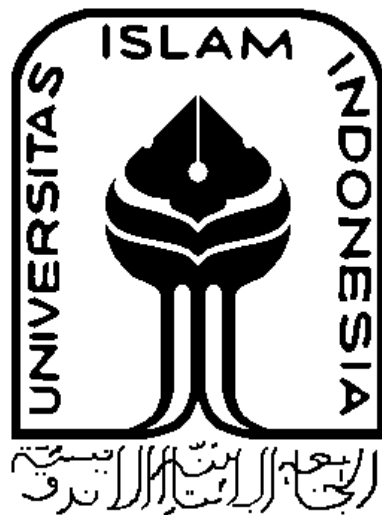


TA/TL/2023/1611

TUGAS AKHIR
IDENTIFIKASI DAN ANALISIS KELIMPAHAN
BAKTERI NITRIFIKASI PADA UNIT RBC DI IPAL
KOMUNAL TIRTO MILI, SLEMAN

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

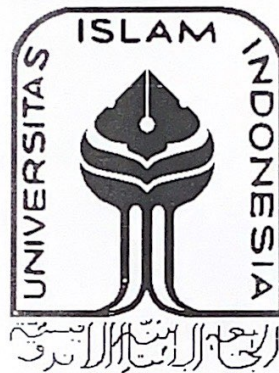


SHEILA WINDA EPRILLIA
19513014

PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2023

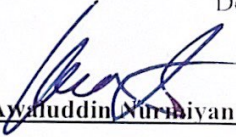
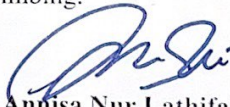
TUGAS AKHIR
IDENTIFIKASI DAN ANALISIS KELIMPAHAN
BAKTERI NITRIFIKASI PADA UNIT RBC DI IPAL
KOMUNAL TIRTO MILI, SLEMAN

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



SHEILA WINDA EPRILLIA
19513014

Disetujui,
Dosen Pembimbing:

 <u>Dr. Eng. Ayanuddin Nurhainanto, S.T.,</u> <u>M.Eng.</u> NIK. 095130403 Tanggal: 20 Juli 2023	 <u>Annisa Nur Lathifah, S.Si,</u> <u>M.Biotech, M.Agr, Ph.D.</u> NIK. 155130505 Tanggal: 29 Juli 2023
---	--


Ketua Prodi Teknik Lingkungan FTSP UII
Any Jujiani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D.
NIK. 045130401
Tanggal: 24 Juli 2023

HALAMAN PENGESAHAN*

**IDENTIFIKASI DAN ANALISIS KELIMPAHAN
BAKTERI NITRIFIKASI PADA UNIT RBC Di IPAL
KOMUNAL TIRTO MILI, SLEMAN**

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

Hari : Jumat
Tanggal : 14 Juli 2022

Disusun Oleh:

SHEILA WINDA EPRILLIA
19513014

Tim Penguji :

Penguji 1 : Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto,
S.T., M.Eng.



()

Penguji 2 : Annisa Nur Lathifah, S.Si, M.Agr.,
M.Biotech, Ph.D.



()

Penguji 3 : Dewi Wulandari, S.Hut., M.Agr., Ph.D.



()

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

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

Yogyakarta, 14 Juli 2023

Yang membuat pernyataan,



Sheila Winda Eprillia

NIM: 19513014

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga tugas akhir ini berhasil diselesaikan. Judul penelitian yang dipilih yaitu Identifikasi dan Analisis Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi pada Unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman yang dilaksanakan sejak Desember 2022. Dalam penyusunan Tugas Akhir ini, ada banyak rintangan yang dilalui penulis, tetapi atas bantuan semangat, doa, kritik, dan saran yang sangat membangun dari berbagai pihak, *Alhamdulillah* Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Maka dari itu, Penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar besarnya kepada:

1. Allah *subhanahu wa ta'ala* yang senantiasa memberikan kesehatan, dan kekuatan sehingga penulis mampu menyelesaikan laporan ini.
2. Kedua orangtua penulis Bapak Wingmar Harmaen dan Ibu Ida Susilowati serta saudara kandung penulis Shecha Alvania Noorwinda dan Shena Marchelina Winda yang telah selalu memberikan *support* dan doa yang tidak henti-hentinya hingga saat ini.
3. Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng.), Ph.D. selaku Ketua Program Studi Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng. selaku Dosen Pembimbing 1 yang telah memberikan arahan, saran, serta bimbingan hingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan.
5. Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si, M.Biotech, M.Agr, Ph.D. selaku Dosen Pembimbing 2 yang telah sabar pula membimbing, mendukung serta memberikan saran hingga Tugas Akhir ini selesai.
6. Ibu Dewi Wulandari, S.Hut., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Penguji yang telah membantu memberikan saran dan masukan pada Tugas Akhir ini.

7. Teman-teman kelompok TA yang sudah banyak memberikan semangat, membantu, dan memberikan motivasi hingga penyusunan Tugas Akhir ini selesai.
8. Grup Siblings++, Aku dan kamu melawan dunia yang selalu *ready* untuk mendengarkan penulis.
9. Pihak-pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah banyak membantu untuk menyelesaikan Tugas Akhir.

Akhir kata, semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat yang banyak bagi kita semua.

Yogyakarta, 14 Juli 2023

Sheila Winda Eprillia

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

ABSTRAK

SHEILA WINDA EPRILLIA. Identifikasi dan Analisis Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi pada Unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman. Dibimbing oleh Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng. dan Annisa Nur Lathifah, S.Si, M.Biotech, M.Agr, Ph.D.

Penelitian ini dilakukan dengan melihat penyisihan kandungan amonia pada air limbah, karena sifat amonia yang sangat berbahaya bagi lingkungan jika tidak dilakukan pengolahan terlebih dahulu. Proses pengolahan air limbah pada IPAL Komunal Tirto Mili menggunakan unit *Rotating Biological Contactor*, unit ini merupakan sistem pengolahan secara biologis. Tujuan dari penelitian ini untuk mengidentifikasi dan menganalisis kelimpahan bakteri nitrifikasi pada proses penyisihan amonia oleh unit RBC. Pengambilan sampel air limbah dan biofilm yang dilakukan pada IPAL Komunal Tirto Mili menggunakan teknik komposit, pada hari ke-0, 14, dan 28. Kemudian penelitian terhadap sampel tersebut dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, FTSP UII. Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah identifikasi dan kelimpahan dari bakteri nitrifikasi dengan perhitungan sesuai pada SNI 2332.3-2015. Serta data yang menjadi pendukung adalah konsentrasi amonia, konsentrasi nitrit, serta konsentrasi nitrat. Hasil dari penelitian menunjukkan pada IPAL Komunal Tirto Mili terjadi proses nitrifikasi paling optimal terjadi pada hari ke-28 karena konsentrasi nitrat meningkat seiring dengan menurunnya konsentrasi amonia. Identifikasi morfologi bakteri nitrifikasi secara makroskopis yaitu bakteri nitrifikasi berbentuk bulat, serta diamati secara mikroskopis yaitu bersifat gram negatif.

Kata kunci: Bakteri nitrifikasi, Identifikasi, Kelimpahan, IPAL, RBC.

ABSTRACT

SHEILA WINDA EPRILLIA. *Identification and Analysis Abundance of Nitrifying Bacteria in Unit RBC at Tirto Mili Communal WWTP*. Supervised by Dr. Eng. Awaluddin Nurmiyanto, S.T., M.Eng. and Annisa Nur Lathifah, S.Si, M.Biotech, M.Agr, Ph.D.

This research by looking at the elimination of ammonia content in wastewater, because the nature of ammonia which is very harmful for the environment if not treated first. The wastewater treatment process at Tirto Mili Communal WWTP use Rotating Biological Contactor Unit, a biological wastewater treatment system. The purpose of this study was to identify and analyze the diversity of types and abundance of nitrifying bacteria in the ammonia removal process by the RBC unit. Wastewater and biofilm sampling was carried out at the Tirto Mili Communal WWTP using the composite technique, within time of days 0th, 14th, and 28th. Then the research on these samples was carried out at the Biotechnology Laboratory of FTSP UII. The data obtained from this study are identify and analysis abundance of nitrifying bacteria with calculations according to SNI 2332.3-2015. As well as supporting data are, ammonia concentration, nitrite concentration, and nitrate concentration. The results of the study showed that the Tirto Mili Communal WWTP had the most optimal nitrification process on the 28th day because the nitrate concentration increased along with the decrease in ammonia concentration. If identified macroscopically, it can be known that nitrifying bacteria are round in shape, also if identified microscopically, nitrifying bacteria is gram-negative.

Keywords: *nitrifying bacteria, Identification, RBC, WWTP*

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	8
DAFTAR TABEL	11
DAFTAR GAMBAR	13
BAB I PENDAHULUAN	15
1.1. Latar Belakang	17
1.2. Perumusan Masalah	19
1.3. Tujuan Penelitian	19
1.4. Manfaat Penelitian	19
1.5. Asumsi Penelitian	20
1.6. Ruang Lingkup	20
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	21
2.1. IPAL Komunal	21
2.2. Unit <i>Rotating Biological Contactor</i> (RBC)	21
2.3. Proses Nitrifikasi	23
2.4. Analisis Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi	24
2.5. Identifikasi Karakteristik Bakteri Nitrifikasi	24
2.6. Penelitian Terdahulu	25
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian	27
3.2. Alat dan Bahan	28
3.3. Tahapan Penelitian	28
3.4. Persiapan Sampling	30
3.5. Media Spesifik	31
3.6. Analisis Data	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1. Teknologi Pengolahan IPAL Komunal Tirto Mili	41
4.2. Identifikasi morfologi dari Bakteri <i>Nitrosomonas</i> dan Bakteri	

<i>Nitrobacter</i>	41
4.3. Isolasi dan Enumerasi Bakteri Nitrifikasi	47
4.4. Pengaruh Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi terhadap Amoniak, Nitrit, dan Nitrat	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1. Kesimpulan	57
5.2. Saran	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	64
RIWAYAT HIDUP	72

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu	25
Tabel 3. 1 Pengambilan Sampel	30
Tabel 3. 2 Komposisi Media Spesifik <i>Nitrosomonas</i> sp.	31
Tabel 3. 3 Komposisi Media Spesifik <i>Nitrobacter</i> sp.	32
Tabel 4. 1 Pengamatan secara makroskopis	44
Tabel 4. 2 Pengamatan secara mikroskopis	46
Tabel 4. 3 Hasil enumerasi bakteri nitrifikasi	47
Tabel 4. 4 Konsentrasi amonia, nitrit, dan nitrat	51

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Rotating Biological Contactor.....	22
Gambar 2. 2 Siklus nitrogen.....	23
Gambar 3. 1 Lokasi Pengambilan Sampel (a) IPAL Komunal Tirto Mili tampak depan; (b) Biofilm unit RBC; (c) Unit RBC	27
Gambar 3. 2 Alat untuk penelitian	28
Gambar 3. 3 Diagram Alir	29
Gambar 3. 4 Titik Pengambilan Sampel	31
Gambar 3. 5 Pembuatan media spesifik	32
Gambar 3. 6 Uji dalam <i>Laminar Air Flow</i>	33
Gambar 3. 7 Inkubasi Cawan Petri	34
Gambar 3. 8 Diagram Alir Analisis Kelimpahan Bakteri	36
Gambar 3. 9 Pewarnaan gram	37
Gambar 3. 10 Diagram Alir Tahapan Pengecatan Gram	38
Gambar 4. 1 Hasil Inkubasi 3x24 jam (atas) bakteri <i>Nitrobacter</i> ; (bawah) bakteri <i>Nitrosomonas</i>	42
Gambar 4. 2 Karakteristik koloni bakteri.....	43
Gambar 4. 3 Bentuk sel.....	45
Gambar 4. 4 Kelimpahan bakteri nitrifikasi pada air limbah.....	49
Gambar 4. 5 Kelimpahan bakteri nitrifikasi pada biofilm	50
Gambar 4. 6 Pengaruh Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi terhadap Amonia dan Nitrat	52
Gambar 4. 7 Pengaruh kelimpahan bakteri <i>Nitrosomonas</i> terhadap amoniak dan nitrit.....	54
Gambar 4. 8 Pengaruh bakteri <i>Nitrobacter</i> terhadap nitrit dan nitrat	55

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Lokasi Penelitian	65
Lampiran 2 Diagram alir metode pour plate SNI 2332.3-2015	66
Lampiran 3 Enumerasi Bakteri Nitrifikasi	67
Lampiran 4 Kondisi Unit RBC IPAL Tirtos Mili	68
Lampiran 5 Pengambilan Sampel pada IPAL Komunal Tirto Mili	69
Lampiran 6 Hasil Inkubasi selama 1x24 jam Baktri <i>Nitrosomonas</i>	70
Lampiran 7 Hasil Inkubasi selama 1x24 jam Baktri <i>Nitrobacter</i>	71

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Air limbah saat ini menjadi persoalan yang serius karena seiring dengan meningkatnya kepadatan penduduk. Pengolahan yang tidak baik pada air limbah akan menyebabkan gangguan pada lingkungan, karena air limbah akan dibuang ke badan air sehingga air limbah jika langsung dibuang ke badan air akan menyebabkan pencemaran yang serius (Sugiharto, 2008). Supaya tidak menimbulkan gangguan yang berkelanjutan maka diperlukannya Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) yang merupakan sistem pengolahan air limbah yang dilakukan secara terpusat, untuk melakukan proses pengolahan limbah cair domestik sebelum dilakukannya pembuangan ke lingkungan. Padatan organik dan anorganik termasuk kedalam kandungan yang ada pada air limbah domestik, maka dari itu perlu dilakukannya penyisihan dari kandungan tersebut. Amonia merupakan salah satu kandungan pada air limbah yang sangat berbahaya bersifat toksik dalam air (Wira, 2009).

Berdasarkan pengolahan air limbah pada IPAL Komunal Tirto Mili menggunakan sistem unit RBC (*Rotating Biological Contactor*), dari proses RBC ini dengan bahan organik pada air limbah dimanfaatkan untuk makanan mikroorganisme yang menempel pada disk (Muljadi, dkk., 2005). Unit ini memiliki keunggulan yaitu proses nitrifikasi mudah terjadi pada pengolahan ini, sehingga menyebabkan amonia pada air limbah cepat berkurang. Menurut Permen LHK Nomor 68 Tahun 2016 tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik, amoniak dalam air limbah domestik memiliki kadar maksimum yaitu 10 mg/L. IPAL Komunal Tirto Mili pada disk RBC memiliki beban organik yang tebal sehingga memungkinkan akan berpengaruh pada air olahan effluennya, sehingga perlu pengolahan salah satunya untuk menghilangkan amonia dengan bantuan bakteri nitrifikasi. Prinsip kerja unit RBC dengan melakukan kontak antara air limbah

dengan lapisan mikroorganisme yang menempel pada disk yang disebut biofilm (Nurkholis, dkk., 2018).

Dari pengolahan air limbah pada IPAL Komunal Tirto Mili terjadi proses aerob dan anaerob yang dapat digunakan untuk menyisihkan kandungan amonia didalam air limbah. Kondisi anaerob pada pengolahan menggunakan ABR dan saat kondisi aerob pada pengolahan menggunakan RBC. Ketika kondisi aerob, bakteri nitrifikasi akan melakukan proses nitrifikasi yaitu perubahan amonia menjadi nitrat. Sedangkan ketika kondisi anaerobik terjadi proses denitrifikasi yaitu perubahan nitrat menjadi gas nitrogen (Satria, 2019). Pengolahan air limbah dengan unit RBC secara biologis menggunakan sistem biakan melekat (*attached growth*) yang mampu secara efektif mengurangi pencemaran lingkungan terutama penyisihan pada bahan organik. Penyisihan amonia dilakukan dengan dua tahap proses nitrifikasi yaitu, pertama tahap nitritasi dengan mengoksidasi amonia menjadi nitrit selanjutnya tahap nitratasi mengoksidasi nitrit menjadi nitrat dengan menggunakan oksigen. Bakteri nitrifikasi merupakan mikroorganisme yang dapat membantu menguraikan senyawa amonia, seperti bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*.

Pada IPAL Komunal Tirto Mili, terdapat dua unit RBC yang bekerja secara optimal. IPAL ini melayani 364 KK Dusun Jongkang yang terdiri dari 19 RT. Pengelolaan kinerja IPAL Tirto Mili dilakukan oleh swadaya masyarakat Dusun Jongkang sendiri, dilakukan pembersihan rutin setiap 3 bulan sekali. Kondisi eksisting pada IPAL yaitu pengolahan air limbah timbul bau yang menyengat, serta kondisi fisik air hasil olahan (outlet) jernih tetapi ada sedikit bau menyengat. Sedangkan penyumbatan dapat terjadi diakibatkan karena masuknya benda padat, contohnya seperti tidak dilakukannya penyaringan pada limbah dapur dan pembuangan kotoran tetapi kurangnya penggelontoran air.

Berdasarkan kondisi yang ada pada IPAL Komunal Tirto Mili, maka peneliti ingin mengetahui identifikasi dan analisis kelimpahan bakteri nitrifikasi pada air limbah dan biofilm unit RBC (*Rotating Biological Contactor*). Dengan menumbuhkan bakteri nitrifikasi pada media spesifik khusus bakteri nitrifikasi. Maka identifikasi bakteri nitrifikasi dilakukan dengan menggunakan dua cara

yaitu secara makroskopis dan mikroskopis (pengamatan dengan mikroskop) dengan cara melakukan pewarnaan gram dari bakteri nitrifikasi. Untuk mengetahui kelimpahan bakteri dihitung dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

1.2. Perumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana cara untuk mengidentifikasi bakteri nitrifikasi pada unit *Rotating Biological Contactor* di IPAL Komunal Tirto Mili?
2. Apa saja identifikasi jenis bakteri nitrifikasi pada unit *Rotating Biological Contactor* di IPAL Komunal Tirto Mili?
3. Bagaimana pengaruh kelimpahan bakteri nitrifikasi terhadap penyisihan amoniak pada unit *Rotating Biological Contactor* di IPAL Komunal Tirto Mili?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengidentifikasi bakteri nitrifikasi pada unit *Rotating Biological Contactor* pada IPAL Komunal Tirto Mili.
2. Mengidentifikasi morfologi bakteri nitrifikasi pada unit *Rotating Biological Contactor* di IPAL Komunal Tirto Mili.
3. Menganalisis pengaruh kelimpahan bakteri nitrifikasi terhadap proses penyisihan amoniak pada unit *Rotating Biological Contactor* pada IPAL Komunal Tirto Mili.

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun beberapa manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Dapat digunakan sebagai referensi pembelajaran untuk penelitian berikutnya.
2. Memberikan informasi tentang identifikasi dan kelimpahan bakteri nitrifikasi pada unit *Rotating Biological Contactor* (RBC) di IPAL Komunal Tirto Mili.

3. Untuk menambah ilmu pengetahuan dan sebagai acuan untuk meningkatkan performa unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili.

1.5. Asumsi Penelitian

Pada penelitian ini dapat dibuat asumsi dasar, terjadi proses nitrifikasi yaitu dengan bantuan bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* pada unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili yang dapat dilakukan dengan mengidentifikasi bakteri dengan cara mengamati secara makroskopis dan mikroskopis, serta kelimpahan dari bakteri nitrifikasi pada proses penyisihan amoniak unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili.

1.6. Ruang Lingkup

Terdapat lingkup (batasan) dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Lokasi penelitian berada pada IPAL Tirto Mili, Dusun Jongkang, Kecamatan Ngaglik, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta.
2. Data primer yang digunakan yaitu terdapat 2 unit RBC yang masing-masing unit diambil berupa 3 titik sampel secara komposit pada air limbah dan pada biofilm.
3. Data sekunder yaitu berupa data karakteristik unit RBC dari IPAL Komunal khususnya konsentrasi Amoniak, Nitrit, dan Nitrat.
4. Perhitungan kelimpahan bakteri nitrifikasi dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) atau dengan penentuan Angka Lempeng Total (ALT) yang sesuai dengan SNI 2332.3-2015.
5. Menentukan identifikasi morfologi bakteri dengan menggunakan metode pewarnaan gram.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. IPAL Komunal

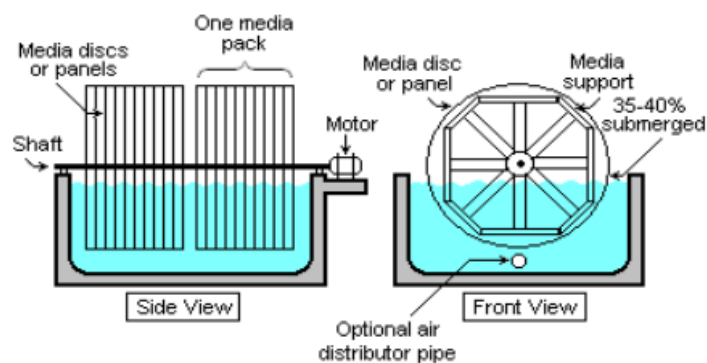
Dari kehidupan manusia dalam melakukan aktivitasnya sehari-hari akan selalu menghasilkan limbah, baik limbah cair, padat, dan gas. Maka perlu dilakukannya pengolahan pada air limbah, supaya jika dibuang ke badan air tidak mencemari lingkungan, maka harus sesuai dengan baku mutu lingkungan. Pengolahan limbah cair dilakukan dengan proses teknologi yang dapat dilakukan secara biologi, kimia, fisika. Pengolahan secara biologi ini dilakukan supaya menghilangkan zat organik yang berbahaya menjadi zat yang aman untuk lingkungan. IPAL didirikan dengan tujuan supaya limbah cair domestik yang dihasilkan dari kegiatan atau aktivitas manusia memiliki resiko pencemar yang rendah, dan usaha dalam menjaga sanitasi lingkungan. Dengan adanya IPAL Komunal maka dapat meningkatkan kepedulian masyarakat terhadap peningkatan kualitas lingkungan hidup sekitar (Prisanto, dkk., 2015). Berdasarkan tempatnya pengelolaan air limbah terbagi menjadi dua tempat yaitu *on-site* (sistem setempat) dan *off-site* (sistem terpusat). Menurut hasil penelitian, sistem pengelolaan air limbah domestik secara umum ini cocok untuk daerah perkotaan karena menguntungkan dalam pengoperasian dan pemeliharaan serta merupakan solusi untuk daerah dengan kepadatan penduduk yang tinggi (Prihandrijanti, dkk., 2011)

2.2. Unit *Rotating Biological Contactor* (RBC)

Pada IPAL Komunal Tirta Mili teknologi tambahan yang digunakan untuk menyalurkan beban organik yaitu, RBC yang merupakan salah satu teknologi pengolahan air limbah biologis dengan sistem biakan melekat (*attached growth*) proses ini dilakukan secara aerobik. Media yang digunakan yaitu cakram silinder (disk) yang terbuat dari plastik/polimer ringan atau bahan anti karat untuk menempelnya biofilm disusun berjajar pada porosnya. Disk berputar secara

konstan antara 1 – 2 rpm dalam tangki berisi air limbah yang tercelup sebagian, akan dikontakkan dengan lapisan mikroorganisme yang melekat pada disk. Disk yang berputar akan menjadi tempat melekatnya bakteri, fungi, alga, dan lainnya sehingga akan membentuk lapisan mikroorganisme yang disebut biofilm. Mikroorganisme pada air limbah akan membantu menguraikan senyawa organik dan mengambil oksigen di udara maupun yang terlarut dalam air, maka akan berkurangnya kandungan senyawa organik pada air limbah (Said, dkk., 2005). Mikroorganisme akan menghasilkan energi yang digunakan untuk proses metabolisme atau proses berkembangbiak.

Unit RBC ini telah digunakan untuk pengolahan air limbah pada industri maupun kota, karena sangat efisien dalam menghilangkan bahan organik. Beberapa keunggulan dari unit RBC yaitu tidak membutuhkan lahan yang luas, energi/daya yang digunakan rendah sehingga menghemat biaya, lumpur hasil olahan relatif rendah, operasi dan perawatan yang mudah. Adapun kekurangan dalam unit ini yaitu harus melakukan perawatan yang rutin untuk memastikan tidak adanya penyumbatan dalam disk dan pengoperasiannya benar, kualitas air hasil olahan kurang baik jika dibandingkan dengan lumpur aktif (Waqas, dkk., 2019). Berikut gambar reaktor RBC (*Rotating Biological Contactor*) pada Gambar 2. 1:

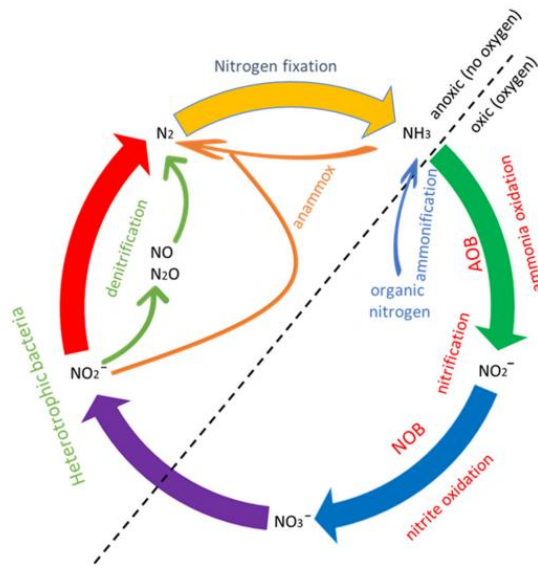
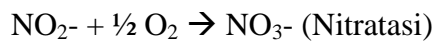


Gambar 2. 1 Rotating Biological Contactor

Sumber : Asmadi, dkk., 2012

2.3. Proses Nitrifikasi

Bakteri nitrifikasi merupakan kumpulan bakteri yang dapat menyusun senyawa nitrat dari senyawa amoniak yang berlanjut secara aerob. Apabila amoniak melebihi parameter yang telah ditentukan maka akan berbahaya atau toksik pada air limbah. Maka untuk menurunkan kadar amoniak perlu dilakukannya pengolahan pada unit RBC dengan menggunakan penyisihan nitrogen. Proses penyisihan nitrogen terdiri dari dua metode yakni nitrifikasi dan denitrifikasi. Nitrifikasi merupakan suatu proses oksidasi amoniak (NH_3^+) menjadi nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-). Sedangkan perubahan nitrat dan nitrit menjadi gas nitrogen dilakukan melalui proses denitrifikasi. Nitrifikasi melalui dua tahapan reaksi, yaitu tahap pertama oksidasi amonium menjadi nitrit yang dilakukan oleh mikroba pengoksidasi amonium (*Nitrosomonas sp.*), pada tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh mikroba pengoksidasi nitrit (*Nitrobacter sp.*) (Agustiyan, dkk., 2010). Terjadi reaksi perubahan yaitu sebagai berikut :



Gambar 2. 2 Siklus nitrogen

Sumber : Waqas S., dkk., (2023)

2.4. Identifikasi Karakteristik Bakteri Nitrifikasi

Pada pengamatan secara mikroskopis ini sebelumnya harus dilakukan pewarnaan gram. Karena bertujuan untuk mempermudah melihat bakteri secara mikroskopik, memperjelas bentuk bakteri, dan menghasilkan sifat-sifat fisik serta kimia khas dari bakteri dengan zat warna (Trijeri, dkk., 2019). Berdasarkan penelitian Yudhi, 2017 adapun prinsip pewarnaan gram yaitu jika bakteri gram positif maka saat bakteri diberi zat warna kristal violet akan menyerap sehingga bakteri akan berwarna ungu meski telah didekolorisasi menggunakan alkohol. Tetapi jika bakteri gram negatif melepas zat warna primer (kristal violet) saat dicuci dengan alkohol sehingga akan menyerap zat warna yang ditetesi setelahnya yaitu safranin maka akan mengikat warna merah. Pada pewarnaan gram menggunakan empat jenis cat yaitu Gram A (Kristal Violet), Gram B (Iodine Lugol), Gram C (etanol 96%), dan Gram D (Safranin) (Wulandari D., dkk., 2019).

2.5. Analisis Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi

Isolasi bakteri merupakan proses pemisahannya bakteri dari asalnya ke alam kemudian tumbuh sebagai biakan murni dalam bentuk buatan. Tujuan dari isolasi bakteri yaitu memperoleh bakteri yang diinginkan dengan mengambil contoh mikroba. Pada media spesifik tersedia nutrisi serta keadaan lingkungan yang mendukung untuk tumbuhnya mikroba yang dikehendaki, dan akan menghambat pertumbuhan bakteri lain (Priadie, 2012). Faktor yang perlu diperhatikan ketika melakukan isolasi mikroorganisme, antara lain media pertumbuhan mikroorganisme harus sesuai, jenis mikroorganisme yang akan diisolasi, dan cara menguji mikroorganisme yang telah diisolasi. Adapun beberapa teknik yang dapat dilakukan dalam mengisolasi mikroorganisme yaitu Teknik Penyebaran (*Spread Plate*), Agar Tuang (*pour plate*), dan Teknik Penggoresan (*streak*) (Irianto, 2012). Menurut Sartika, dkk. (2015), untuk melakukan pemeriksaan bakteriologis dengan melakukan perhitungan menggunakan TPC (TPC/jumlah hitung bakteri per ml air).

TPC (*Total Plate Count*) yang merupakan metode yang telah dikembangkan

oleh *Association of Official Analytic Chemists (AOAC)* dan *American Public Health Association (APHA)* (Maturin, dkk., 2001). Untuk menganalisis jumlah koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar digunakan metode *Total Plate Count (TPC)*. Adapun dua metode untuk menganalisis menggunakan *Total Plate Count* dengan menguji cemaran bakteri menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang (*pour plate*). Metode perhitungan jumlah koloni di Indonesia mengacu pada SNI 2332.3-2015 tentang penentuan Angka Lempeng Total. Secara umum metode *Total Plate Count* dalam prosesnya menggunakan media (Nutrient Agar) yang mana nantinya akan mendapatkan kesimpulan yaitu koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni *Colony Forming units (CFu)* per ml atau per gram atau koloni/100ml. (Yunita, dkk., 2015). CFu ini menunjukkan jumlah koloni yang tumbuh tiap gram atau mililiter sampel yang dihitung dari jumlah cawan, faktor pengenceran, dan volume yang digunakan. (Endang, dkk., 2020).

Kelebihan dari metode enumerasi menggunakan TPC yaitu kapasitas untuk menghitung jumlah bakteri jika terlalu sedikit atau banyak hanya menggunakan faktor pengencerannya saja, dan metode ini hanya menghitung bakteri yang layak dihitung tidak termasuk bakteri mati ataupun puing-puing yang ada pada media pertumbuhan. Tetapi kekurangan dari metode TPC yaitu perhitungan sel bakteri dapat terjadi salah hitung sebagai koloni tunggal dimana ditulis sebagai CFu/mL daripada sel/mL, dan membutuhkan waktu yang lama. (Hazan, dkk., 2012).

2.6. Penelitian Terdahulu

Penelitian terdahulu digunakan sebagai acuan penelitian yang akan dilakukan. Penelitian tersebut tentang identifikasi dan kelimpahan bakteri nitrifikasi serta penggunaan RBC sebagai *polishing units*.

Tabel 2. 1 Penelitian Terdahulu

Topik	Skenario	Referensi
RBC	RBC merupakan salah satu sistem proses biologi fixed film. Konfigurasi cakram	(Edro A., 2022)

	biologis yang terdiri atas beberapa tingkat pengolahan memungkinkan terjadinya proses nitrifikasi.	
Nitrifikasi	Pada perhitungan total populasi bakteri nitrifikasi dilakukan menggunakan metode tuang (<i>pour plate</i>). Melakukan seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-5} dan hasil pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke cawan petri. Lalu medium spesifik <i>Nitrosomonas</i> sp. dan <i>Nitrobacter</i> sp. encer dimasukkan kedalam cawan petri.	(Islam H., dkk., 2021)
Pewarnaan gram	Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram dan spora pada masing-masing isolat bakteri. Gram negatif ditandai dengan sel yang berwarna merah dan gram positif ditandai dengan sel berwarna ungu.	(Wulandari D., dkk., 2019)

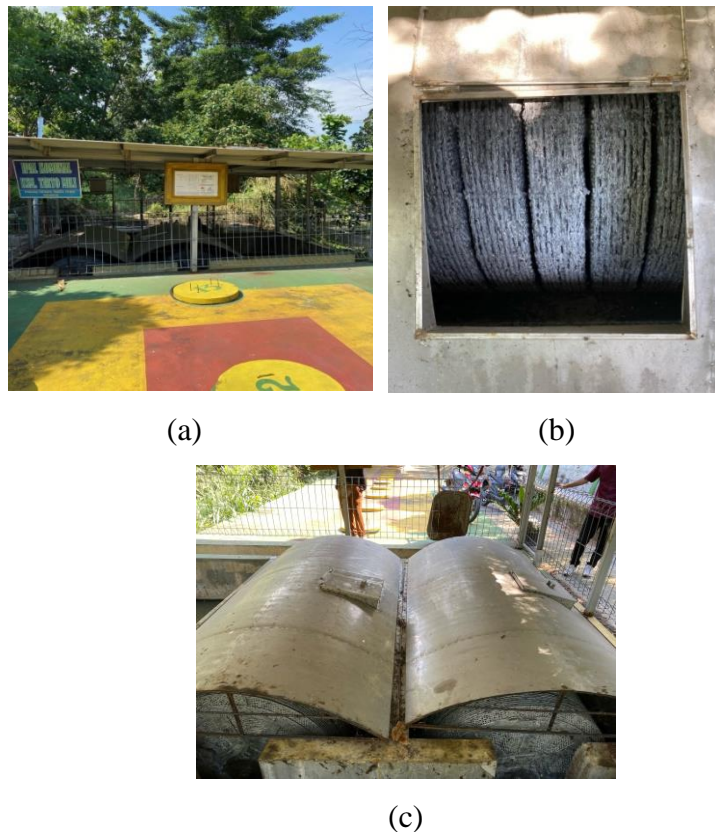
Maka berdasarkan hasil penelitian terdahulu yang menggunakan perhitungan TPC, pengamatan mikroskopis dan makroskopis dapat dikatakan penelitian yang saya lakukan perlu karena dapat melihat proses nitrifikasi yang dilakukan oleh bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* pada unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan pada IPAL Tirto Mili, Sleman dapat dilihat pada lampiran 1. Waktu pelaksanaan penelitian selama 6 bulan dimulai dari bulan Desember 2022 hingga Mei 2023. Untuk melakukan identifikasi dan analisis kelimpahan bakteri nitrifikasi yang akan dikembangkan serta diteliti di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia. Berikut gambar 3.1 merupakan kondisi dari IPAL Komunal Tirto Mili.

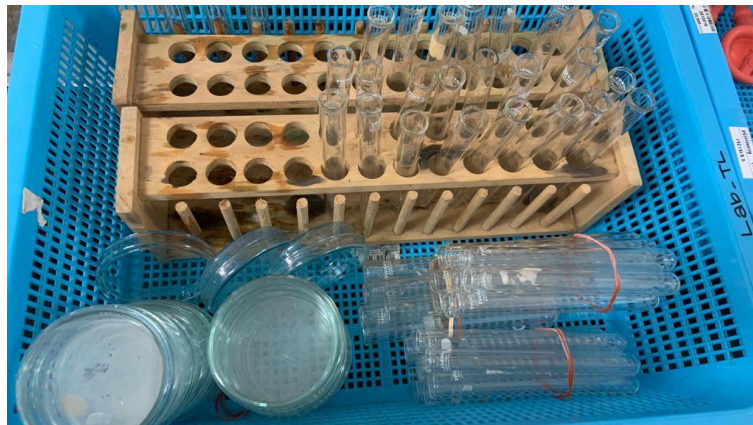


Gambar 3. 1 Lokasi Pengambilan Sampel (a) IPAL Komunal Tirto Mili tampak depan; (b) Biofilm unit RBC; (c) Unit RBC

Sumber : *Dokumentasi Pribadi, 2023*

3.2. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian identifikasi dan analisis kelimpahan bakteri nitrifikasi pada unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili yaitu sebagai berikut.



Gambar 3. 2 Alat untuk penelitian

Sumber : *Dokumentasi Pribadi, 2023*

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian seperti, wadah sampel, spuit, *cotton bud* steril, tisu, karet gelang, label, kertas payung, cawan petri, gelas ukur 10 ml, jarum ose, pipet ukur 1 ml, *laminar air flow*, oven, *autoclave*, gelas beaker 100 ml dan 1000 ml, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, kompor, bunsen, *magnetic stirrer*, serta neraca analitik.

3.2.2 Bahan

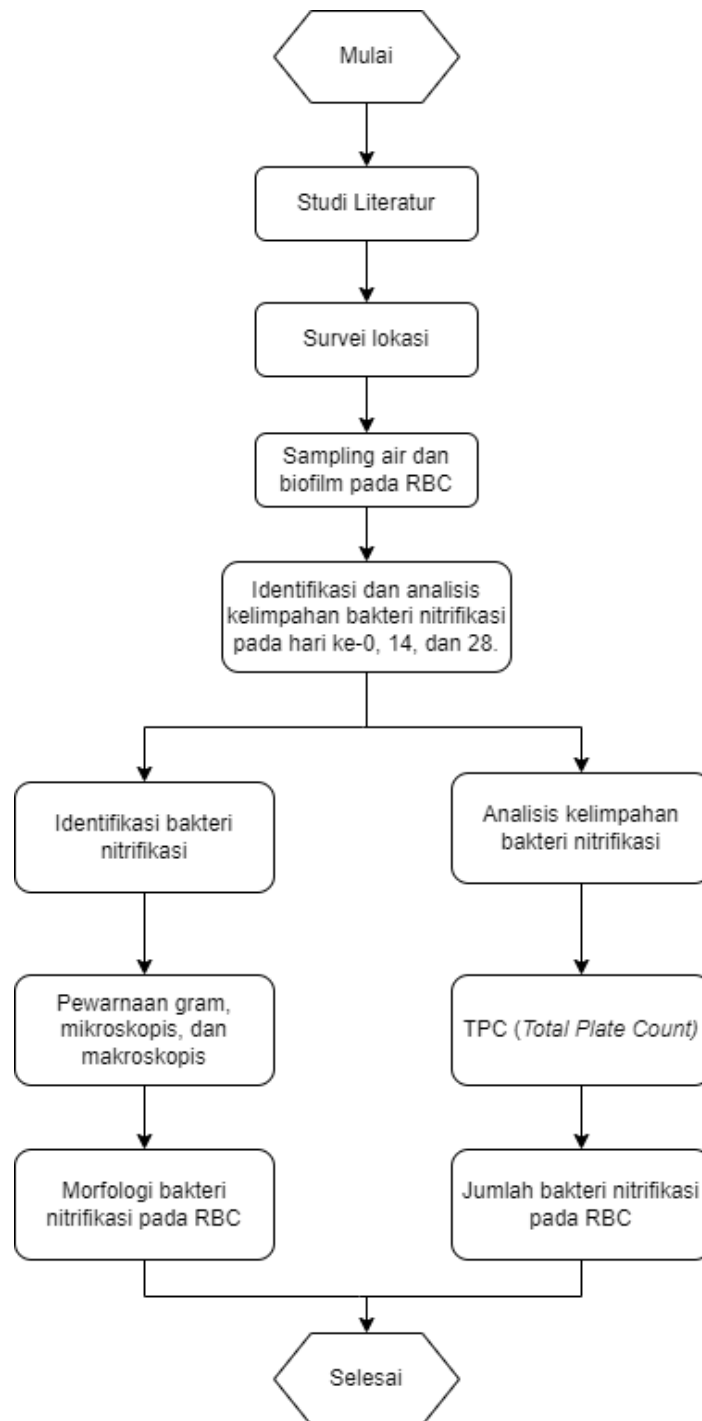
Bahan yang akan digunakan pada penelitian yaitu, sampel air dan biofilm, aquadest, media spesifik *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*, larutan *crystal violet*, alkohol, larutan safranin, larutan iodin.

3.3. Tahapan Penelitian

Tahapan pada penelitian identifikasi dan analisis kelimpahan bakteri nitrifikasi pada unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili dilakukan sebagai berikut.

3.3.1 Diagram Alir Penelitian

Pada metode penelitian diperlukan untuk lebih memahami penelitian, sehingga dibuat bagan diagram alir sebagai berikut :



Gambar 3. 3 Diagram Alir

3.3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu konsentrasi amonia, konsentrasi nitrit, serta konsentrasi nitrat. Sedangkan variabel terikat yaitu identifikasi dan kelimpahan dari bakteri nitrifikasi.

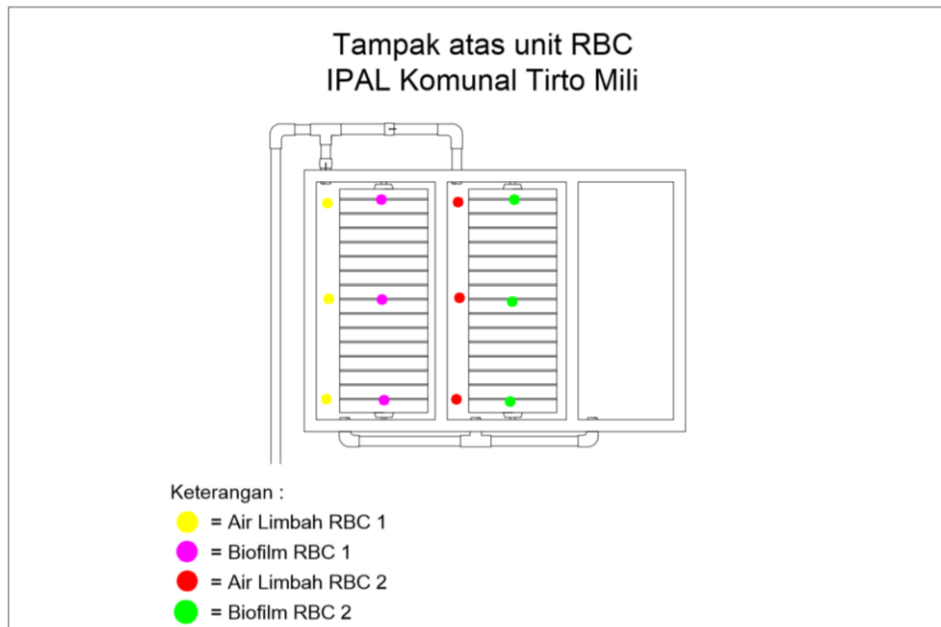
3.4. Persiapan Sampling

Sampling dilakukan dengan mempersiapkan alat dan bahan. Alat dan bahan yang digunakan harus dengan kondisi steril. Pengambilan sampel air limbah dan biofilm pada masing-masing diambil tiga titik sampling pada kedua RBC yaitu bagian awal, tengah, dan akhir dengan menggunakan teknik *composite* yang mengacu pada SNI 6989.59:2008 tentang Metode Pengambilan Sampel Air Limbah. Pengambilan sampel yang dilakukan pada air limbah dalam RBC menggunakan spuit, sedangkan mengambil sampel di disk pada biofilm RBC (*Rotating Biological Contactor*) menggunakan metode swab dengan *cotton swab* steril. Dilakukan dengan mengusapkan cotton swab secara memutar supaya seluruh permukaan cotton swab terkontak dengan sampel (Evi, dkk., 2020). Sampel diambil dengan frekuensi waktu 28 hari, interval 14 hari pengambilan sampel yaitu hari ke-0, 14, dan 28. Berikut tabel 3. 1 merupakan pengambilan sampel.

Tabel 3. 1 Pengambilan Sampel

Parameter	Sampel			Acuan
	Titik Sampel	Metode Sampel	Frekuensi (hari)	
Bakteri Nitrifikasi (Mikrobiologi)	1 (Air Limbah) 2 (Biofilm)	Komposit	0, 14, 28	SNI 6989.59:2018

Berikut merupakan gambar titik pengambilan sampel air limbah dan biofilm unit RBC pada IPAL Komunal Tirto Mili yang dibedakan berdasarkan warna sesuai dengan gambar 3. 4 sebagai berikut:



Gambar 3. 4 Titik Pengambilan Sampel

3.5. Media Spesifik

Media spesifik yang digunakan untuk isolasi bakteri nitrifikasi yaitu untuk bakteri *Nitrosomonas* dan bakteri *Nitrobacter*. Bahan dengan berat yang digunakan untuk 1000 mL aquades, yaitu pada tabel 3. 2 dan tabel 3. 3:

Tabel 3. 2 Komposisi Media Spesifik *Nitrosomonas* sp.

Media Spesifik	Berat
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2,0 g
K_2HPO_4	1,0 g
NaCl	2,0 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,4 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
CaCO_3	0,01 g
Fenol-red	0,025 mg
Bactoagar pH 7	15 g

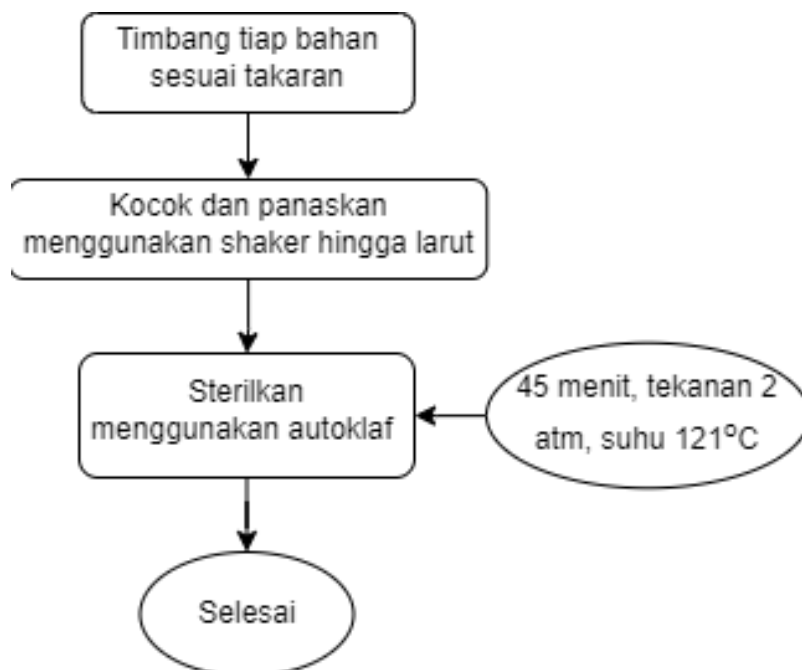
Sumber : Odokuma dan Akponah, 2008

Tabel 3. 3 Komposisi Media Spesifik *Nitrobacter* sp.

Media Spesifik	Berat
NaNO ₂	0,2 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
NaCl	0,5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
Na ₂ CO ₃	1,0 g
Bactoagar pH 7	15 g

Sumber : Zhang, dkk., 2014

Pembuatan media spesifik yaitu semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan takaran kemudian diaduk dan dipanaskan menggunakan *shaker* sehingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf selama 45 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C. Berikut gambar diagram alir pembuatan media spesifik :



Gambar 3. 5 Pembuatan media spesifik

3.6. Analisis Data

3.6.1 Isolasi Bakteri Nitrifikasi

Sampel air limbah dan biofilm pada reaktor *Rotating Biological Contactor* (RBC) di IPAL Komunal Tirto Mili, Yogyakarta menjadi sumber isolat yang akan digunakan pada penelitian ini. Sampel air limbah dan biofilm yang telah diambil dengan metode komposit akan diuji secara bertahap dengan waktu yaitu hari ke-0, 14, dan 28. Alat dan media yang akan digunakan sebelum dilakukan penelitian harus di sterilisasi menggunakan *autoclave* selama 45 menit dengan tekanan 2 atm, dan suhu 121°C. Sebelum dimasukkan kedalam *autoclave* alat dan media harus dibungkus menggunakan kertas payung, aluminium foil, dan ditutup menggunakan kapas, supaya uap air tidak menembus dan masuk kedalam alat yang akan di steril. *Autoclave* memiliki fungsi untuk mematikan mikroorganisme dengan menggunakan uap panas yang bertekanan untuk sterilisasinya.

Setelah dilakukannya sterilisasi alat dan bahan pada *autoclave* diamkan kurang lebih 15 menit supaya suhunya normal terlebih dahulu, lalu melanjutkan ke tahapan kerja selanjutnya yaitu masukkan alat dan bahan kedalam LAF (*Laminar Air Flow*) yang sudah dilakukan penyinaran dengan lampu UV (*ultraviolet*) selama 15 menit supaya mikroorganisme yang berada dalam LAF mati, agar tidak mengkontaminasi saat melakukan penanaman sampel ke media spesifik agar.



Gambar 3. 6 Uji dalam *Laminar Air Flow*

Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2023

Isolasi bakteri ini dilakukan dengan melakukan inokulasi 1 ml air limbah dan 1 g biofilm yang diencerkan pada 10 ml aquades. Lakukan pengenceran sampel menggunakan aquades steril yang berada di tabung reaksi hingga pengenceran ke-8 dengan kondisi LAF yang sudah steril. Pengenceran ke-5 dan ke-6 diambil masing-masing 1 ml lalu tuangkan ke media cair spesifik untuk bakteri *Nitrobacter* ke dalam cawan petri. Sedangkan pada pengenceran ke-7 dan ke-8 juga masing-masing diambil 1 ml lalu tuangkan ke media cair spesifik untuk bakteri *Nitrosomonas* ke dalam cawan petri. Dengan dilakukannya secara duplo agar dapat membandingkan hasil dari pengujian akhirnya.

Setelah menginokulasi sampel dengan media, bungkus cawan petri dengan kertas payung lalu inkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama kurang lebih 3-5 hari. Pada inkubasi selama 1x24 jam belum terlihat adanya aktifitas koloni bakteri yang dapat dilihat secara visual pada bakteri *Nitrobacter*, tetapi inkubasi selama 3 hari sudah dapat dilihat aktifitas pertumbuhan koloni bakteri *Nitrobacter* secara visual dan dapat dilakukan perhitungan bakteri menggunakan *colony counter*. Berikut salah satu contoh hasil inkubasi bakteri nitrifikasi serta hasil perhitungan menggunakan *colony counter* pada proses penelitian ini.

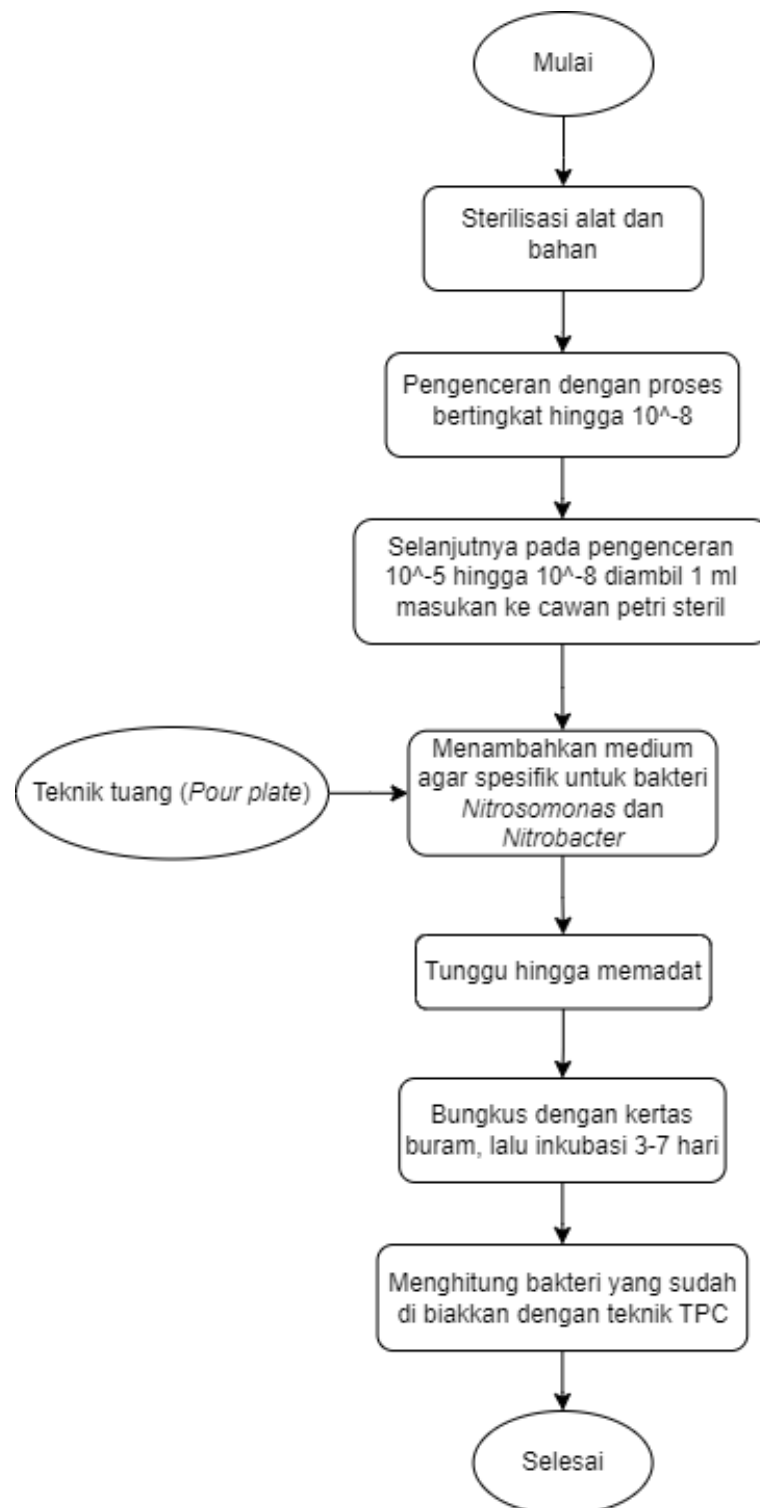


Gambar 3. 7 Inkubasi Cawan Petri

Sumber: Dokumentasi, 2023

3.6.2 Pengenceran Bakteri

Pada penelitian ini dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan cara tuang (*Pour Plate*). Menurut Yunita, dkk., (2015) langkah pertama yang perlu dilakukan yaitu mensterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan, lalu dilakukan pengenceran dengan proses bertingkat hingga 10^{-8} . Selanjutnya, diambil 1 ml sampel pada pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , dan dimasukkan ke cawan petri yang telah steril dengan teknik tuang (*pour plate*) tambahkan medium agar spesifik, lalu tunggu hingga memadat. Langkah terakhir yaitu bungkus menggunakan kertas buram lalu inkubasi selama 3 - 7 hari dengan suhu 37°C , hitung bakteri yang telah dibiakkan dengan metode TPC (*Total Plate Count*). Pengenceran bertingkat ini dilakukan untuk mengurangi atau memperkecil jumlah dari mikroba yang telah tersuspensi dalam cairan (Evi, dkk., 2020). Dapat dilihat pada gambar 3. 8 berikut :



Gambar 3. 8 Diagram Alir Analisis Kelimpahan Bakteri

Sumber : Yunita, dkk., 2015

3.6.3 Identifikasi Bakteri Nitrifikasi

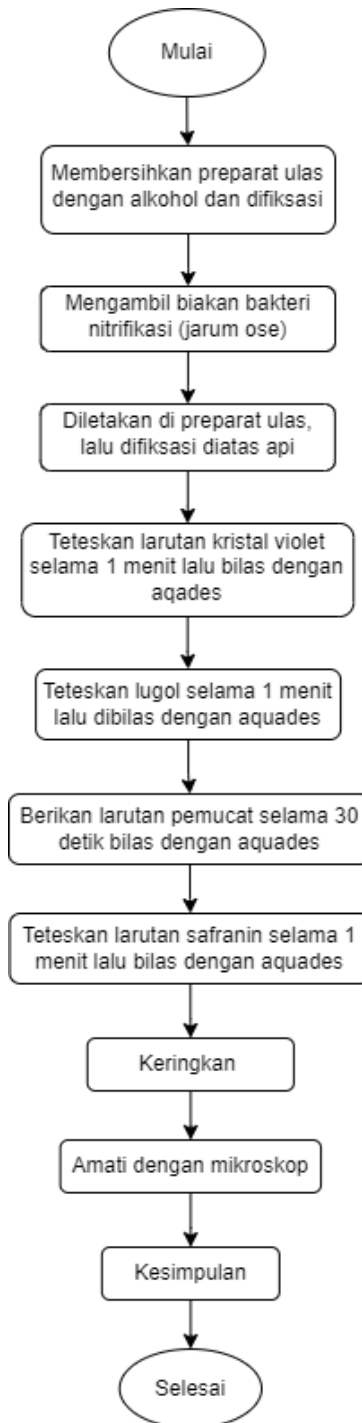
Identifikasi bakteri dilakukan dengan dua tahapan yaitu melalui pengecatan gram dan pengamatan secara mikroskopis. Dilakukannya pewarnaan gram untuk mengetahui bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pada pewarnaan gram diawali dengan membersihkan preparat ulas dengan alkohol kemudian di fiksasi diatas api bunsen. Mengambil biakan murni dengan jarum ose secara aseptis diletakan di atas preparat. Diberi larutan kristal violet selama 1 menit dan dibilas dengan aquades, lalu diberi larutan lugol selama 1 menit setelah itu dibilas dengan aquades dilanjutkan diberikan larutan pemucat selama 5-30 detik, dan dibilas dengan aquades. Terakhir diberikan larutan safranin selama 1 menit dan dibilas dengan aquades, kemudian dikeringkan lalu diamati dengan mikroskop menggunakan perbesaran 10 x 100 (Kurniati, dkk., 2018).



Gambar 3. 9 Pewarnaan gram

Sumber : Dokumentasi, 2023

Berikut tahapan pengecatan gram dan pemeriksaan mikroskopis untuk identifikasi bakteri nitrifikasi:



Gambar 3. 10 Diagram Alir Tahapan Pengecatan Gram

Sumber : Kurniati, dkk., 2018

Bahan pada pengecatan gram larutan kristal violet memiliki fungsi sebagai pemberi warna pada mikroorganisme target, sehingga mikroorganisme akan berwarna ungu. Selanjutnya pewarnaan gram menggunakan lugol yang memiliki fungsi untuk memfiksasi cat primer yang diserap mikroorganisme target sehingga pengikat warna oleh bakteri akan lebih kuat. Selanjutnya saat pemberian alkohol 95% warna dari mikroorganisme akan tetap yaitu berwarna ungu, karena ikatan antara bakteri dan cat tidak akan luntur oleh alkohol, sebab tahan terhadap alkohol maka bakteri ini disebut sebagai bakteri gram positif. Sedangkan untuk bakteri gram negatif, jika diberi alkohol warnanya akan luntur karena bakteri tersebut tidak tahan terhadap alkohol. Pada pewarnaan gram oleh larutan safranin memiliki fungsi untuk memberikan warna mikroorganisme non target dengan cat, agar cat primer berbeda warnanya dengan spectrum warna. Setelah pemberian larutan safranin akan ada dua hasil yang berbeda yaitu, jika bakteri gram positif tetap berwarna ungu karena akan mengikat dengan larutan kristal violet sehingga tidak dapat mengikat larutan safranin, sedangkan gram negatif akan memberikan warna merah, karena cat pada bakteri sebelumnya telah luntur oleh alkohol sehingga dapat mengikat larutan safranin. Genus *Nitrosomonas* termasuk kedalam golongan bakteri gram negatif, memiliki morfologi bentuk bulat terkadang bentuk sel elips, tepian licin, elevasi cembung dan warna putih. Bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 5°C – 30°C dan pH optimum 5,8 - 8,5. Sedangkan pada bakteri *Nitrobacter* morfologinya bentuk bulat, memiliki tepian licin dan berombak, elevasi datar dan cembung, warna kuning serta putih bening, termasuk kedalam golongan gram negatif. Bakteri ini juga memiliki bentuk sel batang, bulat, dan oval. Bakteri ini bersifat aerob dan mempunyai warna koloni krem.

3.6.4 Perhitungan Total Bakteri pada Sampel

Pada perhitungan serta pengisolasian kepadatan bakteri ini dilakukan menggunakan metode tuang (*pour plate*), (Waluyo, 2008). Pada masing-masing sampel dihitung total kandungan bakterinya dengan metode *Direct Plating*. Dengan melakukan pengenceran dengan aquades hingga pengenceran 10^{-8} pada

sampel pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , tiap sampel diambil 1 ml. Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan pada cawan yang mengandung 25 - 250 koloni bakteri sesuai dengan SNI 2332.3-2015 tentang pengujian angka lempeng total. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri kemudian dimasukkan kedalam rumus :

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan :

- N = Jumlah koloni produk (koloni/mL atau koloni/gram)
- ΣC = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
- n_1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n_2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d = Pengenceran pertama yang dihitung

Perhitungan hanya dapat digunakan jika pada cawan terdapat 25 - 250 koloni bakteri. Jika pada cawan mengandung lebih besar dari 250 koloni pada seluruh pengenceran, maka laporan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD). Tetapi jumlah mikroba yang berkembang biak pada cawan berkisar antara 30-300 koloni cfu/g apabila jumlah mikroba tiap sampel lebih dari 300 cfu/ml sampel bisa dikategorikan turbidimetri (Sukmawati, 2018).

BAB IV

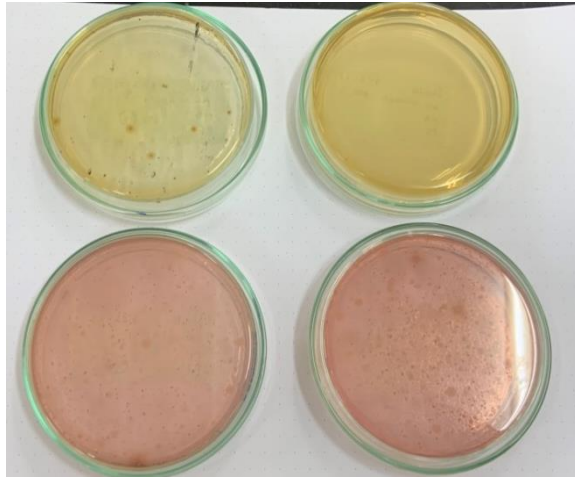
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. RBC pada IPAL Komunal Tirto Mili

Pada IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman hasil effluen air limbah memiliki bau yang kurang sedap, serta lapisan biofilm yang melekat terlalu tebal. Maka dari itu diperlukan proses tambahan untuk dapat menurunkan beban organik, nutrien, dan mikroorganisme patogen yaitu menggunakan *polishing unit*. Karena kualitas air olahan yang masih buruk membuktikan bahwa unit sekunder pada IPAL masih kurang baik, maka teknologi *polishing unit* yang digunakan yaitu unit RBC (*Rotating Biological Contactor*) karena unit ini dikatakan efisien dalam mengurangi senyawa organik karena seiring peningkatan kebutuhan sistem sanitasi permukiman setempat. Teknologi ini dilakukan dengan sistem biakan melekat (*attached growth*) untuk pengolahan air limbahnya. Pada IPAL Komunal Tirto Mili untuk pengolahan air limbah dengan mengkombinasikan *Anaerobic Baffled Reactor* (ABR), *Anaerobic Filter* (AF) dan *Rotating Biological Contactor* (RBC).

4.2. Identifikasi morfologi dari Bakteri *Nitrosomonas* dan Bakteri *Nitrobacter*

Pada RBC proses utamanya terjadi pada biofilm, tetapi pada penelitian ini ditemukan lebih melimpah pada air limbah. Sehingga dilakukannya pengamatan bakteri *Nitrosomonas* dan bakteri *Nitrobacter* dengan 2 cara yaitu secara makroskopis dan mikroskopis (pengecatan gram). Gambar dibawah merupakan contoh hasil inkubasi bakteri selama 3 hari pada cawan petri.

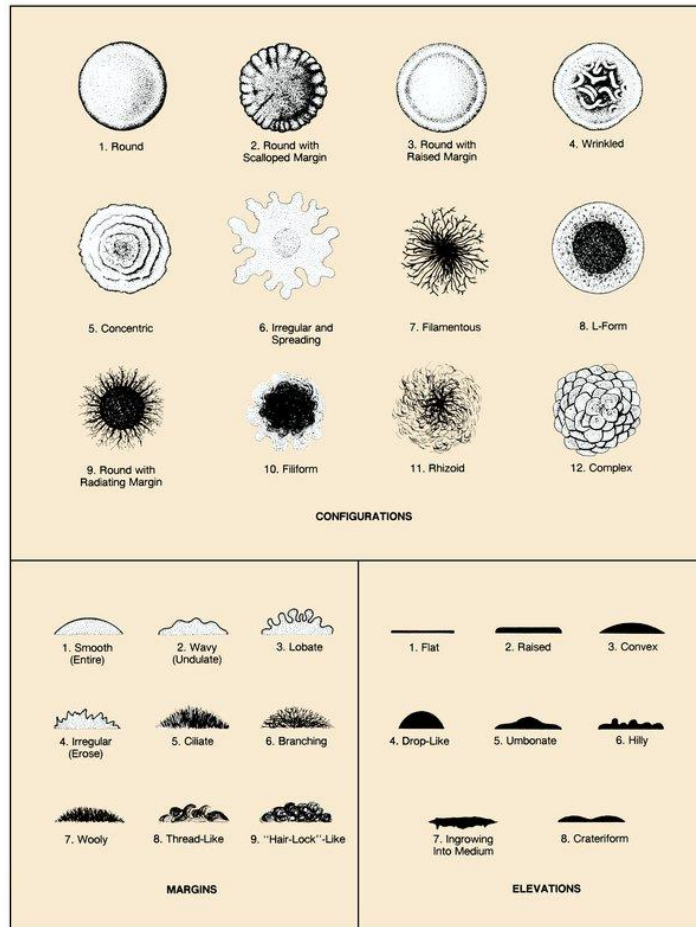


Gambar 4. 1 Hasil Inkubasi 3x24 jam (atas) bakteri *Nitrobacter*; (bawah) bakteri *Nitrosomonas*

Sumber : Dokumentasi pribadi, 2023

4.2.1. Pengamatan Bakteri Nitrifikasi secara Makroskopis

Pada pengamatan secara makroskopis menurut Jutono, dkk., (1980) yaitu dilakukan dengan mengamati secara langsung yaitu melihat bentuk, warna, dan tepian koloni tersebut, dengan menumbuhkan bakteri pada media spesifik khusus dan pengamatan morfologi koloni hasil inkubasi selama 3-5 hari pada suhu 37°C.

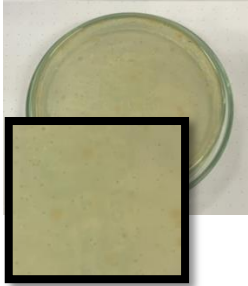
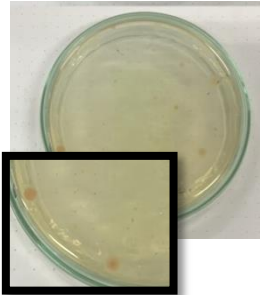

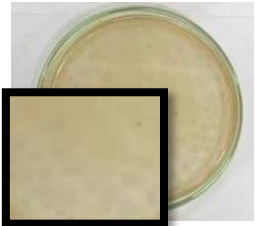


Gambar 4. 2 Karakteristik koloni bakteri

Sumber : Buku Panduan Praktikum Mikrobiologi Umum

Setelah diinkubasi selama 3 hari maka didapat hasil pengamatan secara makroskopis yaitu ciri pertumbuhan sebagaimana dirangkum pada tabel 4.1.

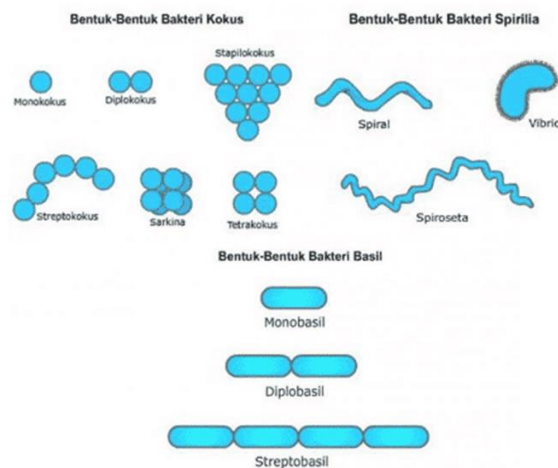
Tabel 4. 1 Pengamatan secara makroskopis

Isolat	Ciri Pertumbuhan					Gambar
	Permu kaan	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	
<i>Nitrobacter</i> AL	Halus	Krem	Bulat	Rata	Cembung	
<i>Nitrobacter</i> BF	Halus	Krem	Bulat	Rata	Cembung	
<i>Nitrosomonas</i> AL	Halus	Putih	Bulat	Rata	Cembung	
<i>Nitrosomonas</i> BF	Halus	Putih	Bulat	Rata	Cembung	

Maka hasil pengamatan secara makroskopis bakteri *Nitrosomonas* dan bakteri *Nitrobacter* memiliki ciri-ciri yang sama yaitu memiliki permukaan yang halus, bentuk bulat, tepian rata, dan elevasi cembung, pembeda dari bakteri yaitu warna bakteri, dimana bakteri *Nitrosomonas* berwarna putih sedangkan bakteri *Nitrobacter* berwarna krem, kuning. Warna bakteri yang beda tiap cawan petri, diduga karena berdasarkan lama waktu inkubasinya akan berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut baik secara makroskopis maupun mikroskopis. Terdapat perbedaan pada setiap cawan petri karena perkembangan bakterinya juga berbeda-beda.

4.2.2. Pengamatan Bakteri Nitrifikasi secara Mikroskopis

Bakteri Nitrifikasi dilakukan pengamatan secara mikroskopis yaitu dengan mengamati bentuk bakteri dan warna bakterinya. Karena pengamatan dilakukan secara mikroskopis maka alat yang digunakan yaitu mikroskop untuk dapat melihat bentuk dari bakteri yang tidak dapat dilihat hanya dengan mata telanjang. Sebelum diamati di mikroskop yang perlu dilakukan yaitu pewarnaan gram dari bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*. Berikut macam-macam bentuk dari bakteri, dan bakteri nitrifikasi berbenruk *coccus* (bulat).



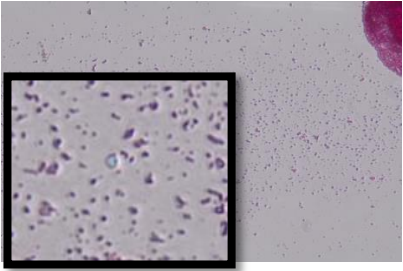
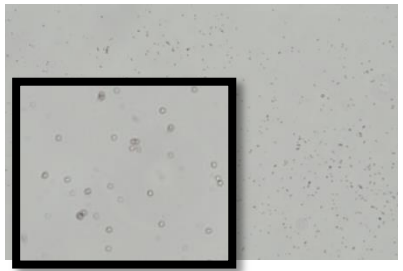
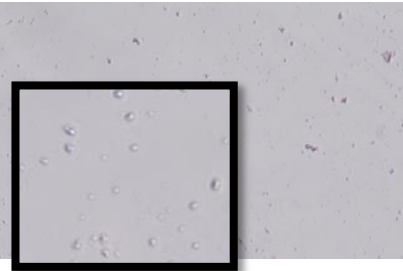

Gambar 4. 3 Bentuk sel

Sumber : Fadiel, 2017

Setelah dilakukannya pengamatan secara mikroskopis, maka identifikasi

morfologi dari bakteri nitrifikasi pada IPAL Tirto Mili yaitu dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 4. 2 Pengamatan secara mikroskopis

Isolat	Gambar	Gram	Bentuk	Perbesaran Mikroskop
<i>Nitrobacter</i> AL		Negatif	<i>Coccus</i>	40x
<i>Nitrosomonas</i> AL		Negatif	<i>Coccus</i>	40x
<i>Nitrobacter</i> BF		Negatif	<i>Coccus</i>	40x
<i>Nitrosomonas</i> BF		Negatif	<i>Coccus</i>	40x

Berdasarkan tabel pewarnaan gram dan pengamatan morfologi bakteri nitrifikasi didapatkan, sel berbentuk *coccus* (bulat) serta gram bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* yaitu gram negatif ditandai dengan warna merah pada sel bakterinya. Karena menurut Holt, dkk., (1994) dan Cowan, dkk., (1993) genus *Nitrosomonas* berbentuk bulat dan elips, serta termasuk kedalam bakteri gram negatif, sifat bakteri motil dan non motil, lalu sifat hidupnya aerob, peran dari bakteri ini dalam proses nitrifikasi yaitu menghasilkan ion nitrit. Serta genus *Nitrobacter* yaitu termasuk gram negatif, memiliki bentuk bulat, lalu bakteri ini merupakan bakteri yang mengubah nitrit menjadi nitrat.

4.3. Isolasi dan Enumerasi Bakteri Nitrifikasi

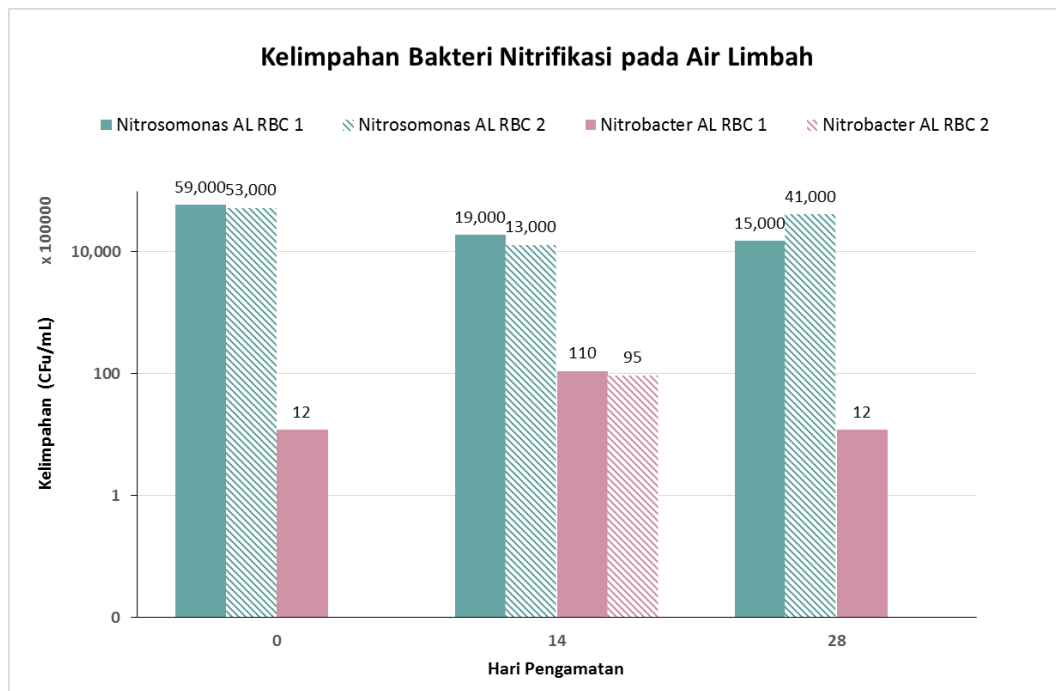
Hasil dilakukannya isolasi bakteri nitrifikasi dan inkubasi selama 3 hari maka didapat jumlah koloni yang dapat dihitung menggunakan *colony counter* sehingga didapat jumlah koloninya dapat dilihat pada lampiran 3. Maka jumlah koloni ini dimasukkan kedalam rumus TPC yang mengacu pada SNI 2332.3-2015, didapat hasil perhitungan sebagai berikut:

Tabel 4. 3 Hasil enumerasi bakteri nitrifikasi

Hari Ke-	Jenis Bakteri	Kode Sampel	Pengenceran	Pembulatan ALT
0	<i>Nitrobacter</i>	AL RBC 1	1.E-05 1.E-06	1,2 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-05 1.E-06	0
		BF RBC 1	1.E-05 1.E-06	0
		BF RBC 2	1.E-05 1.E-06	0
0	<i>Nitrosomonas</i>	AL RBC 1	1.E-07 1.E-08	5.900 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-07 1.E-08	5.300 x 10 ⁶
		BF RBC 1	1.E-07 1.E-08	2.800 x 10 ⁶
		BF RBC 2	1.E-07 1.E-08	1.600 x 10 ⁶

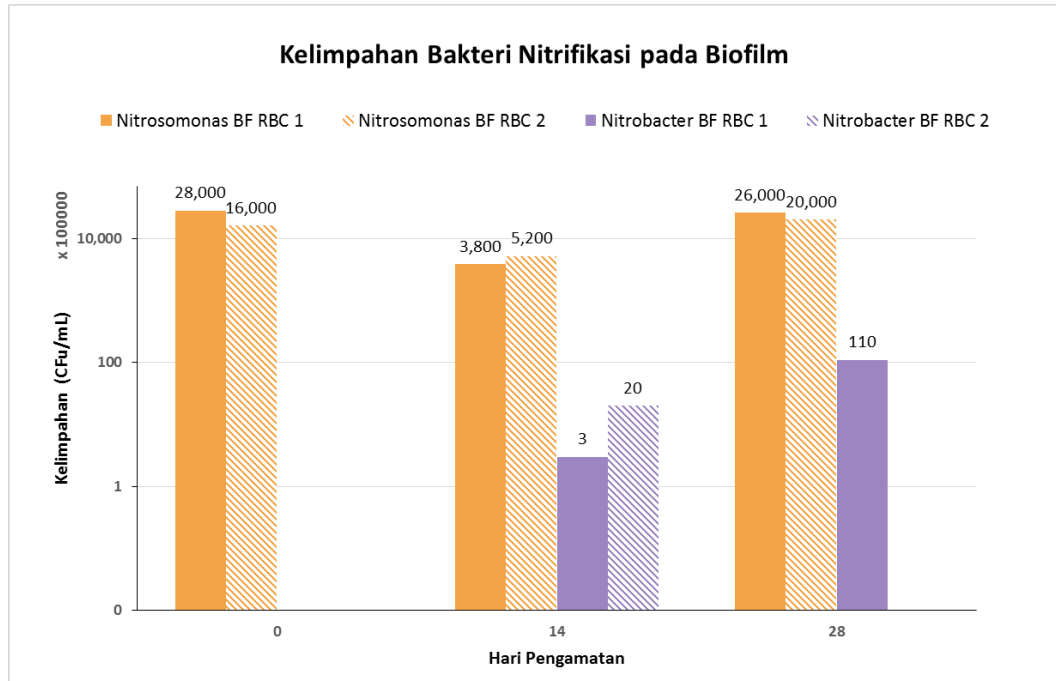
14	<i>Nitrobacter</i>	AL RBC 1	1.E-05 1.E-06	11 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-05 1.E-06	9,5 x 10 ⁶
		BF RBC 1	1.E-05 1.E-06	0,3 x 10 ⁶
		BF RBC 2	1.E-05 1.E-06	2 x 10 ⁶
14	<i>Nitrosomonas</i>	AL RBC 1	1.E-07 1.E-08	1.900 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-07 1.E-08	1.300 x 10 ⁶
		BF RBC 1	1.E-07 1.E-08	380 x 10 ⁶
		BF RBC 2	1.E-07 1.E-08	520 x 10 ⁶
28	<i>Nitrobacter</i>	AL RBC 1	1.E-05 1.E-06	1,2 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-05 1.E-06	0
		BF RBC 1	1.E-05 1.E-06	11 x 10 ⁶
		BF RBC 2	1.E-05 1.E-06	0
28	<i>Nitrosomonas</i>	AL RBC 1	1.E-07 1.E-08	1.500 x 10 ⁶
		AL RBC 2	1.E-07 1.E-08	4.100 x 10 ⁶
		BF RBC 1	1.E-07 1.E-08	2.600 x 10 ⁶
		BF RBC 2	1.E-07 1.E-08	2.000 x 10 ⁶

Berdasarkan hasil perhitungan pada hari ke-0, 14, dan 28, dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Hasil hitung koloni menggunakan *colony counter* dimasukkan kedalam rumus maka didapatkan Angka Lempeng Total untuk masing-masing sampel dan hasil yang didapat dibulatkan dengan pendekatan. Hasil perhitungan yang didapat karena terdapat beberapa bakteri *Nitrobacter* yang tidak teridentifikasi adanya pertumbuhan pada cawan petri sehingga tidak dapat dihitung atau nol. Sehingga jika hasil perhitungan dituangkan pada grafik akan lebih jelas perbedaan hasil bakteri nitrifikasi pada air limbah sebagai berikut :



Gambar 4. 4 Kelimpahan bakteri nitrifikasi pada air limbah

Selanjutnya berikut merupakan grafik dari kelimpahan bakteri nitrifikasi pada biofilm :



Gambar 4. 5 Kelimpahan bakteri nitrifikasi pada biofilm

Keterangan :

AL = Air Limbah; BF = Biofilm

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah bakteri *Nitrosomonas* lebih dominan daripada bakteri *Nitrobacter* baik itu pada air limbah maupun biofilm. Bakteri *Nitrosomonas* air limbah di hari ke-0 paling tinggi dibandingkan pada hari ke-14 maupun hari ke-28. Pada bakteri *Nitrosomonas* biofilm hari ke-0 termasuk jumlah yang paling besar dibanding hari ke-14 dan ke-28. Bakteri *Nitrobacter* pada air limbah dan biofilm ada yang tidak teridentifikasi adanya pertumbuhan. Tetapi pada hari ke-14 merupakan pertumbuhan bakteri *Nitrobacter* yang paling optimal karena di kedua tempat bakteri nitrifikasi tumbuh.

Bakteri *Nitrosomonas* dominan dapat disebabkan karena bakteri *Nitrosomonas* merupakan bahan utama untuk mengubah amonia menjadi nitrat yang dimana bahan organik yang lebih aman jika dibuang ke lingkungan. Jika

dilihat pada tempatnya bakteri nitrifikasi mengalami pertumbuhan paling dominan pada air limbah. Salah satu alasannya mengapa di air limbah banyak mengandung bakteri nitrifikasi, karena pada IPAL Komunal Tirto Mili ini, disk yang dimana untuk melekatnya biofilm terlalu tebal karena kurangnya perawatan pada RBC tersebut. Sehingga pada disk tersebut terjadi penumpukan beban organik yang terlalu tebal sehingga menyebabkan bagian dalam lapisan ini bersifat anaerob karena kurangnya udara atau aerasi. Maka saat diambilnya sampel dengan metode swab terambil lapisan yang bagian dalam sehingga tidak adanya bakteri nitrifikasi karena bagian dalam bersifat anaerob.

4.4. Pengaruh Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi terhadap Amoniak, Nitrit, dan Nitrat

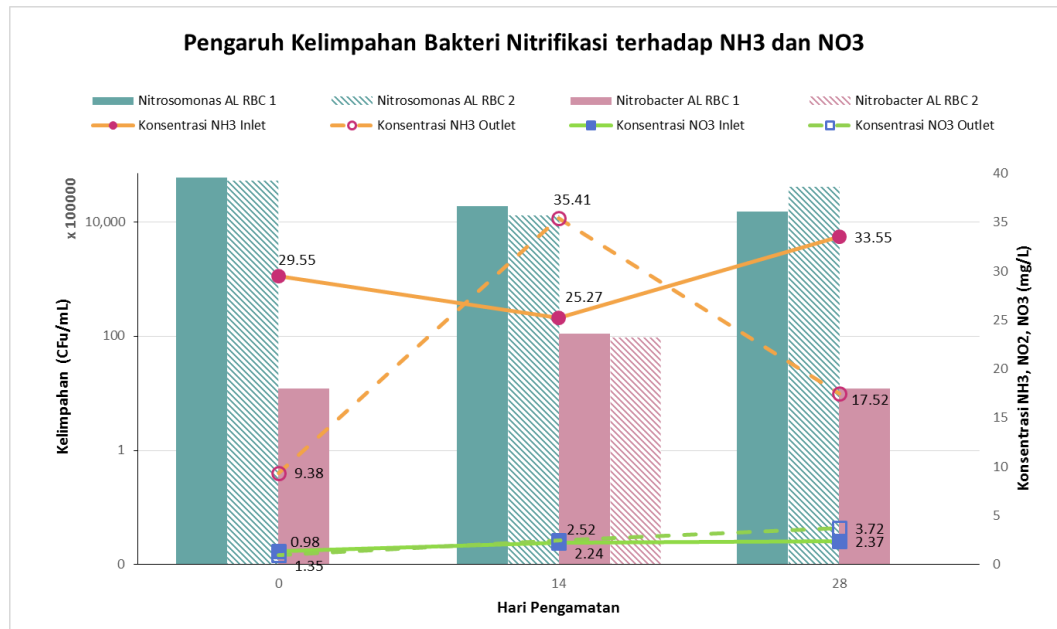
Maka hasil penelitian rekan saya, Nadiy, 2023 konsentrasi amoniak, nitrit, dan nitrat tersaji pada tabel yaitu :

Tabel 4. 4 Konsentrasi amonia, nitrit, dan nitrat

Kode	Konsentrasi		Amonia	Nitrit	Nitrat
	Hari ke-	Konsentrasi	Konsentrasi	Konsentrasi	Konsentrasi
Inlet	0	29.5458	0.03224	1.35	
	14	25.2677	0.102	2.24	
	28	33.5460	0.061	2.37	
Outlet	0	9.3760	0.03443	0.98	
	14	35.4121	0.123	2.52	
	28	17.5154	0.085	3.72	

Sumber : Nadiy, 2023

Grafik ini menghubungkan antara kelimpahan bakteri nitrifikasi dengan konsentrasi amoniak dan nitrat. Untuk melihat bagaimana penyisihan amonia yang diubah menjadi nitrat disajikan pada grafik berikut.



Gambar 4. 6 Pengaruh Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi terhadap Amonia dan Nitrat

Keterangan :

AL = Air Limbah

BF = Biofilm

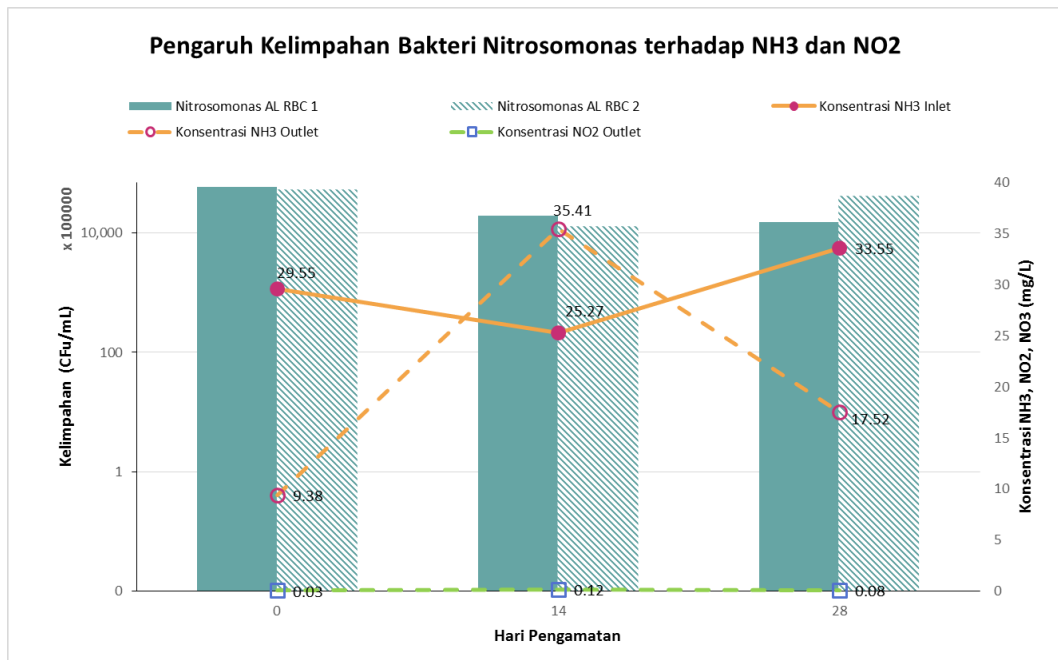
Berdasarkan grafik diatas mengenai pengaruh kelimpahan bakteri nitrifikasi terhadap amonia dan nitrat, dapat dikatakan yaitu pada IPAL Tirto Mili unit pengolahan air limbah menggunakan RBC mengalami proses nitrifikasi. Proses nitrifikasi ini merupakan proses berubahnya senyawa amonia menjadi nitrit serta dilanjutkan dengan berubahnya nitrit menjadi nitrat. Bakteri *Nitrosomonas* membantu proses berubahnya amoniak menjadi nitrit sedangkan bakteri *Nitrobacter* membantu mengubah nitrit menjadi nitrat. Sehingga dapat diambil contoh pada grafik dan data diatas yaitu pada hari ke-28 merupakan proses nitrifikasi paling optimum karena terjadi peningkatan konsentrasi nitrat seiring dengan menurunnya konsentrasi amonia. Pada hari ke-28 terjadi penyisihan

konsentrasi amonia sebesar 16,03 mg/L dan menghasilkan konsentrasi nitrat sebesar 3,72 mg/L. Serta jumlah bakteri *Nitrosomonas* yang tinggi akan berpengaruh pada perubahan amoniak menjadi nitrat.

Pada nilai konsentrasi amoniak yang terjadi paada IPAL Komunal Tirto Mili mengalami ketidakstabilan naik dan turunnya konsentrasi amoniak dapat dilihat pada grafik diatas. Hal ini berhubungan dengan nilai debit serta HRT pada IPAL Komunal Tirto Mili, berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Vido, 2023 debit pada hari ke-0 sebesar 5,33 m³/jam serta nilai HRT yaitu 1,01 jam, hari ke-14 yaitu 5,49 m³/jam serta nilai HRT sebesar 0,98 jam, dan hari ke-28 sebesar 5,097 m³/jam serta nilai HRT sebesar 1,06 jam. Debit yang paling besar yaitu pada hari ke-14 maka dapat dikatakan bakteri ini tumbuh pada RBC 1 dan RBC 2 karena debit yang besar sehingga mengakibatkan meningkatnya waktu kontak mikroorganisme dengan air. Sehingga dapat dilihat nilai debit meningkat maka waktu tinggalnya (HRT) menurun. Nilai pH rata-rata pada IPAL Komunal Tirto Mili yaitu 7. Menurut Woon, 2007 kondisi yang optimum pH yaitu dengan kisar 6,5 – 7,5. Sehingga pH pada IPAL Komunal Tirto Mili merupakan pH yang normal.

4.4.1. Pengaruh Kelimpahan Bakteri *Nitrosomonas* terhadap Perubahan Amoniak menjadi Nitrit

Pengaruh kelimpahan bakteri *Nitrosomonas* terhadap perubahan amonia menjadi nitrit pada air limbah dapat dilihat pada grafik berikut, yang dimana terjadi ketidak stabilan konsentrasi amonia.

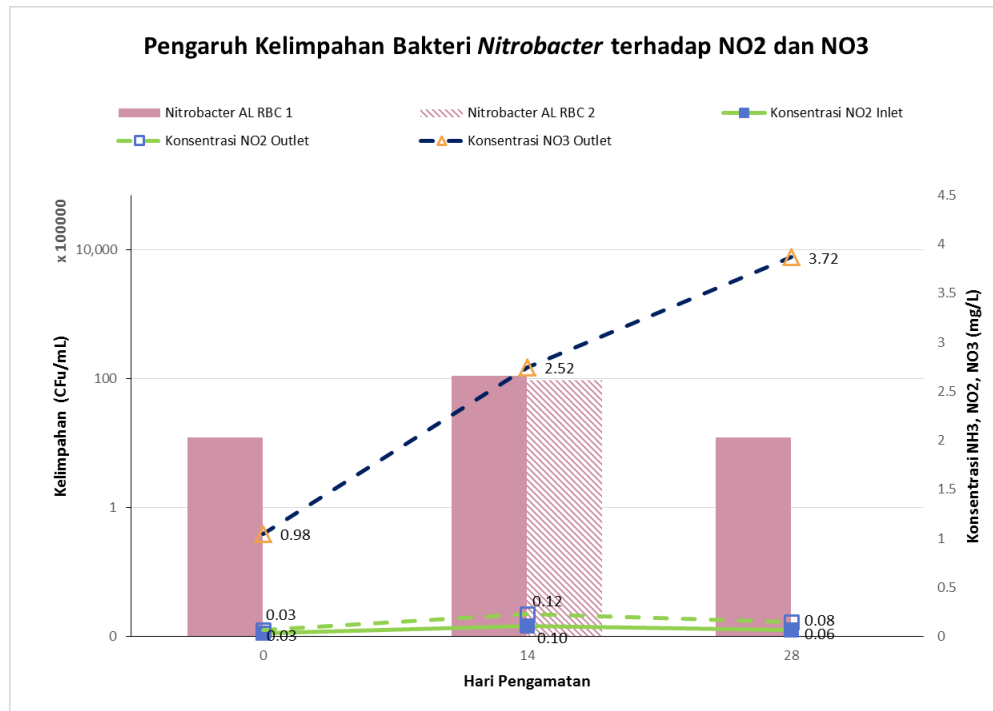


Gambar 4. 7 Pengaruh kelimpahan bakteri *Nitrosomonas* terhadap amoniak dan nitrit

Pada grafik tersebut terjadi penurunan konsentrasi amonia outlet dimana pada hari ke-14 didapatkan amonia outlet yaitu 35,41 mg/L nilainya lebih besar daripada amonia inlet yaitu 25,27 mg/L. Sedangkan pada hari ke-14 ini terjadi pembentukan nitrit dan adanya bakteri *Nitrosomonas*, maka diduga terjadi aktivitas atau bakteri lain yang sehingga membentuk nitrit. Konsentrasi amonia yang dibawa dari proses pengolahan sebelum RBC, dapat dilihat terjadi paling besar efisiensi removalnya pada hari ke-0 yaitu sebesar 20,1698 dan membentuk nitrit tetapi tidak dapat dilihat apakah konsentrasinya naik atau turun karena merupakan hari ke-0, tetapi bakteri *Nitrosomonas* paling tinggi pada hari ke-0, sehingga membuktikan terjadi proses nitrifikasi. Karena bakteri *Nitrosomonas* merupakan pengoksidasi amoniak menjadi nitrit yang dimana memiliki peran yang sangat penting untuk pengolahan air limbah dengan menghilangkan tingkat amoniak yang dapat berpotensi mencemari air.

4.4.2. Pengaruh Kelimpahan Bakteri *Nitrobacter* terhadap Perubahan Nitrit menjadi Nitrat.

Pengaruh kelimpahan bakteri *Nitrobacter* terhadap nitrit dan nitrat dengan nilai nitrat yang terus meningkat setiap harinya, maka dapat dilihat pada grafik.



Gambar 4. 8 Pengaruh bakteri *Nitrobacter* terhadap nitrit dan nitrat

Hasil pada grafik diatas berdasarkan jumlah bakteri *Nitrobacter* serta merupakan hasil uji perhitungan konsentrasi nitrit dan nitrat. Didapatkan konsentrasi nitrat yang terus meningkat, dimana penyisihan nitrit ini tidak dapat terlihat karena proses oksidasi nitrit menjadi nitrat yang sangat cepat. Pada proses ini disebut nitratasi dengan dibuktikan terjadi proses nitrifikasi pada hari ke-28, semakin menurun nilai nitrit maka nilai nitrat semakin meningkat dan bakterinya semakin beragam pula. Terjadi nitratasi optimal pada hari ke-28 karena konsentrasi nitrat disini yang paling besar.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah saya lakukan dengan judul Identifikasi dan Analisis Kelimpahan Bakteri Nitrifikasi pada Unit RBC di IPAL Komunal Tirtomili, Sleman, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Setelah dilakukannya pengamatan secara makroskopis dengan melihat bentuk dari morfologinya serta secara mikroskopis dengan melakukan pengecatan gram. Hasil identifikasi bakteri nitrifikasi secara makroskopis dari bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* yaitu sama memiliki tepian yang rata, berbentuk bulat serta permukaan yang halus, elevasi yang cembung, serta sama tergolong gram negatif yaitu berwarna merah bakterinya. Perbedaan dari bakteri ini hanya pada warnanya, bakteri *Nitrosomonas* memiliki warna putih sedangkan bakteri *Nitrobacter* memiliki warna kuning, krem dan kecoklatan.
2. Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri nitrifikasi dengan media spesifik khusus dengan dominan bakteri *Nitrosomonas* karena digunakan untuk mengoksidasi amonia menjadi nitrit dimana amonia ini membutuhkan energi yang banyak untuk mengoksidasi menjadi nitrit yang nantinya akan diubah menjadi nitrat.
3. Dengan adanya kenaikan konsentrasi nitrat serta penurunan konsentrasi amoniak dan nitrit maka dapat dikatakan terjadinya proses nitrifikasi. Nitrifikasi terjadi paling optimal pada hari ke-28 dengan melihat bahwa konsentrasi nitrat semakin bertambah seiring menurunnya konsentrasi nitrit dan konsentrasi amoniak nilai konsentrasi nitrat pada hari ke-28 yaitu 3,72 mg/L lebih besar dari hari ke-0 yaitu 0,98 mg/L dan hari ke-14 yaitu 2,52 mg/L. Bakteri *Nitrosomonas* tumbuh setara baik pada RBC 1 maupun pada RBC 2, bakteri nitrifikasi dominan tumbuh pada air limbah.

5.2. Saran

Penelitian ini telah menganalisis mengenai identifikasi dan kelimpahan bakteri nitrifikasi pada biofilm unit RBC di IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman. Peneliti merekomendasikan agar penelitian selanjutnya yaitu melakukan perbandingan antara lama waktu inkubasi dari bakteri nitrifikasi seperti pengamatan hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5. Lalu saran bagi IPAL Komunal Tirto Mili, Sleman untuk melakukan rutin pembersihan pada disk RBC (*Rotating Biological Contactor*) supaya tidak terlalu menumpuknya biofilm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinugroho, E. (2022). Pengaruh deterjen dan putaran media terhadap proses Nitrifikasi dalam mengolah air limbah pada reactor cakram biologis. *TUGAS AKHIR-1996*.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. (2008). Air dan air limbah - Bagian 59: Metoda Pengambilan Contoh Air Limbah. *SNI 6989.59:2008*.
- Badjoeri, M. (2018). Kelimpahan dan Sebaran Bakteri Heterotrofik di Danau Rawa Banjiran Sebangau, Kalimantan Tengah. *Limnotek: perairan darat tropis di Indonesia*, 25(1).
- Chandra, Y. (2017). Uji Daya Hambat Beberapa Deodoran terhadap Bakteri Penyebab Bau Ketiak *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis* dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Analis Farmasi* Volume, 2(4), 279.
- Davis, M. L. (2010). *Water and Wastewater Treatment Engineering : Design Principle and Practice*. McGraw-Hill Companies, Inc.
- Fadiel, Ade. 2017. Bentuk Bakteri. <https://www.academia.edu/>. Diakses pada 12 Mei 2023.
- Hazan, R., Que, Y. A., Maura, D., & Rahme, L. G. (2012). A method for high throughput determination of viable bacteria cell counts in 96-well plates. *BMC microbiology*, 12(1), 1-7.
- Holt, JG, Krieg, NR, Sneath, PHA, Staley, JT & Williams, ST, 1994, *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*, Edisi Ke 9, Lippincott Williams dan Wilki NS, Amerika.
- Irianto, K. (2012). *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Yrama
- Widya. Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada.
- Islam, H., Nelvia, N., & Zul, D. (2021). Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Nitrifikasi Asal Tanah Kebun Kelapa Sawit dengan Aplikasi Tandan Kosong dan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Jurnal Solum*, 18(1), 23-31.

- Jutono, Soedarsono, J., Hartadi, S., Kabirun, S., Suhadi, D. & Soesanto. 1980. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Fakultas Pertanian UGM.
- Kiding, A., Khotimah, S., & Linda, R. (2015). Karakterisasi dan kepadatan bakteri nitrifikasi pada tingkat kematangan tanah gambut yang berbeda di kawasan hutan lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. *Jurnal Protobiont*, 4(1).
- Kurniati T.H., Indrayanti R., Muzajjanah, Rustam Y., & Sukmawati D. (2018). *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Universitas Negeri Jakarta.
- Maturin, L., & Peeler, J. T. (2001). BAM: Aerobic plate count. *US Food and Drug Administration: Silver Spring, MD, USA*.
- Metcalf and Eddy. 1991. *Waste Water Engineering*. Mc Graw Hill.
- Muljadi, W. A., & S, T. (2005). Penurunan Kadar BOD Limbah Cair Secara Proses Biologi Dengan Tipe Rotating Biological Contactor (RBC). *Jurnal Ekuilibrium*, 2(4), 52-57.
- Nurkholis, A., Rahma, A. D., Widyaningsih, Y., Maretya, D. A., Wangge, G. A., Widiastuti, A. S., ... & Abdillah, A. (2018). Proses Pengelolaan Air Limbah Secara Biologis (biofilm): Trickling Filter Dan Rotating Biological Contactor (RBC).
- Odokuma L.O dan akponah E. 2008. Response of *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* and *Escherichia coli* to Drilling Fluids. *Journal of cell and Animal Biology*, Vol.2 (2): 043-054.
- Padhi, S. K., & Gokhale, S. (2014). Biological oxidation of gaseous VOCs—rotating biological contactor a promising and eco-friendly technique. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(4), 2085-2102.
- Peraturan Menteri Pekerjaan Umum dan Perumahan Rakyat. (2017). *Permen PUPR Nomor 4 tahun 2017 tentang Penyelenggaraan Sistem Pengelolaan Air Limbah Domestik*.
- Priadie, B. (2012). Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 10(1), 38-48.

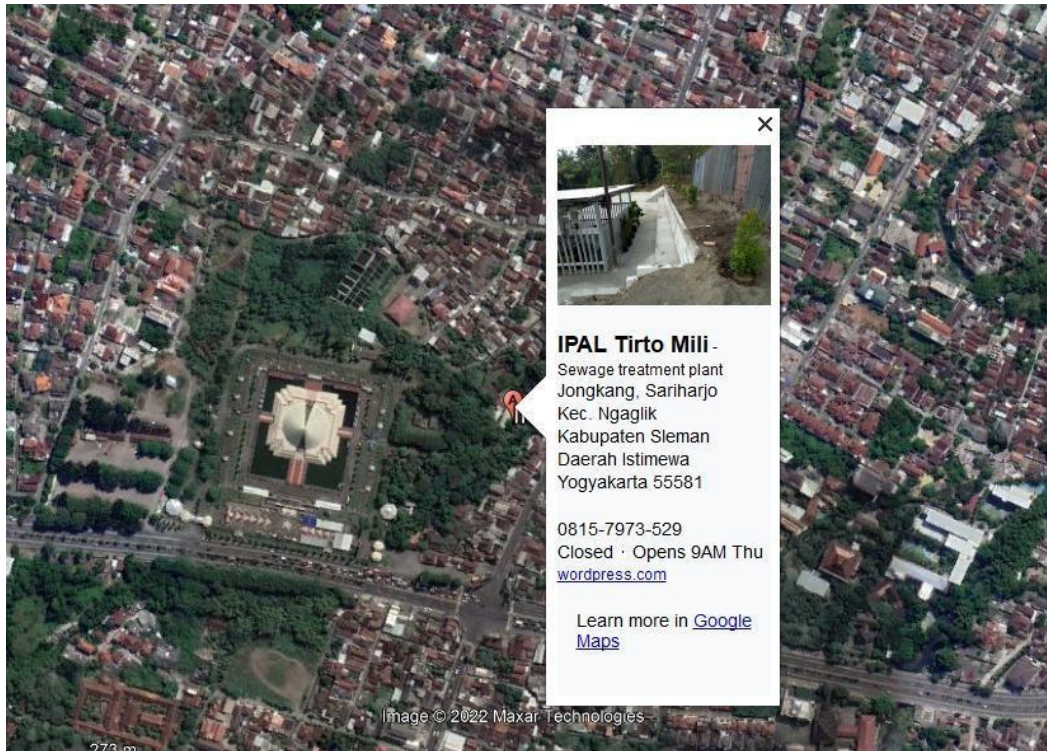
- Prihandrijanti, M., & Firdayati, M. (2011). Current Situation and considerations of domestic waste-water treatment systems for big cities in Indonesia (case study: Surabaya and Bandung). *Journal of Water sustainability*, 1(2), 97-104.
- Prisanto, D. E., Yanuwadi, B., & Soemarno, S. (2015). Studi Pengelolaan IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) Domestik Komunal di Kota Blitar, Jawa Timur. *Indonesian Journal of Environment and Sustainable Development*, 6(1).
- Radji, M. (2010). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta : EGC.
- Roviati, E., Nujanah, L., Umami, M., & Sahrir, D. C. (2020). *Panduan Praktikum Mikrobiologi*.
- Said, N. I. (2005). Pengolahan air limbah dengan sistem reaktor biologis putar (rotating biological contactor) dan parameter disain. *Jurnal Air Indonesia*, 1(2).
- Sartika, R. A. D., Indrawani, Y. M., & Sudiarti, T. (2005). Analisis mikrobiologi Escherichia coli O157: H7 pada hasil olahan hewan sapi dalam proses produksinya. *Makara Kesehatan*, 9(1), 23-28.
- Satria, A. W., Rahmawati, M., & Prasetya, A. (2019). Pengolahan Nitrifikasi Limbah Amonia dan Denitrifikasi Limbah Fosfat dengan Biofilter Tercelup Processing Ammonia Nitrification and Phosphat Denitrification Wastewater with Submerged Biofilter. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 20(2), 243-248.
- SNI 2332.3-2015. (2015). *Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Sugiharto, Dasar-Dasar Pengolahan Air Limbah. Jakarta: Universitas Indonesia Press, 2008
- Suharno dan Asmadi. (2012). *Dasar-Dasar Teknologi Pengolahan Air Limbah*. Yogyakarta: Gosyen Publishing.

- Soesetyaningsih, E., & Azizah, A. (2020). Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala sainstek*, 8(3), 75-79.
- Bulele, T., Rares, F. E., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *eBiomedik*, 7(1).
- Waluyo, Lud, 2008, *Teknik Dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*, Universitas Muhammadiyah Malam Press, Malang
- Waqas, S., & Bilad, M. R. (2019). A review on rotating biological contactors. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(2), 241-256.
- Waqas, S., Harun, N. Y., Sambudi, N. S., Bilad, M. R., Abioye, K. J., Ali, A., & Abdulrahman, A. (2023). *A Review of Rotating Biological Contactors for Wastewater Treatment*. *Water*, 15(10), 1913.
- Sihaloho, W. S. (2009). *Analisa kandungan amonia dari limbah cair inlet dan outlet dari beberapa industri kelapa sawit* (Doctoral dissertation, Universitas Sumatera Utara).
- Woon, B. H. 2007. Removal of Nitrate Nitrogen in Conventional Wastewater Treatment Plants. Thesis, Civil Engineering, Universiti Teknologi Malaysia.
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi dan karakterisasi bakteri amilolitik pada umbi Colocasia esculenta L. secara morfologi, biokimia, dan molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258.
- Yosmaniar, Novita, H., & Setiadi, E. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12(4), 369-378.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia berdasarkan TPC (Total Plate Count) dengan Metode Pour Plate. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(3), 237-248.

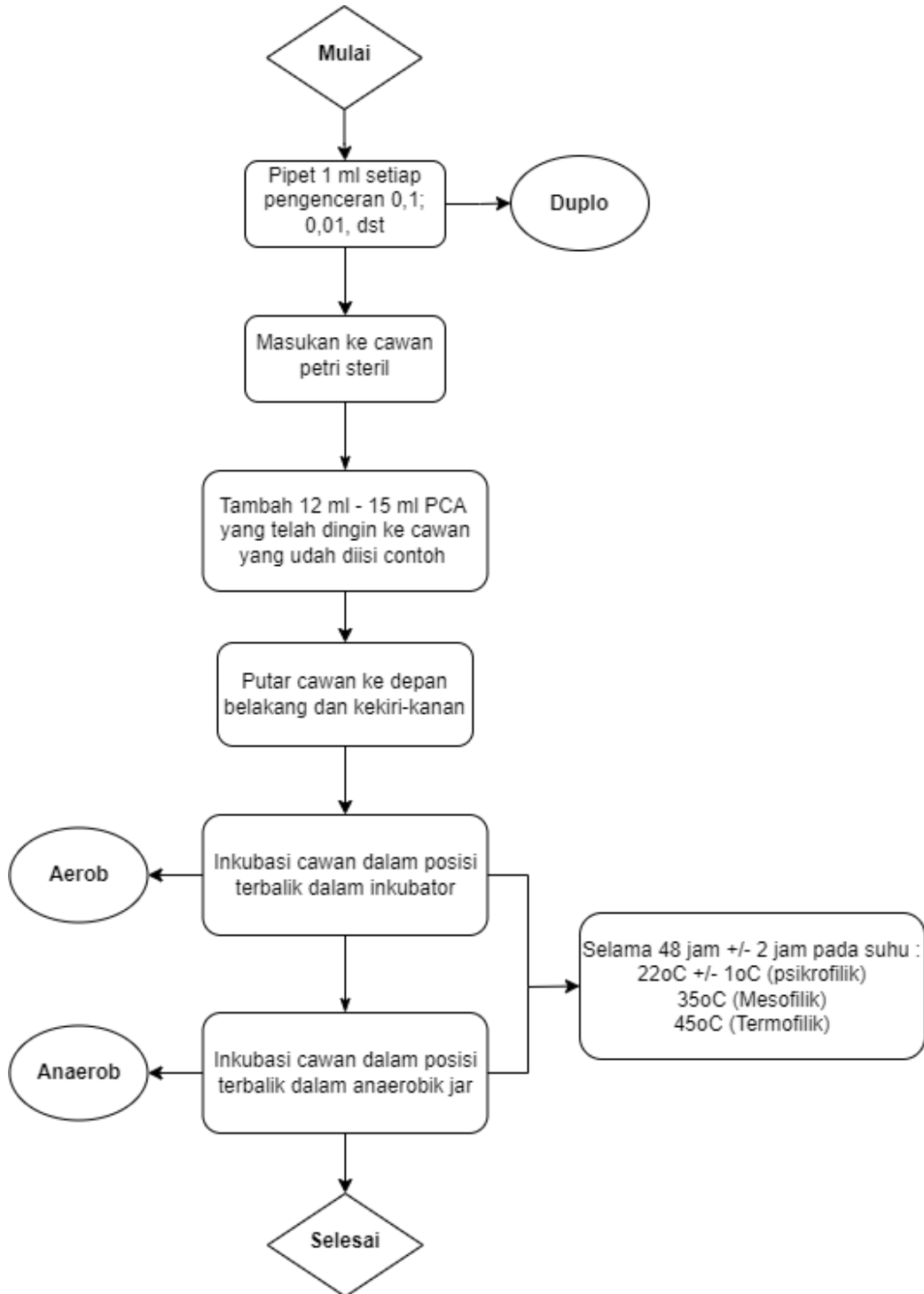
Zhang D., Shouguang Ma., Zhang W dan Wang Y. 2014. Ammonia Stimulates Growth and Nitrite-Oxidizing Activity of *Nitrobacter winogradskyi*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Vol.28.N0.1, 27-32.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Lokasi Penelitian



Lampiran 2 Diagram alir metode pour plate SNI 2332.3-2015



Lampiran 3 Enumerasi Bakteri Nitrifikasi

Hari Ke- (250123)	Jenis Bakteri	Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	TPC (CFu/ml)	Pembulatan ALT
0	Nitrobacter	AL RBC 1	1.E-05	0	1,181,818	1,200,000
			1.E-06	13		
		AL RBC 2	1.E-05	0	0	0
			1.E-06	0		
		BF RBC 1	1.E-05	0	0	0
			1.E-06	0		
		BF RBC 2	1.E-05	0	0	0
			1.E-06	0		
0	Nitrosomonas	AL RBC 1	1.E-07	335	5,927,272,727	5,900,000,000
			1.E-08	317		
		AL RBC 2	1.E-07	308	5,318,181,818	5,300,000,000
			1.E-08	277		
		BF RBC 1	1.E-07	157	2,845,454,545	2,800,000,000
			1.E-08	156		
		BF RBC 2	1.E-07	145	1,554,545,455	1,600,000,000
			1.E-08	26		

Hari Ke- (080223)	Jenis Bakteri	Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	TPC (CFu/ml)	Pembulatan ALT
14	Nitrobacter	AL RBC 1	1.E-05	64	11,454,545	11,000,000
			1.E-06	62		
		AL RBC 2	1.E-05	28	9,545,455	9,500,000
			1.E-06	77		
		BF RBC 1	1.E-05	2	300,000	300,000
			1.E-06	1		
		BF RBC 2	1.E-05	0	2,000,000	2,000,000
			1.E-06	20		
14	Nitrosomonas	AL RBC 1	1.E-07	127	1,881,818,182	1,900,000,000
			1.E-08	80		
		AL RBC 2	1.E-07	76	1,318,181,818	1,300,000,000
			1.E-08	69		
		BF RBC 1	1.E-07	32	381,818,182	380,000,000
			1.E-08	10		
		BF RBC 2	1.E-07	29	518,181,818	520,000,000
			1.E-08	28		

Hari Ke- (220223)	Jenis Bakteri	Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	TPC (CFu/ml)	Pembulatan ALT
28	Nitrobacter	AL RBC 1	1.E-05	7	1,200,000	1,200,000
			1.E-06	5		
		AL RBC 2	1.E-05	0	0	0
			1.E-06	0		
		BF RBC 1	1.E-05	82	10,909,091	11,000,000
			1.E-06	38		
		BF RBC 2	1.E-05	0	0	0
			1.E-06	0		
28	Nitrosomonas	AL RBC 1	1.E-07	105	1,527,272,727	1,500,000,000
			1.E-08	63		
		AL RBC 2	1.E-07	286	4,127,272,727	4,100,000,000
			1.E-08	168		
		BF RBC 1	1.E-07	187	2,645,454,545	2,600,000,000
			1.E-08	104		
		BF RBC 2	1.E-07	61	1,963,636,364	2,000,000,000
			1.E-08	155		

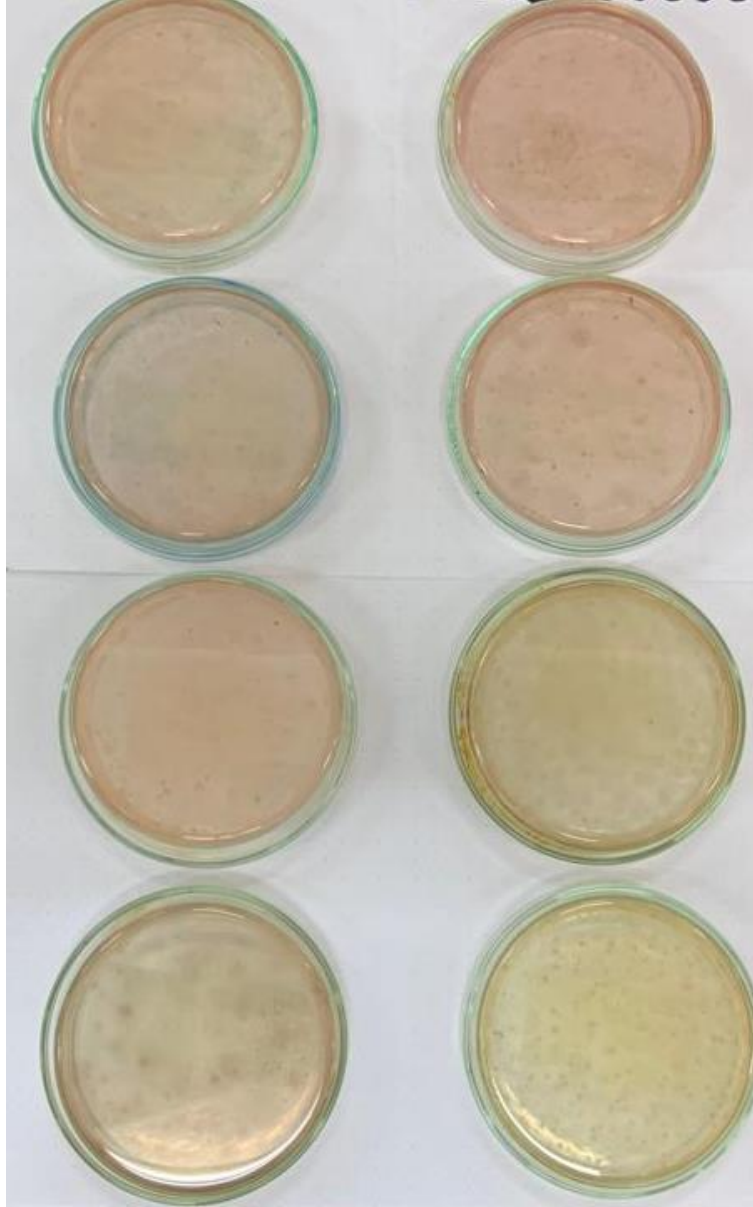
Lampiran 4 Kondisi Unit RBC IPAL Tirtos Mili



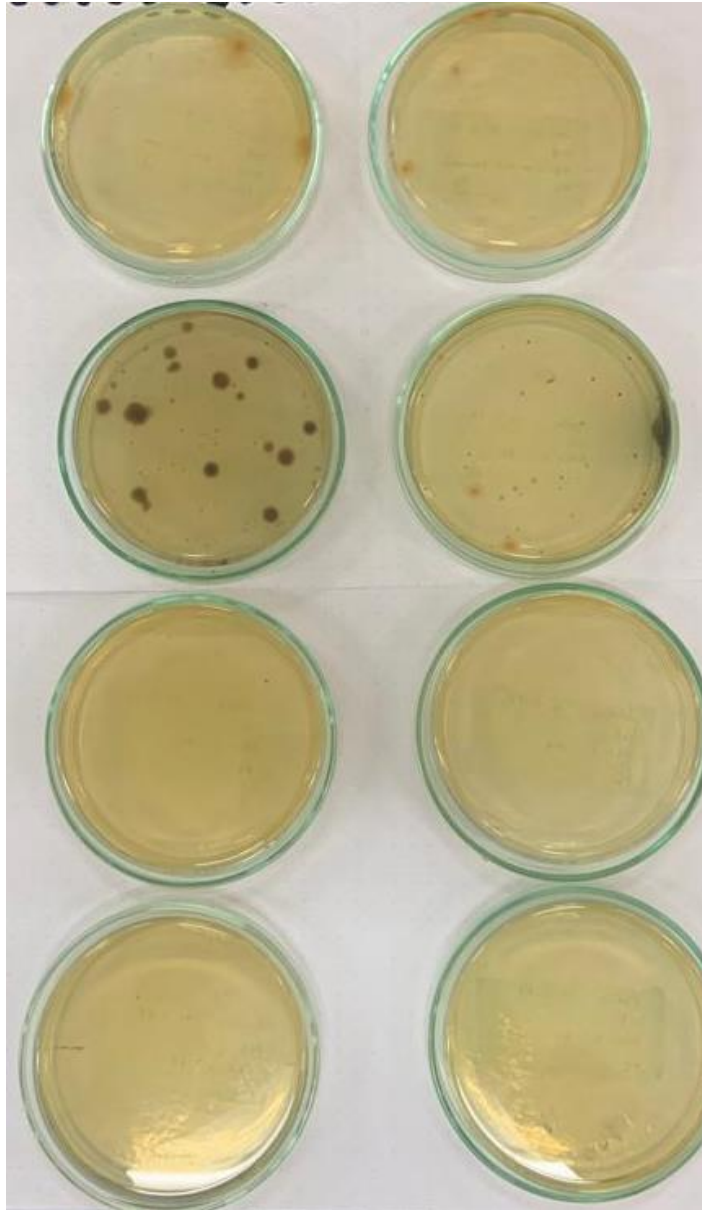
Lampiran 5 Pengambilan Sampel pada IPAL Komunal Tirto Mili



Lampiran 6 Hasil Inkubasi selama 1x24 jam Baktri *Nitrosomonas*



Lampiran 7 Hasil Inkubasi selama 1x24 jam Baktri *Nitrobacter*



RIWAYAT HIDUP

Laporan tugas akhir ini ditulis oleh Sheila Winda Eprillia, lahir pada 19 April 2001 di Cilacap. Penulis merupakan anak kedua dari 3 bersaudara, kakak penulis bernama Shecha Alvania Noorwinda, dan adik penulis bernama Shena Marchelina Winda. Orang tua penulis bernama, Wingmar Harmaen dan Ida Susilowati. Riwayat pendidikan yaitu bersekolah di SD Al-Irsyad 02 Cilacap dari tahun 2009-2015, dilanjutkan bersekolah di SMP Negeri 5 Cilacap dari tahun 2015-2017, dan kemudian SMA Negeri 1 Cilacap dari tahun 2015-2019. Selanjutnya 2019 hingga saat ini jenjang perkuliahan di Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.

Penulis pada masa kuliah di Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia menjalani Kerja Praktek (KP) di PT Kilang Pertamina Internasional RU IV Cilacap dengan mengangkat topik mengenai “Implementasi Pengelolaan Limbah B3 PT Kilang Pertamina Internasional Refinery Unit IV Cilacap”. Kerja Praktek yang penulis ini lakukan pada bulan April-Mei 2022 secara daring (online).