada grafik bahwa Reaktor EFB yang ditambahkan dengan media penyangga tambahan akan memperluas area permukaan tempat bakteri untuk berkembang biak sehingga oksidasi ammonia yang dilakukan bakteri dan tanaman semakin efektif. Durasi penurunan ammonia dipengaruhi besarnya polutan yang terdapat pada badan air semakin besar konsentrasi polutan maka semakin lama durasi yang dibutuhkan untuk mendegradasi polutan tersebut begitu juga sebaliknya.

5.2 Saran

Variasi penelitian perlu dilakukan untuk peneliti yang ingin melanjutkan topik ini, seperti variasi tanaman yang digunakan, variasi jumlah hari pengambilan sampel dan variasi jenis media penyangga yang lebih efektif untuk digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

Nindrasari, G., Irene. M., Jubhar. C. M. 2011. "Pengurangan Kadar Amonium Pada Limbah Cair Industri Terasi Melalui Proses Nitrifikasi dan Anammox Menggunakan Kombinasi Kultur Aerob-Anaerob". (Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa). Universitas Kristen Satya Wacana. Salatiga.

Wielgosz, E. Jozwiakowski, K. and Bielinska, E.J. 2010. *Numbers Of Ammonifying, Nitrifying and Denitrifying Bacteria In Sewage Treated In A System Of Biological Stabilisation Ponds*, Department of Agricultural Microbiology. University of Life Sciences. Lublin.

Golterman H.L, 2004. The Chemistry of Phospate and Nitrogen Compounds in Sediments, Kluwer Academic Publishers. New York.

Yu Deng, Fuquan Ni, 2013. *Review of Ecological Floating Bed Restoration in Polluted Water.* College of Information and Engineering, Sichuan Agricultural University, Ya'an, China.

Anonimus. 2001. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran. Jakarta: Kementrian Lingkungan Hidup

Erickson, E., Karina A., Mogen H., Anna L. 2002. "*Characteristic of Grey Wastewater*". UrbanWater 4, 85-104.

Fatta-Kassinos, D., Kalavrouziotis, I. K., Koukoulakis, P. H., & Vasquez, M. I. (2011). The risks associated with wastewater reuse and xenobiotics in the agroecological environment. Sci Total Environ, 409, 3555–3563

Aonghusa, C. N., & Gray, N. F. (2002). Laundry detergents as a source of heavy metals in Irish domestic wastewater. Journal of Environmental Science and Health. Part A, Toxic/ Hazardous Substances & Environmental Engineering, 37, 1–6.

Stuven, R., Bock, E., 2001. Nitrification and denitrification as a source for NO and NO2 production in high-strength wastewater. *WaterRes.* 35, 1905.

Nelson, M.I., Sidhu, H.S., 2009. *Analysis of the activated sludge model (number 1)*. Appl. Math. Lett. 22, 629

Spotte, S. 1979. *Fish and Invertebrate Culture: Water Management in Closed Systems*. Wiley Intersci. Pub., New York. 179 p.

Daims H, Lebedeva EV, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M et al. (2015). Complete nitrification by Nitrospira bacteria. Nature 528: 504–509.

Sahrawat, K. L. 2003. *A systematic approach to research on the development of nitrification inhibitors from indigenous resources*. Current Science 84:10.

Spieck E., Bock E. (2005) *The Lithoautotrophic Nitrite-Oxidizing Bacteria. In: Brenner* D.J., Krieg N.R., Staley J.T., Garrity G.M. (eds) Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer, Boston, MA

Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T., William, S.T., 2000, *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, 9 th edition*, William and Wilkin, USA.

Cowan, S.T., Steel, K.J., Barrow, G.I., Feltham, R.K.A., 1993, Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria 3rd Edition, Cambridge University Press, Australia

Magdalena. 2009. *Kualitas Biologis dan Manipulasi Mikroba: Bakteri Nitrifikasi.http://www.sith.itb.ac.id/d4_akuakultur_kultur_jaringan/bahankuliah/(Peremuan4)_Teknologi_Pengelolaan_Kualitas_Air_KUALITAS_AIR_BIOLOGIS_dan_Manip ulasi_Bakteri_Nitrifikasi.pdf*.

Devaraja T.N., F.M. Yusoff, dan M. Syarif. 2002. Changes in Bacterial Populations and Shrimp Production in Pons Treated With Commercial Microbial Products. Aquaculture, 206 : 245-256.

Petterson JW. 1990. *Industrial Wastewater Treatment Technology. 2nd edition*. Butterworth Publisher. Boston.

Suharto, 2010, Limbah Kimia Dalam Pencemaran Air dan Udara, Andi, Yogyakarta. Alexander, M.1999. Biodegradation and Bioremediation 2 nd edition. Academic Press, San Diego.

T. R. Headley & C. C. Tanner (2012) Constructed Wetlands With Floating Emergent Macrophytes: An Innovative Stormwater Treatment Technology, Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 42:21, 2261-2310

J. Q. Wang, Y. F. Zhi, Y. Z. Song, et al., "Purification Ef- fect of Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) Coverage on the Different Flow Properties Water Bodies," Ecology and Environmental Sciences, Vol. 21, No. 1, 2012, pp. 124-129.

K. H. Lu, R. Y. Hu, J. J. Liang, et al., "Characteristics of Rhizosphere Microbial Community Structure of Two Aquatic Plants in Eutrophic Waters," China Environmen- tal Science, Vol. 30, No. 11, 2010, pp. 1508-1515.

Aprilia Mustikaning Putri, Pramudya Kurnia. 2018. Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform dan Total Mikroba Dalam Es Dung-Dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

"Halaman ini sengaja dikosongkan"

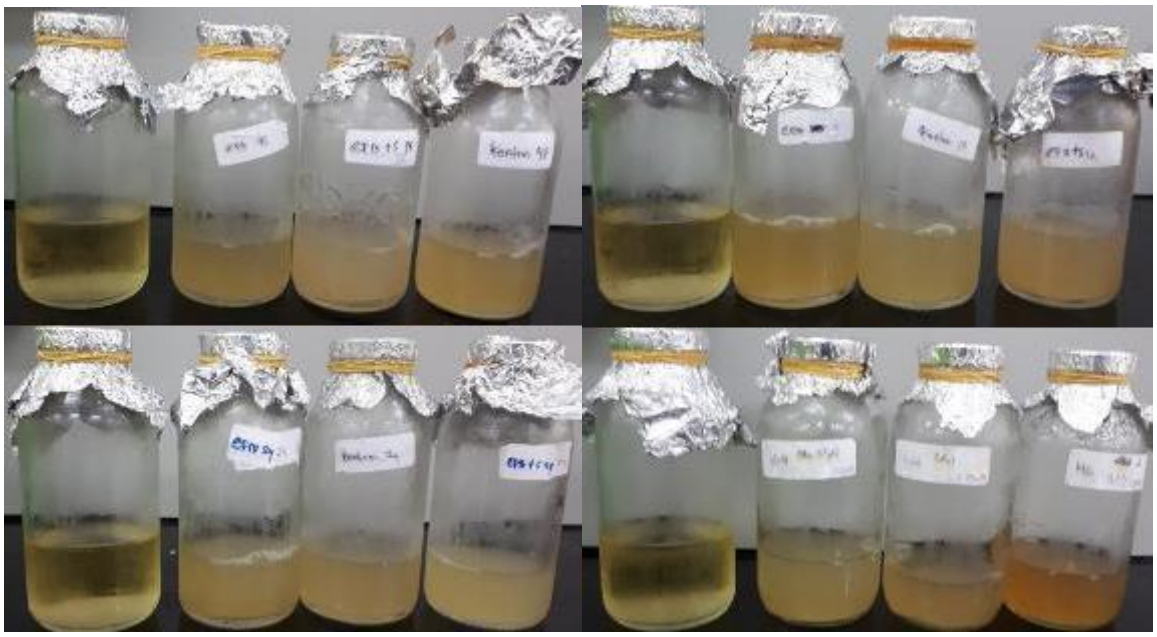
LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan Jumlah Bakteri *Nitrosomonas* sp

Tabel 7 Hasil Perhitungan Densitas dan Prosentase Pertumbuhan Bakteri *Nitrosomonas*

HARI	REAKTOR	DENSITAS BAKTERI TIAP REAKTOR (CFU/mL)			RASIO	DENSITAS BAKTERI YANG DIGUNAKAN (CFU/mL)	PROSENTASE PERTUMBUHAN NITROSOMONAS
		10^7	10^6	10^5			
0	KONTROL	$82x10^7$	$211x10^6$	$93 x10^5$	4	$211x10^6$	30%
	EFB	$49 x10^7$	$113 x10^6$	$222 x10^5$	4	$113 x10^6$	21%
	EFB DAN SPONS	$87 x10^7$	$109 x10^6$	$118 x10^5$	8	$109 x10^6$	17%
12	KONTROL	$63 x10^7$	$143 x10^6$	TBUD	4	$143 x10^6$	21%
	EFB	$79 x10^7$	$100 x10^6$	TBUD	8	$100 x10^6$	18%
	EFB DAN SPONS	$77 x10^7$	$112 x10^6$	$152 x10^5$	7	$112 x10^6$	17%
24	KONTROL	$95 x10^7$	$206 x10^6$	TBUD	5	$206 x10^6$	30%
	EFB	$171 x10^7$	$121 x10^6$	TBUD	14	$121 x10^6$	22%
	EFB DAN SPONS	$185 x10^7$	$210 x10^6$	TBUD	9	$210 x10^6$	32%
48	KONTROL	$52 x10^7$	$134 x10^6$	TBUD	4	$134 x10^6$	19%
	EFB	$113 x10^7$	$212 x10^6$	TBUD	5	$212 x10^6$	39%
	EFB DAN SPONS	$94 x10^7$	$223 x10^6$	TBUD	4	$223 x10^6$	34%

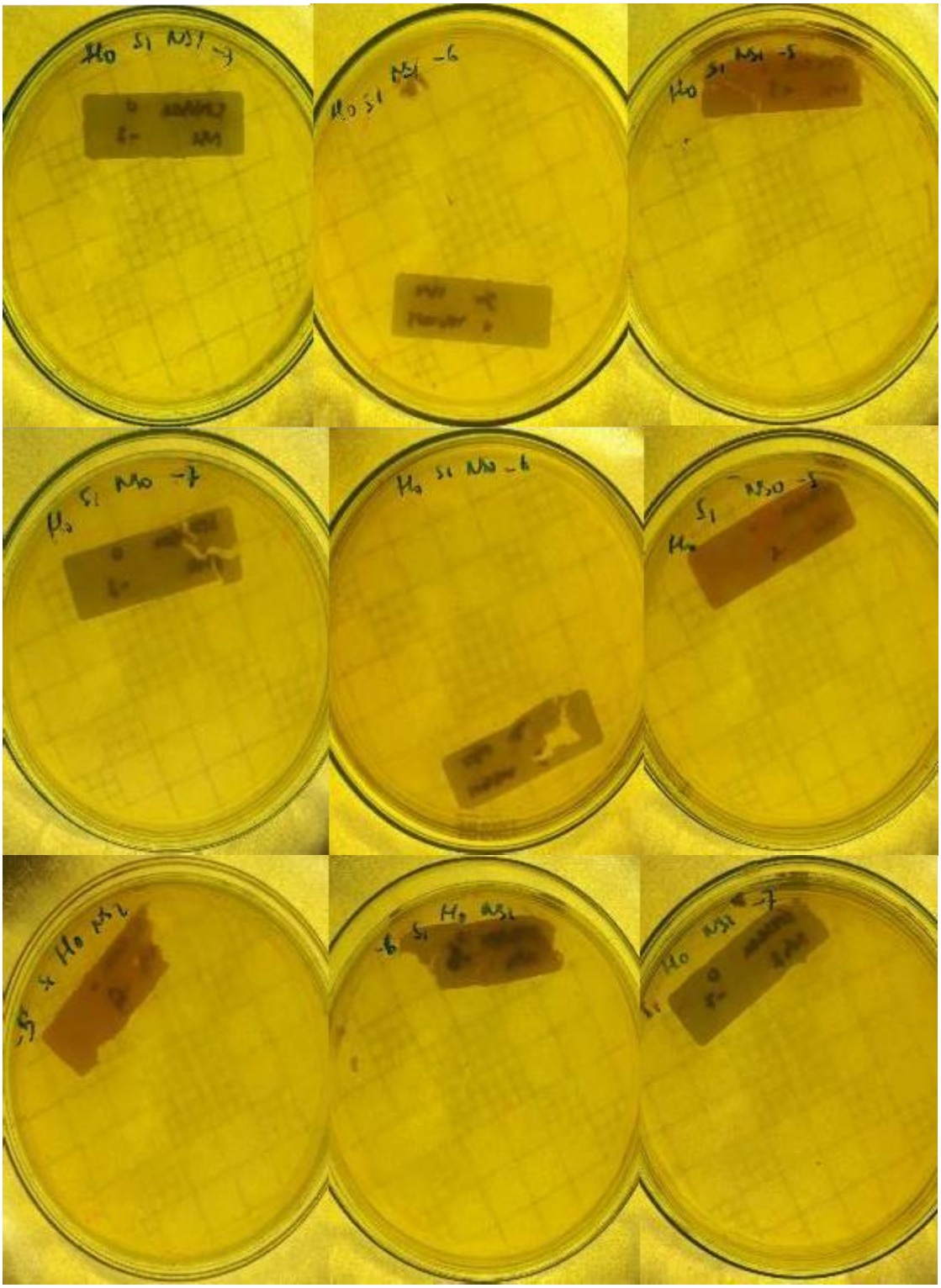
Lampiran 2 Inokulasi Bakteri Pada Media DNB



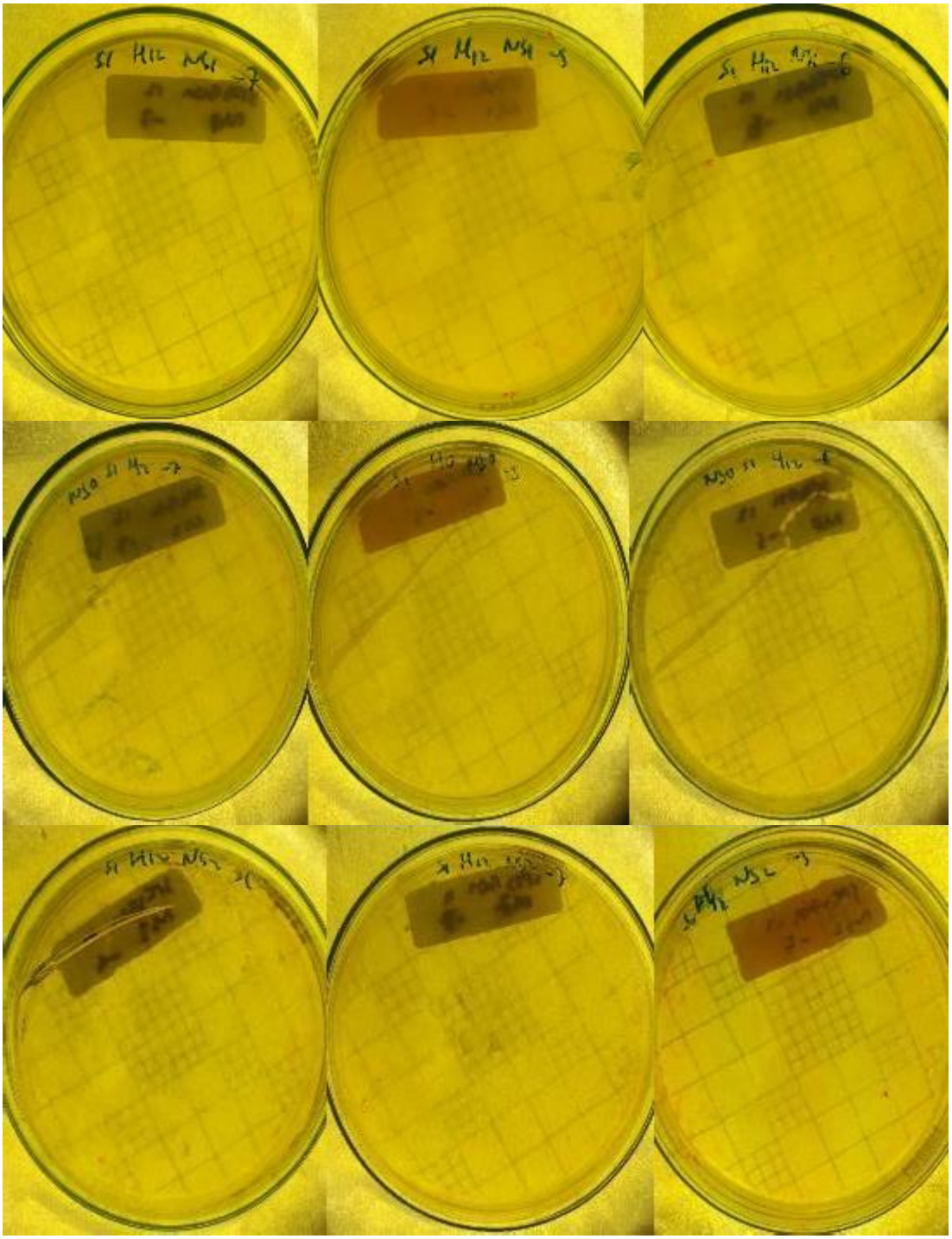
Lampiran 3 Isolat bakteri Pada Media Spesifik



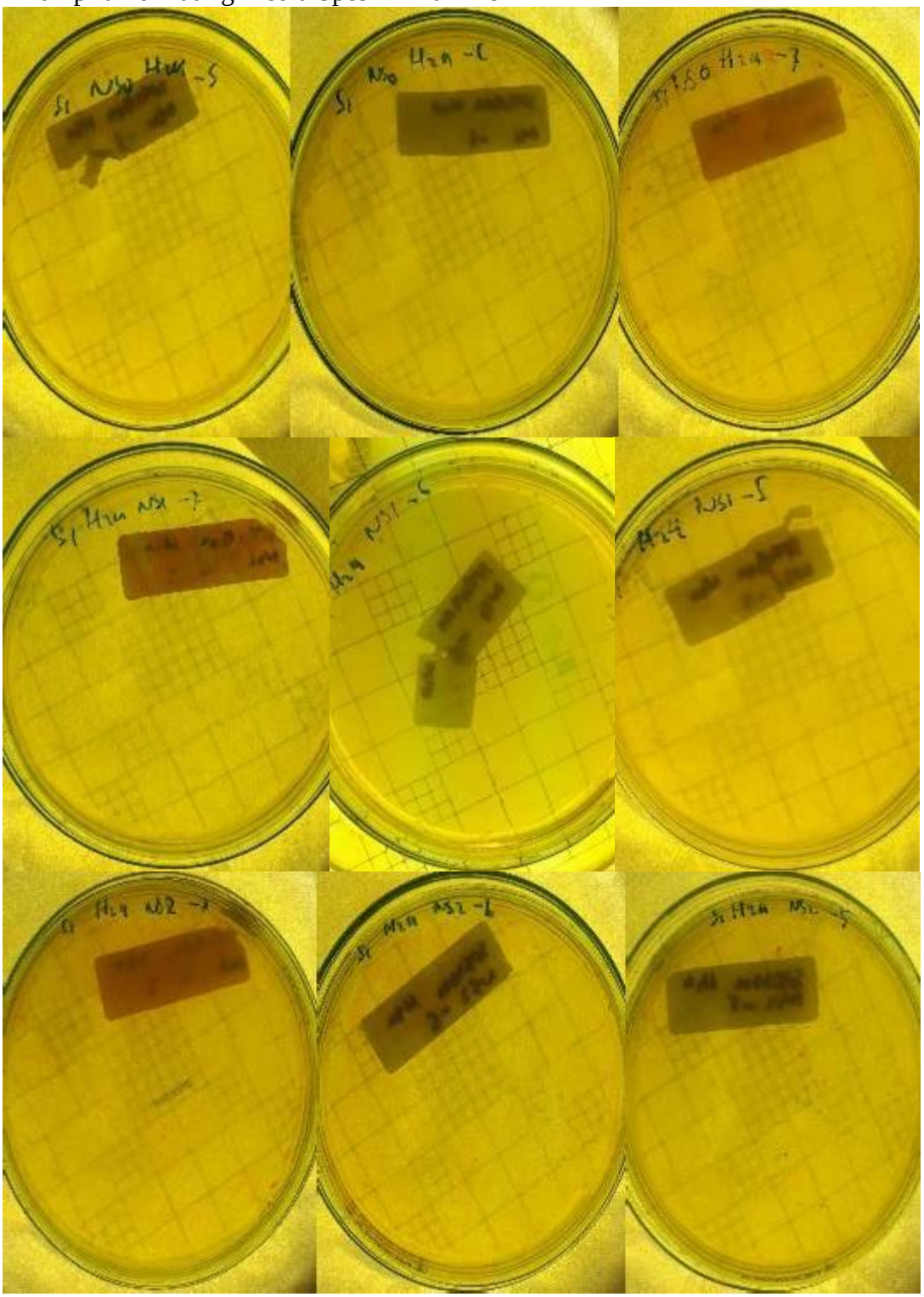
Lampiran 4 Plating Media Spesifik Hari 0



Lampiran 5 Plating Media Spesifik Hari ke 12



Lampiran 6 Plating Media Spesifik Hari Ke 24



Lampiran 7 Plating Media Spesifik Hari Ke 48

