

**RESPON PERTUMBUHAN *Microcystis* spp. AKIBAT
REDUKSI NITRAT OLEH KONSORSIUM BAKTERI
PEREDUKSI NITRAT DARI WADUK SUTAMI**

SKRIPSI

oleh :
NUR AJIJAH
0410910039-91

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**

**RESPON PERTUMBUHAN *Microcystis* spp. AKIBAT
REDUKSI NITRAT OLEH KONSORSIUM BAKTERI
PEREDUKSI NITRAT DARI WADUK SUTAMI**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang biologi

oleh :

**NUR AJIJAH
0410910039-91**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**RESPON PERTUMBUHAN *Microcystis* spp. AKIBAT
REDUKSI NITRAT OLEH KONSORSIUM BAKTERI
PEREDUKSI NITRAT DARI WADUK SUTAMI**

oleh :
NUR AJIJAH
0410910039-91

**Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 19 Juni 2009
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang biologi**

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Umi Marwati, M.Si.
NIP. 131 061 193

Dr. Suharjono, MS.
NIP. 131 759 584

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

Dr. Sri Rahayu, M.Kes
NIP. 131 652 677

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nur Ajjah
NIM : 0410910039-91
Jurusan : Biologi
Penulisan skripsi berjudul :

**RESPON PERTUMBUHAN *Microcystis* spp. AKIBAT
REDUKSI NITRAT OLEH KONSORSIUM BAKTERI
PEREDUKSI NITRAT DARI WADUK SUTAMI**

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri, dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam daftar pustaka skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat dari keadaan tersebut.

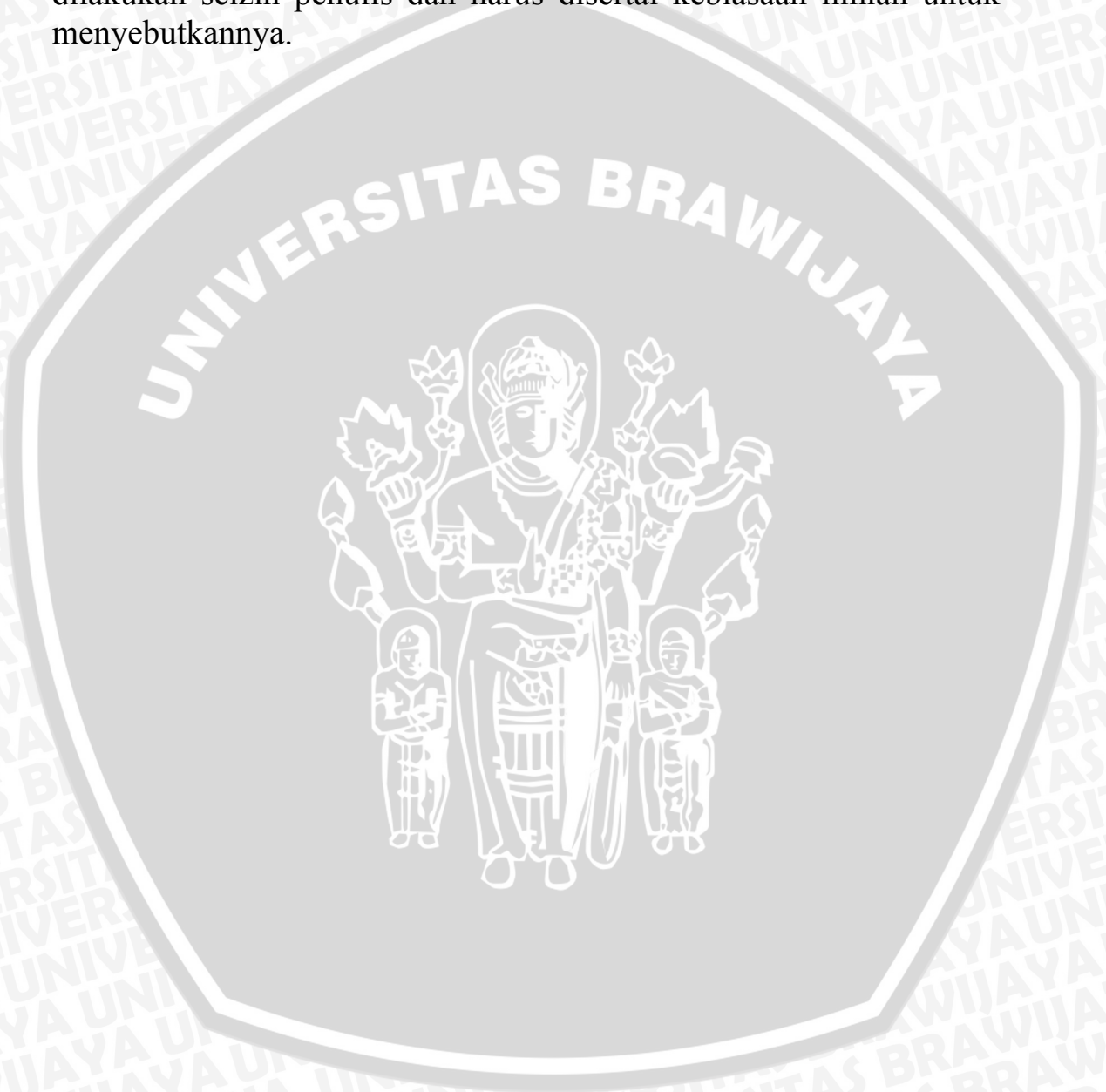
Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 2009
Yang menyatakan,

(Nur Ajjah)
NIM. 0410910039-91

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipannya hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



RESPON PERTUMBUHAN *Microcystis* spp. AKIBAT REDUKSI NITRAT OLEH KONSORSIUM BAKTERI PEREDUKSI NITRAT DARI WADUK SUTAMI

ABSTRAK

Waduk Sutami sering mengalami *blooming Microcystis* spp. yang disebabkan oleh konsentrasi nitrat tinggi. Salah satu alternatif untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* spp. adalah dengan menurunkan konsentrasi nitrat menggunakan bakteri pereduksi nitrat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat serta pengaruh penurunan konsentrasi nitrat terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. pada air Waduk Sutami steril dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi. Rancangan penelitian dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan dua ulangan dan dua faktor, yaitu intensitas cahaya (2-3 klux dan 8-9 klux) dan aerasi. Parameter yang diamati yaitu densitas sel dan konsentrasi nitrat. Densitas *Microcystis* dalam kultur tunggal pada fase eksponensial tertinggi diperoleh $5,54 \cdot 10^6$ sel/mL (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi) terjadi pada inkubasi hari keenam, sedangkan dalam kultur campuran (*Microcystis* dan bakteri pereduksi nitrat) diperoleh $2,93 \cdot 10^6$ sel/mL (intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi) terjadi pada inkubasi hari ketiga. Densitas bakteri pereduksi nitrat dalam kultur tunggal dan kultur campuran pada fase eksponensial tertinggi diperoleh $3,37 \cdot 10^{10}$ sel/mL dan $2,52 \cdot 10^{10}$ sel/mL (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi) terjadi pada inkubasi hari kesepuluh. Reduksi nitrat media tertinggi (93%) terjadi dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi pada inkubasi hari kelima dan dapat menurunkan pertumbuhan *Microcystis* spp. sebesar 86% pada inkubasi hari keenam. Reduksi nitrat dengan kecepatan tertinggi 1,41 mg/L/hari terjadi dalam kultur campuran (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi).

Kata kunci : aerasi, air Waduk Sutami steril, bakteri pereduksi nitrat, intensitas cahaya, *Microcystis* spp.

repository.ub.ac

THE GROWTH RESPONSE OF *Microcystis* spp. TOWARD REDUCING NITRATE BY NITRATE REDUCING COSORTIUM BACTERIA FROM SUTAMI RESERVOIR

ABSTRACT

Microcystis blooms often occurs in Sutami Reservoir because of the high nitrate concentration. One of the alternative efforts to maintain *Microcystis* growth is to reduce nitrate concentration in water system using nitrate-reducing bacteria. The objectives of the research were to know the growth pattern of *Microcystis* spp. and nitrate-reducing bacteria consortium and the influence of nitrate concentration in Sutami Reservoir water toward *Microcystis* spp. growth. The research design done by Factorial Completely Randomize with two factor and twice repeated. Parameters that being observed were cells density and nitrate concentration. The highest density of *Microcystis* in single culture was $5,54.10^6$ cell/mL (light intensity 8-9 klux and non aeration) occured in 6th day, while in mix culture (*Microcystis* and nitrate-reducing bacteria) was $2,93.10^6$ cell/mL (light intensity 2-3 klux and aeration) occured in 3th day. The highest density of reducing nitrate bacteria in single culture and mix culture was $3,37.10^{10}$ cell/mL and $2,52.10^{10}$ cell/mL (light intensity 8-9 klux and non aeration) occurred in 10th day. The highest nitrate reduction occured in mix culture in 5th day was 93% (light intensity 8-9 klux and non aeration) and can reduced *Microcystis* spp. growth was 86% in 6th day. The highest speed of nitrate reduction was 1.41 mg/L/days occurred in mix culture (light intensity 8-9 klux and non aeration).

Keywords: aeration, *Microcystis* spp., nitrate concentration, nitrate-reducing bacteria, Sutami Reservoir water.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kemudahan yang dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul ” Respon Pertumbuhan *Microcystis* spp. Akibat Reduksi Nitrat oleh Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat dari Waduk Sutami.”

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Umi Marwati, M.Si dan Bapak Dr. Suharjono, MS. selaku pembimbing atas bimbingan, pelajaran, nasehat dan kesabaran selama penelitian dan penulisan skripsi.
2. Ibu Dra. Catur Retnaningdyah, M.Si. selaku ketua proyek penelitian atas bimbingan, kesabaran dan inspirasinya.
3. Bapak Dr Bagyo Yanuwadi., Bapak Amin Setyo. L, Ph.D dan Bapak Irfan Mustafa, M.Si., atas kesediannya menjadi penguji serta saran-saran yang diberikan untuk perbaikan skripsi ini.
4. Seluruh staf pengajar dan Laboran Jurusan Biologi, MIPA, UB atas ilmu yang telah diberikan.
5. Keluargaku tersayang, Bapak dan Mama (Alm), Ibu, Ima’, Nunu’ dan Itoz yang senantiasa memberikan doa dan motivasi.
6. Keluargaku di Kerto kluntung Malang (Ibu Cike, Ibu Santi, Mb.Une dan d’Resti) yang selalu menemani ku selama ini.
7. Keluarga Besar Impala Unibraw atas pengalaman, persaudaraan dan ”kenangan indah bersama Impala takkan terlupa sepanjang usia”
8. Teman seperjuangan: Neneng Nuraeni, Rovi, Asraf dan Ricke atas dukungan, kerjasama, dan kebersamaanya.
9. Tim Lab. Mikrobiologi-Ekologi atas bantuan dan kerjasamanya.
10. Teman-teman Biologi ’04 atas motivasi dan kebersamaanya.

Penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan oleh penulis. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, 19 Juni 2009
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR RUMUS/PERSAMAAN REAKSI KIMIA	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN/LAMBANG	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Gambaran Umum Waduk Sutami	3
2.2 Tinjauan Umum Mengenai <i>Microcystis</i> spp.	6
2.3 Teknologi Mengendalikan Pertumbuhan <i>Microcystis</i> spp.	8
BAB III METODE PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat	12
3.2 Sumber Isolat dan Peremajaan Bakteri Pereduksi Nitrat	12
3.3 Pembuatan Stok Kultur dan Stok Inokulum Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat	12
3.4 Pengambilan Sampel <i>Microcystis</i> spp. dan Air Waduk Sutami	13
3.5 Purifikasi dan Pembuatan Stok Kultur <i>Microcystis</i> spp.	13
3.6 Preparasi Air Waduk Sutami Steril	13
3.7 Uji Pengaruh Intensitas Cahaya dan Aerasi terhadap Densitas <i>Microcystis</i> spp. dan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat	13
3.8 Penghitungan Densitas Sel <i>Microcystis</i> spp. dan Sel Bakteri Pereduksi Nitrat	15

3.9 Pengukuran Konsentrasi Nitrat	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Pola Pertumbuhan <i>Microcystis</i> spp.	17
4.2 Pola Pertumbuhan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat	19
4.3 Konsentrasi Nitrat Kultur	23
4.4 Kecepatan Reduksi Nitrat Kultur	27
4.5 Korelasi Densitas Sel-sel <i>Microcystis</i> spp. dan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Konsentrasi Nitrat Kultur	28
4.6 Pengaruh Reduksi Nitrat oleh Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Pertumbuhan <i>Microcystis</i> spp.	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	39



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Sistem klasifikasi Prati	3
2.2 Kisaran kualitas air Waduk Sutami pada tahun 2004 hingga tahun 2006	4
2.3 Klasifikasi tingkat kesuburan perairan danau	5
3.1 Rancangan penelitian	14



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>Microcystis</i> spp.	6
2.2 Siklus nitrogen	11
4.1 Pola pertumbuhan kultur tunggal <i>Microcystis</i>	17
4.2 Pola pertumbuhan <i>Microcystis</i> spp. dalam kultur campuran	18
4.3 Pola pertumbuhan kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat	20
4.4 Pola pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran	22
4.5 Konsentrasi nitrat media kultur campuran	24
4.6 Konsentrasi nitrat media kultur tunggal bakteri	25
4.7 Konsentrasi nitrat media kultur tunggal <i>Microcystis</i>	26
4.8 Kecepatan reduksi nitrat oleh berbagai kultur	27
4.9 Nilai korelasi <i>Pearson</i> konsentrasi nitrat terhadap densitas sel <i>Microcystis</i>	29
4.10 Nilai korelasi <i>Pearson</i> densitas sel bakteri pereduksi nitrat terhadap konsentrasi nitrat kultur	30
4.11 Prosentase penurunan densitas <i>Microcystis</i> spp. akibat reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri	31



DAFTAR RUMUS/PERSAMAAN REAKSI KIMIA

	Halaman
2.1 Reaksi fiksasi gas nitrogen	10
2.2 Reaksi hidrolisis amonia	10
2.3 Reaksi oksidasi ammonia menjadi nitrit	10
2.4 Reaksi oksidasi ammonia menjadi nitrat	10
3.1 Rumus pengukuran densitas sel-sel <i>Microcystis</i> spp. dan bakteri pereduksi nitrat	15



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Kerangka konsep penelitian	39
2. Preparasi air Waduk Sutami steril	40
3. Morfologi sel <i>Microcystis</i> spp.	40
4. Kurva baku nitrat	41
5. Karakteristik fenotip isolat-isolat konsorsium bakteri pereduksi nitrat	41
6. Analisis Ragam kultur tunggal <i>Microcystis</i>	42
7. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal <i>Microcystis</i>	43
8. Analisis Ragam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat	44
9. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat	45
10. Analisis Ragam <i>Microcystis</i> dalam kultur campuran	46
11. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel <i>Microcystis</i> dalam kultur campuran	47
12. Analisis Ragam bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran	48
13. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran	49
14. Analisis Ragam kecepatan reduksi nitrat	50
15. Analisis Ragam konsentrasi nitrat kultur	51
16. Hasil uji Beda Nyata Jujur konsentrasi nitrat	52
17. Nilai keterandalan (R^2) dan persamaan regresi densitas sel <i>Microcystis</i> spp. terhadap konsentrasi nitrat	54
18. Nilai keterandalan (R^2) dan persamaan regresi densitas sel konsorsium bakteri terhadap konsentrasi nitrat	55
19. Peta lokasi Waduk Sutami	56

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN/LAMBANG

<u>Istilah</u>	<u>Keterangan</u>
Blooming	peledakan
Eutrofikasi	peningkatan kadar nutrisi di perairan
Inokulasi	menumbuhkan bakteri ke dalam media kultur
Inokulum	koloni bakteri yang berasal dari satu sel
Isolat	satu spesies bakteri yang telah murni
Konsorsium	kultur dua atau lebih isolat bakteri berbeda-beda yang melakukan aktivitas bersama dan saling mendukung serta menguntungkan sebagai sebuah komunitas
Oose	takaran/ukuran jumlah massa sel bakteri yang diambil dengan kawat yang ujungnya melingkar

<u>Singkatan/lambang</u>	<u>Keterangan</u>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
SPSS	<i>Statistic Package for Social Science</i>
Tukey-HSD	<i>Tukey-Honesty Significant Difference</i>
µm	mikrometer
nm	nanometer
mL	mililiter
µg	microgram
klux	kilolux



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Waduk Sutami merupakan salah satu waduk di Jawa Timur yang terletak di Desa Karangates, Kecamatan Sumberpucung, Kabupaten Malang. Fungsi utama Waduk Sutami adalah sebagai pengendali banjir, pembangkit tenaga listrik, irigasi lahan pertanian seluas 34.000 hektar dan sebagai daerah pariwisata (Soekistijono, 2004).

Permasalahan yang sering terjadi di perairan menggenang adalah terjadinya *blooming* mikroalga terutama dari golongan Cyanobacteria. Berdasarkan hasil monitoring yang dilakukan oleh Samino dan Retnaningdyah (2004) serta Retnaningdyah dan Samino (2005 dan 2006) selama tahun 2004 sampai bulan Maret 2006 *Microcystis* spp. selalu ada dalam densitas tinggi di Waduk Sutami.

Microcystis spp. adalah jenis *blue-green algae* (Cyanobacteria) yang biasa tumbuh di permukaan air. *Microcystis* spp. pada kondisi normal tidak berbahaya bagi manusia atau organisme lain, namun pada kondisi *blooming* dapat menghasilkan toksin yang disebut *microcystin*. Toksin ini bersifat hepatotoksik karena dapat merusak hati (liver) organisme yang mengalami keracunan *microcystin*. (Tyagi, dkk., 2006). Efek toksik racun ini pada manusia berpotensi mengakibatkan kerusakan liver secara kronik yang selanjutnya dapat memicu tumor liver (Oregon Public Health Services, 2002).

Menurut Retnaningdyah dan Samino (2006) beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya *blooming Microcystis* spp. di Waduk Sutami antara lain konsentrasi nitrat yang tinggi, intensitas cahaya dan aerasi. Kualitas air di Waduk Sutami menunjukkan bahwa sejak tahun 2004 hingga tahun 2006 perairan Waduk Sutami termasuk dalam kategori eutrofik dengan konsentrasi nitrat yang tinggi. Konsentrasi nitrat di Waduk Sutami sejak tahun 2004 hingga tahun 2006 rata-rata berkisar antara 0,325-10,197 mg/L. Berdasarkan hasil monitoring yang dilakukan oleh Retnaningdyah dan Samino (2005 dan 2006) *blooming Microcystis* spp. di Waduk Sutami biasanya terjadi pada saat musim kemarau (Mei-Oktober) dengan intensitas cahaya pada kedalaman 0-25 cm adalah berkisar 1,71-20 klux pada tahun 2005 dan berkisar 0,17-19,16 klux pada tahun 2006.

Salah satu alternatif untuk mencegah terjadinya *blooming Microcystis* spp. adalah dengan menurunkan konsentrasi nitrat di

perairan menggunakan bakteri pereduksi nitrat. Beberapa bakteri pereduksi nitrat yang telah diisolasi dari Waduk Sutami adalah DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2. Keenam isolat tersebut memiliki potensi yang tinggi dalam mereduksi nitrat di antara isolat-isolat yang berhasil diisolasi dengan kemampuan mereduksi nitrat sebesar 90-97% (Ahmed, 2009 dan Rahmania, 2009). Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan kajian mengenai pengaruh reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat dari Waduk Sutami terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi.

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah yang dapat diambil dari latar belakang adalah:

1. Bagaimanakah pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang diisolasi dari Waduk Sutami dalam air Waduk Sutami pada variasi intensitas cahaya dan aerasi?
2. Bagaimanakah pengaruh penurunan konsentrasi nitrat terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. pada variasi intensitas cahaya dan aerasi?

1.3 Tujuan

Tujuan diadakannya penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang diisolasi dari Waduk Sutami dalam air Waduk Sutami pada variasi intensitas cahaya dan aerasi.
2. Mengetahui pengaruh penurunan konsentrasi nitrat terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. pada variasi intensitas cahaya dan aerasi.

1.4 Manfaat

Informasi awal mengenai pengaruh intensitas cahaya dan aerasi terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat serta mengetahui kemampuan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam menurunkan konsentrasi nitrat air Waduk Sutami sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Microcystis* spp.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Waduk Sutami

Waduk Sutami terletak \pm 50 km di sebelah selatan kota Malang, tepatnya di Desa Karangates, Kecamatan Sumberpucung, Kabupaten Malang. Menurut Perum Jasa Tirta I Malang (2002) luas DAS Waduk Sutami adalah 2050 km² dengan luas genangan sebesar 15 km². Waduk sutami mengalami dua musim yaitu musim hujan (Nopember-April) dan musim kemarau (Mei-Oktober) dengan curah hujan tahunan rata-rata sebesar 2300 mm di daerah alian sungai (DAS). Temperatur rata-rata harian di sekitar lokasi waduk adalah \pm 25°C (Retnaningdyah, 2002 dalam Rosyidah, 2005).

Tingkat pencemaran perairan Waduk Sutami pada waktu pantau bulan Januari sampai 17 Maret 2005 termasuk dalam kategori tercemar ringan (*Slightly polluted*) dan tercemar (*polluted*) dengan kisaran indeks 3,195-5,42. Pada waktu pantau 30 Maret 2005, Waduk Sutami mengalami pencemaran berat (*Heavily polluted*) dengan nilai indeks 8,37, sedangkan pada waktu pantau bulan April-Desember 2005 termasuk dalam kategori tercemar ringan (*Slightly polluted*) dan tercemar (*polluted*) dengan kisaran indeks 2,13-7,03, kecuali pada waktu pantau 26 Oktober 2005 yang termasuk dalam kategori dapat diterima (*Acceptable*) dengan nilai indeks 1,92 (Retnaningdyah dan Samino, 2005). Pada waktu pantau bulan Januari-Maret 2006, kondisi Waduk Sutami termasuk dalam kategori tercemar ringan (*Slightly polluted*) dengan kisaran indeks 2,59-3,52 (Retnaningdyah dan Samino, 2006). Tingkat pencemaran tiap-tiap waktu pantau dapat dibandingkan dengan sistem klasifikasi Prati pada Tabel 2.1 (Ott, 1978).

Tabel 2.1 Sistem klasifikasi Prati

Kondisi	Nilai Indeks	Kualitas Air
Baik (<i>Ecellent</i>)	\leq 1,00	
Dapat diterima (<i>Acceptable</i>)	1,01-2,00	
Tercemar ringan (<i>Slightly polluted</i>)	2,01-4,00	
Tercemar (<i>Polluted</i>)	4,01-8,00	
Tercemar berat (<i>Heavily polluted</i>)	$>$ 8,00	

Menurut Samino dan Retnaningdyah (2004), Retnaningdyah dan Samino (2005 dan 2006) pada tahun 2004 hingga tahun 2006, Waduk Sutami termasuk dalam kategori perairan eutrofik. Hal tersebut sesuai dengan data kualitas air Waduk Sutami pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kisaran kualitas air Waduk Sutami pada tahun 2004 hingga tahun 2006

Parameter	Nilai Kisaran Kualitas Air			
	Tahun 2004 ^a	Tahun 2005 ^b	Tahun 2006 ^c	NBM*
Suhu (°C)	28,0-30,97	27,6-32,1	28,35-30,2	-
Intensitas cahaya kedalaman 0-25 cm (klux)	-	1,71->20	0,17-19,16	-
pH	6,97-8,10	7,9-9,6	8,40-9,00	6-9
BOD (mg/L)	4,3-9,6	4,7-27,4	5,4-9,2	3
COD (mg/L)	10,2-27,2	12,4-106,4	17,1-28,3	25
NO ³⁻ (mg/L)	0,64-11,07	0,30-10,2	1,58-5,19	10
H ₂ S (mg/L)	0,012-0,21	0,00-0,098	0,00-0,013	0,002
NO ²⁻ (mg/L)	0,04-0,79	0,059-0,80	0,067-0,20	0,06
PO ₄ total (mg/L)	0,00-0,36	0,008-1,91	0,012-0,35	0,20

Keterangan: (a) Oktober-Desember

(b) Januari-Desember

(c) Januari-Maret

(*) Nilai Baku Mutu Kelas II berdasarkan PP No 82 tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air.

Henderson-Seller dan Markland (1987) mengemukakan bahwa ada enam indikator utama yang dapat dipakai untuk mendeteksi terjadinya eutrofikasi di suatu perairan danau, yaitu menurunnya konsentrasi oksigen terlarut di zone hipolimnotik, meningkatnya konsentrasi unsur hara, meningkatnya padatan tersuspensi terutama bahan organik, bergantinya populasi fitoplankton yang dominan dari kelompok diatome menjadi *Chlorophyceae*, meningkatnya konsentrasi fosfat dan menurunnya penetrasi cahaya (meningkatnya kekeruhan).

Menurut Goldmen dan Horne (1989) kondisi perairan tawar berdasarkan kandungan hara dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu:

1. Danau eutrofik merupakan danau dangkal, memiliki kadar hara tinggi, tumbuhan litoral melimpah, kepadatan plankton lebih tinggi, sering terjadi *blooming* alga dengan tingkat penetrasi cahaya matahari umumnya rendah.
2. Danau mesotrofik merupakan peralihan antara kedua sifat danau eutrofik dan danau oligotrofik, danau dengan kadar nutrisi sedang.
3. Danau oligotrofik merupakan danau yang cukup dalam, dengan bagian hipolimnion lebih besar dibandingkan dengan bagian epilimnion, danau dengan kadar hara rendah. Semakin dalam suatu danau maka tingkat kesuburan semakin rendah, kepadatan plankton rendah, namun jumlah spesiesnya tinggi.

Menurut Marganof (2007) tingkat *trofik* (kesuburan) suatu danau juga dapat dinyatakan berdasarkan biomassa fitoplankton, kandungan total nitrogen (TN) dan total fosfat (TP), seperti pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Klasifikasi tingkat kesuburan perairan danau

Tipe trofik	Biomassa fitoplankton (mg C m ⁻³)	TN (µg/L)	TP (µg/L)
Oligotrofik	20 – 100	< 250	< 5
Mesotrofik	100 – 300	250 – 600	5 – 10
Eutrofik	> 300	500 – 1100	10 – 30
Hipertrofik	-	500 - 15000	30 – 5000

Keterangan: TN = Total Nitrogen; TP = Total fosfat; (-) = tersedia dalam jumlah yang melimpah.

Hasil penelitian Samino dan Retnaningdyah (2004), Retnaningdyah dan Samino (2005) serta Retnaningdyah dan Samino (2006) menunjukkan bahwa jenis-jenis mikroalga dominan yang ditemukan di Waduk Sutami selama waktu pantau tahun 2004-2006 adalah *Microcystis* spp., *Ceratium* sp. dan *Synedra* sp. Mikroalga yang banyak dan selalu muncul pada semua stasiun di Waduk Sutami merupakan spesies yang mempunyai daya toleransi tinggi dalam ekosistem yang tercemar.

Berdasarkan penghitungan Indeks Diversitas Shannon Wiener terhadap jenis mikroalga yang ditemukan, tingkat pencemaran di Waduk Sutami pada tahun 2002 termasuk kategori tercemar sedang sampai berat dengan nilai indeks 0,972-1,349. Pencemaran di Waduk

Sutami pada tahun 2004 dan 0,2-3,2 pada tahun 2005 termasuk dalam kategori belum tercemar sampai tercemar tingkat sedang dengan nilai indeks berkisar antara 1,17-3,68. Pencemaran di Waduk Sutami pada waktu pantau bulan Januari sampai Maret 2006 termasuk dalam kategori belum tercemar sampai tercemar dengan nilai indeks diversitas mikroalga berkisar antara 1,34-2,61.

2.2 Tinjauan Umum Mengenai *Microcystis* spp.

Cyanophyta (Cyanobacteria) merupakan satu-satunya kelompok fitoplankton yang bersifat prokariotik. Kelompok ini memiliki pigmen yang mengandung klorofil a dan β -karoten, beberapa xantofil, fikobilin dan fikosianin (memberi warna hijau biru). Dinding sel tersusun dari mukopeptida dan beberapa spesies memiliki selubung gelatin. Contoh kelompok ini antara lain *Oscillatoria*, *Anabaena* dan *Microcystis* (Holmes, 2000).

Microcystis memiliki bentuk sel oval atau *spherical* dengan diameter 3-8 μm . Organisme ini membentuk koloni seperti polen yang mengapung di permukaan air dengan warna hijau kekuningan. Beberapa karakteristik genus ini adalah memiliki *gas vesicle*, kecenderungan membentuk agregat tiga dimensi dan memproduksi toksin (Holmes, 2000).



Gambar 2.1 *Microcystis* spp. (Biol, 2008).

Microcystis spp. pada kondisi normal tidak berbahaya bagi organisme lain atau manusia, namun saat kondisi *blooming* dapat menghasilkan racun yang disebut *microcystin*. *Microcystin* bersifat hepatotoksik yang dapat menyebabkan kematian pada organisme perairan serta ternak dan burung yang minum air tersebut.

toksik racun ini pada manusia berpotensi mengakibatkan kerusakan liver secara kronik yang selanjutnya dapat memicu tumor liver. Hal ini terjadi jika waktu pendedahannya sangat lama (Taylor, 1997; Solomon, 1998; Oregon Public Health Services, 2002).

Vaitomaa (2006) menyatakan bahwa pada umumnya pertumbuhan biomassa Cyanobacteria juga dipengaruhi oleh faktor kimiawi, fisikawi dan biologis serta interaksinya satu sama lain. Kadar P (Fosfor) dan N (Nitrogen) serta kombinasi nutrisi merupakan faktor kimiawi yang paling utama yang dapat meningkatkan pertumbuhan biomassa *Microcystis*, sehingga akan berpengaruh juga terhadap produksi dan konsentrasi *microcystin*. Peristiwa eutrofikasi penyebab *blooming Microcystis* dapat terjadi ketika konsentrasi N lebih tinggi daripada konsentrasi P di perairan. Rasio konsentrasi umumnya N:P adalah 15:1. Fried, dkk. (2003, dalam Widyanto 2008) menambahkan bahwa efek nutrisi terhadap pertumbuhan mikroalga memiliki ketergantungan satu sama lain. Semakin tinggi konsentrasi nitrat akan meningkatkan pertumbuhan mikroalga, seiring dengan kandungan senyawa fosfat yang semakin tinggi di dalam media kultur. Namun, pada konsentrasi fosfat tinggi tetapi nitrat rendah, pertumbuhan mikroalga tidak dapat meningkat secara signifikan. Hal ini berarti pemanfaatan fosfat hanya bergantung pada nitrat.

Pertumbuhan *Microcystis* juga dapat dipengaruhi oleh faktor-fisikawi, seperti temperatur, cahaya dan gerakan air (Vaitomaa, 2006). *Blooming Microcystis* sering terjadi saat musim panas dengan temperatur di atas 20°C di perairan yang telah mengalami eutrofikasi (Yoshinaga, dkk., 2006; Wacklin, 2006). Raps, dkk. (1983) menjelaskan bahwa intensitas cahaya yang tinggi menyebabkan laju pertumbuhan *Microcystis aeruginosa* meningkat dan waktu untuk mencapai densitas sel maksimum lebih pendek. Gerakan air berhubungan dengan temperatur dan stratifikasi nutrisi. Stratifikasi menyebabkan ketersediaan nutrisi di permukaan perairan menurun sehingga spesies melakukan migrasi. *Microcystis* spp. sangat sensitif terhadap gerakan air karena menyebabkan perubahan posisi *Microcystis* spp. yang biasa hidup di permukaan air. Cyanobacteria memiliki gelembung gas yang memungkinkannya untuk dapat hidup di permukaan air sehingga fotosintesis dapat berlangsung dan kebutuhan energi untuk tumbuh dapat selalu terpenuhi (Wacklin, 2006). Faktor-faktor biologis yang dapat mempengaruhi

pertumbuhan *Microcystis* antara lain adanya *grazing*, kompetisi, parasitisme, interaksi mikroorganisme dan aliran materi-materi organik di dalam perairan (Vaitomaa, 2006). *Daphnia* sp. dan *Bosmina* sp. merupakan musuh alami *Microcystis* spp. (Burns, 1987).

Microcystis spp. tumbuh dengan baik di perairan yang telah tercemar nitrat sehingga bisa digunakan sebagai bioindikator terhadap perairan yang tercemar nitrat. *Microcystis* spp. memanfaatkan nitrat sebagai sumber nitrogen yang merupakan faktor pembatas kehidupan fitoplankton di perairan untuk mensintesis asam amino dan protein. *Microcystis* spp. memanfaatkan ammonium anorganik untuk proses awal asimilasi hasil dari reduksi nitrat menjadi nitrit dengan bantuan enzim nitrat reduktase, sedangkan nitrit direduksi menjadi ammonium dengan bantuan enzim nitrit reduktase. *Microcystis* spp. memerlukan asimilasi melalui sintesis ATP Glutamin dan sintesis feredoksin glutamat. Enzim nitrat reduktase yang mengkatalis reaksi reduksi nitrat biasanya menggunakan 2-feredoksin sebagai donor elektron, sedangkan reaksi reduksi nitrit menjadi ammonium yang dikatalis enzim nitrit reduktase memerlukan 6-feredoksin sebagai donor elektron (Ruckert dan Giani, 2004).

2.3 Teknologi Mengendalikan Pertumbuhan *Microcystis* spp.

Pertumbuhan *Microcystis* spp. di perairan dapat dikendalikan dengan berbagai cara. Menurut Iannacone dan Touchette (2004) setiap 100 sel/mL *Microcystis aeruginosa* dapat dibasmi menggunakan tembaga sulfat (CuSO_4) sebagai algasida dengan konsentrasi 5 mg/L. Menurut Burns (1987) *Microcystis* spp. juga dapat dikendalikan dengan pemberian zooplankton sebagai musuh alaminya, misalnya *Daphnia* sp. ($\pm 44,8 \times 10^5$ sel/mL) dan *Bosmina* sp. ($\pm 455,6 \times 10^5$ sel/mL). Jähnichen dkk. (2007) menambahkan pengendalian *Microcystis* spp. juga dapat dilakukan dengan mengurangi konsentrasi bahan pencemar penyebab *blooming*, seperti konsentrasi nitrat. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengurangi konsentrasi nitrat adalah menggunakan bakteri pereduksi nitrat.

Kemampuan reduksi nitrat menjadi N_2O dan N_2 dimiliki oleh *Alcaligenes*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Chromobacterium*, *Corynebacterium*, *Paracoccus*, *Hyphomicrobium*, *Hydrogenomonas*, *Pseudomonas*, *Clostridium* dan *Thiobacillus*. Reduksi nitrat

(denitrifikasi) umumnya dengan cepat diikuti hilangnya oksigen dan menghasilkan CO₂, air dan nitrogen (melalui nitrit). Pereduksi nitrat (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Thiobacillus denitrificans*) bersifat anaerobik fakultatif dan menggunakan oksigen sebagai akseptor elektron jika tersedia cukup oksigen (Payne, 1986).

Bakteri pereduksi nitrat yang telah diisolasi di Waduk Sutami adalah sebanyak 22 isolat dengan kemampuan mereduksi nitrat yang bervariasi (10-97%). Isolat DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2 merupakan enam isolat dengan potensi yang tinggi dalam mereduksi nitrat. Keenam isolat tersebut mempunyai kemampuan mereduksi nitrat sebesar 90-97 %. Uji Asosiasi ke-6 isolat (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) yang dilakukan pada medium TSA menunjukkan hasil uji yang positif. Dengan demikian keenam isolat yang digunakan pada konsorsium ini tidak bersifat antagonis sehingga dapat digunakan secara bersamaan (Ahmed, 2009 dan Rahmania, 2009).

Setiap mikroorganisme yang ditemukan pada ekosistem tertentu menandakan bahwa pada ekosistem tersebut terdapat persediaan nutrisi yang cukup bagi aktivitas seluler dalam rangka penyediaan energi untuk keberlangsungan hidup. Seluruh mikroorganisme yang ada di suatu lingkungan tidaklah hidup secara individual melainkan dalam suatu konsorsium, yaitu membentuk suatu populasi atau merupakan suatu perkumpulan yang saling berinteraksi secara fisik antar individu maupun populasi hingga membentuk suatu komunitas campuran dari berbagai populasi mikroorganisme (Prescott, dkk., 2003). Di dalam suatu konsorsium, mikroorganisme melakukan aktivitas bersama dalam sebuah sistem yang kompleks dimana semua keuntungan dari aktivitas digunakan oleh komunitas konsorsium itu sendiri. Di dalam sebuah konsorsium terdapat sejumlah bakteri yang mempunyai kemampuan metabolisme yang berbeda-beda, sehingga memungkinkannya untuk bekerja bersama mendegradasi bermacam-macam limbah kompleks (E-Bac, 2000).

Nitrat oleh mikroorganisme dimanfaatkan dengan dua tujuan, yaitu asimilasi dan disimilasi atau respirasi nitrat. Reduksi nitrat secara asimilasi dapat berlangsung pada kondisi aerob maupun anaerob. Proses asimilasi mengolah nitrat sebagai sumber nitrogen untuk mensintesis komponen-komponen sel yang mengandung nitrogen. Reduksi nitrat secara disimilasi terjadi pada kondisi anaerob, nitrat digunakan sebagai akseptor elektron terminal

(Schlegel, 1994).

Transformasi nitrogen secara mikrobiologis mencakup beberapa hal berikut (Goldmen dan Horne 1989):

1. Asimilasi nitrogen anorganik (nitrat dan ammonium) oleh tumbuhan dan mikroorganisme (bakteri autorof) untuk membentuk nitrogen organik misalnya asam amino dan protein.
2. Fiksasi gas nitrogen menjadi ammonia dan nitrogen organik dapat dilakukan oleh beberapa jenis alga Cyanophyta (alga biru) dan bakteri.



Ion ammonium yang tidak berbahaya adalah bentuk nitrogen hasil hidrolisis ammonia yang berlangsung dalam kesetimbangan seperti reaksi (2.2).



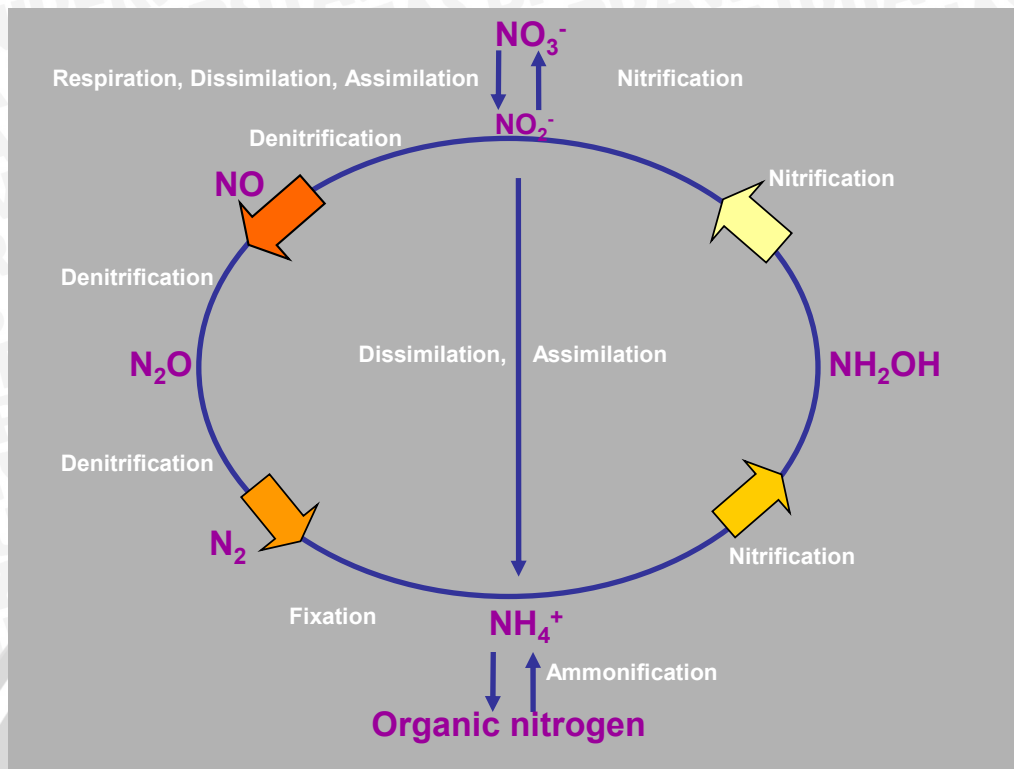
Kondisi pH tinggi (suasana basa) akan menyebabkan ion ammonium menjadi ammonium hidroksida yang tidak berdisosiasi dan bersifat racun.

3. Nitrifikasi yaitu oksidasi ammonia menjadi nitrit dan nitrat dapat dilakukan oleh bakteri aerob. Nitrifikasi berjalan secara optimum pada pH 8 dan berkurang secara nyata pada pH < 7.



Hasil oksidasi ini sangat reaktif dan mudah sekali larut sehingga dapat langsung digunakan dalam proses biologis.

4. Amonifikasi nitrogen organik untuk menghasilkan ammonia selama proses dekomposisi bahan organik. Proses ini banyak dilakukan oleh mikroorganisme yang membutuhkan oksigen untuk mengubah senyawa anorganik menjadi karbondioksida. Selain itu, autolisasi atau pecahnya sel dan ekskresi ammonia oleh zooplankton dan ikan juga berperan sebagai pemasok ammonia.
5. Denitrifikasi yaitu proses konversi biologis senyawa nitrat (NO₃⁻) menjadi nitrit (NO₂⁻), *nitrous oxide* (N₂O) dan molekul nitrogen (N₂).



Gambar 2.2 Siklus nitrogen (Piñar, dkk., 1997).

Proses denitrifikasi berjalan optimal pada kondisi *anoxic* (tak ada oksigen). Pada kondisi pH rendah proses denitrifikasi akan tetap dapat berlangsung sekalipun bukan pada kondisi *anoxic*. Proses denitrifikasi akan berkurang atau lambat pada kondisi pH dan suhu rendah, tetapi akan berlangsung optimum pada suhu rata-rata danau secara umum. Kondisi anaerob di sedimen membuat proses denitrifikasi lebih cepat, yaitu dengan laju rata-rata 1 mg/L/hari (Effendi, 2003). Pada kondisi *anoxic* nitrat merupakan senyawa yang cukup potensial untuk menggantikan peran oksigen dalam rangka menjaga keberlangsungan proses respirasi di dalam sel (Piñar, dkk., 1997). Paustian (2000) menjelaskan bahwa pada umumnya bakteri memiliki kemampuan untuk memfungsikan segala jenis atom maupun senyawa penerima elektron (*terminal electron acceptors*) selain dari oksigen.

Menurut Dzeda, dkk. (1998) reduksi nitrat (denitrifikasi) mulai berlangsung dengan adanya substansi organik yang mengandung oksigen sekitar 0,5 mg/L, melalui reaksi yang melibatkan mikroorganisme pelaku denitrifikasi. Nitrit dibentuk sebagai hasil reduksi nitrat yang pertama. Bakteri denitrifikasi menggunakan NO_3^- sebagai akseptor elektron dan mereduksinya menjadi NO_2^- , N_2O , atau N_2 .

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Agustus 2008 sampai Mei 2009. Pengambilan sampel *Microcystis* spp. dilakukan di Waduk Sutami, Kecamatan Sumberpucung, Kabupaten Malang pada bulan Agustus 2008. Uji pengaruh kemampuan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dari Waduk Sutami terhadap pertumbuhan *Microcystis* spp. dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Diversitas Hewan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan media dan inokulasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Sumber Isolat dan Peremajaan Bakteri Pereduksi Nitrat

Sumber isolat yang digunakan (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya yang diisolasi dari Waduk Sutami. Isolat bakteri pereduksi nitrat yang akan digunakan, masing-masing diremajakan kembali dengan menggoreskan satu oose bakteri dalam media miring TSA (*Tryptone Soy Agar*). Isolat bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Tujuan dari peremajaan isolat ini adalah untuk mendapatkan koloni-koloni bakteri dalam fase vegetatifnya.

3.3 Pembuatan Stok Kultur dan Stok Inokulum Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat

Pembuatan stok kultur dilakukan dengan menginokulasikan satu oose masing-masing isolat bakteri (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) yang telah diremajakan ke dalam masing-masing 100 mL media cair TSB (*Tryptone Soy Broth*). Stok kultur, kemudian diinkubasi di dalam inkubator (Kühner Shaker) dengan agitasi 120 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam. Pembuatan stok inokulum dilakukan dengan menginokulasikan stok kultur sebanyak 10% dari

volume stok inokulum ke dalam media TSB, kemudian diinkubasi dengan agitasi 120 rpm pada suhu 30°C selama 24 jam.

3.4 Pengambilan Sampel *Microcystis* spp. dan Air Waduk Sutami

Sampling *Microcystis* spp. dan air Waduk Sutami dilakukan dengan metode *search sampling*. Pengambilan sampel *Microcystis* spp. dilakukan dengan menyaring air di permukaan yang banyak mengandung *Microcystis* spp. menggunakan jaring plankton berukuran 402 pori-pori per inci dan dimasukkan ke dalam botol steril. Air di Waduk Sutami diambil menggunakan *water sampler vertical* volume satu liter pada kedalaman 0 - 25 cm.

3.5 Purifikasi dan Pembuatan Stok Kultur Koloni *Microcystis* spp.

Microcystis spp. dipurifikasi dengan menyaring sampel *Microcystis* spp. menggunakan kertas saring *roundfilter* MN (Macherey-Nagel Düren) 615. *Microcystis* spp. yang berada di permukaan kertas saring, selanjutnya dibilas dengan garam fisiologis steril (NaCl 0,85%) untuk meminimalkan kontaminan. Pembuatan stok kultur *Microcystis* spp. dilakukan dengan menginokulasikan koloni *Microcystis* spp. yang telah tersaring ke dalam air Waduk Sutami steril secara aseptis.

3.6 Preparasi Air Waduk Sutami

Air Waduk Sutami disaring menggunakan kertas saring *round filter* 615, kemudian hasil penyaringan ditambahkan dengan nitrat konsentrasi 5 mg/L (Lampiran 2). Air Waduk Sutami disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, satu atmosfer selama 15 menit.

3.7 Uji Pengaruh Intensitas Cahaya dan Aerasi terhadap Densitas *Microcystis* spp. dan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat

Penelitian dilakukan secara eksperimental murni menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan dua faktor, yaitu intensitas cahaya dan aerasi. Setiap perlakuan diulang sebanyak dua kali. Secara singkat rancangan penelitian dari penelitian ini disajikan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Rancangan penelitian

Aerasi		Tanpa Aerasi	
Cahaya 2-3 klux	Cahaya 8-9 klux	Cahaya 2-3 klux	Cahaya 8 – 9 klux
a	a	a	a
b	b	b	b
a + b	a + b	a + b	a + b

Keterangan:

- a : *Microcystis* spp. yang selanjutnya disebut kultur tunggal *Microcystis*.
- b : konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang selanjutnya disebut kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat.
- a+b : *Microcystis* spp. + konsorsium bakteri pereduksi nitrat yang selanjutnya disebut kultur campuran.

Teknik kultur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *batch culture*, yaitu dengan menambahkan 15% (4×10^7 sel/ml) stok inokulum konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan 15% ($4,3 \times 10^4$ sel/ml) stok inokulum *Microcystis* spp. Ke dalam air Waduk Sutami steril. Kultur tersebut diinkubasi selama 13 hari. Konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan *Microcystis* spp. dalam air Waduk Sutami steril dikondisikan dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi. Lamanya penyinaran yang dilakukan adalah 12 jam.hari⁻¹. Intensitas cahaya yang diberikan adalah intensitas cahaya buatan yang berkekuatan 2-3 klux dan 8-9 klux dengan sumber cahaya dari lampu *fluorescent* Osram 23 Watt. Aerasi dilakukan dengan menghubungkan pipet *Pasteur* melalui pompa udara Meiki-805. Parameter yang diamati adalah densitas sel *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat. Sel dihitung menggunakan *haemocytometer* setiap 24 jam, sedangkan pengukuran konsentrasi nitrat diukur setiap empat hari sekali.

Data yang diperoleh dianalisis dengan korelasi *Pearson* dan regresi yang digunakan untuk mengetahui keeratan hubungan antarvariabel (densitas sel *Microcystis* spp., konsorsium bakteri maupun konsentrasi nitrat) serta diuji secara statistik dengan analisis ragam ANOVA (*Analysis of Variance*). Hasil yang berbeda nyata antarperlakuan dilanjutkan dengan *Tukey-HSD* (*Tukey-Honesty Significant Difference*) dengan tingkat signifikansi 5% menggunakan paket program SPSS for Windows Release 13.0. Data hasil analisis diinterpretasikan secara kuantitatif deskriptif.

3.8 Penghitungan Densitas Sel *Microcystis* spp. dan Bakteri Pereduksi Nitrat

Penghitungan densitas sel *Microcystis* spp. dan bakteri pereduksi nitrat dilakukan setiap 24 jam. Menurut Joung, dkk. (2006, dalam Anggit 2008) penghitungan densitas sel *Microcystis* spp. dilakukan dengan memasukkan kultur sebanyak tiga mililiter secara aseptis ke dalam tabung reaksi kemudian dipanaskan selama enam menit setelah mendidih. Kultur diangkat dan ditunggu sampai dingin. Kultur bakteri pereduksi nitrat yang dibiakkan di dalam air Waduk Sutami steril diambil secara aseptis sebanyak tiga mililiter dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam botol film, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan formalin 4% ke dalamnya untuk mematikan dan mengawetkan sel-sel bakteri pereduksi nitrat. Densitas sel *Microcystis* spp. dan bakteri pereduksi nitrat dihitung menggunakan *haemocytometer* (Neubauer). Sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam *haemocytometer*, kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop binokuler (Olympus) pada perbesaran 400x. Sel *Microcystis* spp. dan bakteri pereduksi nitrat yang dihitung adalah yang berada pada satu kotak besar (volume $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3$) *haemocytometer*. Menurut Madigan, dkk. (2003) densitas sel *Microcystis* spp. dan bakteri pereduksi nitrat yang telah dihitung dimasukkan ke dalam rumus (3.1).

$\text{Jumlah sel (per ml)} = \frac{\text{Jumlah sel terhitung}}{(1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3)} \dots\dots\dots (3.1)$
--

3.9 Pengukuran Konsentrasi Nitrat

Pengukuran konsentrasi nitrat (NO_3^-) dilakukan dengan cara lima mililiter sampel air yang telah disaring dengan kertas saring *round filter* MN (Macherey-Nagel Düren), ditambahkan 0,5 mliliter *brucine* dan dihomogenasi. Lima mililiter H_2SO_4 pekat ditambahkan ke dalam sampel air, dihomogenasi dan ditunggu sampai dingin. Absorbansi larutan sampel diukur menggunakan spektrofotometer (GenesysTM 10 series) dengan λ 410 nm (Clesceri, dkk., 1989). Nilai konsentrasi nitrat dikonversikan ke dalam persamaan regresi linier kurva baku konsentrasi nitrat (Lamapiran 4). Pembuatan kurva baku nitrat dilakukan dengan membuat larutan stok nitrat 100 mg/L

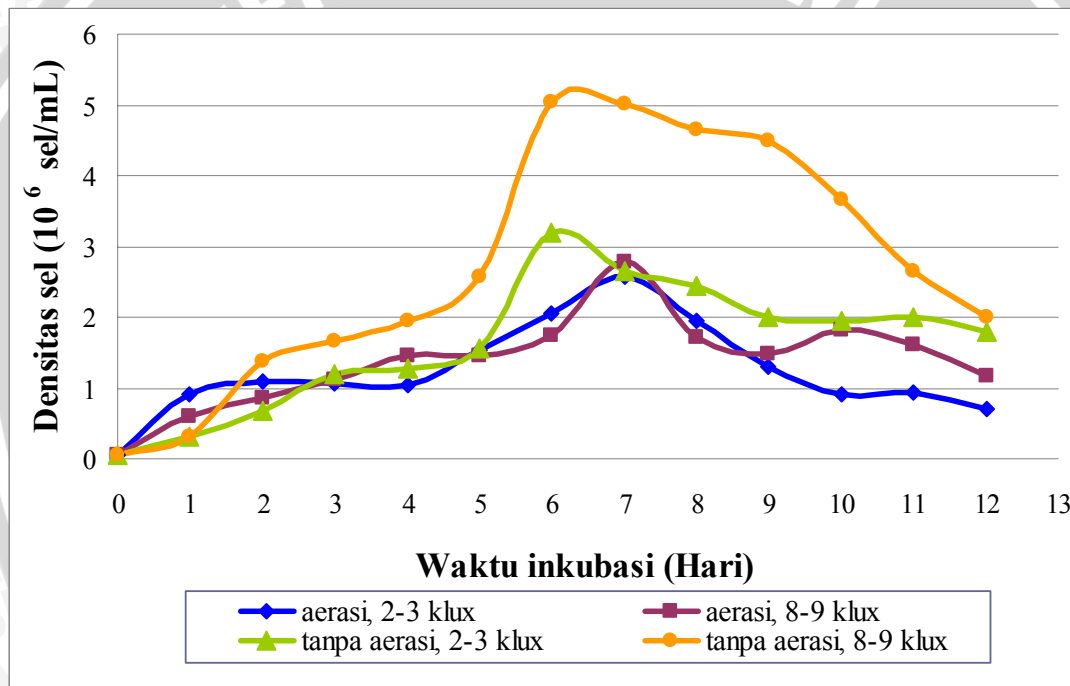
(Lampiran 2). Seri larutan dibuat 0 mg/L sebagai blanko; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; 1,5; 1,75 dan 2 mg/L. Tiap-tiap seri diambil sebanyak lima mililiter untuk ditambahkan dengan reagen *brucine* sebanyak 0,5 mililiter dan H₂SO₄ pekat sebanyak lima mililiter. Larutan ditunggu hingga dingin, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Nilai absorbansi dibaca dengan spektrofotometer (GenesysTM 10 series) panjang gelombang 410 nm (Clesceri, dkk., 1989). Persamaan regresi linier diperoleh berdasarkan korelasi antara konsentrasi nitrat (sumbu absis x) dengan nilai absorbansi (sumbu ordinat y).



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pola Pertumbuhan *Microcystis* spp.

Densitas sel awal *Microcystis* spp. dalam air Waduk Sutami steril dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi adalah $4,3 \times 10^4$ sel/mL. *Microcystis* spp. dalam penelitian ini diinokulasikan ke dalam dua jenis kultur, yaitu kultur tunggal *Microcystis* dan kultur campuran (terdiri dari *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat). Pola pertumbuhan *Microcystis* spp. pada masing-masing kultur tersaji pada Gambar 4.1 dan 4.2.



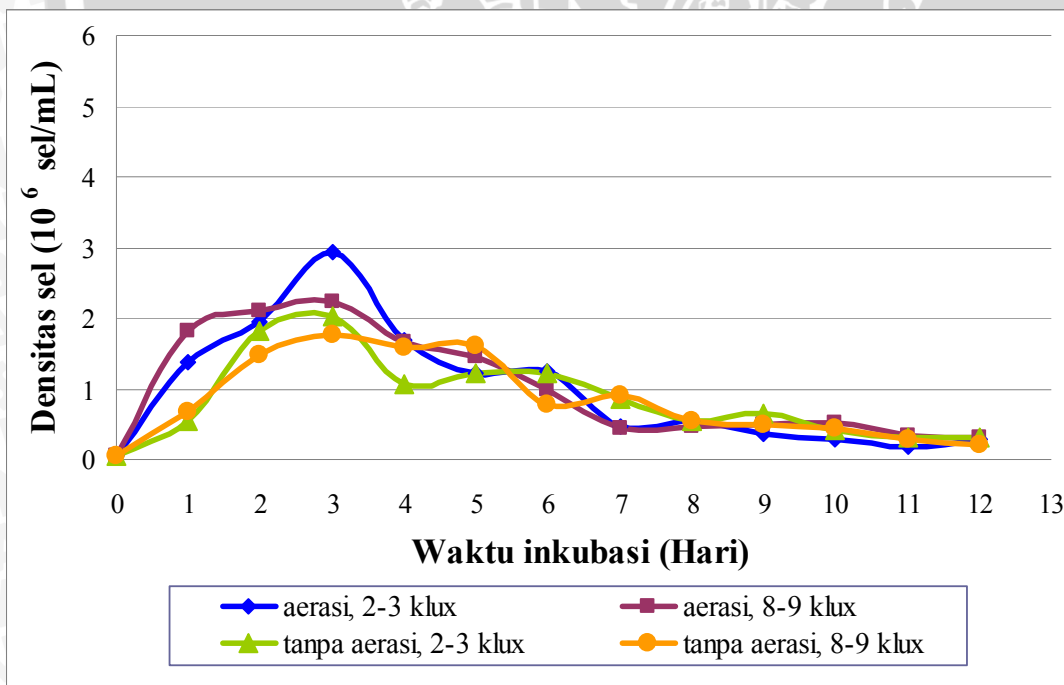
Gambar 4.1 Pola pertumbuhan kultur tunggal *Microcystis*

Kultur tunggal *Microcystis* (Gambar 4.1) dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi tidak mengalami fase lag. Hal ini disebabkan *Microcystis* spp. diinokulasikan ke dalam media kultur yang sama dengan media sebelumnya, yaitu air Waduk Sutami. Madigan, dkk. (2003) menjelaskan bahwa fase lag suatu sel tidak akan terlihat, jika sel (sedang mengalami fase eksponensial) diinokulasikan ke dalam media yang sama dengan media sebelumnya.

Densitas sel tertinggi kultur tunggal *Microcystis* dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi ($2,57 \cdot 10^6$ sel/mL) terjadi pada

inkubasi hari ketujuh, sedangkan tanpa aerasi ($3,2 \cdot 10^6$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari keenam. Densitas sel tertinggi kultur tunggal *Microcystis* dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi ($2,78 \cdot 10^6$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari ketujuh, sedangkan tanpa aerasi ($5,54 \cdot 10^6$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari keenam. Dengan demikian, intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi merupakan kondisi yang paling mendukung pertumbuhan *Microcystis* spp.. Hasil Analisis Ragam (Lampiran 6) menunjukkan bahwa pola pertumbuhan kultur tunggal *Microcystis* spp. dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi adalah berbeda nyata ($p < 0,05$).

Raps, dkk. (1983) menjelaskan bahwa intensitas cahaya yang tinggi dapat meningkatkan densitas sel dan memperpendek waktu untuk mencapai densitas sel tertinggi. Hal ini disebabkan *Microcystis* spp. termasuk kelompok Cyanobacteria yang memerlukan cahaya untuk melakukan proses fotosintesis. Wacklin (2006) dan Yoshinaga, dkk. (2006) menambahkan bahwa *Microcystis* spp. biasa hidup di permukaan air sehingga dapat melakukan fotosintesis. Oleh karena itu, *blooming Microcystis* terjadi pada perairan menggenang dengan gerakan air yang lambat.



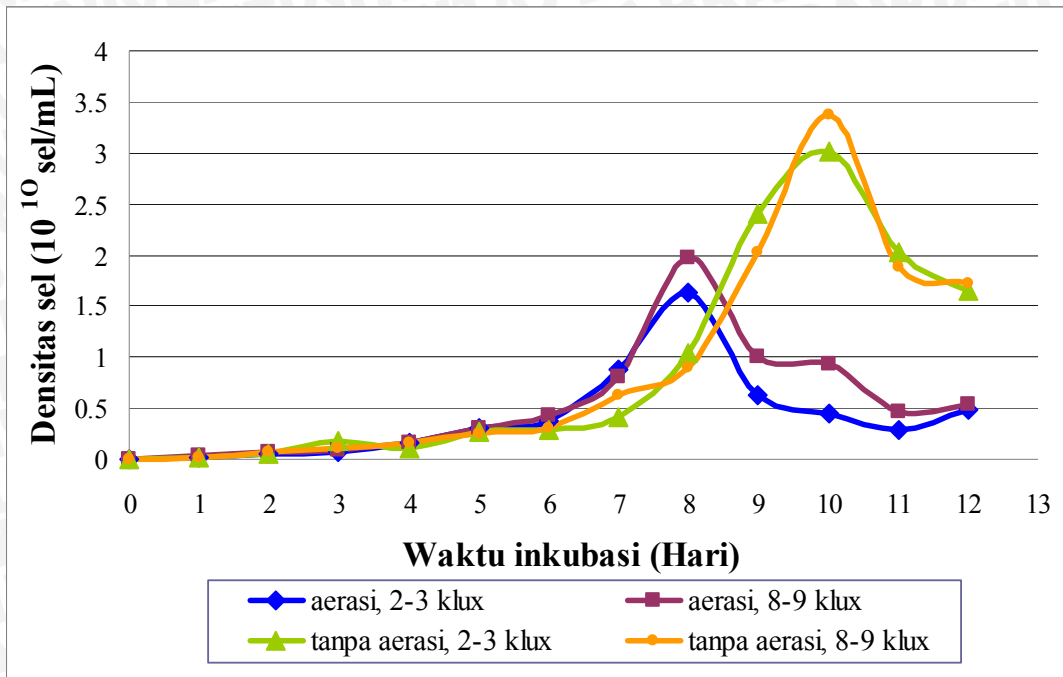
Gambar 4.2 Pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dalam kultur campuran

Microcystis dalam kultur campuran (Gambar 4.2) dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi juga tidak mengalami fase lag, seperti dalam kultur tunggal. Densitas sel tertinggi *Microcystis* spp. dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi terjadi pada inkubasi hari ketiga. Densitas sel tertinggi *Microcystis* spp. dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi, intensitas cahaya 2-3 klux dan tanpa aerasi, intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi serta intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi secara berturut-turut adalah $2,93.10^6$ sel/mL, $2,03.10^6$ sel/mL, $2,2.10^6$ sel/mL dan $1,76.10^6$ sel/mL. Densitas *Microcystis* dalam kultur campuran pada fase eksponensial tertinggi dengan aerasi lebih tinggi daripada tanpa aerasi. Hasil Analisis Ragam (Lampiran 10) menunjukkan bahwa pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi adalah berbeda nyata ($p < 0,05$).

Densitas sel yang dicapai oleh *Microcystis* dalam kultur tunggal pada saat fase eksponensial lebih tinggi daripada dalam kultur campuran. Hal ini disebabkan dalam kultur campuran terjadi kompetisi antara konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan *Microcystis* spp. dalam memanfaatkan nutrisi (nitrat). Menurut Atlas dan Bartha (1993) kompetisi terjadi pada saat mikroorganisme berusaha mendapatkan nutrisi yang sama dan dalam jumlah terbatas. *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogen untuk mensintesis asam amino dan protein. (Vivian, dkk., 1999; Rückert dan Giani, 2004).

4.2 Pola Pertumbuhan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat

Densitas sel awal konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam air Waduk Sutami steril dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi adalah 4×10^7 sel/mL. Konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam penelitian ini diinokulasikan ke dalam dua jenis kultur, yaitu kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dan kultur campuran (terdiri dari *Microcystis* spp. dan konsorsium bakteri pereduksi nitrat). Pola pertumbuhan masing-masing kultur tersaji pada Gambar 4.3 dan 4.4.



Gambar 4.3 Pola pertumbuhan kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat

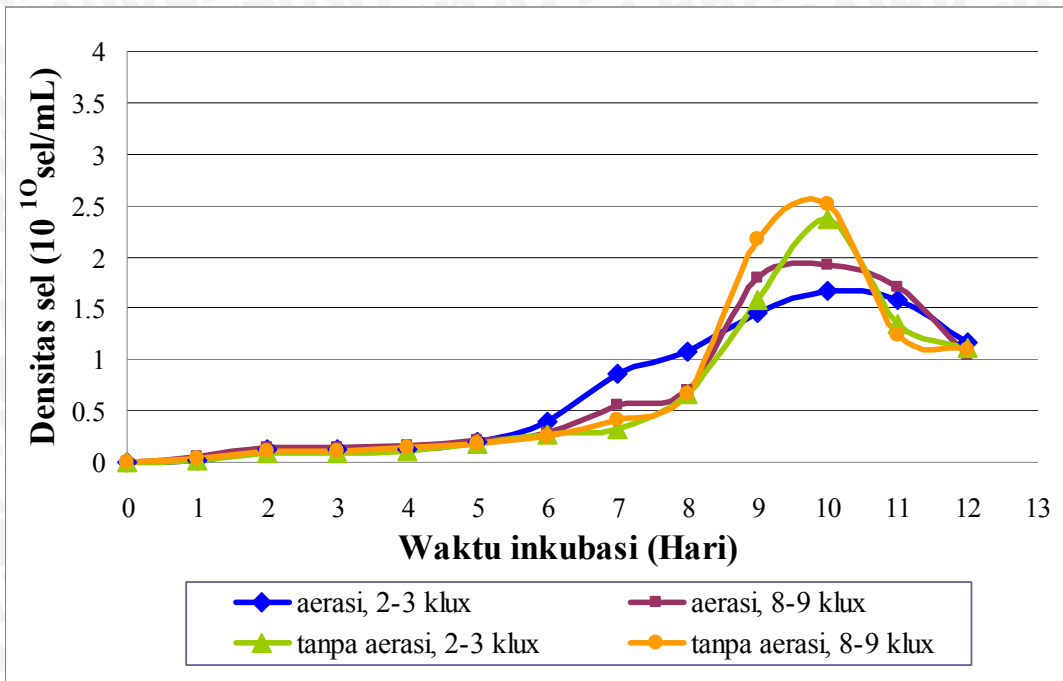
Kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari ketiga, sedangkan tanpa aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari keenam. Kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari keempat, sedangkan tanpa aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari keenam (Gambar 4.3).

Berdasarkan uraian di atas diketahui bahwa aerasi menyebabkan bakteri pereduksi nitrat mengalami fase lag lebih pendek. Madigan, dkk. (2003) menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi lamanya fase lag adalah kondisi lingkungan. Hargreaves (2003) dan Wacklin (2006) menambahkan aerasi mengakibatkan nutrisi dan oksigen terlarut akan bercampur melalui proses gerakan air, sehingga tidak terjadi stratifikasi. Oleh karena itu, aerasi merupakan salah satu faktor fisikawi yang mendukung pertumbuhan bakteri.

Densitas sel tertinggi kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi ($1,63 \cdot 10^{10}$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari kedelapan, sedangkan tanpa aerasi ($3,02 \cdot 10^{10}$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari kesepuluh. Densitas sel tertinggi kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi ($1,97 \cdot 10^{10}$ sel/mL) terjadi pada inkubasi

hari kedelapan, sedangkan tanpa aerasi ($3,37 \cdot 10^{10}$ sel/mL) terjadi pada inkubasi hari kesepuluh. Densitas bakteri pereduksi nitrat dalam kultur tunggal pada fase eksponensial tertinggi dengan aerasi lebih rendah daripada tanpa aerasi. Hasil Analisis Ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa pola pertumbuhan kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan variasi intensitas cahaya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan dengan variasi aerasi berbeda nyata ($p < 0,05$).

Fase eksponensial merupakan fase pada saat mikroorganisme tumbuh dan membelah diri dengan cepat yang didukung oleh kandungan nutrisi dan kondisi lingkungan kultur (Prescott, dkk. 2003). Menurut Tavares, dkk. (1999) aerasi dapat mengurangi stratifikasi bahan organik dan oksigen terlarut sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri. Namun, dalam penelitian ini densitas sel tertinggi terjadi pada kondisi tanpa aerasi dan intensitas cahaya 8-9 klux. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed (2009) keenam isolat (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) yang juga digunakan dalam penelitian ini menunjukkan karakter oksidase positif kecuali isolat DU-30-2 (Lampiran 5). Menurut Pollack, dkk. (2005) nilai positif menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kemampuan mensekresikan enzim sitokrom oksidase. Enzim tersebut dapat mengoksidase molekul transpor elektron (sitokrom c) dan oksigen untuk membentuk air. Oleh karena itu, diduga isolat yang digunakan dalam penelitian ini bersifat aerob, anaerob fakultatif dan mikroaerofilik, kecuali isolat DU-30-2. Hasil uji motilitas yang juga dilakukan oleh Ahmed (2009) menunjukkan bahwa isolat dalam konsorsium bakteri pereduksi nitrat (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) yang juga digunakan dalam penelitian ini bersifat motil. Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat pada kondisi tanpa aerasi tidak terhambat karena kemampuan bakteri tersebut untuk melakukan pergerakan dalam media. Carter, dkk. (1995) menyatakan bahwa bakteri pereduksi nitrat memiliki kemampuan melakukan pergerakan secara aktif karena sebagian besar bakteri pereduksi nitrat memiliki flagel. Menurut Maeir, dkk. (2000) motilitas membantu sel bakteri untuk bergerak menuju nutrisi dan menjauh dari bahan kimia yang bersifat toksik.



Gambar 4.4 Pola pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran.

Konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran (Gambar 4.4) dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari kelima, sedangkan tanpa aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari ketujuh. Konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari keenam, sedangkan tanpa aerasi mengalami fase lag dari awal inkubasi sampai inkubasi hari ketujuh. Hal tersebut menunjukkan bahwa aerasi menyebabkan bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran juga mengalami fase lag lebih pendek.

Densitas sel tertinggi konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi terjadi pada inkubasi hari kesepuluh. Densitas sel tertinggi bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi, intensitas cahaya 2-3 klux dan tanpa aerasi, intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi serta intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi secara berturut-turut adalah $1,67 \cdot 10^{10}$ sel/mL, $2,37 \cdot 10^{10}$ sel/mL, $1,92 \cdot 10^{10}$ sel/mL dan $2,52 \cdot 10^{10}$ sel/mL. Densitas konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran pada fase eksponensial

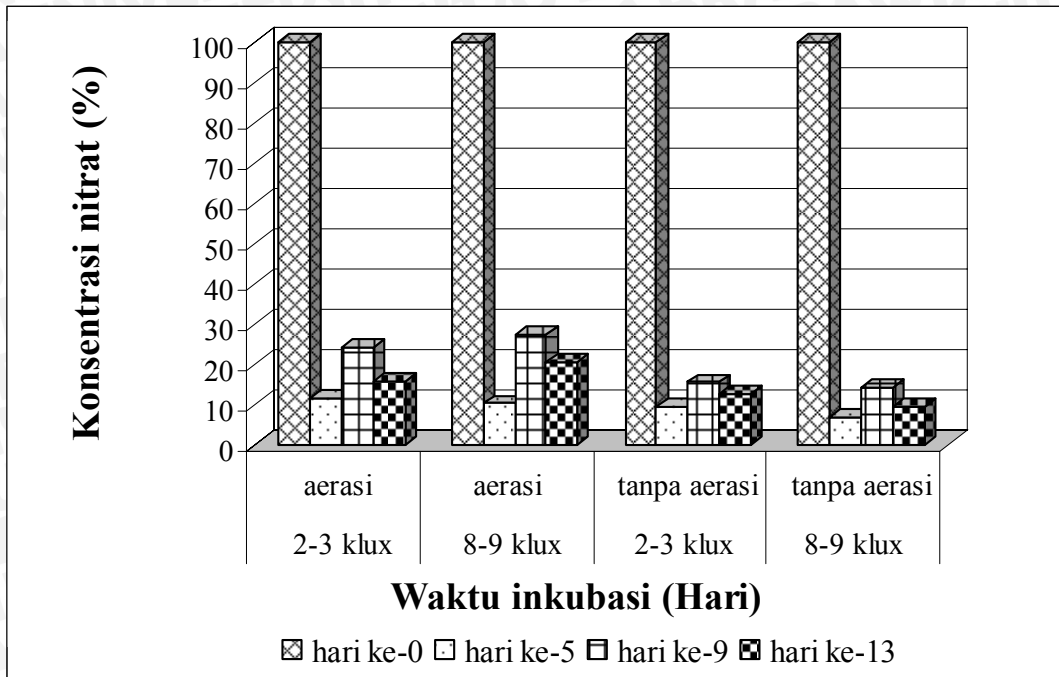
tertinggi dengan aerasi lebih rendah daripada tanpa aerasi

Hasil Analisis Ragam (Lampiran 12) menunjukkan bahwa pola pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$), sedangkan dengan variasi aerasi berbeda nyata ($p < 0,05$). Variasi intensitas cahaya yang diberikan pada kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat maupun kultur campuran bertujuan untuk menyesuaikan dengan faktor pertumbuhan yang dibutuhkan oleh *Microcystis* spp. *Microcystis* spp. merupakan kelompok Cyanobacteria yang membutuhkan cahaya untuk melakukan fotosintesis.

Densitas sel yang dicapai oleh bakteri pereduksi nitrat dalam kultur tunggal pada saat fase eksponensial lebih tinggi daripada dalam kultur campuran. Hal ini diduga karena pada kultur campuran terjadi kompetisi antara konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan *Microcystis* spp. dalam memanfaatkan nutrisi (nitrat) sehingga pertumbuhan konsorsium bakteri pereduksi nitrat terhambat. Menurut Atlas dan Bartha (1993) kompetisi memberikan pengaruh negatif terhadap kedua populasi mikroorganisme karena densitas sel tertinggi yang dicapai kedua populasi menjadi turun.

4.3 Konsentrasi Nitrat Media

Pengukuran konsentrasi nitrat dalam air Waduk Sutami dilakukan empat hari sekali selama tigabelas hari inkubasi. Konsentrasi nitrat kultur campuran, kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dan kultur tunggal *Microcystis* dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi, secara berturut-turut tersaji pada Gambar 4.5, 4.6 dan 4.7.



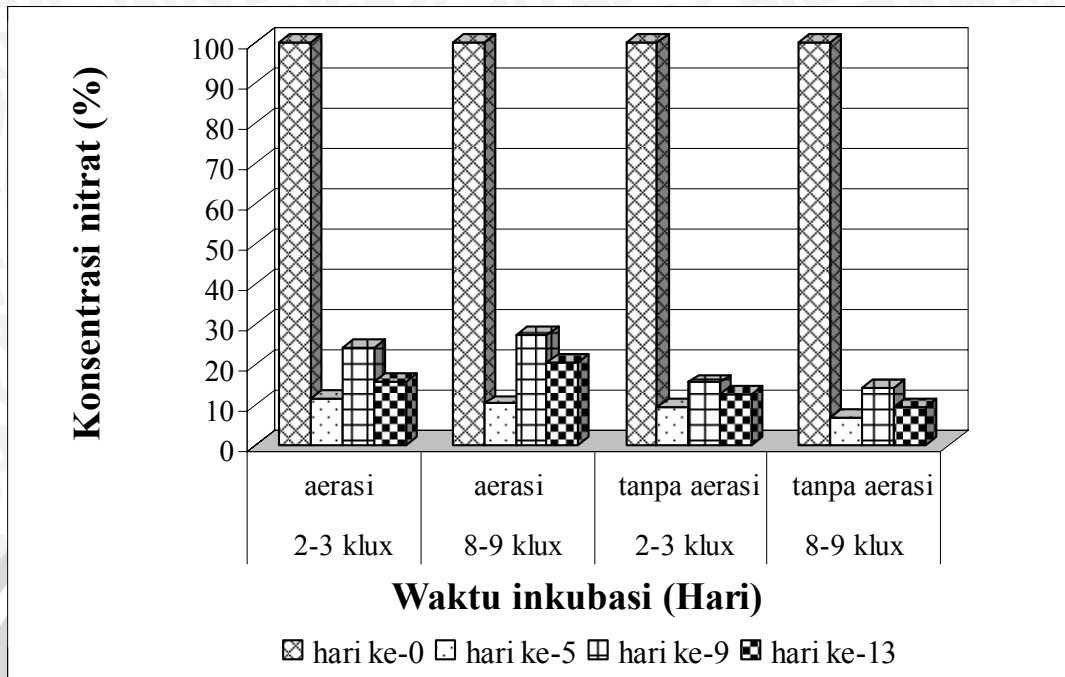
Gambar 4.5 Konsentrasi nitrat (%) media kultur campuran

Konsentrasi nitrat media kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi mengalami penurunan pada inkubasi hari kelima, kemudian meningkat pada inkubasi hari kesembilan dan kembali mengalami penurunan pada inkubasi hari ketigabelas. Pada inkubasi hari kelima, reduksi nitrat tertinggi terjadi pada intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi sebesar 93% (dari 11,02 mg/L menjadi 0,86 mg/L) (Gambar 4.5). Menurut Fried, dkk. (2003) konsentrasi nitrat harus di bawah 10 mg/L untuk menjaga pertumbuhan alga di perairan tawar tetap normal, sedangkan konsentrasi nitrat minimum untuk pertumbuhan alga adalah sekitar 0,259 mg/L.

Konsentrasi nitrat media kultur campuran mengalami penurunan sekitar 82-93%, pada inkubasi hari kelima. Menurut Ruckert dan Giani (2004) *Microcystis* spp. memanfaatkan nitrat sebagai sumber nitrogen untuk membentuk asam amino, klorofil dan senyawa organik lainnya. Menurut Vivian, dkk. (1999) bakteri pereduksi nitrat dapat mensekresi enzim nitrat reduktase untuk memecah senyawa nitrat yang digunakan sebagai sumber nitrogen.

Pada inkubasi hari kesembilan, media dalam kultur campuran mengalami peningkatan konsentrasi nitrat. Hal tersebut diduga karena adanya sumber nitrat (nitrogen) lain di dalam kultur, seperti hasil dekomposisi bahan organik. Menurut Effendi (2003) jika bahan organik mengandung banyak nitrogen mengalami dekomposisi, maka

nitrogen yang merupakan hasil dekomposisi akan dilepas ke perairan.



Gambar 4.6 Konsentrasi nitrat (%) media kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat

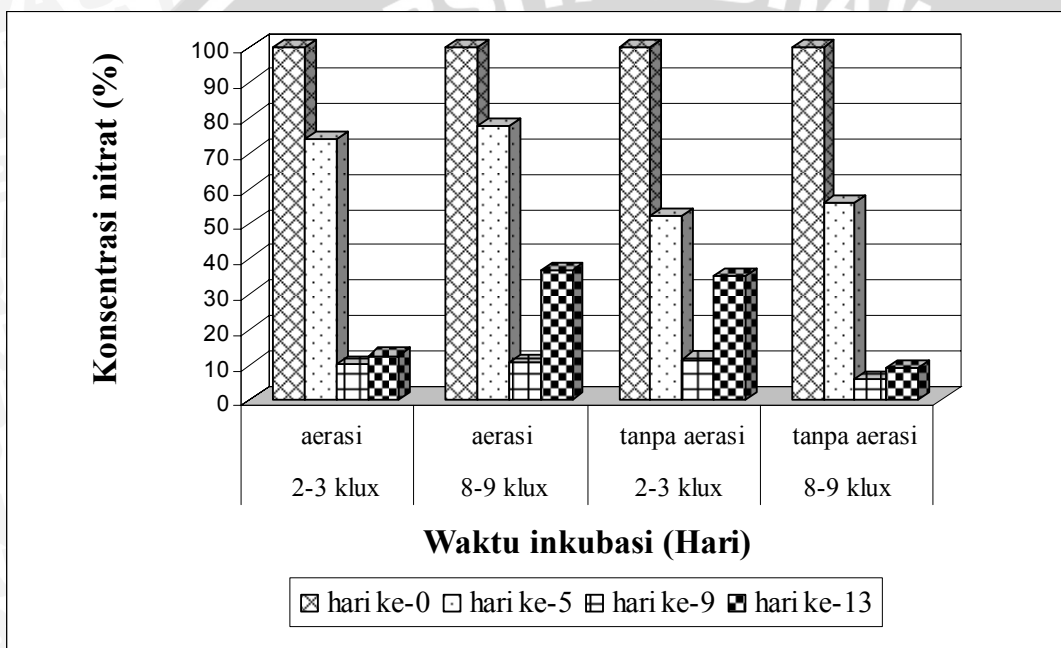
Konsentrasi nitrat kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi mengalami penurunan pada inkubasi hari kelima, kemudian mengalami peningkatan pada inkubasi hari kesembilan dan kembali mengalami penurunan pada inkubasi hari ketigabelas. Pada inkubasi hari kelima, reduksi nitrat tertinggi terjadi pada intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi sebesar 92% (dari 11,02 mg/L menjadi 0,86 mg/L) (Gambar 4.6).

Konsentrasi nitrat kultur tunggal bakteri mengalami penurunan sekitar 81-92% pada inkubasi hari kelima. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ahmed (2009) yang menunjukkan bahwa isolat dalam konsorsium bakteri pereduksi nitrat (DR-14, DU-27-1, DU-30-2, AT-8, DU-27-4, DU-27-2) yang juga digunakan dalam penelitian ini dapat mereduksi nitrat dalam media TSB-N (5, 10, 20 mg/L) sebesar 96-98% setelah 24 jam inkubasi.

Konsentrasi nitrat kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat mengalami penurunan pada inkubasi hari kelima karena nitrat merupakan salah satu nutrisi yang dibutuhkan bakteri sebagai sumber nitrogen. Menurut Schlegel (1994) nitrat oleh mikroorganisme dimanfaatkan untuk dua tujuan yaitu asimilasi nitrat (terjadi pada kondisi aerob maupun anaerob) dan disimilasi atau respirasi nitrat. Pada asimilasi nitrat, nitrat direduksi melalui nitrit menjadi amonium

yang digunakan untuk sintesis asam-asam amino dan komponen-komponen sel yang mengandung nitrogen. Pembentukan amonium dari nitrat merupakan proses reduksi yang menggunakan daya reduksi besar (memerlukan jumlah nitrat yang banyak sebagai donor hidrogen). Disimilasi atau respirasi nitrat, nitrat bertindak sebagai akseptor elektron terminal pada kondisi anaerob.

Pada hari kesembilan, konsentrasi nitrat kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat mengalami peningkatan. Hal tersebut diduga bakteri yang digunakan dalam penelitian ini juga memiliki kemampuan nitrifikasi sehingga hasil reduksi nitrat, seperti amonia ataupun nitrit teroksidasi kembali menjadi nitrat.



Gambar 4.7 konsentrasi nitrat (%) kultur tunggal *microcystis*

Konsentrasi nitrat kultur tunggal *Microcystis* dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi mengalami penurunan pada inkubasi hari kelima dan kesembilan, kemudian mengalami peningkatan pada inkubasi hari ketigabelas. Pada inkubasi hari kesembilan, reduksi nitrat tertinggi terjadi pada intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi sebesar 93,63% (dari 11,02 mg/L menjadi 0,7 mg/L) (Gambar 4.7).

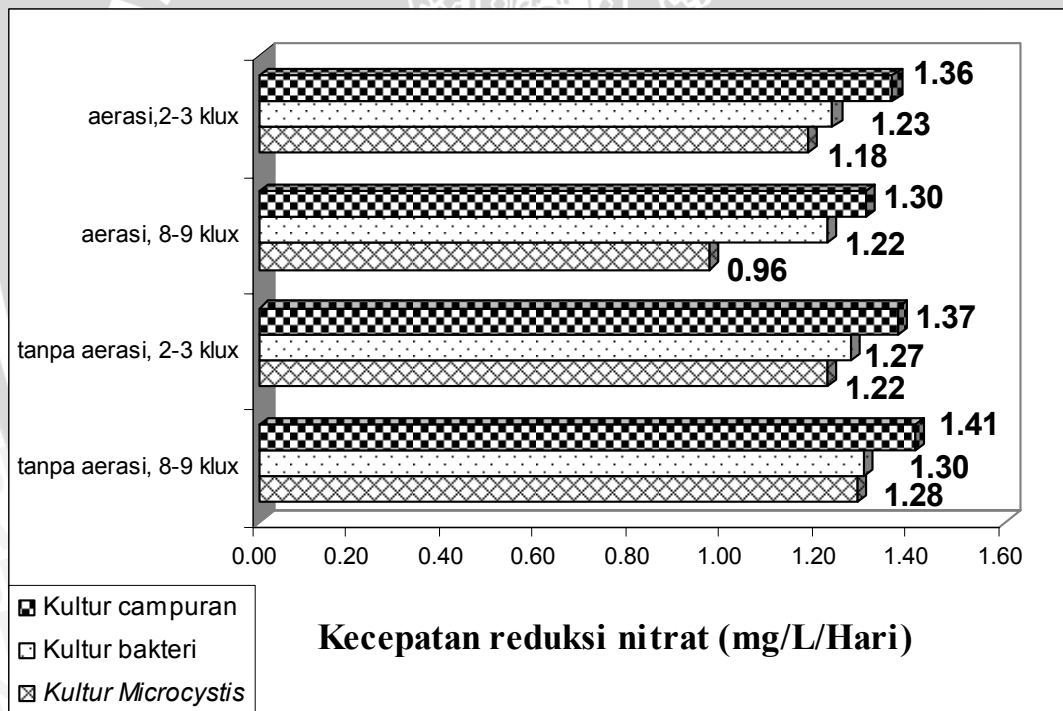
Konsentrasi nitrat kultur tunggal *Microcystis* mengalami penurunan sekitar 87-93%, pada inkubasi hari kesembilan. Konsentrasi nitrat terendah dalam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat (inkubasi hari kelima) terjadi lebih cepat daripada dalam kultur tunggal *Microcystis* (inkubasi hari kesembilan). Hal ini disebabkan laju

pertumbuhan bakteri lebih cepat daripada *Microcystis* spp.

Konsentrasi nitrat kultur tunggal *Microcystis* meningkat pada inkubasi hari ketigabelas. Hal tersebut diduga karena adanya sumber nitrat (nitrogen) lain di dalam media, seperti hasil dekomposisi bahan organik (sel *Microcystis* spp. yang telah mati). Burt, dkk.(1993) menjelaskan bahwa salah satu faktor yang dapat meningkatkan nutrisi di perairan adalah pelepasan nitrogen organik berupa senyawa nitrat dari proses dekomposisi bahan-bahan organik (sisa sel-sel yang telah mati).

4.4 Kecepatan Reduksi Nitrat Media

Nitrat dalam media direduksi oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat maupun *Microcystis* spp. Kecepatan reduksi nitrat kultur campuran, kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dan kultur tunggal *Microcystis* dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi tersaji pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 kecepatan reduksi nitrat oleh berbagai kultur

Reduksi nitrat media dengan kecepatan tertinggi dalam kultur campuran (1,41 mg/L per hari), kultur tunggal bakteri (1,30 mg/L per hari) dan kultur tunggal *Microcystis* (1,28 mg/L per hari) terjadi pada intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa kecepatan reduksi nitrat media kultur (kultur

campuran, kultur tunggal bakteri dan kultur tunggal *Microcystis*) dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi selama waktu inkubasi 13 hari menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) (Lampiran 14).

Penelitian yang dilakukan Eriksson (2001) menunjukkan bahwa proses denitrifikasi berhubungan negatif dengan konsentrasi oksigen dalam media sehingga proses denitrifikasi terjadi lebih cepat pada kondisi tanpa aerasi. Proses reduksi nitrat berjalan optimal pada kondisi anoksik (tak ada oksigen) dan akan berkurang atau lambat pada kondisi pH dan suhu rendah (Effendi, 2003). Oleh karena itu proses denitrifikasi lebih optimal pada saat kondisi tanpa aerasi. Kecepatan penurunan nitrat juga berhubungan dengan densitas sel. Densitas sel tertinggi pada semua kultur terjadi pada kondisi tanpa aerasi dan intensitas cahaya 8-9 klux. Li (2007) menjelaskan bahwa penurunan konsentrasi nitrat pada suatu media kultur berhubungan dengan peningkatan densitas sel dalam media tersebut.

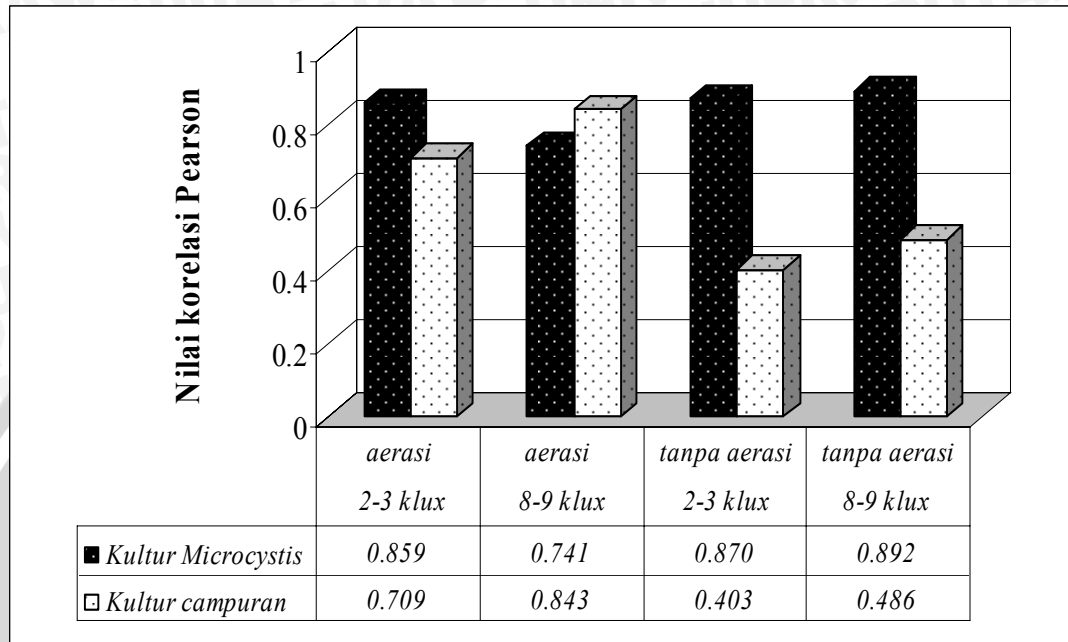
4.5 Korelasi Densitas *Microcystis* spp. dan Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Konsentrasi Nitrat

Korelasi densitas *Microcystis* terhadap konsentrasi nitrat media dalam kultur tunggal dan dalam kultur campuran memiliki nilai positif (Gambar 4.9). Hal ini menunjukkan bahwa semakin menurun konsentrasi nitrat maka densitas sel *Microcystis* spp. semakin menurun.

Kultur tunggal *Microcystis* dengan intensitas cahaya 8- 9 klux dan tanpa aerasi memiliki nilai korelasi terbesar (0,892), sedangkan dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi memiliki nilai korelasi terkecil (0,741). Kultur campuran intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi memiliki nilai korelasi terbesar (0,843), sedangkan dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan tanpa aerasi memiliki nilai korelasi terkecil (0,403). Korelasi penurunan konsentrasi nitrat terhadap penurunan densitas *Microcystis* spp. dalam kultur tunggal *Microcystis* dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi adalah paling kuat dibandingkan kondisi lain. Korelasi penurunan konsentrasi nitrat terhadap penurunan densitas *Microcystis* spp. dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan aerasi adalah paling kuat dibandingkan kondisi lain.

Hasil Analisis Ragam menunjukkan bahwa densitas sel *Microcystis* dan konsentrasi nitrat pada kultur tunggal *Microcystis*

maupun kultur campuran (Lampiran 15) dengan variasi intensitas cahaya tidak berbeda nyata ($p>0,05$), sedangkan dengan variasi aerasi berbeda nyata ($p<0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa aerasi berpengaruh terhadap densitas sel *Microcystis* spp. dan reduksi nitrat



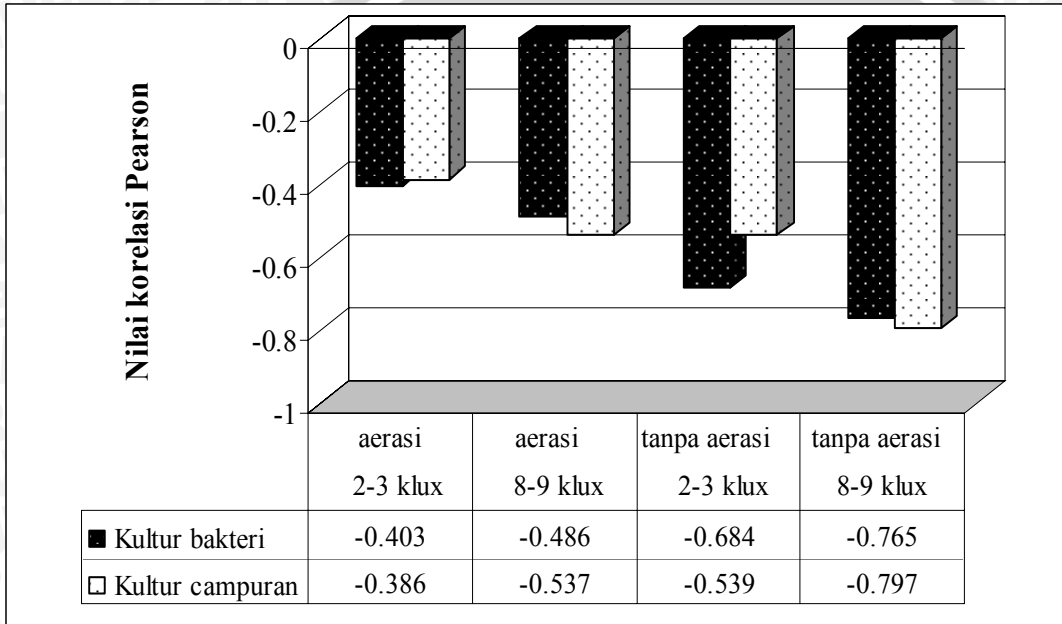
Gambar 4.9 Nilai korelasi pearson konsentrasi nitrat terhadap densitas *Microcystis* spp.

Korelasi densitas konsorsium bakteri pereduksi nitrat terhadap konsentrasi nitrat media dalam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dan dalam kultur campuran (Gambar 4.10) memiliki nilai negatif. Nilai negatif menunjukkan bahwa semakin meningkat densitas konsorsium bakteri pereduksi nitrat maka konsentrasi nitrat media dalam kultur semakin menurun. Menurut Li (2007) penurunan konsentrasi nitrat pada suatu media kultur berhubungan erat dengan peningkatan densitas sel bakteri denitrifikasi dalam media tersebut.

Kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi memiliki nilai korelasi terbesar (-0,765), sedangkan dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi memiliki nilai korelasi terkecil (-0,403). Kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi memiliki nilai korelasi terbesar (-0,797), sedangkan dengan intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi memiliki nilai korelasi terkecil (-0,386). Hal tersebut menunjukkan bahwa korelasi peningkatan densitas konsorsium bakteri pereduksi nitrat terhadap penurunan konsentrasi nitrat media dalam kultur bakteri dan

dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi adalah paling kuat dibanding kondisi lainnya.

Hasil Analisis Ragam menunjukkan bahwa densitas sel bakteri pereduksi nitrat dan konsentrasi nitrat pada kultur tunggal maupun kultur campuran (Lampiran 15) dengan variasi intensitas cahaya tidak berbeda nyata ($p>0,05$), sedangkan dengan variasi aerasi berbeda nyata ($p<0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa aerasi berpengaruh terhadap densitas konsorsium bakteri dan reduksi nitrat.



Gambar 4.10 Nilai korelasi pearson densitas bakteri pereduksi nitrat terhadap konsentrasi nitrat

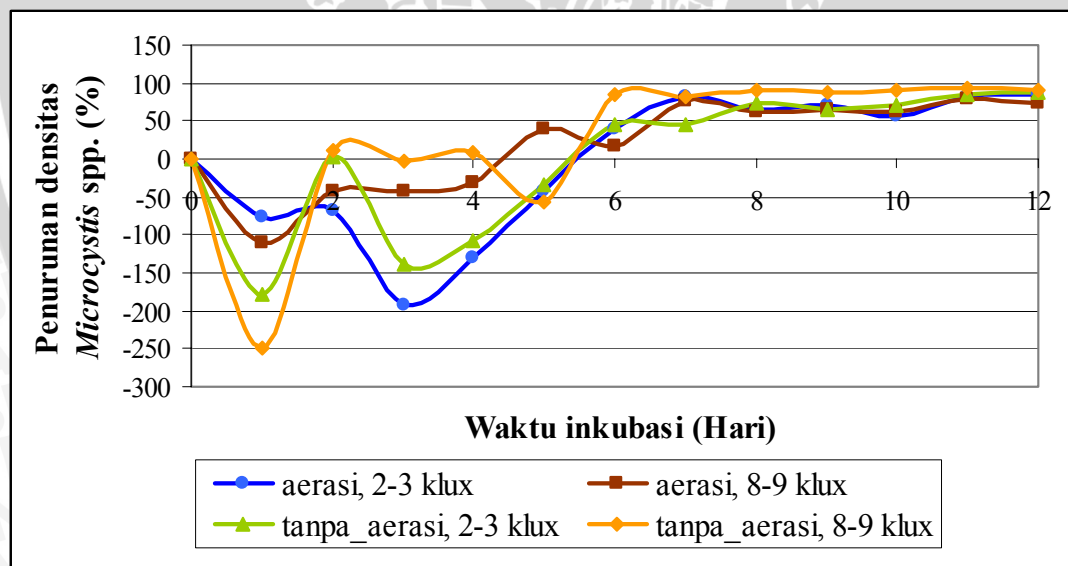
Nilai korelasi Pearson antara densitas sel *Microcystis* spp., konsorsium bakteri pereduksi nitrat dan konsentrasi nitrat media menunjukkan bahwa konsentrasi nitrat mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya densitas sel konsorsium bakteri pereduksi nitrat. Hal tersebut menyebabkan densitas sel *Microcystis* spp. mengalami penurunan.

4.6 Pengaruh Reduksi Nitrat oleh Bakteri Pereduksi Nitrat terhadap Pertumbuhan *Microcystis* spp.

Reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat dapat menghambat pertumbuhan *Microcystis* spp. Hal tersebut dapat dilihat dari perbandingan pola pertumbuhan *Microcystis* spp. dalam kultur

tunggal (Gambar 4.1) dengan kultur campuran (Gambar 4.2). Densitas sel tertinggi kultur tunggal *Microcystis* terjadi pada inkubasi hari keenam (tanpa aerasi) dan pada inkubasi hari ketujuh (aerasi), sedangkan dalam kultur campuran terjadi pada inkubasi hari ketiga. Densitas *Microcystis* spp. dalam kultur tunggal pada inkubasi hari ketujuh berkisar antara $1,9 \times 10^6 - 5,12 \times 10^6$, sedangkan dalam kultur campuran berkisar antara $4,4 \times 10^5 - 9,2 \times 10^5$ sel/mL.

Hasil penghitungan prosentase penurunan densitas *Microcystis* spp. akibat reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat dapat dilihat pada gambar 4.11. Berdasarkan gambar tersebut penurunan densitas *Microcystis* spp. dalam kultur campuran mulai terjadi setelah inkubasi hari keenam dengan penurunan densitas *Microcystis* spp. tertinggi terjadi pada intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi sebesar 86%. Pertumbuhan *Microcystis* spp. dalam kultur campuran sampai inkubasi hari keduabelas pada kondisi tanpa aerasi mengalami penurunan lebih besar (93,6 – 95,4%) daripada dengan aerasi (76,2 – 85,9%). Variasi intensitas cahaya yang diberikan selama inkubasi tidak berpengaruh secara nyata dalam menekan pertumbuhan *Microcystis* spp. (Lampiran 15).



Gambar 4.11 Prosentase penurunan densitas *Microcystis* spp. akibat reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Fase eksponensial tertinggi *Microcystis* dalam kultur tunggal terjadi pada inkubasi hari keenam (tanpa aerasi) dan pada inkubasi hari ketujuh (aerasi), sedangkan dalam kultur campuran terjadi pada inkubasi hari ketiga. Fase eksponensial tertinggi bakteri pereduksi nitrat dalam kultur tunggal terjadi pada inkubasi hari kesepuluh (tanpa aerasi) dan pada inkubasi hari kedelapan (aerasi), sedangkan dalam kultur campuran terjadi pada inkubasi hari kesepuluh.
2. Densitas terbanyak *Microcystis* dalam kultur tunggal diperoleh $5,54 \cdot 10^6$ sel/mL (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi) pada inkubasi hari keenam, sedangkan dalam kultur campuran $2,93 \cdot 10^6$ sel/mL (intensitas cahaya 2-3 klux dan aerasi) pada inkubasi hari ketiga. Densitas terbanyak bakteri pereduksi nitrat dalam kultur tunggal dan kultur campuran diperoleh $3,37 \cdot 10^{10}$ sel/mL dan $2,52 \cdot 10^{10}$ sel/mL (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi) pada inkubasi hari kesepuluh.
3. Reduksi nitrat media tertinggi (93%) terjadi dalam kultur campuran dengan intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi pada inkubasi hari kelima dan dapat menurunkan pertumbuhan *Microcystis* spp. sebesar 86% pada inkubasi hari keenam. Reduksi nitrat dengan kecepatan tertinggi 1,41 mg/L/hari terjadi dalam kultur campuran (intensitas cahaya 8-9 klux dan tanpa aerasi).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Berbagai senyawa hasil dari reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat.
2. Identifikasi masing-masing isolat bakteri untuk memastikan nama strain bakteri secara taksonomis.
3. Penelitian dilakukan menggunakan air Waduk Sutami dengan sistem *continues culture*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A. M. 2009. **Potensi Konsorsium Bakteri Pereduksi Nitrat dari Waduk Sutami dalam Menurunkan Nitrat**. Tugas Akhir. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Anggit, Y. 2008. **Respon Pertumbuhan Microcystis spp. dari Waduk Sutami pada Beberapa Variasi Intensitas Cahaya dan Lama Penyinaran**. Tugas Akhir. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.
- Atlas, R dan R. Bartha. 1993. **Microbial Ecology Fundamentals and Applications**. Addison-Wesley Publishing Company. Kanada.
- Biol. 2008. *Microcystis aeruginosa*. <http://www.biol.tsukuba.ac.jp>. Tanggal akses 25 Maret 2008.
- Burns, C. W. 1987. Insights into Zooplankton-Cyanobacteria Interactions Derived from Enclosure Studies. *New Zealand J. Marine. Freshwater Resc.* 21: 477-482.
- Burt, T. P., A. L. Heathwaite dan S. T. Trudgill. 1993. **Nitrate : Processes, Patterns and Management**. John Wiley & Sons Ltd. Chicester, England.
- Carter, J. P., Y. H. Hsiao, S. Spiro, dan D. J. Richardson. 1995. Soil and Sediment Bacteria Capable of Aerobic Nitrate Respiration. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 61: 2852 – 2858.
- Clesceri, L. S., A. E. Greenberg, R. R. Trussel dan M. A. H. Franson. 1989. **Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water**. Seventeenth. Washington.
- Dzeda, B., K. Matt dan M. San. 1998. Bacteria and Groundwater. <http://www.cee.vt.edu/ewr/environmental/teach/gwprimer/bacteria/bacteria.html>. Tanggal akses 17 Maret 2008.

E-Bac. 2000. Microbial Consortium. http://www.ebac2000.com/Microbial_Consortium.html. Tanggal akses 7 Februari 2009.

Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan**. Kanisius. Yogyakarta.

Ericson, P. 2001. An Experimental Study on Effect of Submersed Macrophytes on Nitrification and Denitrification in Ammonium-Rich Aquatic System. *J. Limnol. Oceanografi*. 44(8) : 1993-1999.

Fried, S., B. Mackie dan E. Nothwehr. **Nitrate and Phosphate Levels Positively Affect the Growth of Algae Species Found in Perry Pond**. Biology Department, Grinnell College, Grinnell, USA

Goldman, C. R dan A. J. Horne. 1989. **Limnology**. Mc Graw Hill. New York.

Hargreaves, J. A. 2003. **Pond Mixing**. Southern Agriculture Center Fact Sheet. USA.

Henderson-Seller, B dan H. R. Markland. 1987. **Decaying Lakes, The Origin and Control of Cultural Eutrophication**. John Willey and Sons. Britain.

Holmes, J. A. 2000. Phytoplankton : Seasonal Dynamics In Lakes. <http://www.utoronto.ca/jenu/jah/lim/lim06f99.htm>. Diakses 23 desember 2004.

Iannacone, L.R. dan Touchette B.W. 2004. A Shift in Phytoplankton Dominance from Cyanobacteria to Chlorophytes Following Algaecide Applications. www.epa.gov/cyano_habs_symposium. Diakses 20 Mei 2009.

Jähnichen, S., Tilo I., Thomas P. dan Jürgen B. 2007. Impact of Inorganic Carbon Availability on Microcystin Production by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 73 (21) : 6994–7002.

Joung, S. H., C. J. Kim, K. Y. Ahn, B. M. Boo dan H. M. Oh. 2006. Simple Method for A Cell Count of Colonial Cyanobacterium *Microcystis* sp. *J. Microbiol.* 44 (5) : 562-565.

Li, Y. 2007. **Denitrification Capacity and Denitrifying Bacteria In A Restored Bottomland Hardwood Forest, Mississippi River Alluvial Valley: Hydrological Impacts.** Thesis. Department of Environmental Studies. Faculty of Agricultural and Mechanical College. Lousiana State University. Lousiana.

Madigan, M. T., J. M. Martinko, dan J. Parker. 2003. **Brock Biology of Microorganisms.** Prentice Hall. New Jersey.

Maier, M., I. Raina., L. Pepper dan C. P. Gerba. 2000. **Environmental Microbiology.** Academic Press. New York.

Marganof. 2007. **Model Pengendalian Pencemaran Perairan di Danau Mninjau Sumatera Barat.** Disertasi. Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Oregon Public Health Services. 2002. Fact Sheet: hazards from *Microcystis aeruginosa* in Fresh Water. <http://www.ohd.hr.state.or.us/esc/docs/mafact.htm>. Diakses 24 Januari 2008.

Ott, W. R. 1978. **Environment Indices. Theory and Practice.** Ann Arbor Scin Publick. Inc. Ann Arbor.Michigan.

Paustian, T. 2000. Anaerobic Respiration. <http://dwb.unl.edu>. University of Wisconsin-Madison. Diakses tanggal 4 April 2008.

Patureau, E., P. Zumstein, J. P. Delgenes dan R. Moletta. 2000. Aerobic Denitrifiers Isolated from Diverse Natural and Managed Ecosystems. *J. Microbiol. Ecol.* 39 : 145–152.

Payne, A. L. 1986. **The Ecology of Tropical Lakes and Rivers.** John Wiley and Sons. Singapore.

Perum Jasa Tirta I Malang. 2003. Panen Ganggang dan Penaburan Benih Ikan. http://members.bumn.go.id/jasa_tirta1/news.html?news_id=3392. Tanggal akses 23 Januari 2008.

Piñar, G., D. Estrella, A. Haïdour, J. M. Oliva, L. C. Barbero, V. Calvo dan J. L. Ramos. 1997. Removal of High Concentrations of Nitrate from Industrial Wastewaters by Bacteria. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 63 (5) : 2071-2073.

Pollack, R. A., L. Findlay, W. Mondschein and R. R. Modesto. 2005. **Laboratory Exercises in Microbiology**. John Willey & Sons, Inc. New York

Prescott, L., P. A. John, A. K. Donald. 2003. **Microbiology (International Edition)**. Mc Graw-Hill. New York.

Rahmania, R. 2009. **Isolasi Bakteri Pereduksi Nitrat dari Waduk Sutami**. Tugas Akhir. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.

Raps, S., W. Kevin, W. Harold, Siegelman, dan G. Paul. 1983. Adaptation of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to Light Intensity. *J. Plant Physiol.* 72 : 829-832.

Retnaningdyah, C., Prayitno, Y. Rosyitawati, M.Y.C Dewi, A.N. Hartini, 2002. **Potensi Mikroalga sebagai Bioindikator Tingkat Pencemaran Bahan Organik di Perairan Waduk**. National Seminar on Research and Studies Research Grant conducted by Ministry of National Education, Directorate General of Higher Education, TPSDP, Jakarta December 27-28.

Retnaningdyah, C. dan S. Samino. 2005. **Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton Dan Zooplankton Di Waduk Sutami Malang 2005**. Laporan Penelitian Kerjasama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang. Sertifikat No. ID03/0127.

Retnaningdyah, C. dan S. Samino. 2006. **Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton dan Zooplankton di Waduk Sutami**

Malang Periode Bulan Januari – Maret 2006.Laporan Penelitian Kerjasama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang. Sertifikat No. ID03/0127.

Rosyidah, R. A. 2005. **Dinamika Komunitas Zooplankton di Waduk Sutami Malang : Studi Kasus Awal Musim Hujan 2004.** Tugas Akhir. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.

Ruckert, G. F dan A. Giani. 2004. Effect of Nitrate and Ammonium on The Groth and Protein Concentration of Microcysts viridis Lemmerman (Cyanobacteria). [http:// www.Scielo.br](http://www.Scielo.br). Diakses 22 Januari 2008.

Samino, S. dan C. Retnaningdyah, 2004. **Monitoring Dinamika Komunitas Fitoplankton dan Zooplankton di Waduk Sutami Malang Periode Oktober-Desember 2004.** Laporan Penelitian Kerjasama Perum Jasa Tirta I dengan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Sertifikat No. ID03/0127.

Schlegel, A. 1994 **Microbiology.** Mc Graw-Hill. New York.

Soekistijono. 2004. **Eutrofikasi di Waduk Sutami : Monitoring, Evaluasi dan Upaya Penanganannya.**Kolokium Hasil Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Air. Perum Jasa Tirta I.

Solomon, D. 1998. *Microcystis* in Southwest Michigan Lakes. <http://www.kbs.msu.edu/Extension/microcystis/Index.htm>. Tanggal akses 23 Januari 2008.

Taylor, R. 1997. That Blooming Microcystis: Where'd it come from ? Where'd it go. <http://www.sg.ohiostate.edu/publications/html>. Tanggal akses 23 Januari 2008.

Tavares, L. H., A. M. Freitas, dan F. M. S. Braga. 1999. The Use of Mechanical Aeration and its Effects on Water Mass. *Rev. Brasil. Biol.* 59 (1) : 33-42.

Tyagi, M. B., P. S. Dhananjay, K. Anil, N. J. Prabhat, P. S. Rajeshwar dan K. Ashok. 2006. Hepatotoxicity of *Microcystis aeruginosa* Strains Growing as Blooms in Certain Eutrophic Ponds. *EXCLI Journal*. 5 : 66-78.

Vaitomaa, J. 2006. **The effects of environmental factors on biomass and microcystin production by the freshwater cyanobacterial genera *Microcystis* and *Anabaena***. Academic Dissertation in Microbiology. Division of Microbiology Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, Finland.

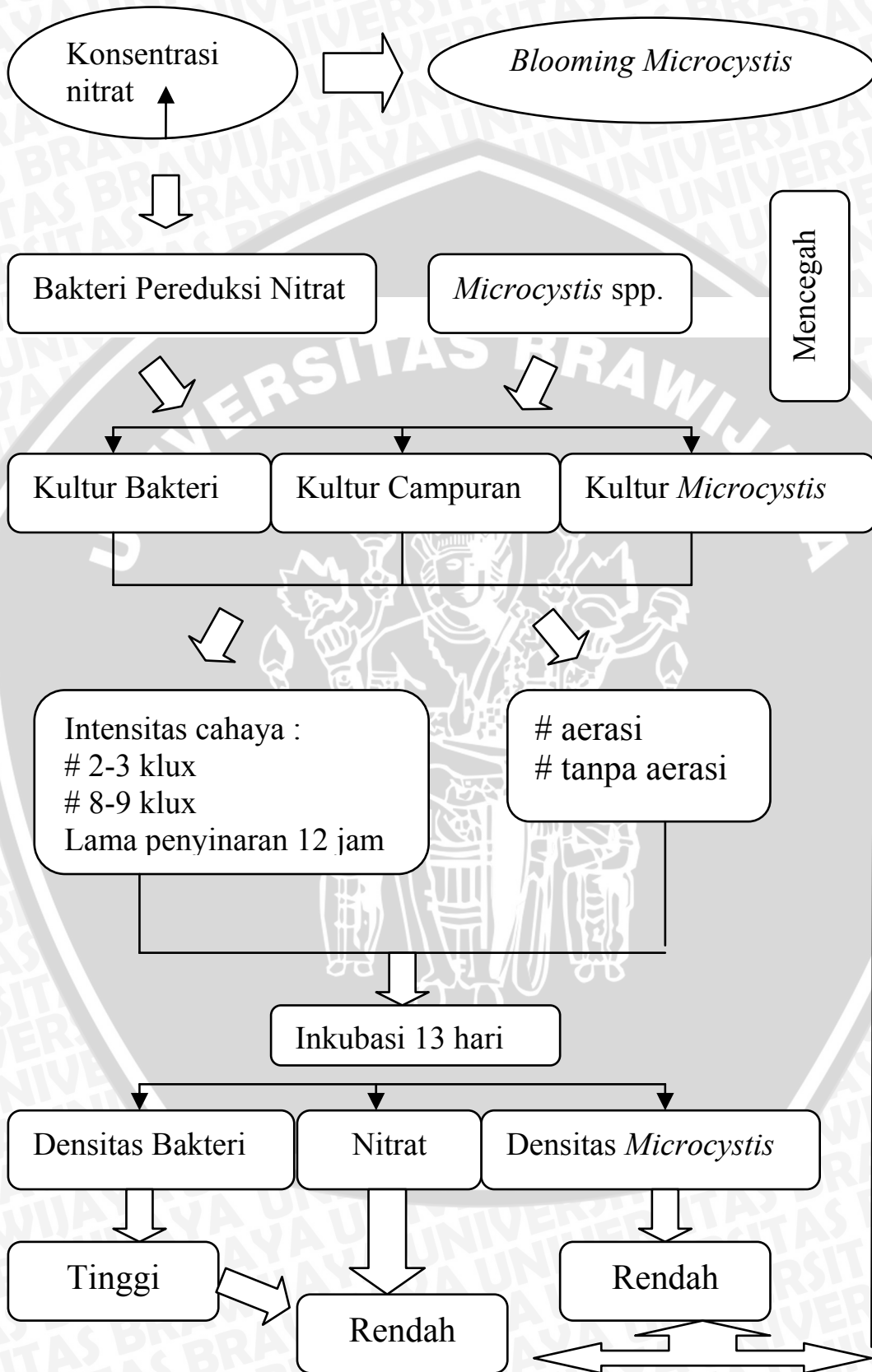
Vivian, C. M., P. Cabello, M. M. Luque, R. Blasco, F. Castillo. 1999. Prokaryotic Nitrate Reduction: Molecular Properties and Functional Distinction among Bacterial Nitrate Reductases. *J. Bacteriol.* 181 (21) : 6573-6584.

Wacklin, P. 2006. **Biodiversity and Phylogeny of Planktic Cyanobacteria in Temperate Freshwater Lakes**. Academic Dissertation in Microbiology. Division of Microbiology Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, Finland.

Widyanto, A. 2008. **Respon Pertumbuhan *Microcystis* spp. dari Waduk Sutami Pada Media BG-11 Dengan Variasi Konsentrasi nitrat**. Tugas Akhir. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Brawijaya. Malang.

Yoshinaga, I., H. Tadayoshi, M. Asa, S. Eisaku, M. Tatsuo. 2006. Cyanobacterium *Microcystis* Bloom in a Eutrophicated Regulating Reservoir. *JARQ*. 40 (3) : 283 – 289.

Lampiran 1. Kerangka konsep penelitian



Lampiran 2. Prepasi air Waduk Sutami

Media kultur yang digunakan adalah air Waduk Sutami dengan konsentrasi 2,6 mg/L yang kemudian diberikan penambahan nitrat sebesar 5 mg/L. Larutan induk nitrat 100 mg/L dibuat dengan melarutkan 0,7218 gram KNO_3 (yang telah dikeringkan dalam oven sebelumnya) ke dalam 1000 mL aquades (Clesceri, dkk., 1989). Larutan induk nitrat ini selanjutnya digunakan sebagai sumber nitrat. Air Waduk Sutami dengan penambahan 5 mg/L nitrat dibuat dengan menggunakan Rumus 1.

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2 \quad \dots(1)$$

Keterangan:

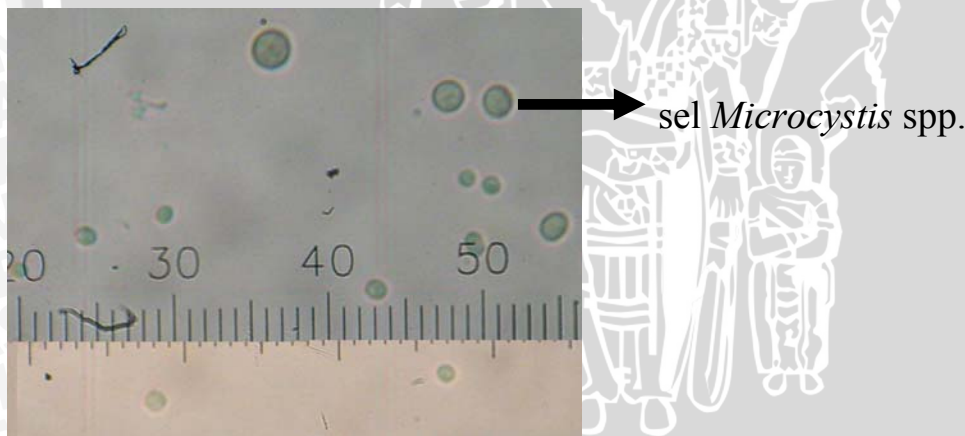
V_1 = Volume awal

V_2 = Volume akhir

N_1 = Konsentrasi awal

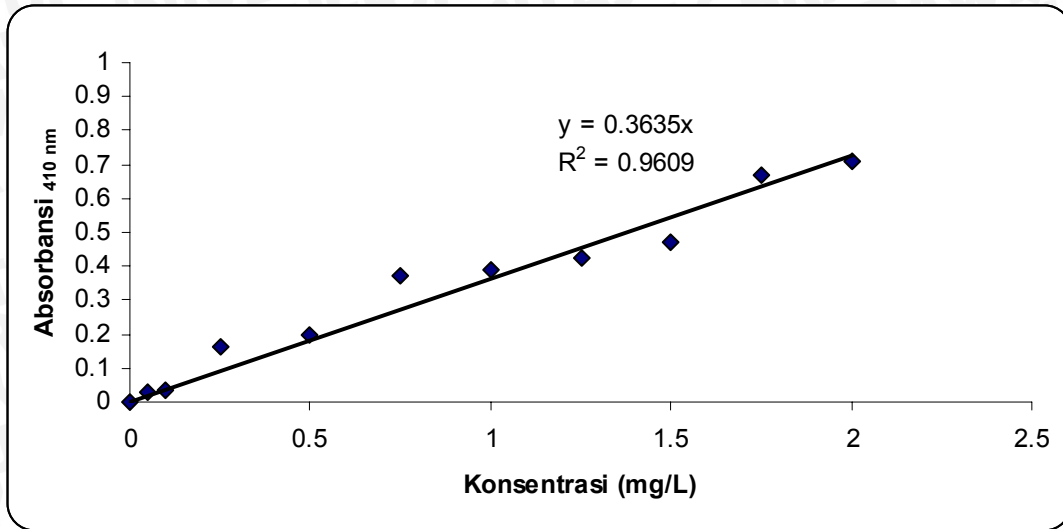
N_2 = Konsentrasi akhir

Lampiran 3. Morfologi sel *Microcystis* spp.



Gambar 1. Morfologi sel *Microcystis* spp. (perbesaran 400x)
(Keterangan: 1skala = 2,5 μm)

Lampiran 4. Kurva baku konsentrasi nitrat



Lampiran 5. Karakteristik fenotip isolat-isolat konsorsium bakteri pereduksi nitrat

Tabel 1. Karakteristik fenotip isolat-isolat konsorsium bakteri pereduksi nitrat (Ahmed, 2009)

Karakter	Isolat DR-14	Isolat DU-27-1	Isolat DU-30-2	Isolat AT-8	Isolat DU-27-4	Isolat DU-27-2
Panjang sel (µm)	4,75	4,75	5	5	5	2,5
Diameter sel (µm)	0,98	1	1,25	2,23	1,25	1,25
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Gram positif	-	+	+	+	+	-
Motilitas	+	+	+	+	+	+
Sitrase	+	+	-	+	+	+
Protease	-	-	+	-	-	-
Selulase	-	-	+	-	+	+
Amilase	+	+	-	+	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	-
Sitokrom oksidase	+	+	-	+	+	+
Endospora	-	-	-	+	+	+

Keterangan : Tanda (+) menunjukkan bahwa isolat memiliki karakter yang diuji; (-) tidak memiliki karakter yang diuji.

Lampiran 6. Analisis Ragam kultur tunggal *Microcystis*

Tabel 5. Hasil Analisis Ragam kultur tunggal *Microcystis*

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	197668815625000.000(a)	47	4205719481382.980	6.098	.000
Intercept	369381834374993.800	1	369381834374993.800	535.568	.000
Aerasi	30476334375000.050	1	30476334375000.050	44.188	.000
Cahaya	20488776041666.820	1	20488776041666.820	29.707	.000
Hari	61672953124999.700	11	5606632102272.700	8.129	.000
Aerasi * Cahaya	15689751041666.570	1	15689751041666.570	22.749	.000
Aerasi * Hari	35585853124999.800	11	3235077556818.164	4.691	.000
Cahaya * Hari	13178311458333.290	11	1198028314393.936	1.737	.023
Aerasi * Cahaya * Hari	20576836458333.370	11	1870621496212.125	2.712	.008
Error	33105650000000.000	48	689701041666.667		
Total	600156300000000.000	96			
Corrected Total	230774465625000.000	95			

R Squared = .857 (Adjusted R Squared = .716)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 7. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal *Microcystis* spp.

Tabel 6. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal *Microcystis* spp. (sel/mL) dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Densitas Sel (sel/mL)							
	aerasi				tanpa aerasi			
	2-3 klux		8-9 klux		2-3 klux		8-9 klux	
1	775000	ab	860000	ab	195000	a	195000	a
2	1155000	ab	1540000	ab	1895000	abcde	1865000	abcde
3	1060000	ab	1450000	ab	850000	ab	1725000	abcd
4	735000	ab	1250000	ab	475000	ab	1715000	abcd
5	855000	ab	2355000	abcde	780000	ab	1035000	ab
6	2045000	abcde	1220000	abcde	3000000	abcde	5540000	f
7	2570000	abcde	1860000	abcde	1585000	ab	5120000	cdef
8	1560000	ab	1270000	ab	2055000	abcde	5290000	ef
9	1285000	ab	1390000	ab	1865000	abcde	3975000	bcdef
10	690000	ab	1410000	ab	1420000	ab	5205000	def
11	960000	ab	1660000	abc	2020000	abcde	3745000	bcdef
12	2395000	abcde	1205000	ab	3765000	bcdef	3785000	bcdef

Keterangan:

- huruf kecil yang sama di belakang nilai rata-rata pada baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji BNJ pada tingkat signifikansi 5%

Lampiran 8. Analisis Ragam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat

Tabel 7. Hasil Analisis Ragam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6677596851603510000000.000(a)	47	142076528757521600000.000	24.544	.000
Intercept	4513904816490150000000.000	1	4513904816490150000000.000	779.781	.000
Aerasi	256158119250648600000.000	1	256158119250648600000.000	44.252	.000
Cahaya	34192063151043380.000	1	34192063151043380.000	.006	.939
Hari	3783047013423825000000.000	11	343913364856711300000.000	59.411	.000
Aerasi * Cahaya	7381088235025990000.000	1	7381088235025990000.000	1.275	.264
Aerasi * Hari	2345522976288418000000.000	11	213229361480765200000.000	36.836	.000
Cahaya * Hari	49419347225910700000.000	11	4492667929628245000.000	.776	.662
Error	277856693093749900000.000	48	5788681106119790000.000		
Total	11469358361187490000000.000	96			
Corrected Total	6955453544697260000000.000	95			

R Squared = .960 (Adjusted R Squared = .921)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 9. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat

Tabel 8. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur densitas sel kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat (sel/mL) dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Densitas Sel (sel/mL)							
	aerasi				tanpa aerasi			
1	266250000	a	347500000	a	261250000	a	171250000	a
2	678750000	a	766250000	a	568750000	a	841250000	a
3	746250000	a	1757500000	a	2066250000	a	967500000	a
4	1443750000	a	1392500000	a	1048750000	a	1303750000	a
5	2985000000	ab	4345000000	ab	2765000000	a	2110000000	a
6	2871875000	ab	2978125000	ab	2440625000	a	2930000000	ab
7	8075000000	abc	5437500000	ab	3650000000	ab	7862500000	abc
8	16375000000	de	19713000000	de	8087500000	abc	8925000000	abc
9	4500000000	ab	9325000000	abcd	20250000000	e	12750000000	bcde
10	4375000000	ab	9375000000	abcd	30250000000	f	33725000000	f
11	2775000000	a	4325000000	ab	18850000000	e	16250000000	cde
12	1995000000	a	9975000000	abcd	7250000000	abc	8825000000	abc

Keterangan:

- huruf kecil yang sama di belakang nilai rata-rata pada baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji BNJ pada tingkat signifikansi 5%

Lampiran 10. Analisis Ragam *Microcystis* spp. dalam kultur campuran

Tabel 9. Hasil penghitungan Analisis Ragam *Microcystis* spp. dalam kultur campuran

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44428133333333.310(a)	47	945279432624.113	11.524	.000
Intercept	94883266666664.900	1	94883266666664.900	1156.702	.000
Aerasi	442816666666.669	1	442816666666.669	5.398	.024
Cahaya	4166666.667	1	4166666.667	.000	.994
Hari	3743608333333.270	11	3403280303030.298	41.489	.000
Aerasi * Cahaya	1204166666.667	1	1204166666.667	.015	.904
Aerasi * Hari	342553333333.337	11	311412121212.122	3.796	.001
Cahaya * Hari	2162545833333.328	11	196595075757.576	2.397	.018
Aerasi * Cahaya * Hari	959945833333.336	11	87267803030.304	1.064	.409
Error	3937400000000.000	48	82029166666.667		
Total	14324880000000.000	96			
Corrected Total	4836553333333.300	95			

R Squared = .919 (Adjusted R Squared = .839)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 11. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel *Microcystis* spp. dalam kultur campuran

Tabel 10. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur densitas sel *Microcystis* spp. (sel/mL) dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Densitas Sel (sel/mL)				Hari	Densitas Sel (sel/mL)			
	2-3 klux		5-8 klux			aerasi		tanpa aerasi	
1	957500	abcdefg	1250000	bcdefgh	1	1597500	fgh	610000	abcde
2	1877500	ghi	1932500	hi	2	2070000	hi	1740000	gh
3	2572500	i	1920000	hi	3	2595000	i	1897500	ghi
4	1340000	cdefgh	1620000	fgh	4	1672500	fgh	1287500	desgh
5	1135000	abcdefgh	1532500	efgh	5	1332500	efgh	1335000	efgh
6	1442500	defgh	887500	abcdef	6	1117500	bcdefg	1212500	cdefg
7	660000	abcde	680000	abcde	7	455000	abcd	885000	abcdef
8	545000	abcd	505000	abc	8	505000	abcde	545000	abcde
9	505000	abc	500000	abc	9	435000	abc	570000	abcde
10	352500	ab	480000	abc	10	405000	abc	427500	abc
11	245000	a	305000	a	11	260000	a	290000	ab
12	295000	a	320000	ab	12	300000	ab	315000	ab

Keterangan:

- huruf kecil yang sama di belakang nilai rata-rata pada baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji BNJ pada tingkat signifikansi 5%

Lampiran 12. Analisis Ragam bakteri dalam kultur campuran

Tabel 11. Hasil Analisis Ragam konsorsium bakteri dalam kultur campuarn

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6609442292382810000000.000(a)	47	140626431752825700000.000	13.968	.000
Intercept	4947199669335860000000.000	1	4947199669335860000000.000	491.380	.000
Aerasi	24964500260416340000.000	1	24964500260416340000.000	2.480	.122
Cahaya	25256016666666700000.000	1	25256016666666700000.000	2.509	.120
Hari	5414619676757800000000.000	11	492238152432527000000.000	48.891	.000
Aerasi * Cahaya	26969050065103740000.000	1	26969050065103740000.000	2.679	.108
Aerasi * Hari	608732991927089000000.000	11	55339362902462600000.000	5.497	.000
Cahaya * Hari	172257413020833200000.000	11	15659764820075740000.000	1.555	.143
Error	483263100781250000000.000	48	10067981266276040000.000		
Total	1203990506250000000000.000	96			
Corrected Total	7092705393164060000000.000	95			

a R Squared = .932 (Adjusted R Squared = .865)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 13. Hasil uji Beda Nyata Jujur densitas sel bakteri pereduksi nitrat dalam kultur campuran

Tabel 12. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur densitas sel bakteri pereduksi nitrat (sel/mL) dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Densitas Sel (sel/mL)							
	aerasi				tanpa aerasi			
1	200000000	a	600000000	a	200000000	a	300000000	a
2	600000000	a	900000000	a	600000000	a	800000000	a
3	2000000000	a	2000000000	a	1000000000	a	1000000000	a
4	1000000000	a	2000000000	a	1000000000	a	2000000000	a
5	2000000000	a	2000000000	a	2000000000	a	2000000000	a
6	3000000000	ab	3000000000	ab	3000000000	ab	2000000000	ab
7	6000000000	abc	5000000000	ab	3000000000	ab	3000000000	ab
8	10000000000	abcde	7000000000	abcd	5000000000	ab	4000000000	ab
9	10000000000	abcde	20000000000	bcdef	30000000000	f	20000000000	ef
10	20000000000	bcdef	20000000000	cdef	40000000000	g	20000000000	def
11	20000000000	bcdef	20000000000	bcdef	10000000000	abcdef	10000000000	abcdef
12	10000000000	abcde	9000000000	abcde	10000000000	abcde	10000000000	abcde

Keterangan:

- huruf kecil yang sama di belakang nilai rata-rata pada baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji BNJ pada tingkat signifikansi 5%

Lampiran 14. Analisis Ragam kecepatan reduksi nitrat dalam kultur

Tabel 13. Hasil Analisis Ragam kecepatan reduksi nitrat dalam kultur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.187(a)	11	.108	.258	.991
Intercept	118.574	1	118.574	283.471	.000
Aerasi	.039	1	.039	.093	.762
Cahaya	.096	1	.096	.229	.634
Inokulum	.218	2	.109	.261	.772
Aerasi * Cahaya	.285	1	.285	.680	.413
Aerasi * Inokulum	.011	2	.006	.013	.987
Cahaya * Inokulum	.182	2	.091	.217	.805
Aerasi * Cahaya * Inokulum	.357	2	.179	.427	.654
Error	25.097	60	.418		
Total	144.858	72			
Corrected Total	26.285	71			

R Squared = .045 (Adjusted R Squared = -.130)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 15. Analisis Ragam konsentrasi nitrat dalam kultur

Tabel 14. Hasil Analisis Ragam konsentrasi nitrat dalam kultur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5917.980(a)	47	125.914	365.122	.000
Intercept	4869.826	1	4869.826	14121.341	.000
Aerasi	2.117	1	2.117	6.140	.017
Cahaya	.130	1	.130	.377	.542
Inokulum	38.861	2	19.430	56.343	.000
Hari	5616.931	3	1872.310	5429.256	.000
Aerasi * Cahaya	8.108	1	8.108	23.511	.000
Aerasi * Inokulum	2.739	2	1.370	3.972	.025
Cahaya * Inokulum	.083	2	.042	.120	.887
Aerasi * Cahaya * Inokulum	1.497	2	.749	2.171	.125
Aerasi * Hari	7.436	3	2.479	7.188	.000
Cahaya * Hari	.105	3	.035	.101	.959
Aerasi * Cahaya * Hari	4.250	3	1.417	4.108	.011
Inokulum * Hari	212.572	6	35.429	102.735	.000
Aerasi * Inokulum * Hari	11.006	6	1.834	5.319	.000
Cahaya * Inokulum * Hari	1.430	6	.238	.691	.658
Error	16.553	48	.345		
Total	10804.358	96			
Corrected Total	5934.533	95			

R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .994)

Keterangan: berbeda nyata (p<0,05)

Lampiran 16. Hasil uji Beda Nyata Jujur konsentrasi nitrat dalam kultur

Tabel 15. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur konsentrasi nitrat (mg/L) dalam kultur tunggal *Microcystis* dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Konsentrasi nitrat (mg/L)							
	aerasi				tanpa aerasi			
0	11.02	l	11.02	l	11.02	l	11.02	l
5	6.2445	i	9.3125	k	8.886	j	6.7195	ij
9	0.379	a	1.295	abcde	1.476	abcde	0.702	ab
13	4.231	fghi	4.396	ghi	1.199	abcde	1.094	abcde

Tabel 16. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur konsentrasi nitrat (mg/L) dalam kultur tunggal bakteri pereduksi nitrat dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Konsentrasi nitrat (mg/L)							
	aerasi				tanpa aerasi			
0	11.02	l	11.02	l	11.02	l	11.02	l
5	1.561	abcde	2.0565	abcdefg	8.886	abcde	6.7195	abcd
9	2.635	abcdefgh	3.551	efgh	1.476	hi	0.702	cdefgh
13	2.485	abcdefgh	2.579	abcdefgh	1.199	abcdefgh	1.094	defgh

Tabel 17. Hasil penghitungan uji Beda Nyata Jujur konsentrasi nitrat (mg/L) dalam kultur campuran dengan variasi intensitas cahaya dan aerasi

Hari	Konsentrasi nitrat (mg/L)							
	aerasi				tanpa aerasi			
0	11.02	1	11.02	1	11.02	1	11.02	1
5	6.2445	abcde	9.3125	abcde	8.886	abcde	6.7195	abc
9	0.379	abcde	1.295	abcdefgh	1.476	abcdef	0.702	abcde
13	4.231	abcdef	4.396	defgh	1.199	bcdefgh	1.094	abcde

Keterangan:

- huruf kecil yang sama di belakang nilai rata-rata pada baris atau kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata berdasarkan uji BNJ pada tingkat signifikansi 5%

Lampiran 17. Nilai Keterandalan (R^2) dan persamaan regresi densitas sel *Microcystis* spp. terhadap konsentrasi nitrat

Tabel 18. Hasil penghitungan nilai keterandalan (R^2) dan persamaan regresi penurunan densitas sel *Microcystis* spp. (y) terhadap penurunan konsentrasi nitrat (x).

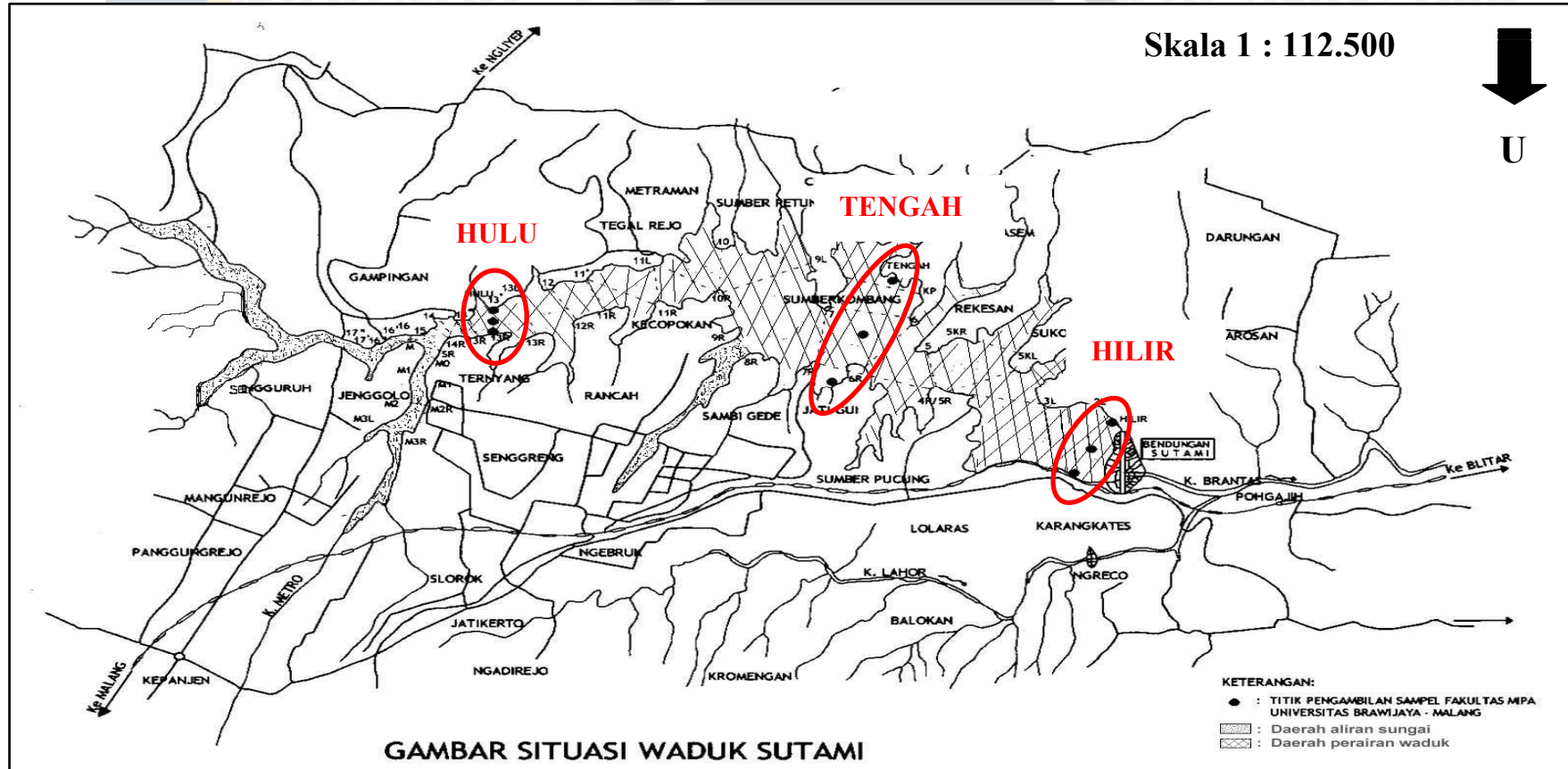
Kultur	Perlakuan	R^2	Persamaan Regresi
<i>Microcystis</i>	aerasi, 2-3 klux	0.7961	$y = 3E+06e^{-0.3102x}$
<i>Microcystis</i>	aerasi, 8-9 klux	0.3773	$y = 3E+06e^{-0.3102x}$
<i>Microcystis</i>	tanpa aerasi, 2-3 klux	0.8575	$y = 6E+06e^{-0.3495x}$
<i>Microcystis</i>	tanpa aerasi, 8-9 klux	0.8479	$y = 6E+06e^{-0.3664x}$
Campuran	aerasi, 2-3 klux	0.7608	$y = 684767e^{-0.2331x}$
Campuran	aerasi, 8-9 klux	0.9177	$y = 1E+06e^{-0.2865x}$
Campuran	tanpa aerasi, 2-3 klux	0.9009	$y = 1E+06e^{-0.2865x}$
Campuran	tanpa aerasi, 8-9 klux	0.7001	$y = 2E+10e^{-0.4903x}$

Lampiran 18. Nilai keterandalan (R^2) dan persamaan regresi densitas sel konsorsium bakteri pereduksi nitrat terhadap konsentrasi nitrat

Tabel 19. Hasil penghitungan nilai keterandalan (R^2) dan persamaan regresi penurunan densitas sel konsorsium bakteri pereduksi nitrat (y) terhadap penurunan konsentrasi nitrat (x).

Kultur	Perlakuan	R^2	Persamaan Regresi
Bakteri	aerasi, 2-3 klux	0.771	$y = 1E+10e^{-0.4785x}$
Bakteri	aerasi, 8-9 klux	0.9253	$y = 3E+10e^{-0.5261x}$
Bakteri	tanpa aerasi, 2-3 klux	0.7383	$y = 3E+10e^{-0.5107x}$
Bakteri	tanpa aerasi, 8-9 klux	0.6792	$y = 2E+10e^{-0.4803x}$
Campuran	aerasi, 2-3 klux	0.8074	$y = 1E+10e^{-0.4789x}$
Campuran	aerasi, 8-9 klux	0.7668	$y = 2E+10e^{-0.4868x}$
Campuran	tanpa aerasi, 2-3 klux	0.8031	$y = 2E+10e^{-0.4903x}$
Campuran	tanpa aerasi, 8-9 klux	0.8344	$y = 1E+10e^{-0.4675x}$

Lampiran 19. Peta lokasi Waduk Sutami (Samino dan Retnanigdyah, 2004).



Gambar 2. Peta lokasi Waduk Sutami