

**PENGARUH KONSENTRASI NITRAT DAN KONSENTRASI ISOLAT SEDIMEN
KOLAM IKAN LELE (*CLARIAS SP.*) PADA PROSES DENITRIFIKASI**

***THE EFFECT OF NITRATE CONCENTRATION AND ISOLATE CONCENTRATION
ON CATFISH PONDS SEDIMENT (*CLARIAS SP.*) IN DENITRIFICATION PROCESS***

Endang Sukara¹, Hanies Ambarsari², Andi Hartono³

¹Corresponding author : Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Hayati, Universitas Surya

²Corresponding author : Pusat Teknologi Lingkungan (PTL) BPPT, Gedung 820 Geostech Puspiptek Serpong,
Tangerang Selatan, Banten 15314. Email : hanies.ambarsari@bppt.go.id

³Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Hayati, Universitas Surya
Gedung *Great Western Resort* Lantai 1, Jl. MH. Thamrin KM 2,7 Kebon Nanas, Tangerang, Banten 15143,
Indonesia
Email : and_2601@yahoo.com

ABSTRACT

Excessive nitrate content in an aquatic ecosystem is one of the problems in efforts to improve catfish culture. Therefore, the process of reducing nitrates in the sediment of catfish ponds is very important. Denitrific bacteria were isolated from catfish pond sediments using selective medium. For this purpose, Central Composite Design (CCD) is used to design research. Denitrification bacteria found in catfish pond sediments were isolated using selective medium. For research purposes, this bacterium is activated by re-culturing it in a nitrate activation medium. Bacteria from activation are used for inoculation purposes. Nitrate concentration and isolate concentration were used as independent variables for research using the Central Composite Design (CCD) design. Two types of isolates A and B were used in this study. ANOVA analysis results showed that only one isolate, namely isolate A which produced the best model. Isolate A affects the rate of nitrate reduction even though the nitrate content is high. From the results of regression analysis, the optimum nitrate concentration for nitrate reduction and nitrite production was 55.3 ppm and the isolate concentration was 4.57mL per L.

Keywords: Denitrification, Sediment, Nitrate, Isolate, CCD

ABSTRAK

Kadar nitrat yang berlebih pada suatu ekosistem perairan menjadi salah satu masalah dalam upaya meningkatkan hasil budidaya ikan lele. Oleh karenanya, proses reduksi nitrat dalam sedimen kolam ikan lele sangat penting. Bakteri denitrifikan diisolasi dari sedimen kolam ikan lele dengan menggunakan medium selektif. Untuk keperluan ini, Central Composite Design (CCD) dipakai untuk merancang penelitiannya. Bakteri denitrifikasi yang terdapat pada sedimen kolam ikan lele diisolasi dengan menggunakan medium selektif. Untuk keperluan penelitian, bakteri ini diaktivasi dengan cara mengkulturkannya kembali dalam medium aktivasi nitrat. Bakteri dari hasil aktivasi dipakai untuk keperluan inokulasi. Konsentrasi nitrat dan konsentrasi isolat digunakan sebagai variabel bebas untuk penelitian dengan menggunakan rancangan Central Composite Design (CCD). Dua jenis isolat A dan B dipakai dalam penelitian ini. Hasil analisis ANOVA, menunjukkan bahwa hanya satu isolat, yaitu isolat A yang menghasilkan model terbaik. Isolat A mempengaruhi laju reduksi nitrat sekalipun kadar nitratnya tinggi. Dari hasil analisis regresi, konsentrasi nitrat optimum untuk proses reduksi nitrat dan produksi nitrit adalah 55,3 ppm dan konsentrasi isolat sebesar 4,57mL per L.

Kata Kunci : Denitrifikasi, Sedimen, Nitrat, Isolat, CCD

PENDAHULUAN

Negara Indonesia merupakan negara kepulauan yang dikelilingi oleh perairan laut dan juga perairan tawar. usaha di bidang perikanan memiliki potensi yang menjanjikan.

Perikanan merupakan kegiatan yang teroganisir yang berhubungan dengan pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya ikan serta lingkungan. Usaha perikanan dapat dibedakan menjadi dua yaitu penangkapan di laut (*capture*

fisheries) dan perikanan budidaya di tambak (*aquaculture*). selain itu usaha budidaya di tambak bermanfaat untuk memenuhi kebutuhan protein pada masyarakat. Kepulauan Jawa tercatat sebagai pemasok ikan lele terbesar di Indonesia, sebesar 49%. Kabupaten sukabumi merupakan salah satu lokasi budidaya ikan air tawar yang terletak di Jawa Barat (Departemen Kelautan dan Perikanan RI, 2007).

Beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam budidaya ikan adalah suhu, salinitas, kesadahan, oksigen terlarut, pH, karbondioksida, asam sulfat, nitrogen, benda padat dan bahan cemaran yang bersifat patogen atau toksik. Oksigen terlarut dan senyawa nitrogen merupakan faktor penting yang harus diperhatikan, dalam budidaya ikan (Abimelech, 2008). Peningkatan produksi dengan penekanan biaya, padat penebaran tinggi, tempat terbatas menyebabkan berkurangnya oksigen terlarut dan tertimbunnya senyawa nitrogen, sehingga pengontrolan kualitas air menjadi kunci untuk kebersihan budidaya ikan (Fajar *et.al.*, 2013).

Budidaya ikan secara intensif dengan padat penebaran dan jumlah pakan tinggi, dapat menyebabkan penumpukan bahan organik dan an-organik yang berasal dari sisa pakan dan ekskresi metabolisme ikan dalam wadah budidaya (Djokosetiyanto *et.al.*, 2006) dan mengendap di dasar kolam. Hal ini berdampak pada penurunan kualitas air budidaya karena meningkatnya senyawa nitrogen (amonia, nitrit, dan nitrat) sehingga mengganggu keseimbangan siklus nitrogen seperti nitrifikasi dan denitrifikasi yang dapat menyebabkan keracunan dan mortalitas ikan. Senyawa nitrogen di perairan dapat dibedakan menjadi organik dan anorganik (Effendi, 2003).

Nitrogen organik merupakan hasil dekomposisi hewan dan tumbuhan yang telah mati. Nitrogen an-organik dapat dari kegiatan pertanian seperti pemakaian pupuk yang tidak efektif dan limbah industri yang mengalirkan nitrogen ke dalam sistem perairan seperti ammonia, nitrit dan nitrat yang bersifat toksik bagi organisme perairan. Di alam, terdapat gas Nitrogen sebesar 76%. Sehingga senyawa Nitrogen dalam dikategorikan sebagai senyawa yang sangat banyak (Herlambang & Marsidi, 2003). Nitrogen yang berada di perairan dapat terjadi proses oksidasi gas nitrogen (N_2) dan direduksi kembali yang disebut denitrifikasi (Zumft, 1997). Amonia, sebesar 50%-60% merupakan hasil dari sisa

metabolisme hewan yang hidup di air. Amonia didapat dari urea yang dikarenakan bereaksinya air dengan gugusan amino (Mayunar, 1990). Ammoniak dapat dioksidasi membentuk nitrit yang akan teroksidasi lagi menjadi nitrat. Ketika terjadi reduksi nitrat dapat kembali berubah menjadi nitrit yang ketika direduksi kembali dapat menjadi ammonia atau nitrogen monoksida. Seluruh aktivitas siklus ini dapat terjadi di udara dan di dalam sedimen (Harahap, 2017).

Denitrifikasi merupakan proses pendegradasi senyawa nitrogen dalam kondisi tidak ada oksigen atau anaerob. Proses denitrifikasi mampu memproduksi N_2O yang termasuk dalam gas rumah kaca. Gas ini mampu memberikan kondisi pemanasan global dan rusaknya lapisan ozon di atmosfer (Cicerone, 1989). Denitrifikasi merupakan konversi biologis senyawa nitrat (NO_3^-) menjadi nitrit (NO_2^-), nitrous oksida (N_2O) dan molekul nitrogen (N_2). Denitrifikasi dijalankan secara teratur dan bertahap oleh beberapa bakteri fakultatif anaerob (Pinar *et.al.*, 1997). Bakteri denitrifikasi memanfaatkan nitrat sebagai penerima elektron terakhir untuk memperoleh energi pada kondisi anaerob. Bakteri denitrifikasi tersebar dalam kelompok bakteri anaerob fakultatif dan anaerob obligat. Bakteri yang hidup dalam lingkungan estuari antara lain *Alteromonas*, *Pseudomonas*, *Erythrobacter*, *Alcaligenes*, dan *Aquaspirillum* (Zumft, 1992). Menurut Teixeira dan Olivera (2002), berdasarkan sumber karbonnya, bakteri denitrifikasi bersifat heterotrof yang memerlukan karbon organik seperti asam asetat, gliserol, dan glukosa untuk pertumbuhannya. Karbon dibutuhkan sebagai donor elektron dalam kondisi yang rendah oksigen atau anaerob. Ketika kondisi perairan atau sedimen tambak kaya nitrat, namun miskin sumber karbon, maka dominasi aktivitas kelompok bakteri denitrifikasi akan terlihat. Sebaliknya, jika pada perairan dan sedimen sumber karbon tinggi maka bakteri fermentatif akan lebih dominan. Menurut Zumft (1997) kemampuan bakteri dalam memanfaatkan berbagai sumber karbon yang tersedia sangat berpengaruh terhadap kemampuan bakteri tersebut bertahan hidup dalam lingkungannya dan senyawa nitrit dapat terakumulasi sebagai hasil proses denitrifikasi sebagai akibat reduksi nitrat menjadi nitrit.

METODE PENELITIAN

Waktu Penelitian telah dilakukan dari Januari – Juni 2018. Penelitian dilakukan di laboratorium Balai Teknologi Lingkungan (BTL) – BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi), Puspitek Serpong, Kota Tangerang Selatan, Banten.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi botol plastik hitam bervolume 1 L, solder, spectrophotometer UV-VIS, alat pengaduk, vortex, kuvet, labu ukur, gelas biker, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, labu Erlenmeyer, pembakar bunsen, termometer, pengukur pH / pH meter, neraca analitik, microwave, cawan petri, jarum ose, selang kecil, balon, lem akuarium, dan autoklaf.

Bahan kimia yang dipakai meliputi KNO_3 , sukrosa, asam salisilat, asam sulfat, akuades, $CHCl_3$, NaOH, sulfanilimida, Alkohol 70%, $NaNO_2$, N(1Naphthyl)-ethylen diamine dihidroklorida, HCl, pepton, potassium nitrat, Alkohol 96%, nutrient agar, nutrient broth, NaCl, beef extract, H_2SO_4 .

Pengambilan Sampel Sedimen Kolam Ikan Lele

Sedimen kolam ikan lele yang dipakai dalam penelitian diambil dari kolam lele, Peternakan Ikan Lele Natura yang berada di perkampungan di wilayah Puspitek Serpong, Tangerang Selatan, Banten. Sedimen berumur enam puluh hari setelah benih ditebar yang dikarenakan ikan lele berumur enam puluh hari siap untuk di panen.

Mikroba Sedimen Kolam Ikan Lele

Mikroba yang dipakai dalam penelitian ini adalah mikroba denitrifikasi yang diisolasi dari sedimen kolam ikan lele yang telah diaklimatisasi dengan menggunakan kadar nitrat tinggi. Isolasi mikroba denitrifikasi dilakukan pada medium selektif nitrat.

Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan suatu upaya penyesuaian fisiologis atau adaptasi dari suatu organisme terhadap suatu lingkungan baru yang akan dimasukinya (Romli *et.al.*, 2009). Proses aklimatisasi dalam penelitian ini dilakukan dalam kondisi anaerob (tidak ada oksigen) dan kadar nitrat tinggi agar mikroba denitrifikasi yang bisa hidup dalam kadar nitrat tinggi dapat tumbuh (Sawyer *et.al.*, 2008). Reaktor yang

digunakan memiliki kapasitas satu liter. Sedimen tambak ikan lele yang telah diambil selanjutnya dimasukkan kedalam reaktor untuk dilakukan proses aklimatisasi. Komposisi sedimen merupakan variabel bebas yang akan digunakan sesuai dengan rancangan percobaan yaitu 50 gram untuk kontrol 1 dan 2 (K1 dan K2), 25 gram untuk reaktor perlakuan 1 (P1 dan PP1), 50 gram untuk perlakuan 2 (P2 dan PP2), dan 75 gram untuk perlakuan 3 (P3 dan PP3). Perlakuan kontrol (-) adalah perlakuan tanpa penambahan sedimen kolam ikan lele sedangkan kontrol (+) adalah perlakuan tanpa penambahan nitrat. Menurut Shitandi, *et.al.*, (2007) gula merupakan sumber karbon dan nutrisi yang baik bagi pertumbuhan mikroba sehingga dalam penelitian ini variabel kontrol pertama yang divariasikan adalah gula. Setiap perlakuan ditambahkan gula 0,2% dari jumlah total kapasitas reaktor atau sebanyak 2 gram dan ada perlakuan yang tidak ditambahkan gula. Setiap gula yang telah di kontrol dicampurkan ke dalam reaktor. Nitrat yang telah dihitung selanjutnya dimasukkan kedalam reaktor untuk dilakukan proses aklimatisasi dengan membuat mikroba beradaptasi dengan kondisi tinggi nitrat. Komposisi nitrat didapatkan dengan menggunakan perbandingan mol ($n=n$) antara potassium nitrat (KNO_3) dengan nitrat (NO_3^-) seperti pada rumus berikut (Sidauruk, 2006):

$$nKNO_3 = nNO_3^-$$

Nitrat merupakan variabel kontrol kedua yang ditetapkan, nitrat yang dibutuhkan sebanyak 75 ppm dari KNO_3 . Menurut Meutia (2013) 1 ppm sama dengan 1 mg/L, dalam rumus tersebut dapat diartikan nitrat 75 ppm sama dengan 75 mg/L.

Angka gram yang didapatkan dari hasil perhitungan tersebut ditambahkan ke dalam setiap reaktor. Lalu dilarutkan dengan menggunakan akuades hingga mencapai batas 1L pada reaktor. Setiap perlakuan akan dilakukan secara triplo sehingga terdapat 20 reaktor.

Isolasi Mikroba Pada Sedimen Kolam Ikan Lele

Untuk mendapatkan bakteri denitrifikasi yang diinginkan, proses isolasi bakteri denitrifikasi dilakukan dengan menggunakan sampel yang diambil dari kultur aklimatisasi terseleksi. Proses seleksi kultur aklimatisasi sebagai sumber bakteri denitrifikasi dilakukan dengan melihat proses denitrifikasi yang

ditunjukkan dari akumulasi gas yang terbentuk yang tertangkap dalam balon penampung gas. Proses isolasi mikroba denitrifikasi dilakukan di medium selektif nitrat (*Nitrate Broth*).

Media Selektif Nitrat

Medium selektif nitrat dibuat dengan menggunakan 20 botol fermentor berisi berbagai variasi masa sedimen kolam ikan lele yang keseluruhannya diberi penambahan nitrat sebesar 75 ppm agar terkondisikan dengan tinggi nitrat. Kultur ini diinkubasi secara anaerobik selama sepuluh hari untuk memberikan kesempatan kepada bakteri denitrifikasi untuk beradaptasi dan tumbuh. Proses ini dilakukan agar yang didapatkan adalah bakteri denitrifikasi yang diinginkan.

Isolasi dan Penyiapan Inokulum

Proses isolasi dilakukan dengan menggunakan sampel terseleksi yang memiliki aktivitas denitrifikasi yang tinggi. Proses denitrifikasi yang tinggi dilihat dari berkembangnya diameter balon penampung gas. Untuk keperluan isolasi, disiapkan media selektif agar berisi pepton 5 g/L, beef extract 3 g/L, potassium sulfate 5 g/L, dan agar 15 g/L dalam Erlenmeyer satu liter. Sementara itu, sampel terlebih dahulu diencerkan sebanyak 1x, 10x, 100x, dan 1000x. Pengenceran dimaksudkan untuk dapat melihat koloni bakteri denitrifikasi tunggal sehingga memudahkan proses isolasi. Sebanyak 1 mL sampel hasil pengenceran dituangkan ke dalam cawan petri atau disebut dengan nama pour plate. Dalam cawan petri ini kemudian dituangkan medium agar yang masih mencair (suhu sekitar 45 C),

Campuran sampel dan agar digoyang sehingga tercampur merata. Medium diinkubasi dalam kondisi anaerob di dalam anaerobic jar yang ditutup rapat. Untuk membuktikan anaerobic jar dalam keadaan anaerob, lilin dinyalakan dan dimasukkan ke dalam anaerobic jar sebelum ditutup rapat. Nyala api lilin mati dijadikan indikator bahwa kondisi anaerobic jar sudah sudah tidak mengandung oksigen. Kondisi ini juga dipakai sebagai indikator bahwa anaerobic jar sudah dalam keadaan anaerobic, Koloni mikroba denitrifikasi tunggal yang tumbuh dalam medium ini diambil dengan jarum ose dan dipindahkan ke dalam media aktivasi.

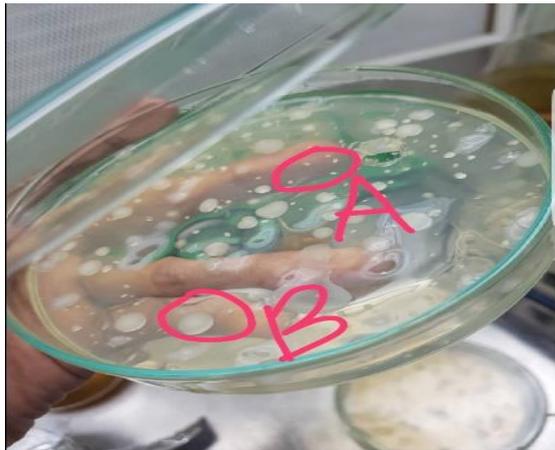
Media Aktivasi Nitrat

Setelah dikultur selama dua hari di media selektif kaya nitrat, isolat bakteri denitrifikasi yang diinginkan dipindahkan ke dalam medium aktivasi nitrat (*nitrate broth*) berisi pepton 5 g/L beef extract 3 gram, dan potassium sulfate 5 gram dalam erlenmeyer 250mL. Bakteri ini diinkubasi selama tujuh hari di dalam media aktivasi nitrat (*nitrate broth*). Menurut Fisiana (2012) dengan menggunakan medium aktivasi ini jumlah populasi bakteri denitrifikasi dapat dengan mudah dihitung dengan mengukur nilai absorbansi pada spectrophotometer panjang gelombang 600 nm. Dengan panjang gelombang 600 nm sel pada bakteri tidak akan mati ataupun bermutasi kecil hingga menengah pada bakteri yang berpontesi mengubah atau menghancurkan gen yang diinginkan karena terlalu banyak sinar UV. Aktivasi berguna dalam memperbanyak isolat hasil isolasi untuk percobaan lebih lanjut. Proses aktivasi dilakukan dengan memasukan isolat ke dalam 250 mL larutan media aktivasi nitrat dalam Erlenmeyer 250 mL. Kultur ditutup dengan menggunakan plastic wrap dan dibungkus kembali dengan aluminium foil. Dimasukkan kembali ke dalam anaerobic jar lalu ditutup hingga rapat. Untuk menjaga kondisi anaerob dapat memasukkan lilin ke dalam anaerobic jar sebelum ditutup rapat agar oksigen yang ada di dalam anaerobic jar dapat habis digunakan untuk pembakaran lilin sehingga suasana anaerob dapat terjaga.

Desain Perlakuan dengan Metode CCD (Central Composite Design)

Desain perlakuan sangat penting dalam mengetahui batas-batas variasi suatu variabel bebas yang digunakan untuk menganalisis optimasi dengan metode CCD. Dalam penelitian ini, batas variasi rasio konsentrasi isolat adalah 2,18 – 7,82. Dimana 2,18 adalah rasio pada titik aksial minus ($-\alpha$), 3 untuk titik faktorial minus (-1), 5 untuk titik center (0), 7 untuk titik faktorial positif (+1), dan 7,82 untuk titik aksial positif ($+\alpha$). Sedangkan untuk batas variasi rasio konsentrasi nitrat yang dilakukan adalah 45,9 – 74,1. Dimana 45,9 adalah rasio pada titik aksial minus ($-\alpha$), 50 untuk titik faktorial minus (-1), 60 untuk titik center (0), 70 untuk titik faktorial positif (+1), dan 74,1 untuk titik aksial positif ($+\alpha$).

HASIL PENELITIAN



Gambar 1. Koloni Bakteri A dan Bakteri B.

Setelah aklimatisasi selama sepuluh hari secara anaerob dapat diperkirakan adanya bakteri denitrifikasi yang tumbuh dan hidup pada kondisi tinggi nitrat. Hasil dari aklimatisasi berguna untuk mendapatkan bakteri yang diinginkan, langkah terbaik adalah dengan mengisolasi bakteri tersebut didalam cawan petri dengan metode pour plate pada media selektif nitrat agar dapat diseleksi koloni-koloni bakteri yang tumbuh. Cawan petri disimpan di dalam anaerobic jar yang dapat membantu menjadi kondisi anaerob. Semakin banyak jumlah pengenceran akan semakin terlihat koloni-koloni bakteri anaerob yang tumbuh. Tujuan digunakannya media selektif agar didapatnya bakteri yang dapat tumbuh di dalam kondisi anaerob dan tinggi nitrat. Tujuan digunakannya media selektif nitrat adalah untuk membuktikan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media adalah bakteri yang tahan terhadap lingkungan tinggi nitrat (Atlas & Bartha, 1993). Lama kultur yang baik dalam media selektif nitrat adalah 2-4 hari (Widiyanto, 2005). Setelah dilakukan kultur selama 2-4 hari ditemukan adanya dua koloni bakteri yang tumbuh yang selanjutnya disebut dengan bakteri A dan bakteri B.

Media aktivasi sendiri adalah media selektif yang sama dengan media yang digunakan untuk isolasi, namun media aktivasi berbentuk cair (broth). Didapatkannya bakteri A dan bakteri B membuktikan bahwa adanya bakteri yang dapat bertahan di lingkungan tinggi nitrat. Kedua isolat ini kemudian dikultur di media aktivasi untuk diperbanyak konsentrasinya. Kultur dilakukan di dalam erlenmeyer 250mL. Bakteri yang tumbuh

dalam media aktivasi dapat diukur menggunakan absorbansi dengan panjang gelombang 600 nm (Romli *et.al.*, 2009). Blank yang digunakan adalah media aktivasi tanpa ditambahkan isolat. Hasil absorbansi pada media aktivasi setelah diinkubasi selama tujuh hari sebesar 0,6653.

Pengaruh Konsentrasi Isolat dan Konsentrasi Nitrat terhadap Reduksi Nitrat dan Peningkatan Nitrit

Selama waktu kultur tujuh hari pada media aktivasi nitrat tahap selanjutnya dengan melakukan optimasi dengan menggunakan metode CCD (Central Composite Design). Didapatkannya nilai yang kemudian dihitung nilai konsentrasi reduksi nitrat dan produksi nitrit pada spektrofotometer menghasilkan nilai yang selanjutnya akan dianalisis pada software minitab18 yang kemudian akan dianalisis berdasarkan hasil ANOVA, *Pareto Chart*, *Normal Probability Plot*, *Countour Plot*, *Surface Plot*, dan *Optimization Plot*.

Hasil ANOVA hubungan variabel bebas terhadap reduksi nitrat dan produksi nitrit pada isolat A

Response Surface Regression: Nitrat A versus Nitrat (ppm); Isolat (mL)

Analysis of Variance					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	5	18,4608	3,6922	3,11	0,100
Linear	2	2,1467	1,0733	0,90	0,454
Nitrat (ppm)	1	2,1076	2,1076	1,78	0,231
Isolat (mL)	1	0,0723	0,0723	0,06	0,813
Square	2	13,6276	6,8138	5,74	0,040
Nitrat (ppm)*Nitrat (ppm)	1	4,2786	4,2786	3,60	0,106
Isolat (mL)*Isolat (mL)	1	11,5965	11,5965	9,77	0,020
2-Way Interaction	1	3,4596	3,4596	2,91	0,139
Nitrat (ppm)*Isolat (mL)	1	3,4596	3,4596	2,91	0,139
Error	6	7,1236	1,1873		
Lack-of-Fit	3	0,7746	0,2582	0,12	0,941
Pure Error	3	6,3490	2,1163		
Total	11	25,5844			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1,08962	72,16%	48,95%	34,35%

Response Surface Regression: Nitrit A versus Nitrat (ppm); Isolat (mL)

Analysis of Variance					
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	5	0,011792	0,002358	7,97	0,013
Linear	2	0,000104	0,000052	0,18	0,843
Nitrat (ppm)	1	0,000104	0,000104	0,35	0,575
Isolat (mL)	1	0,000012	0,000012	0,04	0,847
Square	2	0,008201	0,004101	13,86	0,006
Nitrat (ppm)*Nitrat (ppm)	1	0,000715	0,000715	2,42	0,171
Isolat (mL)*Isolat (mL)	1	0,008117	0,008117	27,44	0,002
2-Way Interaction	1	0,003025	0,003025	10,22	0,019
Nitrat (ppm)*Isolat (mL)	1	0,003025	0,003025	10,22	0,019
Error	6	0,001775	0,000296		
Lack-of-Fit	3	0,000300	0,000100	0,20	0,888
Pure Error	3	0,001475	0,000492		
Total	11	0,013567			

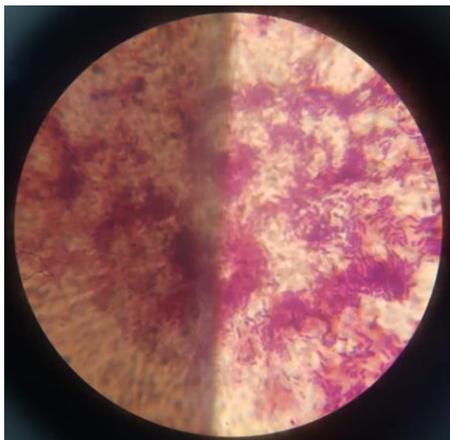
Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0172003	86,92%	76,01%	64,94%

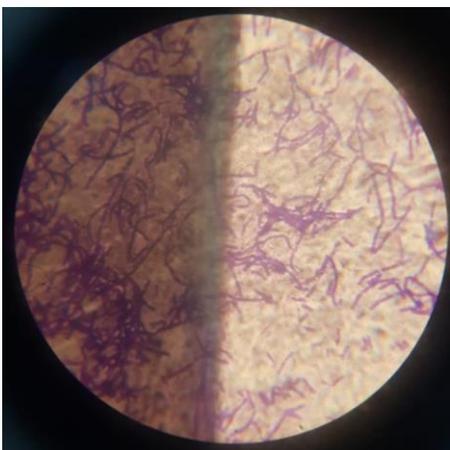
Gambar 2. Hasil ANOVA

Model ini dapat diterima apabila nilai p-value $\leq 0,05$. Dari Gambar 2. didapatkan nilai lack of fit secara berturut-turut sebesar 0,941 dan 0,888 yang mempresentasikan bahwa model ANOVA yang dihasilkan melewati asas

kecocokan. Nilai lack of fit bersifat tidak signifikan, lack of fit dapat digunakan apabila nilainya $\geq 0,5$. Lack of fit merupakan suatu penyimpangan atau ketidaktepatan variabel bebas terhadap suatu model (Khan, 2013). Nilai R^2 , adj- R^2 dan pred- R^2 penting untuk diperhatikan. Nilai-nilai tersebut memberikan ekspektasi ketepatan suatu variabel bebas terhadap model. Model yang bagus mempunyai nilai R^2 minimal sebesar 0.8 atau 80%. Nilai R^2 semakin mendekati angka 1 maka semakin bagus model yang dihasilkan (Carley, 2004). Dari Tabel 4.3 dihasilkan nilai R^2 dari model ANOVA sebesar 72,16% yang dimana sudah mendekati angka 1 walaupun masih dibawah 80%. Hal ini model dapat digunakan akan tetapi model masih dapat dipengaruhi oleh variabel bebas lainnya. Pada Tabel 4.4 dihasilkan nilai R^2 dari model ANOVA sebesar 86,92% yang dimana nilai melewati 80% dan dapat diartikan bahwa variabel bebas sangat mempengaruhi suatu model.



Gambar 3. Bakteri Isolat A



Gambar 4. Bakteri Isolat B

Karakteristik Bakteri Berdasarkan Morfologi

Hasil Isolasi yang dilakukan pada media selektif nitrat memberikan adanya dua koloni bakteri yang tumbuh dengan bersifat anaerob dan dapat bertahan di lingkungan tinggi nitrat. Kedua koloni yakni bakteri A dan bakteri B dapat dilihat dengan jelas di Lampiran 14. Koloni bakteri A berdasarkan morfologinya memiliki bentuk yang bulat dan berwarna putih susu, untuk koloni bakteri B memiliki bentuk yang bulat dan berwarna putih keruh (abu-abu). Hasil karakterisasi berikut akan diamati dibawah mikroskop dan perwarnaan gram. Setelah diamati dengan menggunakan mikroskop dapat terlihat pada Lampiran 15 dan 16 yang menjelaskan bahwa bakteri memiliki bentuk batang (monobasil) dan memiliki warna merah muda yang menandakan bakteri A adalah bakteri gram negatif. Bakteri B memiliki bentuk batang yang bergandengan memanjang membentuk rantai (streptobasil) dan memiliki warna ungu yang menandakan bakteri B adalah bakteri gram positif. Menurut Nydia D. (2016) bakteri gram positif memiliki perbedaan dengan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki satu lapisan yaitu peptidoglikan yang lebih tebal apabila dibandingkan dengan bakteri gram negatif oleh sebab itu bakteri dengan gram positif memiliki bentuk yang lebih kaku. Bakteri gram negatif memiliki membran ganda atau disebut membran luar permeabel yang dapat memilih zat-zat tertentu yang dapat masuk ke dalam sel.

KESIMPULAN

Berdasarkan analisa hasil dan data dari penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa, hasil isolasi mendapatkan dua bakteri yang mampu bertahan pada lingkungan tinggi nitrat yaitu isolat A dan isolat B. Hasil isolat A mempengaruhi reduksi nitrat yang dipengaruhi oleh konsentrasi nitrat dan konsentrasi isolat. Untuk isolat B tidak mempengaruhi reduksi nitrat. Bakteri A adalah bakteri yang lebih baik digunakan dalam melakukan reduksi nitrat dan produksi nitrit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur penulis panjatkan kepada Tuhan YME yang telah senantiasa medampingi dan menyertai kelancaran penulisan artikel ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Indah Juwita Sari selaku kepala riset, yang telah meluangkan waktunya untuk memberi

petunjuk, dorongan, saran, dan arahan sejak rencana penelitian hingga penulisan artikel ini selesai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abimelech, Y. 2008. Sustainable land-based aquaculture: rational utilization of water, land and feed. *Mediterranean aquaculture journal* (1):45-55.
- Atlas, R.M., & Bartha, R. 1993. *Microbial Ecology: Fundamental and Applications*. Philippines: Addison-Wesley Publishing Company.
- Carley, K. M., Kamneva, N. Y., & Reminga, J. (2004). *Response Surface Methodology*. CASOS Technical Report, 1-32.
- Cicerone, R., 1989. Analysis of sources and sink of atmospheric nitrous oxide (N₂O). *J. Geophysical Res.* 94, 18265–18271.
- Departemen Kelautan dan Perikanan RI.2007. *Pusat Data dan Informasi Perikanan Jakarta*.
- Djokosetiyanto, D., Sunarma, A., & Widanarni. (2006). Perubahan amonia (NH₃-N) nitrit (NO₂-N) dan nitrat (NO₃-N) pada media pemeliharaan ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) di dalam sistem resirkulasi. *Jurnal Akuakultur Indonesi*, 5(1), 13-20.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumberdaya Hayati dan Lingkungan Perairan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Fajar, B, S. Hastuti, dan Subandiyono. 2013. Performa biofisiologis ikan nila larasati (*Oreochromis nilotikus*) yang dipelihara dengan teknologi biofloc. Universitas Diopngoro.
- Harahap, M. R. (2017). Pengaruh Mikroba dalam Sedimen tambak udang dengan penambahan EM4 terhadap pengolahan air tinggi amonia (NH₃). Tangerang: Universitas Surya.
- Herlambang, A., & Marsidi, R. (2003). PROSES DENITRIFIKASI DENGAN SISTEM BIOFILTER UNTUK PENGOLAHAN AIR LIMBAH YANG MENGANDUNG NITRAT. *J.Tek.Ling. P3TL-BPPT*. 4 (1), 46-55.
- Khan, R. M. (2013). *Problem Solving and Data Analysis using Minitab: A clear and easy guide*. Chennai: John Wiley & Sons, Ltd., Publication
- Mayunar. (1990). Pengendalian senyawa nitrogen pada budidaya ikan dengan sistem resirkulasi. *Oseana*, Volume XV, 43-55.
- Nydia D., Venny. 2016. PERBEDAAN BAKTERI GRAM NEGATIF DAN GRAM POSITIF. Universitas Muhammadiyah. Semarang.
- Pinar, Guadalupe, Duque, E., Haidour, A, Olivia, J.M., Luis, Sanchez-Barbero., Victor, Calvo., Ramos, J.L., 1997. Removal of high concentrations of nitrate from industrial wastewater by bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 2071–2073.
- Romli, Muhammad & Suprihatin. (2009). Beban Pencemaran Limbah Cair Industri Tahu dan Analisis Alternatif Strategi Pengelolaannya. *Jurnal Purifikasi*, 10: 2, 141–154.
- Zumft, W. G. (1997). *Cell Biology and Molecular Basis of Denitrification*. American Society for Microbiology, 533-616.
- Zumft, W.G., 1992. The Denitrifying Prokaryotes, P. 554-582. In A. Balows, Truper H.G., Dworking M., Harder W., and Schleifer K.H. (ed.), *The Prokaryotes*. Springer Verlag, New York.