PENERBIT ADAB

KOMUNITAS MIKROBA PENGOKSIDASI AMONIA

Dr. Melki, S.Pi, M.Si

KOMUNITAS MIKROBA
PENGOKSIDASI AMONIA

Dr. Melki, S.Pi, M.Si

PENERBIT ADAB

Komunitas Mikroba Pengoksidasi Amonia

Indramayu © 2025, Penerbit Adab

Penulis: Dr. Melki, S.Pi, M.Si
Editor : Nia Duniawati
Desain Cover : Difiyani Puspitasari
Layouter : Arie Fahmi Luthfi

Diterbitkan oleh Penerbit Adab
CV. Adanu Abimata
Anggota IKAPI : 354/JBA/2020
Jl. Intan Blok C2 Pabean Udik Indramayu Jawa Barat
Kode Pos 45219 Telp : 081221151025
Surel : penerbitadab@gmail.com
Web: https://Penerbitadab.id

Referensi | *Non Fiksi* | *R/D*
vi + 170 hlm. ; 15,5 x 23 cm
No. ISBN : 978-634-216-201-9
No. E-ISBN : 978-634-216-202-6 (PDF)

Cetakan Pertama, Mei 2025
Edisi Digital, Mei 2025

Hak Cipta dilindungi undang-undang.
Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, secara elektronis maupun mekanis termasuk fotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainya tanpa izin tertulis dari penerbit.
All right reserved

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga buku yang berjudul **"Komunitas Mikroba Pengoksidasi Amonia"** ini dapat diselesaikan dengan baik. Buku ini disusun sebagai upaya untuk memperkaya khasanah keilmuan di bidang mikrobiologi lingkungan, khususnya mengenai peran penting mikroorganisme dalam siklus nitrogen dan proses-proses biogeokimia.

Komunitas mikroba pengoksidasi amonia memiliki peran krusial dalam transformasi nitrogen anorganik, yang berdampak langsung terhadap kualitas tanah, air, dan efisiensi sistem pengolahan limbah. Pemahaman yang mendalam mengenai struktur, fungsi, dan dinamika komunitas ini menjadi sangat penting dalam pengembangan teknologi ramah lingkungan dan pengelolaan sumber daya hayati secara berkelanjutan.

Buku ini ditujukan bagi mahasiswa, peneliti, akademisi, serta praktisi yang tertarik mendalami mikrobiologi lingkungan. Di dalamnya disajikan konsep dasar, hasil-hasil penelitian terkini, serta aplikasi praktis dari mikroba pengoksidasi amonia dalam berbagai ekosistem, termasuk tanah pertanian, perairan, dan sistem bioreaktor.

Penulis menyadari bahwa buku ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun dari pembaca sangat diharapkan demi penyempurnaan karya ini di masa mendatang.

Akhir kata, semoga buku ini dapat memberikan manfaat dan menjadi kontribusi positif dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang mikrobiologi lingkungan.

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR ..... **iii**
DAFTAR ISI ..... **v**

BAB I PENDAHULUAN **1**

BAB II MIKROORGANISME NITRIFIKASI DAN TEKNOLOGI IDENTIFIKASINYA **11**
1. Nitrogen di Perairan 12
2. Bakteri Nitrifikasi: *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB) 17
3. Habitat Bakteri Nitrifikasi: *Ammonia-Oxidizing Bacteria* 21
4. Fungsi Nitrifikasi di Lingkungan Perairan 24
5. Metode Pengukuran Nitrifikasi 28
6. Gen 16S rRNA 45
7. *Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* (T-RFLP) 47

BAB III AMPLIFIKASI GEN **61**
1. Amplifikasi Gen 16S rRNA 62
2. Amplifikasi Gen *amo*A 64

3. Digesti dengan Enzim Restriksi DNA Endonuklease... 66
4. Elektroforesis 68
5. Identifikasi Fragment Produk Digesti 71
6. Pengolahan Data..... 71

BAB IV KOMUNITAS *AMMONIA-OXIDIZING BACTERIA* DI AIR 77
1. Parameter Fisika dan Kimia di Permukaan Perairan 78
2. Kepadatan *Ammonia-Oxidizing Bacteria* di Air 89
3. Keragaman AOB berdasarkan Gen 16S rRNA di Air.... 91
4. Keragaman AOB berdasarkan Gen *amo*A di Air 99

BAB V KOMUNITAS *AMMONIA-OXIDIZING BACTERIA* DI SEDIMEN 113
1. Parameter Fisika dan Kimia di Dasar Perairan 114
2. Keragaman AOB berdasarkan Gen 16S rRNA di Sedimen 126
3. Keragaman AOB berdasarkan Gen *amo*A di Sedimen 134

DAFTAR PUSTAKA 155
PROFIL PENULIS 169

BAB I

PENDAHULUAN

Proses oksidasi amonia merupakan tahap awal yang sangat penting dalam siklus nitrogen, di mana amonia (NH_3) diubah menjadi nitrit (NO_2^-) oleh mikroorganisme kemoautotrof. Tahapan ini kemudian dilanjutkan oleh oksidasi nitrit menjadi nitrat (NO_3^-), yang secara keseluruhan dikenal sebagai proses nitrifikasi. Dalam konteks perairan alami, terutama perairan tawar dan estuarin, mikroba pengoksidasi amonia memegang peran sentral dalam mengatur fluks nitrogen anorganik serta menentukan keberlangsungan proses biogeokimia lainnya, termasuk denitrifikasi dan asimilasi oleh fitoplankton.

Mikroorganisme yang terlibat dalam oksidasi amonia terbagi ke dalam dua kelompok utama, yaitu bakteri pengoksidasi amonia (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) dan arkea pengoksidasi amonia (ammonia-oxidizing archaea, AOA). Meskipun memiliki fungsi ekologis yang serupa, keduanya menunjukkan adaptasi fisiologis dan ekologis yang berbeda. AOB umumnya lebih dominan pada lingkungan dengan konsentrasi amonia yang tinggi, sedangkan AOA sering ditemukan pada kondisi oligotrofik dengan konsentrasi substrat yang rendah. Keduanya sangat dipengaruhi oleh parameter lingkungan seperti pH, suhu, oksigen terlarut, salinitas, dan kandungan bahan organik terlarut.

Dalam beberapa dekade terakhir, meningkatnya beban pencemaran nitrogen di perairan alami menjadi perhatian global, terutama di kawasan tropis yang sedang mengalami tekanan antropogenik intensif. Sungai Musi, sebagai salah satu sungai utama di Pulau Sumatera, merupakan sistem perairan strategis yang memiliki nilai ekologis, sosial, dan ekonomi tinggi. Sungai ini membentang lebih dari 700 kilometer, mengalir dari daerah pegunungan di bagian barat hingga ke dataran rendah di wilayah timur, sebelum akhirnya bermuara di Laut Jawa melalui delta yang luas. Sungai Musi mengalir melintasi berbagai tipe penggunaan lahan, termasuk kawasan pertanian, perkotaan, dan industri, yang semuanya berkontribusi terhadap beban pencemaran yang masuk ke badan air.

Daerah aliran Sungai Musi menghadapi tantangan besar dalam pengelolaan kualitas air, terutama karena tingginya kandungan senyawa nitrogen anorganik yang berasal dari limbah domestik dan pertanian. Eutrofikasi yang terjadi akibat akumulasi nitrat dan amonia dapat menurunkan kadar oksigen terlarut dan memicu ledakan alga (algal bloom), yang berdampak buruk terhadap kehidupan akuatik. Dalam kondisi seperti ini, komunitas mikroba pengoksidasi amonia menjadi komponen utama yang berpotensi mengurangi dampak pencemaran melalui proses transformasi nitrogen yang alami.

Kawasan muara Sungai Musi merupakan zona transisi yang unik antara perairan tawar dan laut, menciptakan lingkungan dengan variasi salinitas dan fluktuasi parameter lingkungan lainnya. Zona estuari seperti ini dikenal sebagai habitat mikroba yang sangat dinamis, di mana tekanan lingkungan seperti intrusi air laut, pasang surut, dan perubahan musiman dapat menyebabkan pergeseran signifikan dalam struktur dan aktivitas komunitas mikroba. Dalam konteks ini, distribusi spasial dan temporal komunitas AOB dan AOA dapat mencerminkan respons ekologis mikroorganisme terhadap tekanan lingkungan dan antropogenik secara simultan.

Kompleksitas ekosistem Sungai Musi menjadikannya lokasi yang sangat relevan untuk studi mikrobiologi lingkungan. Kombinasi antara beban nutrien tinggi, variasi salinitas, serta tekanan hidrologis dan antropogenik yang terus berubah, memberikan peluang untuk mengeksplorasi dinamika komunitas mikroba pengoksidasi amonia secara lebih mendalam. Informasi tentang keberadaan, kelimpahan, dan dominansi AOB maupun AOA di sepanjang hulu hingga ke muara Sungai Musi sangat penting untuk mengkaji mekanisme adaptasi dan kompetisi antar mikroba dalam lingkungan yang sangat fluktuatif.

Lebih jauh, keberadaan mikroba ini juga berkaitan langsung dengan pengendalian alami terhadap polusi nitrogen. Dengan memahami bagaimana komunitas mikroba pengoksidasi amonia merespons perubahan lingkungan, maka dapat dikembangkan

strategi berbasis ekosistem untuk memulihkan atau mempertahankan kualitas air secara berkelanjutan. Pengetahuan ini tidak hanya berguna dalam konteks akademik, tetapi juga relevan untuk mendukung kebijakan pengelolaan sumber daya air, rehabilitasi kawasan pesisir, serta perencanaan wilayah berbasis ekologi.

Sebagai wilayah tropis yang kaya keanekaragaman hayati, ekosistem perairan di Sumatera Selatan termasuk Sungai Musi merupakan laboratorium alami yang memungkinkan eksplorasi terhadap dinamika komunitas mikroba yang mungkin berbeda dari wilayah-wilayah beriklim sedang. Studi terhadap mikroba pengoksidasi amonia di sistem ini tidak hanya menambah wawasan ilmiah mengenai distribusi mikroba di perairan tropis, tetapi juga memperkaya literatur global mengenai kontribusi mikroorganisme terhadap stabilitas lingkungan dan mitigasi dampak aktivitas manusia terhadap siklus biogeokimia.

Standar kualitas air untuk kebutuhan seperti perikanan air tawar dan air minum juga mengatur konsentrasi senyawa-senyawa tersebut, dengan batas maksimum sekitar 0,02 mg/L untuk amonia, kurang dari 0,06 mg/L untuk nitrit, dan kurang dari 10 mg/L untuk nitrat. Kelebihan dari ambang batas ini menunjukkan indikasi pencemaran dan menandakan adanya tekanan lingkungan yang dapat membahayakan ekosistem perairan serta mengganggu fungsi ekologis sungai secara keseluruhan.

Bakteri yang mampu merombak amonia menjadi nitrat adalah bakteri nitrifikasi. Nitrifikasi merupakan suatu proses oksidasi enzimatik yang dilakukan oleh sekelompok bakteri dan berlangsung dalam dua tahap yang terorganisasi. Proses oksidasi amonia menjadi nitrit merupakan tahap pertama dalam proses nitrifikasi yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit dilakukan oleh *Ammonia Oxydizer Bacteria* (AOB), kemudian tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri nitrit oksidizer (Bothe *et al*., 2000; Ward *et al*., 2000). Terdapat dua enzim yang penting sebagai energi untuk melakukan proses oksidasi, yaitu *ammonia monooxygenase*

(*amo*) dan *hydroxylamine oxidoreductase* (*hao*) (Ward, 2000; Bothe *et al*., 2000). AOB terbagi menjadi tiga operon, yaitu gen yang mengkode *amo*A, *amo*B dan *amo*C (Sayavedra-Soto *et al*., 1998; Alzerreca *et al*., 1999). *Ammonia monooxygenase* subunit gen A (*amo*A) merupakan gen fungsional yang sering digunakan untuk menganalisis keragaman bakteri amonia oksidizer pada berbagai lingkungan termasuk air laut dan sedimen (Christman *et al*., 2011; Shimomura *et al*., 2012).

Bakteri AOB sebagai pembatas laju nitrifikasi dalam berbagai lingkungan serta berperan penting dalam siklus global nitrogen. Sehingga banyak menimbulkan minat untuk melakukan tentang ekologi dan fisiologi bakteri AOB ini terutama pentingnya mengetahui proses biogeokimia dari oksidasi amonia dengan pengembangan metode untuk identifikasi AOB secara molekular, karena waktu pertumbuhannya sangat lambat umumnya sampai 25 hari (Matulewich *et al*., 1975; Watson *et al*., 1989). Salah satu teknik molekular yang digunakan dalam menganalisa komunitas bakteri pada sampel lingkungan adalah T-RFLP (*Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*). T-RFLP adalah suatu metode yang penting dalam ekologi mikroba (Marsh, 1999).

Bakteri AOB mendapatkan energinya dengan oksidasi senyawa nitrogen anorganik berupa amonia. AOB sangat terkonsentrasi di daerah yang tinggi akan konsentrasi amonia, terutama di daerah danau, sungai dan muara sungai yang banyak mendapatkan buangan limbah dari daratan. Keberadaan AOB di perairan dipengaruhi oleh parameter fisika dan kimia perairan yang mendukung atau menekan ketahanan hidup bakteri. Parameter fisika dan kimia perairan tersebut berupa suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut, dan nutrien (Sahan dan Muyzer, 2008; Bernhard *et a*l., 2010; Li *et al*., 2015). Selain itu, musim juga mempengaruhi komunitas bakteri (Christman *et al*., 2011; Sher *et al*., 2013).

Sungai Musi

Sungai Musi merupakan sungai terbesar dan terpanjang di provinsi Sumatera Selatan dengan lebar rata-rata Sungai Musi adalah 504 m (lebar terpanjang 1.350 m berada disekitar Pulau Kemaro dan lebar terpendek 250 m berlokasi di sekitar Jembatan Musi II), terdapat delapan sungai besar yang bermuara di Sungai Musi, yaitu Sungai Komering, Sungai Rawas, Sungai Leko, Sungai Lakitan, Sungai Kelingi, Sungai Lematang, Sungai Semangus, dan Sungai Ogan (DKIKP, 2018). Sungai ini tidak hanya menyediakan air untuk kebutuhan sehari-hari seperti minum dan mandi, tetapi juga menjadi jalur transportasi penting bagi kapal-kapal yang melintas. Selain itu, sungai tersebut turut menjadi sumber penghidupan bagi masyarakat yang menggantungkan hidup sebagai nelayan.

Samuel dan Adjie (2008) membuat zonasi perairan Sungai Musi berdasarkan pengamatan parameter fisik dan kimia air serta pengamatan visual tataguna lahan kedalam bentuk profil memanjang dari bagian hulu (*source*) hingga bagian hilir (*mouth*) terbagi menjadi 3 zona (Gambar 1.1), yaitu:

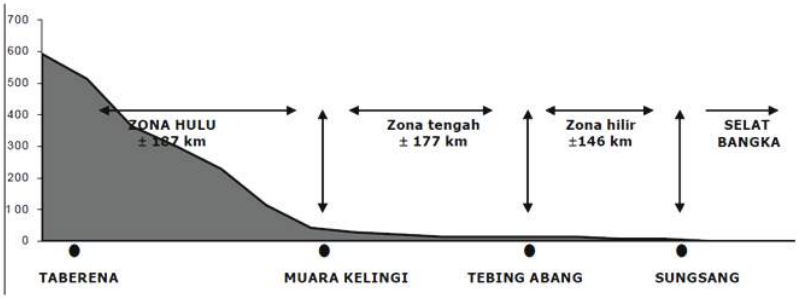
1. Zona Bagian Hulu

   Panjang Sungai Musi pada zona hulu ± 187 km. Zona Musi bagian hulu dimulai dari Desa Taberena, Kabupaten Rejang Lebong, Propinsi Bengkulu pada ketinggian ± 600 m diatas permukaan laut, terdapat hutan lindung disekitarnya, dasar sungai bebatuan, air jernih dengan kedalaman 30-80 cm serta kecepatan arus berkisar dari 1,0 - 1,2 m/s. Air terus mengalir ke arah hilir melewati daerah perkebunan, perladangan, areal pertanian dan pemukiman penduduk.

2. Zona Bagian Tengah

   Panjang Sungai Musi pada zona tengah ± 177 km. Zona Musi bagian tengah dimulai dari Kecamatan Muara Kelingi sampai Desa Tebing Abang di bagian hilir Kota Sekayu dengan ketinggian antara 15 - 40 m diatas permukaan laut, banyak

terdapat areal hutan rawa disebut rawang dan daerah ini merupakan daerah penangkapan ikan air tawar.



Gambar 1.1 Profil memanjang Sungai Musi dari zona hulu sampai zona hilir

3. Zona Bagian Hilir

Panjang Sungai Musi pada zona hilir ± 146 km. Zona Musi bagian hilir dimulai dari Desa Tebing Abang hingga Muara Selat Bangka di Desa Sungsang dengan ketinggian hingga 15 m diatas permukaan laut, daerah yang berdekatan dengan muara di pengaruhi oleh fluktuasi harian pasang surut air laut dari Selat Bangka yang banyak ditumbuhi mangrove. Tataguna lahan mulai dari kota Palembang mengarah ke bagian hilir Pulau Borang dan Selat Ajaran terdapat industri-industri besar yaitu: industri pupuk urea (PUSRI), industri pengolahan minyak bumi (PERTAMINA), industri petro-kimia (Aromatik), industri kayu lapis dan industri pengolahan minyak kelapa sawit.

Aliran air Sungai Musi dari hulu melalui beberapa tata guna lahan yang beragam dimulai dari kawasan hutan lindung di bagian hulu, kebun campuran, lahan pertanian, areal pemukiman, kawasan industri dan areal hutan mangrove di bagian hilir (Samuel dan Adjie, 2008). Sebagian besar aktivitas manusia di sekitar Sungai Musi seperti adanya pemukiman, industri, transportasi, perkebunan dan pertanian telah memberikan dampak yang besar terhadap ekosistem sungai (Zulkifli *et al*., 2009; Putra, 2014).

Debit air Sungai Musi bervariasi antara 2.700 m^3/s pada musim kemarau dan mencapai 4.000 m^3/s pada musim hujan (Widiastuty, 2001). Kecepatan aliran Sungai Musi bagian hilir pada ruas sungai Pulau Kemaro sampai dengan Muara Sungai Komering mencapai 2.394,5 m^3/s (Putra, 2014). Daerah Aliran Sungai (DAS) Musi dipengaruhi oleh curah hujan bulanan sehingga mempengaruhi debit aliran permukaan secara signifikan. Debit aliran sungai mengalami peningakatan pada bulan November, Desember, Januari, Februari, Maret, April, dan Mei. Sedangkan debit aliran sungai akan menurun pada bulan Juni, Juli, Agustus, September, dan Oktober (Sipayung dan Cholianawati, 2011).

Tipe pasang surut di muara Sungai Musi adalah pasang surut tunggal, artinya dalam satu hari terjadi satu kali pasang dan satu kali surut (Nurisman *et al*., 2012; Surbakti, 2012). Waktu yang dibutuhkan dari kondisi surut terendah menuju pasang tertinggi adalah 9 - 10 jam, sedangkan dari kondisi pasang tertinggi menuju surut terendah adalah 14 - 15 jam (Surbakti, 2012).

Luas areal perkebunan di hilir Sungai Musi tepatnya di Kecamatan Makarti Jaya untuk luas lahan sawah pasang surut sebesar 13.651 ha, luas areal perkebunan kelapa sawit sebesar 286 ha, luas areal perkebunan kelapa rakyat sebesar 7.033 ha, luas areal perkebunan karet rakyat sebesar 34 ha dan luas areal perkebunan kopi rakyat sebesar 59 ha (BPS Kabupaten Banyuasin, 2016).

Dalam perkembangannya, kawasan di sekitar Sungai Musi mengalami pertumbuhan industri yang pesat. Berbagai sektor industri, termasuk petrokimia, tekstil, karet, semen, pupuk, kelapa sawit, batubara, serta aktivitas pelabuhan dan perkebunan, memanfaatkan air sungai untuk keperluan pengolahan maupun pembuangan limbah. Aktivitas ini telah menimbulkan tekanan yang signifikan terhadap ekosistem sungai, baik dari segi kualitas air maupun keberlanjutan fungsinya bagi masyarakat dan lingkungan.

Beragam aktivitas manusia seperti industri, transportasi, pertanian, serta kegiatan domestik memberikan kontribusi signifikan

terhadap peningkatan beban pencemaran di badan air. Aktivitas-aktivitas ini menghasilkan limbah yang mengandung berbagai zat pencemar, salah satunya adalah senyawa organik seperti amonia. Kehadiran amonia dalam jumlah berlebih dapat menjadi ancaman serius bagi keseimbangan lingkungan perairan, karena berpotensi mengganggu kehidupan organisme akuatik dan menurunkan kualitas ekosistem secara keseluruhan.

Salah satu industri kimia berskala besar yang berlokasi di sepanjang tepi sungai utama diketahui memproduksi pupuk urea dan amonia cair dalam jumlah yang sangat signifikan. Kapasitas produksinya mencapai lebih dari satu juta ton per tahun untuk masing-masing jenis produk. Kegiatan industri seperti ini berpotensi memberikan kontribusi terhadap peningkatan konsentrasi nitrogen anorganik di perairan sekitar, khususnya pada bagian hilir sungai hingga ke muaranya.

Konsentrasi amonia di hilir Sungai Musi sampai ke muara berkisar antara 0,04 - 0,10 mg/L dan konsentrasi nitrat berkisar antara 0,02 - 0,10 mg/L (Putri dan Melki, 2011). Konsentrasi nitrat di hilir Sungai Musi sebesar 0,03 mg/L (Munthe *et al*., 2012). Konsentrasi amonia di hilir Sungai Musi berkisar antara 0,02 - 0,41 mg/L dan konsentrasi nitrat berkisar antara 0,03 - 2,04 mg/L (Isnaini dan Surbakti, 2015).

BAB II

MIKROORGANISME NITRIFIKASI DAN TEKNOLOGI IDENTIFIKASINYA

1. Nitrogen di Perairan

Nitrogen terdapat lima proses dalam siklus biogeokimia, yaitu: amonifikasi, nitrifikasi, asimilasi nitrogen, denitrifikasi dan fiksasi nitrogen. Amonifikasi adalah proses pembentukan amonia dari materi organik. Amonia juga dapat mengalami asimilasi menjadi asam amino dan dapat diasimilasi secara langsung oleh kelompok diatom, alga dan tanaman tingkat tinggi. Nitrifikasi merupakan reaksi oksidasi yaitu proses pembentukan nitrat dari amonia. Asimilasi nitrogen merupakan proses pemanfaatan nitrogen untuk pembentukan asam amino dalam protoplasma oleh fitoplankton, alga dan bakteri. Denitrifikasi merupakan reaksi reduksi nitrat menjadi nitrit, nitrit oksida, nitrous oksida dan gas nitrogen. Fiksasi nitrogen merupakan pengikatan gas nitrogen menjadi amnonia dan nitrogen organik (Dong *et al*., 2002).

Siklus nitrogen di perairan alami dapat dilihat pada Gambar 2.1. Penjelasan dari siklus terlihat bahwa nitrogen berpengaruh terhadap tingkat oksigen di dalam air serta dapat dilihat dari dua katagori problem kualitas air lainnya yang terjadi. Kategori tersebut adalah nitrifikasi/denitrifikasi dan eutrofikasi. Untuk problem ini, nitrogen berperan sebagai penyebab problem pada problem nitrogen itu sendiri. Kategori kedua pencemaran nitrat dan toksisitas amonia. Di dalam kasus ini, nitrogen merupakan jenis polutan yang sesungguhnya. Semua problem yang muncul saling berhubungan antara satu dengan lainnya. Garis putus-putus mengindikasikan reaksi denitrifikasi pada kondisi anaerobik (Chapra, 1997).

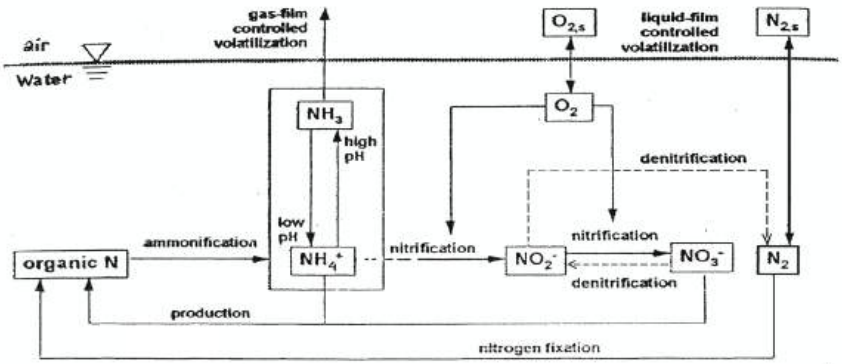


FIGURE 10.8 The nitrogen cycle in natural waters. The light arrows indicate that the denitrification reactions take place under anaerobic conditions.

Gambar 2.1 Siklus nitrogen di perairan alami

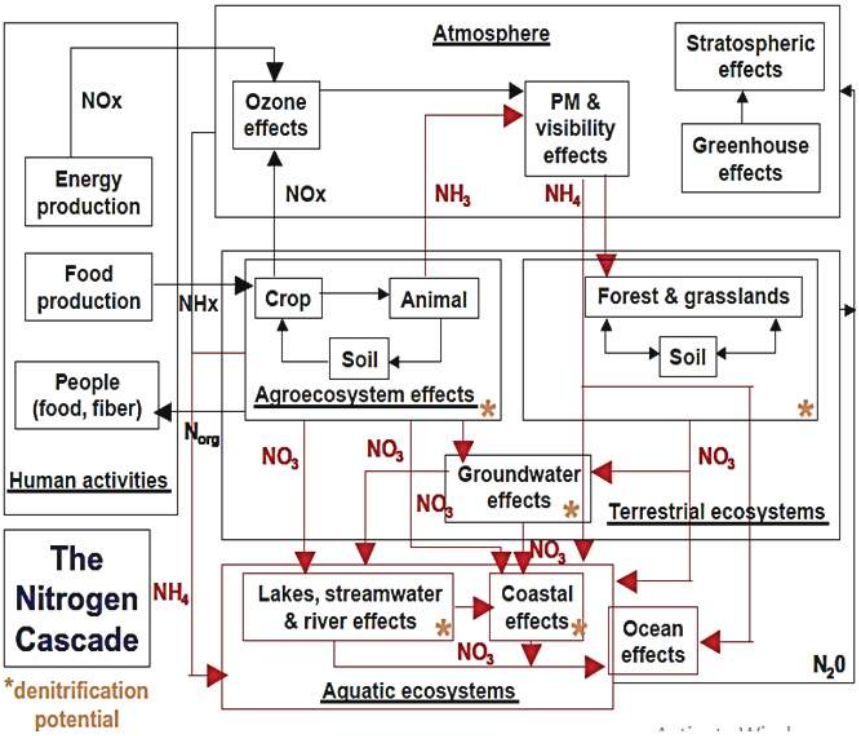
Secara rinci Gambar di atas dapat diuraikan sebagai berikut (Chapra, 1997):

a. Nitrifikasi/denitrifikasi. Amonia mengakibatkan loading secara langsung dan mendekomposisi nitrogen organik yang dioksidasi di dalam dua langkah proses untuk membentuk nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-) dalam prosesnya membutuhkan oksigen sehingga dapat menurunkan konsentrasi oksigen di dalam air, serta dalam kondisi anaerobik, nitrat dapat direduksi menjadi nitrit dan nitrit diubah ke dalam nitrogen bebas dengan cara denitrifikasi.
b. Eutrofikasi. Nitrogen merupakan nutrien yang penting bagi pertumbuhan tanaman dalam aplikasinya sebagai pupuk yang dapat mempercepat pertumbuhan tanaman, proses ini disebut eutrofikasi.
c. Pencemaran nitrat. Pada kawasan pertanian sebagai sumber nitrat (*nonpoint source*) yang berasal dari penggunaan pupuk yang berlebihan, sehingga mengakibatkan nitrifikasi dari sumbernya (*point source*).

Selain itu juga dijelaskan bahwa siklus nitrogen di perairan alami dimulai dengan nitrogen atmosfer (N_2) yang masuk ke

dalam air melalui proses fiksasi oleh mikroorganisme seperti bakteri *Rhizobium* atau alga biru-hijau. Setelah itu, bahan organik seperti protein dan urea diurai oleh mikroba melalui proses amonifikasi, menghasilkan ammonium (NH_4^+). Dalam kondisi aerob, ammonium kemudian dioksidasi menjadi nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-) melalui proses nitrifikasi yang dilakukan oleh bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*. Nitrat ini dapat diserap oleh tumbuhan air melalui asimilasi untuk membentuk biomassa atau, dalam kondisi anaerob, diubah kembali menjadi gas nitrogen (N_2) atau nitrous oksida (N_2O) melalui denitrifikasi oleh bakteri seperti *Pseudomonas*, yang akhirnya dilepaskan ke atmosfer. Selain itu, sebagian nitrogen organik dapat mengendap sebagai partikel di sedimen, terurai secara perlahan, atau bahkan terawetkan dalam bentuk fosil. Proses-proses ini saling terkait, menjaga keseimbangan nitrogen di perairan dan mendukung kehidupan akuatik.

Aliran nitrogen yang menggambarkan pergerakan nitrogen dari satu aspek ke aspek yang lain akibat pengaruh aktivitas manusia yang mengarah ke ekosistem perairan dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Rabalais, 2002). Kegiatan manusia telah meningkatkan aliran nitrogen global. Laju aliran nitrogen terikat kedalam laut meningkat secara signifikan karena kegiatan buangan limbah dan pertanian, diantaranya aktivitas pertanian menyebabkan erosi tanah dan limpasan pupuk. Sungai berperan penting dalam transport nutrien ke ekosistem laut. Aliran antropogenik nitrogen ini melampaui masukan alami dari sungai dan telah mengakibatkan eutrofikasi pada perairan estuari. Nitrogen juga menghilang dari biosfer daratan karena biomasa yang terbakar, khususnya di hutan hujan tropika. Proses-proses ini bersama-sama dengan pembakaran bahan bakar fosil telah meningkatkan kandungan nitrogen oksida dalam atmosfer. Pencemaran udara ini membantu pembentukan ozone pada troposfer, tetapi menyebabkan perusakan lapisan ozone pada stratosfer (Rabalais, 2002; Setiapermana, 2006).



Gambar 2.2 Aliran nitrogen pada ekosistem perairan yang dipengaruhi oleh aktivitas manuasia

Nitrogen merupakan senyawa yang tersebar secara luas di biosfer. Atmosfir bumi mengandung sekitar 78% gas nitrogen. Pada sistem perairan senyawa nitrogen dapat berupa nitrogen organik dan anorganik. Nitrogen anorganik terdiri atas amonia (NH_3), amonium (NH_4^+), nitrit (NO_2^-), nitrat (NO_3^-) dan nitrogen (N_2). Nitrogen organik organik berupa asam amino, protein dan urea. Kandungan unsur nitrogen pada sel setiap makhluk hidup baik hewan maupun tumbuhan bervariasi antara 1-10% berat kering total. Nitrogen merupakan elemen esensial bagi pertumbuhan mikroorganisme, tumbuhan dan hewan yang sering disebut sebagai biostimulan. Senyawa kimia nitrogen sangat komplek, karena nitrogen memiliki beberapa tahapan oksidasi yang dapat merubah senyawa kimia nitrogen. Proses oksidasi tersebut dipengaruhi oleh organisme hidup (Metcalf dan Eddy, 1991).

Senyawa amonia (NH_3) di perairan merupakan hasil pemecahan nitrogen organik (protein dan urea) yang terdapat dalam tanah dan air oleh mikroorganisme proteolitik melalui proses amonifikasi. Amonia yang terukur di perairan yakni berupa amonia total (NH_3 dan NH_4^+) dimana amonia bebas (NH_3) tidak dapat terionisasi, sedangkan amonium (NH_4^+) dapat terionisasi (Effendi, 2003).

Nitrat (NO_3) merupakan bentuk utama nitrogen di perairan alami. Selain itu, nitrat merupakan senyawa yang sangat penting untuk pertumbuhan tanaman dan alga. Nitrat sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Konsentrasi nitrat yang sangat tinggi biasanya ditemukan di muara sungai atau badan air yang tercemar. Tingginya kadar nitrat disebabkan oleh masuknya limbah organik serta pupuk atau pakan mengandung senyawa nitrat (Hutagalung dan Rozak, 1997).

Senyawa nitrat dalam sistem perairan banyak dimanfaatkan oleh kelompok mikroorganisme yang bersifat heterotrofik untuk membentuk bahan organik sel. Kelompok tersebut dapat melakukan asimilasi nitrat dengan bantuan enzim nitrat dan nitrit reduktase pada saat aerobik. Sedangkan pada saat anaerobik ion nitrit atau nitrat akan digunakan sebagai penerima elektron terakhir pada respirasi nitrat atau disimilasi nitrat (Madigan *et al.,* 2003).

Senyawa nitrogen dapat menyebabkan penurunan kualitas lingkungan perairan sehingga menghambat pertumbuhan dan metabolisme hewan-hewan air. Senyawa nitrogen berupa amonia dan nitrit dapat mengurangi konsentrasi oksigen terlarut dalam sistem perairan, sedangkan bentuk lainnya seperti nitrat berpotensi menyebabkan eutrofikasi (Metcalf dan Eddy, 1991). Menurut Ward (2000), senyawa-senyawa polutan nitrogen tersebut dapat diturunkan konsentrasinya dari badan air melalui proses asimilasi dan proses desimilasi (nitrifikasi-denitrifikasi).

2. Bakteri Nitrifikasi: *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB)

Bakteri nitrifikasi adalah bakteri-bakteri tertentu yang mampu mengoksidasi amonia menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat secara biologis, serta melibatkan dua proses yang dilakukan oleh dua kelompok bakteri yang berbeda, yaitu bakteri amonia oksidizer yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit, dan bakteri nitrit oksidizer yang mengoksidasi nitrit menjadi nitrat, serta tidak ada bakteri autotrofik yang diketahui mampu mengoksidasi amonia menjadi nitrat secara langsung (Bothe *et al*., 2000).

Bakteri nitrifikasi yang terdapat di air tawar adalah *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus, Nitrobacter, Nitrospira, Nitrosovibrio,* dan *Nitrosolobus*. Sedangkan bakteri nitrifikasi yang terdapat di air laut yaitu *Nitrosomonas*, *Nitrobacter, Nitrosococcus, Nitrococcus, Nitrospira,* dan *Nitrosolobus* (Arfiati, 1989). Bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* merupakan genus penting dari bakteri kemoautotrof di air tawar, air payau, dan air laut (Spotte, 1979).

Bakteri pengoksidasi amonia menjadi nitrit adalah *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* atau *Nitrosovibrio* dan pengoksidasi nitrit menjadi nitrat adalah *Nitrobacter*, sedangkan bakteri yang berperan dalam amonifikasi adalah *Bacillus*, *Clostridium*, *Proteus*, *Pseudomonas* dan *Streptomyces* (Nindrasari *et al*., 2011).

Proses oksidasi amonia merupakan tahap pertama dalam proses nitrifikasi yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit dan kemudian nitrat oleh bakteri amonia oksidizer, serta terdapat dua enzim yang penting sebagai energi untuk melakukan proses oksidasi, yaitu *ammonia monooxygenase* (*amo*) dan *hydroxylamine oxidoreductase* (*hao*) (Ward, 2000; Bothe *et al*., 2000).

Secara in vivo kedua enzim tersebut bekerjasama dalam menghasilkan substrat dan transfer elektron, dimana *amo* mengoksidasi amonia menjadi hydroxylamine dengan reaksi 2.1.

$$NH_3 + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O \quad \text{..... (2.1)}$$

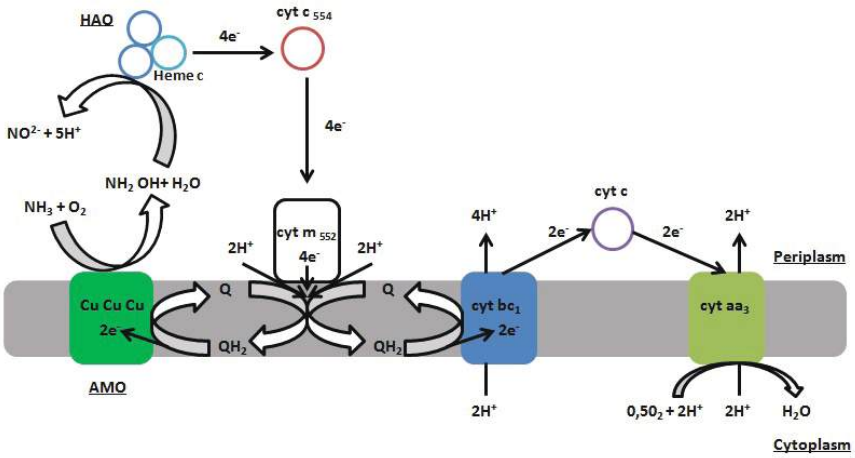
hao mengoksidasi hydroxylamine menjadi nitrit membutuhkan dua elektron pada reaksi 2.2.

$NH_2OH + H_2O \rightarrow NO_2^- + 5H^+ + 4e^-$ .....(2.2)

satu atom oksigen pada NO_2^- diperoleh dari O_2 dan satu lagi dari air serta dua dari empat elektron dihasilkan oleh *hao* (Bothe *et al*., 2000).

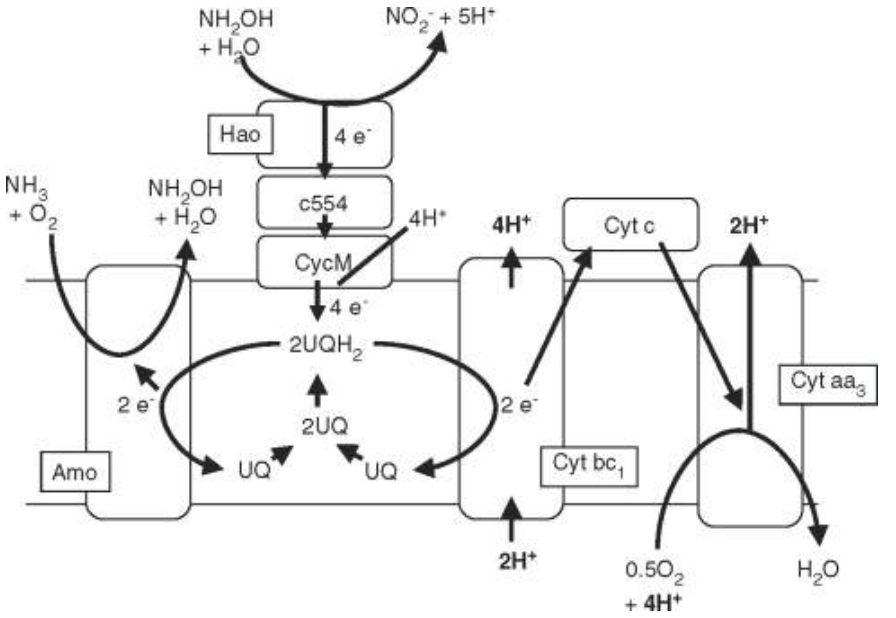
Oksidasi amonia menjadi nitrit yang dilakukan oleh *Nitrosomonas* bukanlah proses yang mudah. Langkah pertama adalah mengkonversi NH_3 (atau NH_4^+) menjadi NH_2OH (Gambar 2.4). Reaksi ini membutuhkan dua elektron molekul O_2, yang diyakini dipasok oleh *ubiquinol*. *Amonia monooksigenase* (AMO) yang bertanggung jawab atas reaksi ini tidak pernah dimurnikan, tetapi telah diidentifikasi dengan metode pelabelan bunuh diri. Urutan dari dua subunit enzim itu diakui sangat mirip dengan *metana monooksigenase* yang terikat Cu. Struktur CH_4-*monooxygenase* menunjukkan banyaknya ikatan bersama dengan atom Cu yang terikat di daerah yang lebih bulat di sisi periplasmik membran. Sayangnya, pengaturan yang tepat dari ion Cu di situs aktif tidak jelas tetapi setidaknya struktur *metana monooksigenase* ini memberikan kerangka kerja untuk pemahaman AMO di masa depan. Gagasan bahwa *ubiquinol* menyediakan elektron untuk AMO didukung oleh fakta bahwa preparasi enzim yang dimurnikan sebagian dapat menggunakan *duroquinol* sebagai donor elektron (Ferguson *et al.,* 2007).

Secara umum bahwa HAO trimerik multiheme tipe-c mengubah hidroksilamin menjadi nitrit dalam periplasma dengan produksi empat elektron (Gambar 2.3). Aliran empat elektron disalurkan melalui sitokrom c554 ke sitokrom c552 yang terikat membran. Dua elektron diarahkan kembali ke AMO, di mana mereka digunakan untuk oksidasi amonia. Dua elektron yang tersisa digunakan untuk menghasilkan proton dan mengurangi NAD(P) melalui transpor elektron balik (Kim dan Gadd, 2008).



Gambar 2.3 Mekanisme molekuler oksidasi amonia oleh AOB

Skema untuk jalur transport elektron di *N. europaea* diasumsikan bahwa elektron yang berasal dari NH_2OH dikirim dari NH_2OH *dehydrogenase* (*Hao*) ke *ubiquinone* melalui sitokrom c554 dan sitokrom cm yang merupakan anggota keluarga NapC (Gambar 2.4). Diasumsikan bahwa sitokrom cm mengkatalisis pembentukan *ubiquinol* dengan serapan H^+ secara bersamaan dari sisi periplasmik. Penempatan situs aktif *Amo* pada sisi periplasmik adalah dengan analogi dengan *metana monooksigenase*. Proton yang dilepaskan pada oksidasi diduga UQH_2 oleh *Amo* tidak ditunjukkan tetapi mungkin dilepaskan ke periplasma (Ferguson *et al.,* 2007).



Gambar 2.4 Skema jalur transport elektron pada *Nitrosomonas europaea*

Ammonia monooxygenase (*amo*) dari bakteri amonia oksidizer terbagi menjadi tiga operon, yaitu gen yang mengkode *amo*A, *amo*B dan *amo*C (Sayavedra-Soto *et al*., 1998; Alzerreca *et al*., 1999). *Ammonia monooxygenase* subunit gen A (*amo*A) merupakan gen fungsional yang sering digunakan untuk menganalisis keragaman bakteri amonia oksidizer pada berbagai lingkungan termasuk air laut dan sedimen (Christman *et al*., 2011; Shimomura *et al*., 2012).

McTavis *et al*. (1993), yang pertama kali melaporkan tentang sekuens *amo*A dari *Nitrosomonas europaea*. Selanjutnya Kim *et al*. (2008), menambahkan lebih dari 3.000 sekuens *amo*A dari bakteri terdapat di GenBank, umumnya 40% dari tanah, 37% dari air laut atau air tawar dan 21% dari pembuangan limbah. Bakteri amonia oksidizer secara morfologi sel terdiri dari beberapa jenis, yaitu *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosovibrio* dan *Nitrosolobus* (Koops *et al*., 1992). Selanjutnya berdasarkan hasil sekuens 16S rRNA, bakteri amonia oksidizer terdiri dari jenis *Nitrosospira, Nitrosovibrio* dan *Nitrosolobus* yang dikelompokkan

dalam kelompok β-Proteobacteria (Head *et al*., 1993).

Menurut Melin *et al.* (1996) dan Purkhold *et al.* (2000) sebagian besar bakteri AOB tegolong dalam dua garis keturunan monofiletik yaitu β-Proteobacteria termasuk genera *Nitrosomonas* (termasuk *Nitrosococcus mobilis*), *Nitrosospira, Nitrosolobus* dan *Nitrosovibrio*. Serta γ-Proteobacteria termasuk jenis *Nitrosococcus oceani* dan *Nitrosococcus halophilus*. Genus *Nitrosospira* dijumpai diseluruh lingkungan baik air maupun tanah (Bruns *et al.,* 1999; Whitby *et al.,* 1999).

Purkhold *et al.* (2000), menjelaskan secara terperinci membagi klas β-Proteobacteria kedalam lima klaster, yaitu klaster 1 (klaster *Nitrosomonas marina*) terdiri dari *Nitrosomonas marina*, *N*. *aestuarii*, *N*. sp Nm63 dan *N*. sp Nm51; klaster 2 (klaster *Nitrosomonas oligotropha*) terdiri dari *Nitrosomonas ureae* dan *Nitrosomonas oligotropha;* klaster 3 (klaster *Nitrosomonas europaea-Nitrosococcus mobilis*) terdiri dari *Nitrosomonas europaea, Nitrosomonas eutropha, Nitrosomonas halophila, Nitrosococcus mobilis, Nitrosomonas* sp. Nm104 dan *Nitrosomonas* sp. Nm 107; klaster 4 (klaster *Nitrosomonas communis*) terdiri dari *Nitrosomonas nitrosa, Nitrosomonas communis, Nitrosomonas* sp. Nm33 dan *Nitrosomonas* sp. Nm41; klaster 5 (klaster *Nitrosospira*) yaitu semua genus *Nitrosospira*.

3. Habitat Bakteri Nitrifikasi: *Ammonia-Oxidizing Bacteria*

Menurut Effendi (2003) proses nitrifikasi dipengaruhi oleh sifat fisika kimia air, yaitu kadar oksigen terlarut dengan nilai optimum diatas 2 mg/L, pH dengan nilai optimum 7,5 - 8,5, dan suhu dengan nilai optimum 30 - 35 °C. Sedangkan menurut Ripple (2003) selain suhu, pH dan kelarutan oksigen, proses nitrifikasi juga dipengaruhi oleh BOD dengan nilai optimum 20 - 30 mg/L dan kehadiran toksikan karena bakteri nitrifikasi sensitif terhadap pencemaran, seperti adanya logam berat di perairan sangat berbahaya pada bakteri.

Menurut Anthonisen *et al.* (1976) amonia sebagai sumber energi pertama dalam aktivitas bakteri nitrifikasi, namun amonia

dapat bersifat toksik terhadap bakteri nitrifikasi karena amonia yang terkandung tidak terionisasi, konsentrasi amonia 10 - 150 mg/L dapat menghambat bakteri AOB dan konsentrasi 0,1 - 1,0 mg/L dapat menghambat bakteri *Nitrobacter*.

Bakteri nitrifikasi umumnya bersifat gram negatif dengan habitat yang menyebar di laut, air tawar dan tanah (Buchanan dan Gibbon, 1974). Bakteri nitrifikasi tumbuh sangat lambat meskipun pada kondisi optimum, waktu generasinya bergantung pada pH untuk *Nitrosomonas* bervariasi dari 100 jam pada pH 6,2 dan 38 jam pada pH 7,6 sedangkan untuk *Nitrobacter* bervariasi dari 58 jam pada pH 6,2 dan 21 jam pada pH 6,6 (Imas *et al.*, 1989).

Nitrosomonas tumbuh optimum pada pH 7,5 - 8, optimum pada suhu sebesar 30^{o}C namun bisa tumbuh pada suhu minimum sebesar 5^{o}C, dan optimum pada konsentrasi amonia berkisar antara 10 – 50 mM, serta terdapat bakteri yang bisa toleransi pada suhu sebesar 0^{o}C yaitu jenis *Nitrosomonas cryotolerans* (Koops *et al.,* 2001). Konsentrasi amonium merupakan faktor pembatas pertumbuhan bakteri AOB yaitu tidak melebihi nilai sebesar 0,5 mg/L (Bollman dan Laanbroek, 2001)

Pada ekosistem laut, bakteri AOB dari kelas β-Proteobacteria lebih dominan dalam mengoksidasi NH_4^+ menjadi NH_2OH dibanding kelas γ-Proteobacteria (Nold *et al*., 2000). Hal ini dengan yang menemukan bakteri amonia oksidizer dari subkelas β-Proteobacteria banyak dijumpai pada daerah dengan konsentrasi oksigen rendah (Molina *et al*., 2007). Genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosospira* ditemui pada daerah estuari yang dipengaruhi oleh salinitas dan suhu dari hasil analisis sekuen gen 16S rRNA dan *amo*A (Sahan dan Muyzer, 2008). Menurut Rotthauwe *et al*. (1997) dari hasil sekuensing gen *amo*A didapatkan genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosospira* merupakan genus yang dominan di temukan pada perairan tawar. Menurut Kim *et al*. (2008) genus *Nitrosospira* dan *Nitrosomonas* ditemukan di danau dan laut, namun genus *Nitrosospira* lebih banyak ditemukan di lokasi danau dan genus *Nitrosomonas* lebih banyak ditemukan di lokasi laut.

Secara umum pada perairan laut tinggi akan biodiversitas dan produktivitas primer karena di laut banyak mengandung bakteri dan nutrisi yang berasal dari daratan (Danovaro dan Pusceddu, 2007). Faktor lingkungan diduga sangat mempengaruhi keragaman bakteri di perairan, seperti salinitas, temperatur dan nutrien (Andersson *et al.,* 2010; Winter *et al*., 2013), cuaca dan musim (Fuhrman dan Hagstrom, 2008).

Salinitas dan suhu merupakan faktor utama yang mengatur keragaman dan distribusi bakteri AOB di tiga lokasi sedimen estuari Westerschelde dengan perlakuan salinitas 5,4, 17,6, dan 20,4 ppt hasilnya genus *Nitrosospira* lebih dominan dijumpai di salinitas rendah dibanding salinitas tinggi, serta genus *Nitrosospira* lebih banyak dijumpai pada suhu 4 – 10^{o}C dibanding suhu 30^{o}C (Sahan dan Muyzer, 2008).

Salinitas merupakan faktor yang penting dalam mengontrol bakteri AOB dalam proses nitrifikasi pada ekosistem estuari pada sedimen yang diberi perlakuan air laut (0, 15 dan 30 ppt) dengan hasil genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosospira* lebih dominan ditemukan serta jumlah jenis dengan salinitas 15 ppt lebih tinggi dibanding salinitas 0 dan 30 ppt (Santos *et al*., 2018).

Terdapat hubungan antara keberadaan O_2 terlarut, konsentrasi nitrit dan nitrat dengan keberadaan gen *amo*A bakteri amonia oksidizer, hasilnya semakin bertambahnya kedalaman (kadar O_2 semakin rendah), konsentrasi nitrit dan nitrat cenderung meningkat maka subkelas bakteri yang sering dijumpai adalah β-Proteobacteria dan γ-Proteobacteria (Molina *et al*., 2007).

Keragaman *amo*A AOB lebih tinggi pada musim panas dibanding musim dingin pada sedimen estuari Yangtze, hasil analisis sekuen ditemui genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosospira*. Gradient salinitas juga mempengaruhi keragaman bakteri pada gradien salinitas rendah (0,7 - 1,5 ppt) ditemukan enam jenis, yaitu *Nitrosomonas communis*, *N. halophila*, *N. europaea*, *N. oligotropha*, *N. urea*e, *N. marina*, dan *N. cryotolerans*. Sementara pada gradien salinitas tinggi

(6,2 - 14,8 ppt) ditemukan dua jenis, yaitu: *Nitrosomonas* sp. strain Nm143/*Nitrosomonas* sp. strain NS20 dan *N. cryotolerans* (Zheng *et al*., 2014). Namun sebaliknya ditemukan jenis *Nitrosomonas* dan *Nitrosococcus* berdasarkan gen *amo*A pada air laut yang cenderung lebih tinggi ditemukan dibanding air tawar (Kim *et al*., 2008).

4. Fungsi Nitrifikasi di Lingkungan Perairan

Nitrifikasi memainkan peran penting dalam mengatur ketersediaan nitrogen, menjaga kualitas air, dan mendukung keseimbangan ekosistem di lingkungan perairan, termasuk sungai, danau, waduk, dan ekosistem laut. Sebagian besar bakteri dan arkea seperti *Nitrobacter*, *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, dan *Nitrosopumilus* melakukan proses ini.

Beberapa fungsi nitrifikasi di lingkungan perairan diantaranya adalah sebagai berikut:

a. Pengurangan Amonia Beracun Amonia dapat berasal dari banyak sumber, seperti limbah rumah tangga, limbah industri, dan penguraian bahan organik. Konsentrasi amonia yang tinggi di perairan berbahaya bagi organisme akuatik, terutama ikan. Proses nitrifikasi mengubah amonia menjadi nitrat, bentuk nitrogen yang kurang beracun, yang mengurangi risiko keracunan dan menjaga kelangsungan hidup biota akuatik.
b. Mendukung Keseimbangan Ekologis: Nitrat yang dihasilkan dari nitrifikasi mudah diserap oleh fitoplankton dan tumbuhan air sebagai nutrien. Oleh karena itu, nitrifikasi merupakan bagian penting dari rantai nutrien dan membantu produktivitas primer di perairan. Namun, akumulasi nitrat dapat menyebabkan eutrofikasi jika tidak diimbangi dengan proses denitrifikasi atau asimilasi organisme.
c. Menjaga Kualitas Air: Proses nitrifikasi juga membantu menjaga kualitas kimia air. Mikroba nitrifikasi mengubah

senyawa nitrogen yang terlarut dan membantu menstabilkan parameter kimia seperti pH, kadar oksigen terlarut, dan keseimbangan redoks di dalam sedimen dan kolom air.

d. Fungsi Zona Sedimen Nitrifikasi terutama terjadi di zona sedimen perairan dan kolom air. Di lapisan-lapisan yang memiliki jumlah oksigen yang cukup, mikroba nitrifikasi bekerja sangat keras untuk mengolah amonia yang dilepaskan dari bahan organik yang telah didegradasi di dasar perairan. Dengan demikian, sedimen memainkan peran penting dalam pengolahan nitrogen alami.
e. Dampak pada Manajemen Lingkungan: Memahami proses nitrifikasi di perairan sangat penting untuk mengelola kualitas air dan merencanakan sistem sanitasi, terutama untuk pengolahan air limbah dan konservasi danau atau sungai. Proses aerasi dan pengendalian beban organik, misalnya, dapat membantu sistem alami mengolah nitrogen lebih baik.

Nitrifikasi adalah proses biologis yang esensial dalam pengelolaan nitrogen di lingkungan perairan. Penelitian yang dilakukan oleh Hendrawan *et al*. (20210 menyoroti pentingnya nitrifikasi dalam konteks pengolahan air limbah organik. Mereka menunjukkan bahwa peningkatan senyawa nitrogen telah menyebabkan pencemaran yang signifikan, yang berkontribusi pada masalah seperti eutrofikasi -peristiwa yang dapat merusak ekosistem perairan dan mengakibatkan kematian organisme akuatik. Dengan penambahan bakteri nitrifikasi dalam proses bioremediasi, laju nitrifikasi menjadi lebih efisien dan ekonomis, menunjukkan potensi strategi dalam mitigasi dampak pencemaran nitrogen di lingkungan akuatik.

Selanjutnya, studi oleh Pujihastuti (2011) mengenai nitrifikasi dan denitrifikasi di kolam menyatakan bahwa proses ini melibatkan

interaksi kompleks antara berbagai mikroorganisme. Mengukur kondisi nitrit, nitrat, dan amonia di media perairan merupakan langkah penting untuk memahami penerapan bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi secara efektif. Penelitian ini menekankan pentingnya pengukuran parameter kualitas air dalam mengevaluasi efisiensi proses nitrifikasi.

Dalam ekosistem perairan, bakteri nitrifikasi berfungsi mengkonversi amonia menjadi nitrit dan kemudian nitrat, yang dapat dimanfaatkan oleh vegetasi akuatik sebagai sumber nutrisi. Penelitian yang dilakukan oleh Zulapriansyah *et al*. (2022) menggambarkan bagaimana nutrisi nitrogen dan fosfor yang berasal dari penggunaan pupuk yang berlebihan dapat menyebabkan pencemaran perairan. Terlalu banyak nitrat dapat menyebabkan proliferasi alga, yang pada gilirannya menyebabkan deoksigenasi dalam perairan saat alga mati dan terurai, menciptakan lingkungan yang tidak sehat bagi organisme lainnya.

Penelitian oleh Kurniawan *et al*. (2023) mengenai karakteristik klorofil-a di perairan Teluk Jakarta menunjukkan bahwa keberadaan nutrisi sangat penting untuk pertumbuhan plankton, organisme primer dalam rantai makanan ekosistem perairan. Penelitian ini menyiratkan bahwa proses nitrifikasi berkontribusi pada ketersediaan nitrat, yang mendukung pertumbuhan klorofil-a, dan selanjutnya mendukung keanekaragaman hayati dalam ekosistem perairan.

Studi mengenai kualitas air di kawasan bekas tambang menunjukkan bahwa air limbah dapat mengandung nitrogen dalam bentuk amonium, nitrit, dan nitrat, yang dapat merusak ekosistem jika tidak diolah dengan bijak (Santoso, 2018). Di sinilah nitrifikasi berperan penting, tidak hanya dalam mengolah materi organik tetapi juga dalam mengubah nitrogen menjadi bentuk yang lebih bermanfaat bagi lingkungan.

Lebih jauh, penelitian oleh Safitri *et al*. (2023) menunjukkan bahwa mikroorganisme seperti Nitrobacter dapat digunakan dalam

pengolahan dan penghijauan tanah di daerah pertanian. Pendekatan semacam ini, ketika diterapkan di lingkungan perairan, berpotensi mengurangi akumulasi nitrat sambil memperbaiki kesehatan tanah dan air.

Secara keseluruhan, nitrifikasi beroperasi dalam konteks yang lebih besar dari ekosistem yang seimbang. Penelitian oleh Akbarurrasyid *et al*. (2024) mengenai keanekaragaman plankton sebagai bioindikator kualitas lingkungan di area tambak menegaskan bahwa mikrobiologi dalam perairan dan aktivitas biologis sangat terhubung. Nitrifikasi berpengaruh signifikan terhadap tingkat nutrisi dan kesehatan lingkungan secara keseluruhan, memberi ruang bagi keanekaragaman organisme yang lebih kaya.

Penting untuk dicatat bahwa interaksi antara nitrifikasi dan denitrifikasi sangat penting untuk manajemen nitrogen di ekosistem akuatik. Penelitian oleh Razi *et al*. (2023) mengenai pencemaran logam berat menunjukkan tantangan yang dapat memengaruhi proses nitrifikasi. Interaksi nitrogen dengan berbagai polutan dapat mengurangi efektivitas proses nitrifikasi, yang menunjukkan bahwa pengelolaan lingkungan perairan tidak dapat terpisah dari isu-isu lain yang mempengaruhi kualitas air.

Mengingat peran kunci mikroorganisme dalam siklus nitrogen, penelitian di bidang bioremediasi menjadi langkah penting ke depan. Studi yang dilakukan oleh Prayitno (2020) menggambarkan bagaimana inovasi dalam teknologi biologi dapat memberikan cara baru yang lebih efektif untuk meningkatkan pengolahan air limbah. Inisiatif ini sejalan dengan pemahaman yang semakin meningkat tentang peran mikroorganisme dalam ekosistem, khususnya dalam konteks produksi air bersih dan pengelolaan sumber daya alam.

Analisis yang lebih luas terhadap nitrifikasi dalam konteks perairan akan membahas tantangan serta kesempatan dalam konservasi dan pengembangan bioteknologi. Penggunaan mikroorganisme yang efektif, seperti EM4, dalam bioremediasi sebagai sarana untuk mengelola limbah cair berpotensi memberikan

solusi terhadap permasalahan pencemaran, menciptakan siklus yang lebih berkelanjutan dalam rantai ekosistem akuatik (Utomo *et al*., 2022).

Dengan semua informasi ini, kita dapat melihat bahwa nitrifikasi berfungsi dengan signifikan dalam lingkungan perairan. Proses ini merupakan kunci untuk menjaga keseimbangan ekosistem, dan pendekatannya harus terintegrasi dalam strategi pengelolaan sumber daya air yang lebih komprehensif. Kesadaran yang terus menerus dan penelitian yang berkelanjutan adalah penting untuk memahami dinamika ini lebih baik dan menemukan metode yang efektif untuk mengurangi dampak pencemaran nitrogen di lingkungan kita.

5. Metode Pengukuran Nitrifikasi

Banyak pendekatan telah dikembangkan untuk memahami dan mengukur dinamika nitrifikasi di lingkungan perairan. Ini termasuk metode kimia, biologi molekuler, isotopik, dan teknik in situ otomatis (Groffman *et al*., 2006; Dodsworth *et al*., 2011; Nugroho *et al*., 2023). Masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan tergantung pada tujuan penelitian, jenis sampel, ketersediaan sumber daya dan peralatan, dan jenis metode itu sendiri.

a. Metode Kimia Klasik (Konvensional)

1) Pengukuran Senyawa Nitrogen Anorganik

Metode ini bergantung pada jumlah senyawa nitrogen ($NH4^+$, $NO2^-$, dan $NO3^-$) yang ditemukan dalam sampel air atau ekstrak sedimen. Untuk mengukur laju konversi, pengukuran dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi; reagen Nessler untuk amonia; metode Griess untuk nitrit; dan reduksi kadmium plus diazotisasi untuk nitrat. Perubahan konsentrasi nitrat dan nitrit sepanjang waktu digunakan untuk menentukan nilai aktivitas nitrifikasi.

2) Inkubasi Berjangka Waktu

Air atau sedimen diinkubasi dalam kondisi aerobik. Ini biasanya terjadi dalam botol tertutup yang memiliki aerasi. Sebagai substrat, amonia dapat ditambahkan. Sampel diambil secara berkala untuk mengukur jumlah nitrogen yang ada di dalamnya. Keunggulan: mudah dan murah. Kelemahan: jalur nitrifikasi tidak spesifik dan dapat terganggu oleh proses lain seperti denitrifikasi atau asimilasi oleh mikroorganisme heterotrof.

b. Metode Inhibitor Spesifik

Metode inhibitor spesifik adalah teknik eksperimental yang digunakan untuk membedakan aktivitas nitrifikasi dari proses lain dalam siklus nitrogen, seperti denitrifikasi atau asimilasi nitrogen. Dengan menggunakan bahan kimia tertentu yang menghambat enzim atau kelompok mikroorganisme tertentu, peneliti dapat mengidentifikasi peran dan kontribusi masing-masing tahapan nitrifikasi serta menentukan jalur dominan dalam suatu lingkungan.

Prinsip Dasar

Setiap inhibitor bekerja dengan cara menghentikan aktivitas enzim atau jalur metabolik tertentu dalam mikroorganisme nitrifikasi. Dengan membandingkan aktivitas nitrifikasi sebelum dan sesudah penambahan inhibitor, kita dapat mengetahui proses mana yang terganggu dan mikroorganisme mana yang dominan.

Inhibitor-Inhibitor yang Umum Digunakan

» Asetilena (C_2H_2)
  - Target: Enzim amonia monooksigenase (AMO), yang berperan dalam oksidasi amonia menjadi hidroksilamin.

- Mekanisme kerja: Mengikat secara ireversibel ke situs aktif AMO, sehingga menghentikan proses oksidasi amonia.
- Efek: Menghambat aktivitas baik *ammonia-oxidizing bacteria (AOB)* maupun *ammonia-oxidizing archaea (AOA)*.
- Kegunaan: Membantu mengonfirmasi bahwa penurunan amonia dalam suatu sistem memang disebabkan oleh oksidasi biologis, bukan proses lain.

» Aliltiourea (ATU)
- Target: AOB (terutama genus *Nitrosomonas*).
- Mekanisme kerja: Menghambat aktivitas enzim AMO secara selektif pada AOB.
- Efek: Tidak mempengaruhi AOA secara signifikan, sehingga dapat digunakan untuk membedakan peran relatif AOB vs. AOA dalam proses nitrifikasi.
- Kegunaan: Berguna dalam studi ekologi mikroba untuk mengetahui organisme dominan dalam oksidasi amonia.

» Klorat (ClO_3^-)
- Target: Nitrit-oksidasi oleh *nitrite-oxidizing bacteria* (NOB).
- Mekanisme kerja: Klorat merupakan analog struktural dari nitrat dan masuk ke dalam sel melalui sistem transport nitrat. Dalam sel, klorat direduksi menjadi klorit (ClO_2^-), yang bersifat toksik dan menghambat enzim nitrit oksidoreduktase (NXR).
- Efek: Menghambat konversi nitrit (NO_2^-) menjadi nitrat (NO_3^-), sehingga menyebabkan akumulasi nitrit.

- Kegunaan: Berguna untuk memisahkan aktivitas oksidasi amonia dan oksidasi nitrit dalam studi kinetika nitrifikasi.

Keunggulan Metode

» Spesifisitas tinggi terhadap tahapan atau mikroorganisme tertentu.
» Mudah diterapkan dalam eksperimen laboratorium maupun mikro-kosmos lapangan.
» Membantu dalam penentuan jalur dominan nitrifikasi berdasarkan perubahan konsentrasi senyawa nitrogen setelah penambahan inhibitor.
» Keterbatasan
» Potensi efek samping toksik terhadap mikroba lain di luar target, terutama jika konsentrasi terlalu tinggi.
» Ketergantungan terhadap kondisi lingkungan, seperti pH, suhu, dan keberadaan senyawa lain, yang dapat memengaruhi efektivitas inhibitor.
» Tidak memberikan informasi molekuler langsung, sehingga sebaiknya dikombinasikan dengan teknik lain seperti PCR/qPCR atau metagenomik untuk interpretasi yang lebih komprehensif.

Metode ini sering digunakan dalam:

» Studi ekofisiologi mikroba nitrifikasi di tanah, sedimen, dan sistem pengolahan air limbah.
» Eksperimen untuk mengidentifikasi mikroorganisme dominan dalam oksidasi amonia atau nitrit.
» Evaluasi efisiensi proses nitrifikasi dalam sistem biofilter atau bioreaktor.

c. Pendekatan Pelacakan Isotop Stabil $\delta^{15}N$

Metode yang sangat baik untuk mempelajari transformasi nitrogen, termasuk proses nitrifikasi, adalah teknik pelacakan

isotop stabil $\delta^{15}N$. Teknik ini menggunakan perbedaan massa isotop nitrogen (^{14}N dan ^{15}N) untuk melacak jalur metabolik dan mengukur aktivitas nitrifikasi dalam berbagai matriks lingkungan, seperti air, sedimen, dan tanah.

Prinsip Dasar Pelacakan Isotop $\delta^{15}N$

» Isotop Stabil $\delta^{15}N$: Nitrogen memiliki dua isotop stabil, yaitu ^{14}N (kelimpahan ~99,6%) dan ^{15}N (~0,4%).
» Pelabelan Isotop: Dengan menambahkan senyawa nitrogen yang diperkaya ^{15}N (misalnya, $^{15}NH_4^+$ atau $^{15}NO_3^-$), transformasi nitrogen dapat dilacak melalui analisis pergeseran isotop dalam produk reaksi.
» Analisis Spektrometri Massa: Perubahan rasio $^{15}N/^{14}N$ diukur menggunakan Spektrometri Massa Rasio Isotop (IRMS) atau Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS).

1) Metode Pelacakan Nitrifikasi Menggunakan $\delta^{15}NH_4^+$

Prosedur Eksperimental:

- Penambahan Substrat Berlabel:
  - Sampel air atau sedimen diinkubasi dengan $^{15}NH_4^+$ (amonium berlabel ^{15}N) dalam kondisi aerobik.

- Inkubasi Terkontrol:
  - Suhu, pH, dan kadar oksigen dijaga untuk memastikan kondisi optimal nitrifikasi.

- Ekstraksi dan Analisis Produk:
  - Setelah periode inkubasi, nitrit ($^{15}NO_2^-$) dan nitrat ($^{15}NO_3^-$) diekstraksi dan dianalisis menggunakan IRMS atau GC-MS.

Keunggulan:

- Spesifisitas Tinggi: Dapat membedakan nitrogen yang berasal dari nitrifikasi versus sumber lain.
- Sensitif terhadap Laju Reaksi: Memungkinkan pengukuran langsung aktivitas nitrifikasi.

Kelemahan:

- Biaya tinggi karena kebutuhan akan substrat berlabel isotop dan instrumen analitis khusus.
- Kompleksitas dalam memisahkan produk nitrifikasi dari proses nitrogen lainnya (misalnya, denitrifikasi).

2) Metode Isotop Dilusi (Isotope Dilution Method)

Prinsip Kerja:

- Substrat berlabel ^{15}N (misalnya, $^{15}NH_4^+$) dicampur dengan nitrogen alami (^{14}N) dalam sistem.
- Peluruhan atau pencampuran label ^{15}N dengan ^{14}N alami diukur untuk menghitung laju transformasi nitrogen.

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Menghitung Laju Nitrifikasi:
  - Dengan memantau penurunan $^{15}NH_4^+$ dan peningkatan $^{15}NO_3^-$, laju nitrifikasi dapat dihitung.

- Membedakan Sumber Nitrogen:
  - Membantu membedakan kontribusi nitrifikasi versus fiksasi nitrogen atau mineralisasi.

Keunggulan:

- Memberikan informasi kuantitatif tentang laju proses nitrifikasi.
- Dapat dikombinasikan dengan metode lain (misalnya, analisis metagenomik) untuk studi terintegrasi.

Kelemahan:

- Memerlukan model matematika kompleks untuk interpretasi data.
- Sensitif terhadap gangguan dari proses kompetitif seperti asimilasi amonium oleh mikroba non-nitrifikasi.

3) Aplikasi dalam Penelitian Lingkungan

- Studi Laju Nitrifikasi di Sedimen Laut:
  - Menggunakan $^{15}NH_4^+$ untuk mengukur kontribusi nitrifikasi terhadap siklus nitrogen di zona hipoksik.

- Pemantauan Polusi Nutrien di Sungai:
  - Melacak sumber nitrat (misalnya, dari pupuk vs. limbah) menggunakan tanda isotop.

- Penelitian Tanah Pertanian:
  - Mengevaluasi efisiensi pupuk nitrogen dengan melacak transformasi $^{15}NH_4^+$ menjadi $^{15}NO_3^-$.

d. Teknik Molekuler dan Genomik

Teknik molekuler dan genomik telah merevolusi studi tentang proses nitrifikasi dengan memungkinkan identifikasi, kuantifikasi, dan karakterisasi mikroorganisme yang berperan dalam siklus nitrogen pada tingkat genetik dan fungsional.

Teknologi ini memungkinkan pemahaman mendalam mengenai potensi genetik dan ekspresi aktual dari gen-gen yang terlibat dalam nitrifikasi di dalam komunitas mikroba alami maupun buatan.

Keunggulan:

» Sangat sensitif dan selektif: Dapat mendeteksi bahkan jumlah mikroba atau gen yang sangat rendah.
» Spesifik: Memungkinkan identifikasi spesifik dari mikroorganisme berdasarkan gen penanda tertentu.
» Tidak tergantung pada kemampuan kultur: Banyak mikroba nitrifikasi sulit atau tidak dapat dikultur; teknik ini mengatasi keterbatasan tersebut.

Kelemahan:

» Biaya tinggi: Reagen, alat, dan analisis bioinformatika memerlukan investasi besar.
» Memerlukan fasilitas khusus: Seperti laboratorium molekuler dan peralatan canggih (PCR machine, sequencer, dsb).
» Analisis data kompleks: Terutama untuk data metagenomik dan metatranskriptomik yang memerlukan keahlian bioinformatika.

1) Polymerase Chain Reaction (PCR) dan Quantitative PCR (qPCR)

PCR dan qPCR adalah teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur kelimpahan gen fungsional yang terkait dengan nitrifikasi, seperti:

- amoA (gen penanda untuk *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB) dan *Ammonia-Oxidizing Archaea* (AOA))
- nxrA/nxrB (gen penanda untuk *Nitrite-Oxidizing Bacteria* (NOB))

Keunggulan:

- Sensitivitas tinggi, mampu mendeteksi gen target bahkan dalam sampel dengan populasi mikroba rendah.
- Spesifisitas tinggi karena menggunakan primer yang dirancang khusus untuk gen nitrifikasi.

Kelemahan:

- Hanya mendeteksi keberadaan gen, bukan aktivitas metaboliknya.
- Hasil dapat dipengaruhi oleh efisiensi ekstraksi DNA dan bias amplifikasi.

2) Reverse Transcription qPCR (RT-qPCR)

RT-qPCR digunakan untuk mengukur ekspresi gen nitrifikasi dengan mendeteksi molekul mRNA, yang menunjukkan aktivitas transkripsi dan metabolik mikroba.

Aplikasi:

- Memantau ekspresi gen amoA dan nxr untuk menilai aktivitas nitrifikasi dalam kondisi lingkungan tertentu.
- Membantu membedakan antara mikroba yang aktif secara metabolik dan yang tidak aktif.

Keunggulan:

- Memberikan gambaran langsung tentang aktivitas nitrifikasi, bukan hanya potensi genetik.
- Lebih akurat dalam memprediksi laju nitrifikasi dibandingkan qPCR konvensional.

Kelemahan:

- mRNA memiliki stabilitas rendah, sehingga sampel harus segera diawetkan atau diproses.

- Memerlukan kontrol yang ketat untuk menghindari degradasi RNA.

3) Metagenomik

Metagenomik melibatkan sekuensing DNA secara menyeluruh dari seluruh komunitas mikroba dalam suatu sampel lingkungan.

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Mengidentifikasi keragaman mikroba nitrifikasi (AOB, AOA, NOB).
- Menemukan gen-gen baru yang terlibat dalam proses nitrifikasi.
- Memetakan potensi metabolik komunitas mikroba.

Keunggulan:

- Memberikan gambaran komprehensif tentang komposisi dan fungsi mikroba.
- Dapat mendeteksi mikroba yang belum dapat dikultur.

Kelemahan:

- Biaya tinggi karena kebutuhan sekuensing skala besar.
- Analisis bioinformatik yang kompleks.

4) Metatranskriptomik

Metatranskriptomik adalah analisis RNA (khususnya mRNA) dari seluruh komunitas mikroba untuk memahami ekspresi gen secara real-time.

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Mengidentifikasi gen nitrifikasi yang aktif diekspresikan dalam kondisi lingkungan tertentu.

- Memahami regulasi metabolik pada tingkat transkripsi.

Keunggulan:

- Memberikan wawasan tentang aktivitas fungsional mikroba.
- Dapat mengungkap respons mikroba terhadap perubahan lingkungan (misalnya, kadar amonia atau oksigen).

Kelemahan:

- Lebih mahal dan kompleks dibandingkan metagenomik.
- Memerlukan kontrol ketat untuk membedakan antara konsumsi oksigen oleh nitrifikasi dan proses metabolik lainnya.

e. Sensor In Situ dan Teknologi Otomatis

Secara real-time, parameter nitrifikasi di sistem perairan seperti sungai, danau, dan sistem akuakultur dapat dipantau melalui teknologi sensor in situ dan sistem otomatis. Metode ini menghasilkan data kontinu dengan resolusi tinggi, yang sangat berguna untuk memahami dinamika nitrifikasi dalam berbagai kondisi lingkungan.

1) Ion-Selektif Sensor (ISE)

Prinsip Kerja:

Sensor ISE bekerja berdasarkan potensial elektrokimia yang dihasilkan oleh interaksi antara ion target (misalnya, NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-) dan membran selektif ion.

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Amonia (NH_4^+/NH_3): Memantau konsentrasi amonia sebagai substrat utama nitrifikasi.

- Nitrit (NO_2^-): Mendeteksi akumulasi nitrit, yang dapat mengindikasikan gangguan pada proses nitrifikasi.
- Nitrat (NO_3^-): Mengukur produk akhir nitrifikasi untuk menilai efisiensi proses.

Keunggulan:

- Pengukuran real-time tanpa perlu pengambilan sampel dan analisis laboratorium.
- Dapat diintegrasikan dengan sistem pemantauan otomatis (misalnya, stasiun pemantauan kualitas air).

Kelemahan:

- Sensitivitas terhadap interferensi ion lain (misalnya, K^+ dapat memengaruhi sensor NH_4^+).
- Membran sensor dapat mengalami fouling atau degradasi setelah penggunaan jangka panjang.

2) Sensor Optik dan Fluoresensi

Prinsip Kerja:

- Sensor Nitrat Optik: Mengukur serapan cahaya pada panjang gelombang tertentu (misalnya, UV 220 nm untuk NO_3^-).
- Sensor Oksigen Fluoresensi: Menggunakan quenching fluoresensi oleh oksigen terlarut (DO).

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Nitrat (NO_3^-): Memantau konsentrasi nitrat sebagai indikator aktivitas nitrifikasi.
- Oksigen Terlarut (DO): Nitrifikasi adalah proses aerobik, sehingga DO merupakan parameter kritis untuk menilai kondisi proses.

Keunggulan:

- Tidak memerlukan reagen kimia, sehingga lebih ramah lingkungan.
- Stabilitas pengukuran lebih baik dibandingkan sensor elektrokimia.

Kelemahan:

- Sensitivitas terhadap partikel tersuspensi yang dapat mengganggu pembacaan optik.
- Kalibrasi rutin diperlukan untuk memastikan akurasi.

3) Alat Otomatis Berbasis Mikrokontroler (Arduino/ Raspberry Pi)

Prinsip Kerja:

Sistem ini menggabungkan sensor ISE, optik, atau DO dengan mikrokontroler (seperti Arduino atau Raspberry Pi) untuk pemantauan kontinu dan pencatatan data otomatis.

Komponen Utama:

- Sensor: ISE (NH_4^+, NO_2^-, NO_3^-), DO meter, atau sensor optik.
- Mikrokontroler: Arduino, Raspberry Pi, atau platform IoT lainnya.
- Modul Penyimpanan Data: SD card atau transmisi data nirkabel (Wi-Fi/LoRa).
- Power Supply: Baterai atau panel surya untuk aplikasi lapangan.

Aplikasi dalam Nitrifikasi:

- Pemantauan Jangka Panjang: Misalnya, di danau atau sungai untuk mempelajari variasi musiman nitrifikasi.

- Akuakultur: Mengontrol kadar amonia dan nitrit untuk mencegah toksisitas pada ikan.
- Pengolahan Air Limbah: Memantau efisiensi proses nitrifikasi dalam bioreaktor.

Keunggulan:

- Biaya relatif rendah dibandingkan sistem komersial.
- Fleksibilitas tinggi, dapat dikustomisasi dengan berbagai sensor.
- Data kontinu dengan resolusi waktu tinggi (misalnya, setiap 5 menit).

Kelemahan:

- Perlu kalibrasi dan pemeliharaan rutin untuk memastikan akurasi.
- Ketahanan sensor terhadap biofouling dan kondisi lingkungan yang ekstrem.

f. Pendekatan Mikroskopik dan Kultur

1) Most Probable Number (MPN)

Prinsip Dasar:

- Teknik MPN merupakan pendekatan statistik untuk mengestimasi jumlah mikroba nitrifikasi (AOB, AOA, dan NOB) dalam sampel lingkungan berdasarkan pertumbuhan dalam media selektif.
- Dilakukan melalui seri pengenceran bertingkat dan inkubasi dalam kondisi terkontrol.

Prosedur Kerja:

- Persiapan Sampel:
  - Sampel (air, sedimen, atau tanah) dihomogenisasi dan dilakukan seri pengenceran desimal (10^{-1} hingga 10^{-6}).

- Inkubasi dalam Media Selektif:
  - Media kaya amonium (untuk AOB/AOA) atau nitrit (untuk NOB) dengan pH dan suhu optimal (biasanya 25-30°C, pH 7.5-8.0).
  - Kontrol negatif (tanpa substrat) selalu disertakan.

- Deteksi Pertumbuhan:
  - AOB/AOA: Diukur melalui penurunan amonium (NH_4^+) atau peningkatan nitrit (NO_2^-) menggunakan tes colorimetri (misalnya, metode Nessler atau Griess).
  - NOB: Dipantau melalui penurunan nitrit (NO_2^-) dan peningkatan nitrat (NO_3^-).

- Analisis Statistik:
  - Hasil positif/negatif pada setiap pengenceran dimasukkan ke tabel MPN standar atau perangkat lunak (misalnya, EPA MPN Calculator) untuk estimasi populasi.

Keunggulan:

- Dapat mendeteksi mikroba nitrifikasi yang tidak dapat dikultur dengan metode konvensional.
- Relatif murah dan tidak memerlukan peralatan canggih.

Kelemahan:

- Hasil berupa estimasi, bukan hitungan absolut.
- Waktu inkubasi panjang (2-6 minggu).
- Sensitivitas rendah untuk sampel dengan populasi mikroba rendah.

Aplikasi:

- Pemantauan populasi nitrifier di limbah domestik, sedimen laut, atau tanah pertanian.

2) Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)

Prinsip Dasar:

- Teknik hibridisasi menggunakan probe oligonukleotida berlabel fluoresen yang spesifik terhadap RNA ribosom (rRNA) 16S/23S dari mikroba target.
- Probe dirancang untuk mengenali sekuens unik AOB (misalnya, genus *Nitrosomonas*), AOA (*Nitrosopumilus*), atau NOB (*Nitrospira*).

Prosedur Kerja:

- Fiksasi Sampel:
  - Sampel (biofilm, sedimen) difiksasi dengan paraformaldehid (4%) untuk menjaga integritas sel.
- Hibridisasi Probe:
  - Probe fluoresen (misalnya, Nso1225 untuk AOB, NIT3 untuk NOB) diinkubasi dengan sampel pada suhu tertentu (biasanya 46°C).
- Pencucian dan Pewarnaan:
  - Sampel dicuci untuk menghilangkan probe nonspesifik dan dapat ditambahkan pewarna DAPI untuk menandai semua DNA.
- Visualisasi:
  - Diamati di bawah mikroskop fluoresensi atau mikroskop confocal laser scanning (CLSM).
  - Contoh probe:
    - AOB: NSR1156 (*Nitrosospira*), NEU (kelompok *Nitrosomonas europaea*).

- ♦ AOA: Cren537 (*Thaumarchaeota*).
- ♦ NOB: Ntspa662 (*Nitrospira*).

Keunggulan:

- Spesifisitas tinggi untuk identifikasi filogenetik.
- Dapat memetakan distribusi spasial mikroba dalam matriks kompleks (biofilm, agregat).
- Kombinasi dengan mikroskop confocal memungkinkan analisis struktur 3D komunitas.

Kelemahan:

- Memerlukan desain probe yang akurat dan optimasi kondisi hibridisasi.
- Sel dengan aktivitas metabolik rendah (kandungan rRNA minimal) mungkin tidak terdeteksi.
- Biaya tinggi untuk mikroskop confocal.

Aplikasi Lanjutan:

- FISH Kuantitatif (qFISH): Menggunakan analisis citra untuk menghitung kelimpahan relatif mikroba.
- FISH + Mikroautoradiografi (MAR-FISH): Mengaitkan identifikasi dengan aktivitas metabolik (misalnya, uptake ^{14}C-bikarbonat oleh AOA).

6. Gen 16S rRNA

16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler karena bersifat homolog dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme serta dapat berubah sesuai jarak evolusinya, sehingga dapat digunakan untuk analisis filogenetik molekular. 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif

konservatif dan beberapa daerah urutan basanya variatif. Urutan basa yang konservatif berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik karena mengalami perubahan relatif lambat dan urutan basa yang bersifat variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman (Stackebrandt dan Goebel, 1995).

Analisis gen 16S rRNA praktis untuk menentukan spesies, karena molekul ini bersifat ubikuitus, sehingga dapat didesain suatu primer yang universal untuk seluruh kelompok. Penentuan spesies baru juga dapat dilakukan tanpa mengisolasi mikroorganisme yang bersangkutan pada medium buatan. Taksa baru yang ditetapkan hanya berdasarkan data molekular oleh *The International Committee on Systematic Bacteriology* diberi status provisional candidatus (Murray dan Stackebrandt, 1995). Hampir sebagian besar prokaryota sampai saat ini tidak dapat dikulturkan pada medium buatan karena keterbatasan untuk dapat menyamai kondisi sesungguhnya di alam. Diperkirakan hanya sekitar 1% saja dari seluruh prokaryota yang ada di alam yang dapat dikulturkan di laboratorium (Pangastuti, 2006). Urutan sekuens gen 16S rRNA dapat digunakan mengkonstruksi pohon filogenetik yang menunjukkan asal nenek moyang dan hubungan kekerabatan organisme, tetapi organisme yang satu kerabat (identik) belum tentu memiliki kesamaan secara fisiologi (Ward, 1998).

Pada bakteri dikenal ekotipe, yaitu kelompok yang menempati relung ekologi yang sama yang pemisahannya akibat seleksi alam. Ward (1998) mengamati fenomena adanya perbedaan secara ekologi dari suhu optimum yang dimiliki oleh mikrobia termofil kurang dari 1% perbedaan urutan basa gen 16S rRNA sehingga mendorongnya untuk mengajukan konsep spesies natural, yaitu adaptasi dari *ecological species concept* (ESC). Simpson (1961) ESC menggabungkan informasi peranan mikroorganisme dalam lingkungannya dengan informasi genetik berdasarkan pemikiran bahwa fenotipe merupakan kombinasi dari ekspresi genetik dan pengaruh lingkungan.

Beberapa melakukan kontruksi pohon filogenetik untuk mengetahui kekerabatan AOB berdasarkan gen 16S rRNA dan dikonfirmasi dengan mengeksploitasi gen *amo*A. Purkhold *et al.* (2000, 2003) dan Santoz *et al.* (2018) beberapa gen fungsional telah digunakan dalam analisis dan terbukti dapat membedakan populasi yang secara ekologi berbeda, walaupun urutan basa gen 16S rRNA-nya serupa.

Penggunaan gen 16S rRNA dalam studi taksonomi dan filogenetik mikroorganisme telah menjadi metode yang sangat andal dan luas digunakan dalam mikrobiologi molekuler. Karena sifat konservatif dan universalitas gen ini, 16S rRNA menjadi dasar utama dalam klasifikasi bakteri dan arkea, serta menjadi titik awal dalam eksplorasi komunitas mikroba lingkungan, termasuk melalui pendekatan metagenomik. Kemajuan teknologi sekuensing, terutama teknologi sekuensing generasi lanjut (Next Generation Sequencing/NGS), telah memungkinkan analisis cepat dan efisien dari gen 16S rRNA pada ribuan mikroorganisme dalam satu waktu, sehingga memberikan gambaran yang lebih lengkap mengenai keanekaragaman mikroba suatu ekosistem.

Selain itu, penggunaan gen 16S rRNA sangat membantu dalam pendekatan non-kultur, terutama untuk mikroorganisme yang sulit atau bahkan tidak dapat dikulturkan di laboratorium. Dalam konteks ini, analisis gen 16S rRNA memberikan peluang untuk mengidentifikasi dan memahami peran ekologis mikroorganisme yang sebelumnya tidak dikenal, serta membantu dalam penemuan taksa baru. Data sekuens 16S rRNA juga telah digunakan dalam pengembangan basis data besar seperti SILVA, RDP (Ribosomal Database Project), dan Greengenes yang memungkinkan identifikasi mikroba secara otomatis berdasarkan kesamaan urutan.

Walaupun gen 16S rRNA sangat berguna dalam mengungkap kekerabatan taksonomi, perlu disadari bahwa informasi yang diperoleh bersifat terbatas dalam resolusi di tingkat spesies atau strain yang sangat mirip. Oleh karena itu, dalam beberapa kasus,

gen 16S rRNA perlu dikombinasikan dengan analisis gen fungsional lainnya seperti *amoA*, *nirK*, *nirS*, dan *rpoB* untuk memperoleh resolusi yang lebih tinggi dan akurat dalam membedakan spesies atau ekotipe yang berbeda secara ekologi. Pendekatan multigen ini dapat meningkatkan pemahaman tentang adaptasi mikroba terhadap lingkungan spesifik dan memungkinkan studi yang lebih mendalam terkait ekologi mikroba dan evolusi molekuler.

Dengan demikian, gen 16S rRNA tetap menjadi alat fundamental dalam studi mikrobiologi modern, khususnya dalam konteks identifikasi, klasifikasi, dan analisis evolusi mikroorganisme, namun penggunaannya seringkali lebih kuat bila dipadukan dengan pendekatan molekuler lainnya untuk meningkatkan presisi dan kedalaman informasi yang diperoleh.

7. Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP)

Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) merupakan adalah teknik pendekatan molekuler yang dapat menilai perbedaan genetik antara strain serta memberikan penjelasan struktur dan fungsi komunitas mikroba. Teknik ini memiliki sensitivitas dan hasil yang tinggi sehingga ideal untuk mengetahui keanekaragaman dari ekosistem yang berbeda (Marsh, 1999).

Metode T-RFLP merupakan pengembangan dari desain metode RFLP, dalam metode RFLP terdapat kelemahan yaitu produk hasil pemotongan enzim restriksi divisualisasi dengan gel agarose dan harus diisolasi kembali untuk mengetahui jenis bakteri. Pada analisis T-RFLP melibatkan amplifikasi gen target dari ekstrak DNA komunitas dengan pasangan primer spesifik, yang satu atau keduanya dilabel dengan fluoresens. Fragmen DNA yang telah teramplifikasi (amplicon) selanjutnya digesti dengan enzim restriksi tertentu. Tahap ini akan menghasilkan terminal restriction fragment (T-RFs) yang terlabel dengan flouresen pada ujung DNA 5'. Selanjutnya amplicon yang telah terdigesti dipisahkan dan dideteksi

dengan bagian kapiler dari gel elektroforesis berupa DNA sequencer dengan detektor flouresen. Hasil keluaran analisa adalah berupa puncak dengan berbagai ukuran dan tinggi puncak yang mewakili profil dari DNA mikroba (*T-RFs pattern or fingerprint*) tergantung dari komposisi spesies suatu komunitas mikroba (Stoica, 2009).

Prinsip dari metode T-RFLP adalah mendeteksi fragmen hasil pemotongan enzim dari ekstrak DNA komunitas yang telah berlabel dengan flouresen. Empat langkah utama dari metode ini meliputi: isolasi dan purifikasi DNA, amplifikasi DNA dengan primer universal berlabel flouresen, digesti dengan dua atau lebih jenis enzim restriksi, dan analisis panjang fragmen yang terdeteksi dengan elektroforesis kapiler. Primer universal yang telah berlabel dengan flouresen akan dapat mengamplifikasi gen 16S rRNA dari semua jenis bakteri. Semua gen yang teramplifikasi dipotong dengan menggunakan enzim restriksi dengan sisi pemotongan yang spesifik untuk tiap jenis enzim. Setiap gen 16S rRNA dari setiap jenis bakteri memiliki urutan sekuen DNA yang berbeda-beda sehingga digesti dengan enzim tertentu akan menghasilkan perbedaan ukuran fragmen antar spesies bakteri. Data ukuran yang terbentuk selanjutnya dicocokkan dengan bank data (RDP 16S rRNA) sehingga akan diketahui jenis-jenis bakteri (Stres, 2006).

Proses digesti amplikon menggunakan enzim restriksi endonuklease yang umumnya memiliki situs pengenalan tetra-nukleotida atau 4-hitter (Lueders dan Friedrich, 2003). Menurut Engebretson dan Moyer (2003) terdapat 4 enzim restriksi endonuklease yang menghasilkan frekuensi tertinggi dalam membedakan populasi tunggal pada model komunitas yang digunakan, yaitu *BstU*I, *Dde*I, *Sau*96I dan *Msp*I. Selanjutnya menurut Zhang *et al.* (2008) terdapat 5 enzim restriksi endonuklease (*Alu*I, *Hae*III, *Msp*I, *Sau*3AI dan *Taq*I) untuk melihat keragaman ekologi mikroba di perairan laut. Keragaman bakteri AOB dapat dideteksi dengan analisis T-RFLP (Bernhard *et al*., 2005; Bernhard *et al*., 2007; Jin *et al*., 2010; Chen *et al*., 2014).

Sungai Musi banyak digunakan oleh masyarakat sebagai sumber air yang dimanfaatkan untuk keperluan air minum dan mandi, selain itu juga sebagai media transportasi kapal-kapal, bahkan sebagai sumber mata pencarian masyarakat yang berprofesi sebagai nelayan. Industri-industri besar seperti pabrik karet, semen, pupuk kimia, kelapa sawit, batubara dan pelabuhan menggunakan air sungai Musi untuk pengelolaan air maupun membuang limbahnya sehingga telah memberikan tekanan terhadap Sungai Musi. Menurut Metcalf dan Eddy (2000) penurunan kualitas air menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan metabolisme hewan-hewan air serta beberapa bentuk senyawa nitrogen berupa amonia dan nitrit sehingga dapat mengurangi konsentrasi oksigen terlarut dalam air. Menurut Ward (2000) bahwa pada badan air senyawa-senyawa polutan nitrogen dapat diturunkan konsentrasinya melalui proses asimilasi dan proses desimilasi (nitrifikasi-denitrifikasi).

Proses oksidasi amonia menjadi nitrit merupakan tahap pertama dalam proses nitrifikasi yang mengoksidasi amonia menjadi nitrit oleh *Ammonia Oxydizer Bacteria* (AOB), kemudian tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri nitrit oksidizer (Bothe *et al*., 2000; Ward *et al*., 2000). Bakteri pengoksidasi amonia menjadi nitrit adalah *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* atau *Nitrosovibrio* sedangkan bakteri pengoksidasi nitrit menjadi nitrat adalah bakteri *Nitrobacter* (Nindrasari *et al*., 2011).

Keberadaan AOB di perairan dipengaruhi oleh parameter fisika-kimia perairan yang mendukung atau menekan ketahanan hidup bakteri. Faktor-faktor tersebut berupa suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut dan nutrien (Sahan dan Muyzer, 2008; Bernhard *et al*., 2010; Li *et al*., 2015). Perbedaan musim juga mempengaruhi komunitas bakteri (Christman *et al*., 2011; Sher *et al*., 2013).

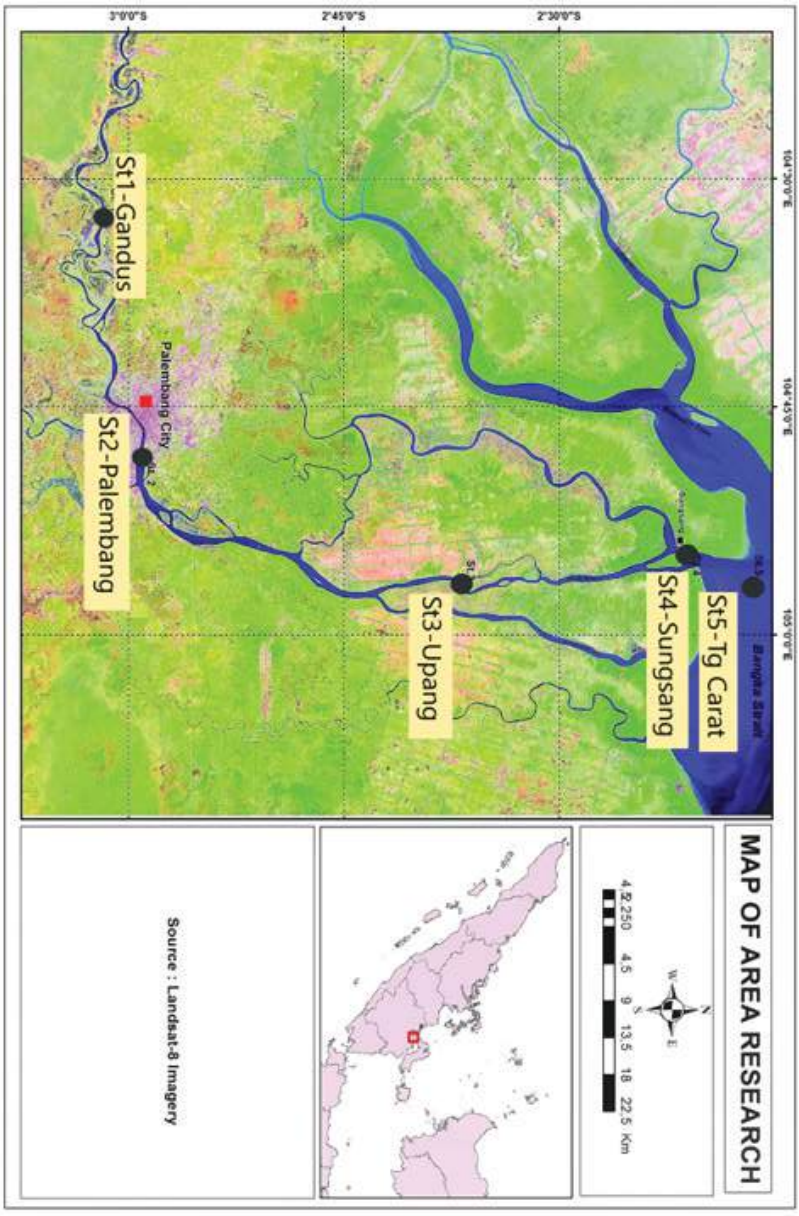
Proses penguraian amonia oleh AOB di ekosistem perairan peranannya sangat penting. Komunitas bakteri tersebut dapat diprediksi dengan pendekatan secara molekular dengan menganalisa DNA dari air dan sedimen. Salah satu tekniknya dalam menganalisa

komunitas bakteri pada sampel lingkungan adalah T-RFLP (*Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism*) (Marsh, 1999).

16S rRNA dapat digunakan sebagai penanda molekuler karena bersifat homolog dengan fungsi yang identik pada seluruh organisme serta dapat berubah sesuai jarak evolusinya, sehingga dapat digunakan untuk analisis filogenetik molekular. 16S rRNA memiliki beberapa daerah yang memiliki urutan basa yang relatif konservatif dan beberapa daerah urutan basanya variatif. Urutan basa yang konservatif berguna untuk mengkonstruksi pohon filogenetik karena mengalami perubahan relatif lambat dan urutan basa yang bersifat variatif dapat digunakan untuk melacak keragaman (Stackebrandt dan Goebel, 1995).

Analisis kontruksi pohon filogenetik pada 16S rRNA dapat menunjukkan nenek moyang dan hubungan kekerabatan organisme, tetapi organisme yang sekerabat atau identik berdasarkan parameter ini belum tentu memiliki kesamaan secara fisiologi (Ward, 2002). Hal ini disebabkan 16S rRNA bukan merupakan suatu gen yang fungsional untuk kelangsungan hidup dan adaptasi prokaryota pada lingkungan tertentu. Untuk menggambarkan keragaman dalam kaitannya dengan fungsi secara ekologi, diperlukan analisis suatu gen yang fungsional yaitu gen yang mengkodekan suatu protein.

Kelompok AOB memiliki distribusi yang monofiletik berdasarkan gen 16S rRNA. Dalam kelompok ini hanya terdapat satu jalur untuk oksidasi ammonia yang diatur oleh gen *amo* (mengkodekan enzim ammonia monooksigenase). *Ammonia monooxygenase* subunit gen A (*amo*A) merupakan gen fungsional yang sering digunakan untuk menganalisis keragaman bakteri amonia oksidizer pada berbagai lingkungan termasuk air laut dan sedimen (Christman *et al*., 2011; Shimomura *et al*., 2012).



Gambar 2.5 Peta stasiun di Sungai Musi

Alat dan Bahan

Alat dan bahan ini dibagi dua, yaitu alat dan bahan di lapangan dan di laboratorium. Adapun alat-alat di lapangan meliputi: speedboat, water sampler (LaMotte, USA), ekman grab (ABM, Indonesia), Midas CTD+ (Valeport Ltd, UK), GPS (Garmin Ltd, USA), coolbox, dan kamera (Sony, Japan). Bahan-bahan yang digunakan meliputi: sampel air, sampel sedimen, botol sampel, plastik dan es batu.

Alat-alat di laboratoirum meliputi: autoklaf (Tomy Seiko Co, Ltd, Japan), inkubator (Memmert GmbH + Co. KG, Germany), vortex (Heidolph REAX 2000, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Germany), spektrofotometer (Shimadzu, Japan), sentrifuse (Beckman Microfuge II, USA), waterbath (Haake L Fisons, USA), shaker (K Model VRN-360, Taiwan), mesin PCR (Bio-Rad Laboratories Inc, USA), UV transilluminator (Hoefer Inc, USA), alat elektroforesis (Bio-Rad Wide Mini Sub™ Cell, USA), elektroforesis kapiler Applied Biosystem Genetic Analyzer (ABI Prism, USA), timbangan analitik (Ohaus, USA), lemari pendingin (LG, Japan), mikrotube (Axygen, USA) 1,5 dan 2 mL, mikropipet 10 µL, 200 µL, 1000 µL (Socorex, Swiss) dan kamera (Sony, Japan).

Bahan-bahan untuk pengukuran kepadatan AOB di laboratorium sebagai berikut: $(NH_4)_2SO_4$ (Merck), KH_2PO_4 (Merck), $MgSO_47H_2O$ (Merck), $FeCl_26H_2O$ (Merck), $CaCl_22H_2O$ (Merck), $Na_2MO_42H_2O$ (Merck), Ethylenediaminetetra-acetic acid (EDTA) (Merck), phenol red (Merck), air laut buatan (Monsterlaut ASW Salt Mix, Indonesia), Na_2CO_3 (Merck), akuades, microplate 96 well flat bottom volume 350 µL (Iwaki, Asahi Glass Co. Ltd, Japan), tip ukuran 10 µL, 200 µL (Biologix, China), dan reagen nitrit (dengan volume 100 mL terdiri dari 1 g sulfanilamide (Merck), 0,05 g N-(1-Napthyl) ethylenediamine (Merck), 10 mL HCL (Merck), dan 90 mL akuades).

Bahan-bahan analisis keragaman AOB di laboratorium meliputi kertas saring 1,6 µm dan 0,22 µm (diameter 47 mm, MF-Millipore), buffer lisis (100 mM Tris HCL 1M [pH 8], 100 mM NaCl, 50 mM EDTA

[pH 8], 2% SDS), lysozyme (Thermo Scientific), Proteinase K (Thermo Scientific), cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Merck), etanol (Merck), Tris-EDTA (TE) (Promega), Rnase (Promega), PCR mix (Go Taq Green, Promega), PCR mix (MyTaq Red Mix, Bioline), sepasang primer 16S rRNA (IDT), sepasang primer *amo*A (IDT), enzim *Alu*I (Thermo Scientific), enzim *BsuR*I (Thermo Scientific), enzim *Msp*I (Promega), FastDigest buffer (Thermo Scientific), agarose (Promega), SYBR safe (Invitrogen), DNA Ladder (Geneaid), Tris-Borate-EDTA (TBE) (Promega), dan nuclease free water (Promega).

Pengambilan sampel air dan sampel sedimen dijelaskan sebagai berikut:

- Sampel air permukaan (sampai kedalaman 50 cm) diambil menggunakan *water sampler* (LaMotte, USA) sebanyak 500 mL untuk analisis bakteri dan 100 mL untuk analisis nutrien. Lokasi di sungai diambil secara komposit, yaitu diambil pada bagian kiri, kanan dan tengah dari sungai, kemudian sampel air dicampur. Sampling di lokasi muara dan laut hanya dilakukan sekali. Sampel air untuk analisis nutrien ditambahkan 0,08 mL H_2SO_4. Selanjutnya sampel air disimpan dalam coolbox yang sudah diberi es batu untuk dianalisis di laboratorium.
- Sampel sedimen di permukaan dasar perairan (0-20 cm) diambil menggunakan *Ekman Grab* (ABM, Indonesia) sebanyak 150 g untuk analisis bakteri dan 100 g untuk analisis nutrien. Pengambilan dan penanganan sampel sedimen sama dengan pengambilan dan penanganan pada sampel air.

Parameter Fisika dan Kimia Perairan

Pengukuran parameter fisika dan kimia di kolom perairan meliputi suhu, salinitas, oksigen terlarut, dan pH menggunakan Midas CTD+ (Valeport Ltd, UK). Sedangkan pengukuran konsentrasi amonia, nitrit dan nitrat mengacu pada APHA (2005) sebagai berikut:

a. Amonia

Analisis sampel amonia dilakukan dengan metode *phenol* dan diukur menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 5 mL sampel air yang telah disaring dengan menggunakan kertas saring 0,42 µm diambil dengan teknik pipet dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah berisi 0,2 mL fenol (Merck), 0,2 ml $C_5FeN_6Na_2O$ 0,5% (Merck) dan 0,5 mL larutan pengoksidasi (100 mL $C_6H_5Na_3O_7$ (Merck), 25 mL NaClO 5% (Merck)). Sampel disimpan jangan sampai terkena cahaya sebelum dilakukan pengukuran. Selanjutnya diukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 640 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah akuades dan larutan standarnya adalah larutan amonia (ammonia solution 32% extra pure, Merck). Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi 2.3.

$$y = ax + b \quad (2.3)$$

Konsentrasi amonia pada air sampel dihitung dengan persamaan Lambert-Beer 2.4.

$$A = Ɛ \times b \times C \quad (2.4)$$

dimana:

A = nilai absorbansi
Ɛ = nilai a dari persamaan regresi 2.3
b = tebal kuvet (= 1)
C = konsentrasi amonia pada air sampel

b. Nitrit

Analisis sampel nitrit dilakukan dengan metode *sulfanilamide* dan diukur menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 5 ml sampel air yang telah disaring dengan menggunakan kertas saring 0,42 µm diambil dengan teknik pipet dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah berisi 0,1 ml

larutan sulfanilamide (Merck) di kocok perlahan dan diamkan selama 2-8 menit, ditambahkan 0,1 ml larutan N-(1-Naphtyl)-ethylenediamine dihicloride (NED Dihidroklorida, Merck) dan segera di kocok. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 543 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah akuades dan larutan standarnya adalah larutan standar nitrit (nitrite standard solution, Merck). Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi 2.3. Konsentrasi nitrit pada air sampel dihitung dengan persamaan 2.4.

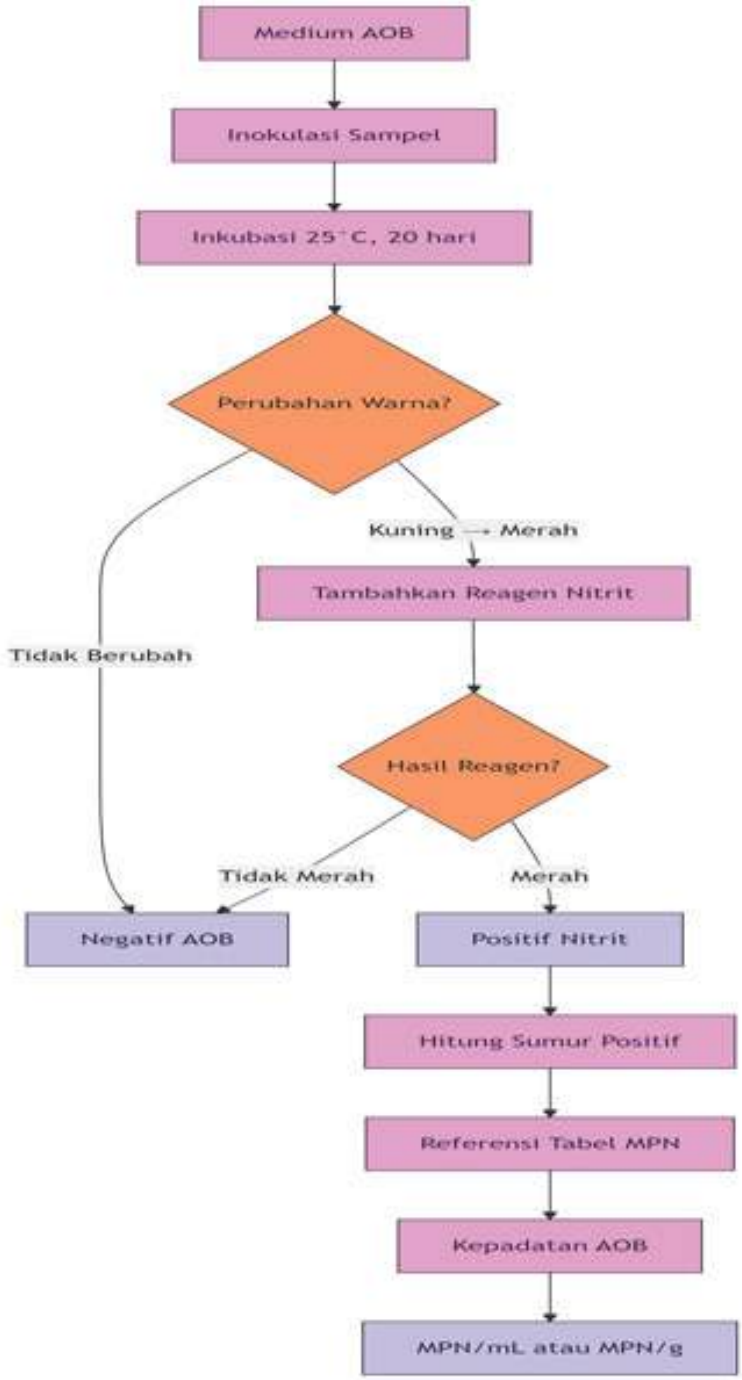
c. Nitrat

Analisis sampel nitrat dilakukan dengan metode *brucine* dan diukur menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 5 ml sampel air yang telah disaring dengan menggunakan kertas saring 0,42 µm diambil dengan teknik pipet dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah berisi 0,5 ml larutan brusin (2,3-Dimethoxy strychnine, Merck), 0,05 ml $NaAsO_2$ 0,05 mol/L (Merck) dan 5 ml H_2SO_4 95-97% (Merck). Campuran reaksi tersebut disimpan dalam tempat gelap dan dibiarkan hingga dingin. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 410 nm. Larutan blanko yang digunakan adalah akuades dan larutan standarnya adalah larutan standar nitrat (nitrate standard solution, Merck). Kemudian dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan regresi 2.3. Konsentrasi nitrat pada air sampel dihitung dengan persamaan 2.4.

Kepadatan *Ammonia-Oxidizing Bacteria*

Kepadatan AOB dihitung dengan metode *the most probable number* (MPN) dilakukan pada *microplate 96 well flat bottom* volume 350 µL. Adapun komposisinya dalam 1 L adalah 1,32 g $(NH_4)_2SO_4$, 20 mg KH_2PO_4, 0,1 g $MgSO_4 7H_2O$, 0,014 g $FeCl_2 6H_2O$, 0,18 g $CaCl_2 2H_2O$, 100 mg $Na_2MO_4 2H_2O$, 1 mg EDTA, 0,002 g phenol red, air laut buatan

70% dan ditambahkan Na_2CO_3 sampai pH 8 (Cote dan Ghena, 1994). Sebanyak 10 µL sampel air dimasukkan pada microplate yang telah berisi 90 µL medium steril AOB dengan 3 kali ulangan pada 10 seri sumuran dan pengenceran sampai 10^{-3}. Hal yang sama pada sampel sedimen, sebelumnya 1 g sampel sedimen disuspensi pada 9 mL air laut buatan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 hari hingga terjadi perubahan warna dari warna kuning menjadi warna merah setelah ditambah 15 µL reagen nitrit (10 g/L sulfanilamide, 0,50 g/L *n*-(1-naphtyl)-ethylenediamine 2 HCl, 100 mL/L HCl). Sampel yang berwarna merah setelah ditetesi reagen merupakan positif nitrit.



Gambar 2.6 Diagram alir perhitungan kepadatan AOB

Ektraksi DNA Genom Bakteri

Ekstraksi DNA genom bakteri dari sampel air dan sampel sedimen menggunakan metode phenol/chloroform yang telah di modifikasi menurut Molina *et al*. (2007), Zhang *et al*. (2008) dan Jinsheng *et al*. (2011). Sampel air sebanyak 3 L disaring dengan kertas saring ukuran 1,6 µm untuk menyaring partikel tersuspensi dan organisme eukaryot, kemudian disaring lagi dengan kertas saring ukuran 0,22 µm untuk menyaring mikroorganisme. Selanjutnya kertas saring ukuran 0,22 µm di potong kecil-kecil dan ditambah 1 mL buffer lisis (100 mM Tris HCL 1M [pH 8], 100 mM NaCl, 50 mM EDTA [pH 8], 2% SDS), 30 µL proteinase-K (20 mg/mL), dan 40 µL lysozyme (4000 IU/mL) dalam mikrotube 2 mL. Campuran tersebut divortex selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu 55ºC pada *waterbath* selama 30 menit.

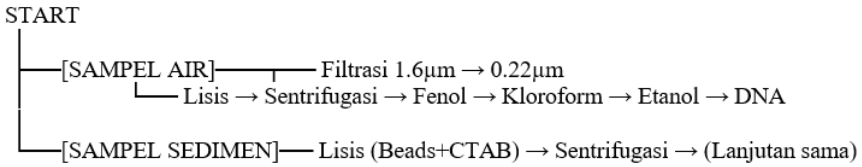
Campuran kemudian disentrifuse dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke mikrotube 2 mL baru, ditambahkan fenol absolut dengan perbandingan 1:1 (v/v), digojok cepat dalam shaker selama 30 menit. Mikrotube disentrifuse kembali dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit. Supernatan diambil lalu dipindahkan ke mikrotube 2 mL baru, ditambahkan kloroform dingin dengan perbandingan 1:1 (v/v), digojok pelan dalam shaker selama 20 menit. Mikrotube disentrifuse kembali dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit. Supernatan diambil lalu dipindahkan ke mikrotube 1,5 mL baru, ditambahkan etanol absolut dingin dengan perbandingan 1:1 (v/v), lalu disimpan dalam suhu -20ºC selama satu malam (*overnight*).

Mikrotube tersebut disentrifuse kembali dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit. Supernatannya dibuang dan pellet DNA yang terbentuk ditambah 1 mL ethanol 70% dan disentrifuse kembali dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pellet dikering angin selama 2 jam, ditambahkan 40 µL buffer TE dan disimpan pada suhu -20ºC.

Sampel sedimen sebanyak 5 g ditambah dengan 5 mL buffer lisis (100 mM Tris HCL 1M [pH 8], 100 mM NaCl, 50 mM EDTA [pH 8], 2% SDS), 0,6 g glass bead, 30 µL proteinase-K (20 mg/mL), 50 µL lysozyme (4000 IU/mL), 750 µL CTAB, dan 1,5 mL SDS 20% dalam tabung konikal 15 mL. Semua bahan divortex selama 5 menit, setelah itu diinkubasi pada suhu 65ºC di dalam *waterbath* selama 2 jam (dibolak-balik setiap 15 menit).

Campuran tersebut kemudian disentrifuse dengan kecepatan 3000 x g selama 30 menit. Supernatan diambil lalu dipindahkan ke tabung konikal 15 mL baru, ditambahkan fenol absolut dengan perbandingan 1:1 (v/v), digojok cepat dalam shaker selama 30 menit. Campuran tersebut disentrifuse kembali dengan kecepatan 3000 x g selama 30 menit. Supernatan diambil lalu dipindahkan ke tabung konikal 15 mL baru, ditambahkan kloroform dingin dengan perbandingan 1:1 (v/v), digojok pelan dalam shaker selama 20 menit. Campuran tersebut disentrifuse kembali dengan kecepatan 3000 x g selama 30 menit. Supernatan diambil lalu dipindahkan ke tabung konikal 15 mL baru, ditambahkan etanol absolut dingin dengan perbandingan 1:1 (v/v), lalu simpan dalam suhu -20ºC selama satu malam (*overnight*).

Langkah selanjutnya supernatan dipindahkan kedalam mikrotube 1,5 mL dan disentrifuse dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit, supernatan dibuang. Pellet DNA yang terbentuk ditambahkan 1 mL ethanol 70% dan disentrifuse kembali dengan kecepatan 13000 x g selama 10 menit, supernatan dibuang dan pellet dikering angin selama 2 jam, ditambahkan 40 µL buffer TE dan disimpan pada suhu -20ºC.



Gambar 2.7 Alir sederhana ekstraksi DNA genom bakteri

BAB III

AMPLIFIKASI GEN

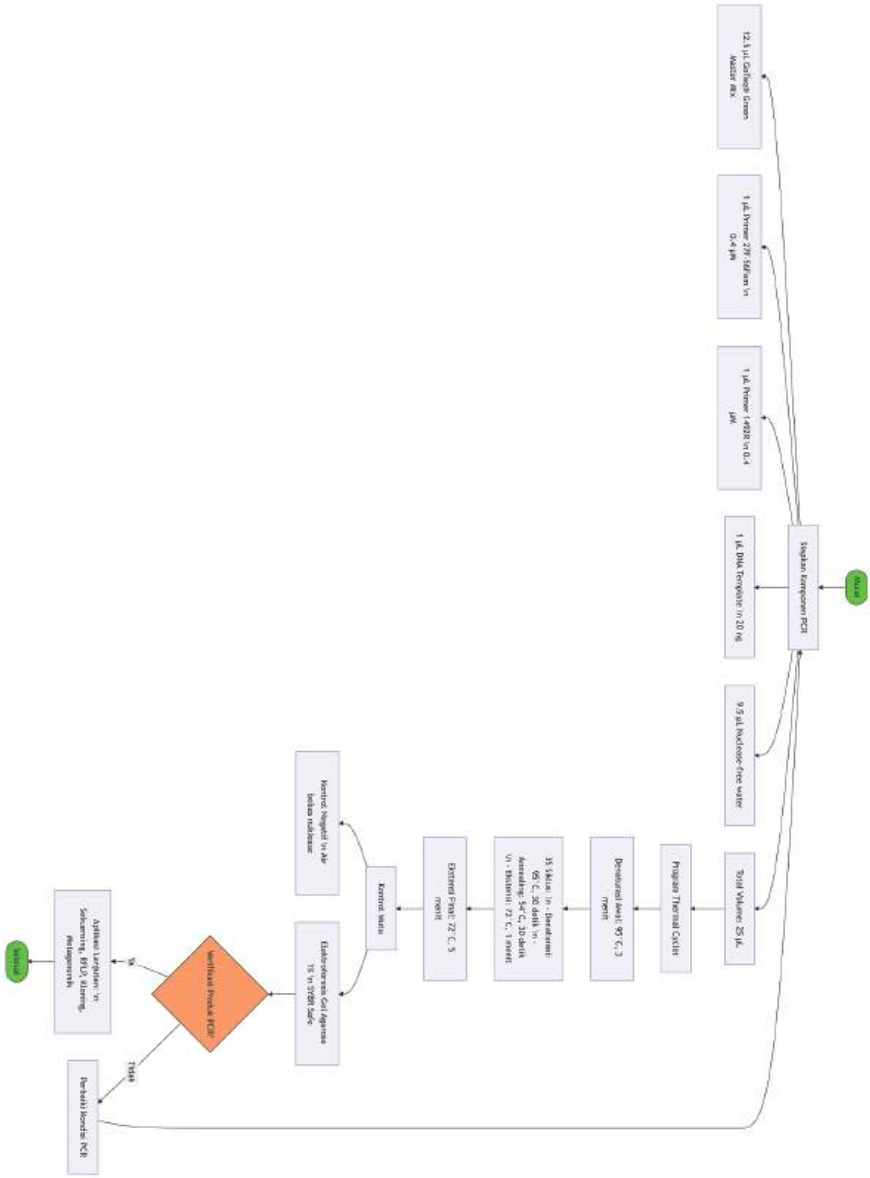
1. Amplifikasi Gen 16S rRNA

Amplifikasi gen 16S rRNA merupakan teknik fundamental dalam bidang mikrobiologi molekuler untuk keperluan identifikasi dan karakterisasi bakteri. Pada metode ini digunakan pasangan primer spesifik 27F-56Fam (5′-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3′) dan 1492R (5′-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3′) yang dirancang berdasarkan sekuen konservatif gen 16S rRNA. Primer forward 27F-56Fam sengaja diberi label fluoresen FAM pada ujung 5′-nya untuk memudahkan deteksi produk PCR dalam analisis lanjutan. Campuran reaksi PCR disiapkan dalam tabung mini berkapasitas 200 µL dengan komposisi yang telah dioptimalkan, terdiri dari 12,5 µL GoTaq® Green Master Mix yang mengandung Taq DNA polymerase, dNTPs, buffer reaksi, dan $MgCl_2$; ditambah 1 µL masing-masing primer forward dan reverse (konsentrasi kerja 0,4 µM), 1 µL DNA template (20 ng), dan 9,5 µL nuclease-free water hingga mencapai volume total 25 µL.

Proses amplifikasi dilakukan dalam thermal cycler dengan program terstandarisasi yang diawali denaturasi awal pada 95°C selama 3 menit untuk memisahkan untai ganda DNA template, diikuti 35 siklus amplifikasi yang masing-masing terdiri dari tahap denaturasi (95°C, 30 detik), annealing (54°C, 30 detik), dan ekstensi (72°C, 1 menit). Suhu annealing 54°C dipilih berdasarkan perhitungan Tm primer untuk memastikan spesifisitas penempelan. Proses diakhiri dengan ekstensi final pada 72°C selama 5 menit untuk menyempurnakan elongasi produk PCR. Seluruh prosedur memakan waktu sekitar 2-3 jam tergantung tipe thermal cycler yang digunakan.

Untuk menjamin kualitas hasil, beberapa langkah kontrol mutu harus dilakukan. Kontrol negatif menggunakan air bebas nuklease sebagai pengganti DNA template penting untuk mendeteksi kemungkinan kontaminasi. Analisis produk PCR melalui elektroforesis gel agarose 1% dengan pewarna SYBR Safe diperlukan untuk memverifikasi ukuran dan spesifisitas produk amplifikasi. Produk PCR yang dihasilkan dari protokol ini dapat diaplikasikan untuk berbagai tujuan lanjutan seperti sekuensing identifikasi bakteri, analisis RFLP, kloning gen, atau studi metagenomik. Keberhasilan

amplifikasi sangat bergantung pada kualitas DNA template, ketepatan konsentrasi reagen, dan presisi parameter termal selama proses PCR. Penyimpanan primer berlabel fluoresen pada -20°C serta perlindungan dari paparan cahaya berulang merupakan aspek kritis yang perlu diperhatikan untuk menjaga stabilitas reagen.

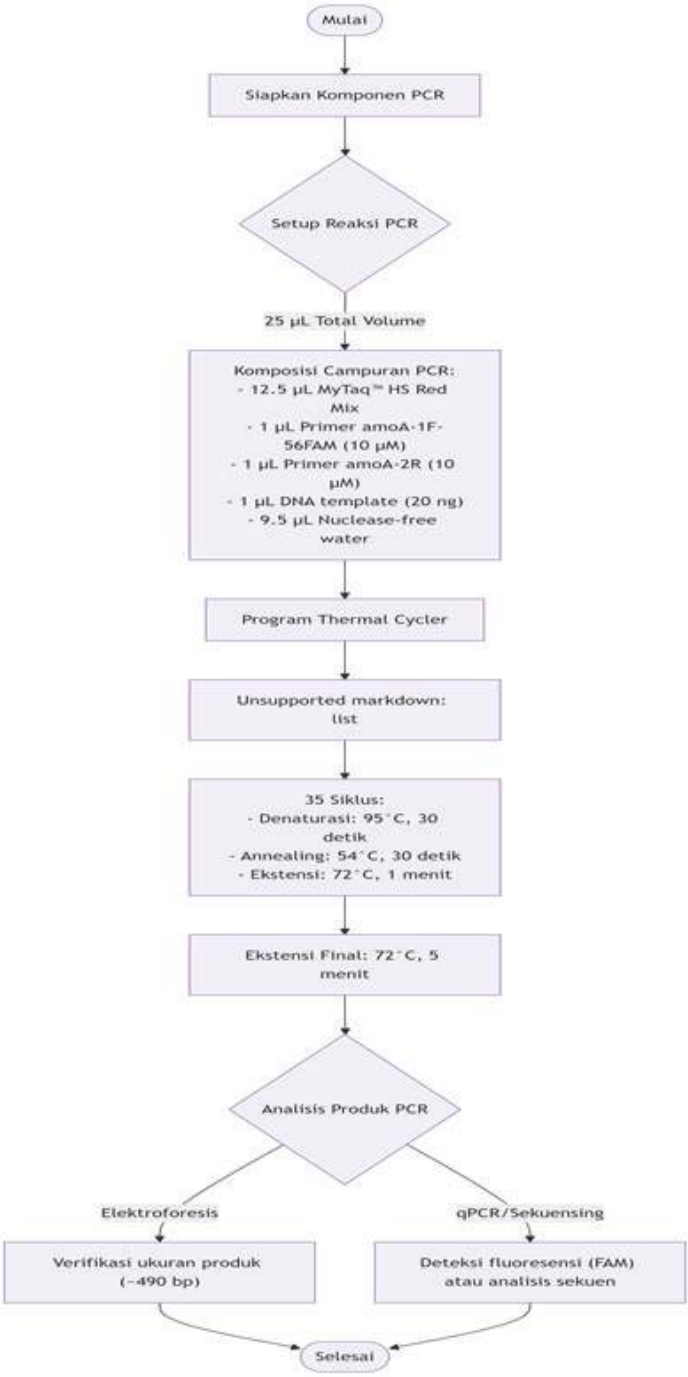


Gambar 3.1 Diagram alir amplifikasi gen 16S rRNA

2. Amplifikasi Gen *amo*A

Amplifikasi gen *amoA* dilakukan menggunakan sepasang primer spesifik yang dirancang oleh Rotthauwe et al. (1997), yaitu *amoA*-1F-56FAM (5′-GGG GTT TCT ACT GGT GGT-3′) dan *amoA*-2R (5′-CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC-3′). Primer forward (*amoA*-1F-56FAM) menargetkan posisi 332–349 bp pada gen *amoA* dan dilabeli dengan dye FAM pada ujung 5′ untuk keperluan deteksi lebih lanjut, sedangkan primer reverse (*amoA*-2R) menargetkan posisi 802–822 bp dan mengandung basa degenerasi (K = G/T, S = G/C) untuk meningkatkan cakupan amplifikasi terhadap variasi sekuens gen *amoA* dari berbagai mikroorganisme. Reaksi PCR dilakukan dalam tabung kecil berkapasitas 200 µL dengan total volume reaksi sebesar 25 µL, yang terdiri dari 12,5 µL *PCR Mix* (*MyTaq™ HS Red Mix*, Bioline), 1 µL masing-masing primer (konsentrasi kerja 10 µM), 1 µL sampel DNA (20 ng), dan 9,5 µL *nuclease-free water*.

Proses amplifikasi dilakukan menggunakan *thermal cycler* dengan program yang mengacu pada Chen *et al*. (2014), dimulai dengan denaturasi awal pada suhu 95°C selama 1 menit, diikuti oleh 35 siklus yang masing-masing terdiri dari denaturasi (95°C, 30 detik), annealing (54°C, 30 detik), dan ekstensi (72°C, 1 menit). Setelah siklus amplifikasi selesai, dilakukan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 5 menit untuk memastikan elongasi penuh produk PCR. Protokol ini telah dioptimalkan untuk memperoleh produk PCR dengan panjang sekitar 490 bp, yang sesuai untuk analisis lebih lanjut seperti elektroforesis, sekuensing, atau deteksi menggunakan *quantitative PCR* (qPCR). Penggunaan primer berlabel FAM memungkinkan deteksi produk PCR dengan lebih sensitif, terutama dalam aplikasi yang memerlukan visualisasi berbasis fluoresensi. Dengan demikian, metode ini tidak hanya efisien untuk amplifikasi gen *amoA*, tetapi juga dapat diintegrasikan ke dalam berbagai studi mikrobiologi lingkungan terkait bakteri pengoksidasi amonia (*ammonia-oxidizing bacteria*, AOB).



Gambar 3.2 alir amplifikasi gen *amoA*

3. Digesti dengan Enzim Restriksi DNA Endonuklease

Proses digesti atau pemotongan produk PCR menggunakan enzim restriksi endonuklease merupakan tahap kritis dalam banyak eksperimen biologi molekuler, seperti kloning gen, analisis polimorfisme, atau karakterisasi fragmen DNA. Dalam percobaan ini, digunakan tiga jenis enzim restriksi yaitu *BsuR*1 dan *Msp*I dari Thermo Scientific, serta *Alu*I dari Promega, yang masing-masing memiliki situs pemotongan spesifik pada urutan basa nitrogen tertentu.

Untuk enzim *BsuR*1 dan *Msp*I, proses digesti dilakukan secara terpisah dengan komposisi reaksi yang sama. Campuran reaksi disiapkan dengan menambahkan 2 µL 10X FastDigest buffer yang berfungsi untuk menyediakan kondisi pH dan garam optimal bagi kerja enzim. Sebanyak 10 µL produk PCR dimasukkan sebagai substrat yang akan dipotong, diikuti dengan penambahan 1 µL masing-masing enzim *BsuR*1 dan *Msp*I. Volume reaksi kemudian disempurnakan dengan 17 µL *nuclease-free water* hingga mencapai volume total 30 µL, memastikan konsentrasi akhir semua komponen sesuai untuk aktivitas enzim yang optimal.

Berbeda dengan dua enzim pertama, digesti dengan *Alu*I memerlukan komposisi reaksi yang sedikit berbeda. Campuran reaksi terdiri dari 3 µL 10X buffer yang menyediakan kondisi optimal untuk iI, ditambah 0,5 µL acetylated bovine serum albumin (BSA) dengan konsentrasi 10 µg/µL. BSA berfungsi untuk menstabilkan enzim dan mencegah inaktivasi enzim yang mungkin terjadi akibat adhesi ke dinding tabung. Sebanyak 20 µL produk PCR ditambahkan sebagai substrat, bersama dengan 0,5 µL *Alu*I (10 unit/µL) dan 1 µL *nuclease-free water* hingga mencapai volume total 25 µL.

Kedua set reaksi digesti tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C, suhu optimal untuk aktivitas kebanyakan enzim restriksi. Namun, terdapat perbedaan waktu inkubasi antara kedua set reaksi. Reaksi dengan *BsuR*1 dan *Msp*I hanya memerlukan waktu inkubasi singkat selama 5 menit dalam waterbath, mengingat efisiensi tinggi

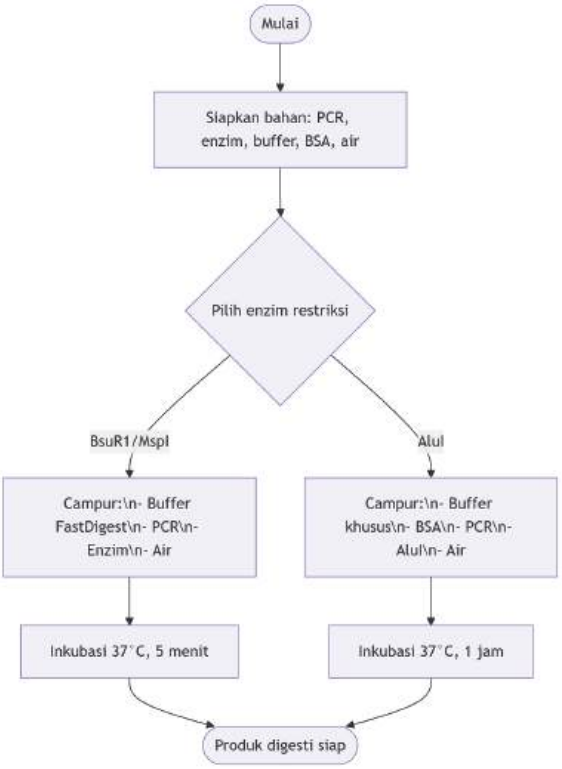
enzim FastDigest yang dirancang untuk bekerja cepat. Sementara itu, reaksi dengan *Alu*I membutuhkan waktu inkubasi lebih lama, yaitu 1 jam dalam waterbath, untuk memastikan pemotongan DNA berlangsung sempurna.

Perbedaan protokol digesti ini mencerminkan karakteristik khusus masing-masing enzim. Enzim FastDigest seperti *BsuR*1 dan *Msp*I telah dimodifikasi untuk bekerja lebih cepat dengan buffer khusus, sementara *Alu*I memerlukan penambahan BSA dan waktu inkubasi lebih lama untuk mencapai efisiensi pemotongan yang maksimal. Setelah proses inkubasi selesai, reaksi digesti biasanya dihentikan dengan pemanasan atau penambahan larutan stop buffer sebelum dilanjutkan ke tahap elektroforesis untuk analisis hasil pemotongan.

Faktor-faktor penting dalam proses digesti:

a. Konsentrasi Buffer: Harus sesuai dengan rekomendasi produsen untuk setiap enzim
b. Volume dan Kemurnian DNA: Kontaminan dapat menghambat kerja enzim
c. Suhu Inkubasi: Harus tepat untuk aktivitas enzim optimal
d. Waktu Inkubasi: Cukup untuk menyelesaikan pemotongan tetapi tidak berlebihan
e. Kualitas Enzim: Enzim harus disimpan dan ditangani dengan benar untuk menjaga aktivitasnya

Proses digesti yang teliti ini merupakan langkah penting sebelum analisis lebih lanjut seperti elektroforesis atau ligasi, dan keberhasilannya sangat menentukan kualitas hasil eksperimen biologi molekuler secara keseluruhan.



Gambar 3.3 alir digesti dengan enzim restriksi DNA endonuklease

4. Elektroforesis

Setelah produk PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dipotong menggunakan enzim restriksi DNA endonuklease, langkah selanjutnya adalah menganalisis hasil pemotongan tersebut melalui teknik elektroforesis. Proses ini bertujuan untuk memisahkan fragmen-fragmen DNA berdasarkan ukurannya sehingga dapat dipastikan apakah enzim restriksi telah bekerja dengan baik dan menghasilkan fragmen DNA dengan panjang yang sesuai.

Pertama, sampel DNA yang telah dipotong disiapkan dengan mencampurkan 3 µL produk PCR dengan loading dye yang mengandung SYBR Safe. SYBR Safe berfungsi sebagai pewarna fluoresen yang akan mengikat DNA, memungkinkan visualisasi fragmen DNA di bawah sinar UV. Campuran ini kemudian

dimasukkan dengan hati-hati ke dalam sumuran (*well*) gel agarose 1% yang telah dipersiapkan sebelumnya. Gel agarose 1% dipilih karena konsentrasi ini ideal untuk memisahkan fragmen DNA berukuran kecil hingga menengah (sekitar 100–1000 pasang basa). Gel tersebut direndam dalam buffer TBE 1X (Tris-Borate-EDTA), yang berperan sebagai medium konduktif untuk menghantarkan arus listrik sekaligus menjaga kestabilan pH selama proses elektroforesis berlangsung.

Sebagai pembanding, 3 µL DNA Marker ukuran 100 bp juga dimasukkan ke dalam sumuran yang terpisah. DNA Marker ini mengandung fragmen DNA dengan ukuran yang sudah diketahui, sehingga berfungsi sebagai penanda (ladder) untuk memperkirakan ukuran fragmen DNA sampel.

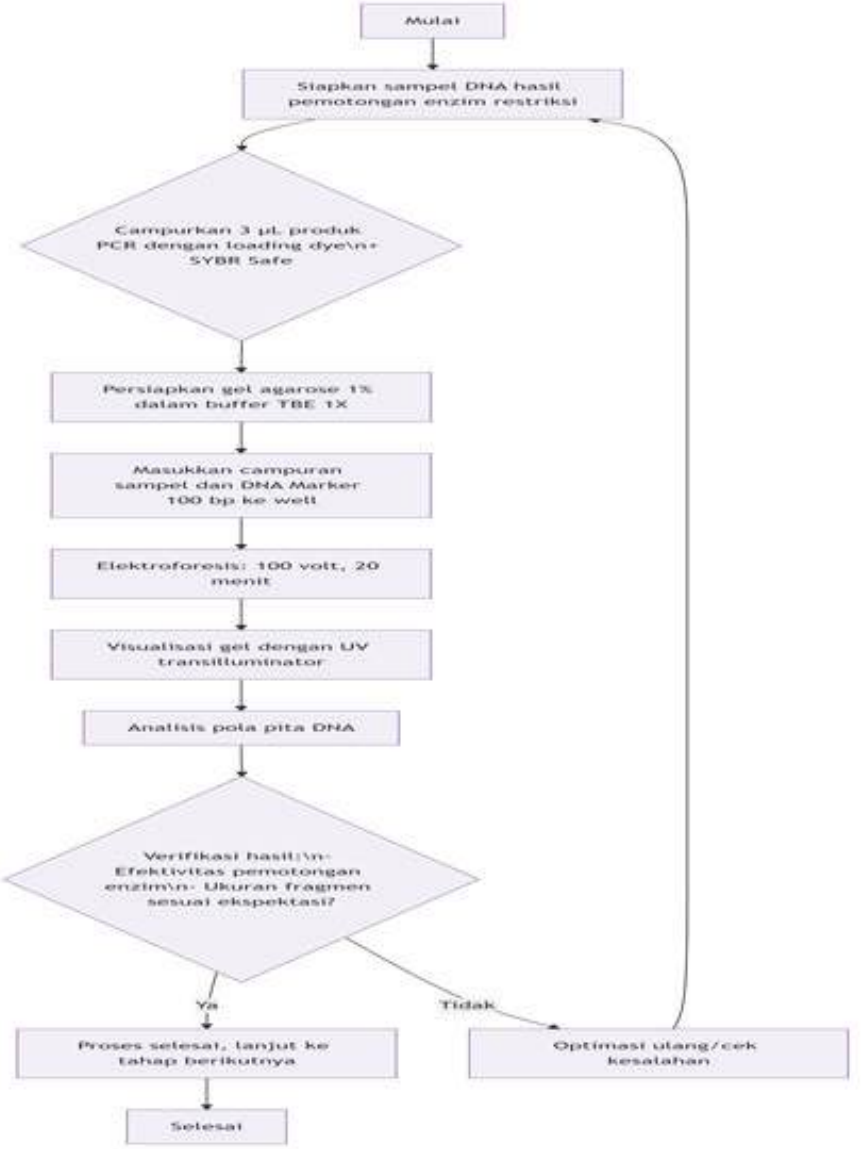
Setelah semua sampel dimuat, elektroforesis dilakukan dengan mengalirkan arus listrik pada voltase konstan 100 volt selama 20 menit. Medan listrik yang terbentuk menyebabkan fragmen DNA yang bermuatan negatif bergerak dari kutub negatif (katode) menuju kutub positif (anode). Fragmen DNA yang lebih pendek akan bergerak lebih cepat melalui pori-pori gel agarose, sementara fragmen yang lebih panjang tertinggal di belakang.

Setelah elektroforesis selesai, gel agarose dikeluarkan dari chamber dan diletakkan di atas UV transilluminator untuk divisualisasikan. SYBR Safe yang telah mengikat DNA akan berpendar di bawah sinar UV, menampilkan pita-pita DNA (bands) yang sesuai dengan ukuran fragmen. Hasil ini kemudian dapat dianalisis untuk memverifikasi apakah pemotongan oleh enzim restriksi berhasil, serta menentukan ukuran fragmen DNA yang dihasilkan.

Faktor pendukung keberhasilan proses ini:

- Konsentrasi Gel Agarose: Gel 1% cocok untuk memisahkan fragmen berukuran 100–1000 bp.
- Buffer TBE: Memastikan konduktivitas listrik dan stabilitas pH.

- Voltase dan Waktu: 100 V selama 20 menit optimal untuk resolusi yang baik tanpa overheating.
- DNA Marker: Penting untuk kalibrasi ukuran fragmen sampel.



Gambar 3.4 alir elektroforesis

5. Identifikasi Fragment Produk Digesti

Identifikasi fragmen hasil digesti dilakukan menggunakan teknik elektroforesis kapiler dengan instrumen Applied Biosystems Genetic Analyzer tipe 3130, yang dilaksanakan oleh 1st-BASE, sebuah perusahaan spesialis dalam layanan analisis genomik dan diagnostik molekuler. Alat ini memanfaatkan prinsip elektroforesis kapiler untuk memisahkan fragmen DNA atau RNA berdasarkan ukuran dengan resolusi tinggi, mencapai ketepatan hingga 1 pasangan basa (bp). Metode ini lebih efisien dibandingkan elektroforesis gel konvensional karena prosesnya otomatis, cepat, dan mampu menangani banyak sampel secara simultan berkat sistem kapiler 16-saluran.

Dalam prosesnya, fragmen DNA hasil digesti enzim atau amplifikasi PCR terlebih dahulu diberi label fluoresen, kemudian dimasukkan ke dalam kapiler yang berisi polimer sebagai matriks pemisah. Ketika dialiri listrik, fragmen bermuatan negatif akan bergerak dan terpisah berdasarkan ukurannya. Detektor fluoresensi pada alat akan mendeteksi sinyal dari setiap fragmen, menghasilkan data yang akurat untuk analisis lebih lanjut. Teknik ini banyak digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti verifikasi kloning gen, analisis polimorfisme (RFLP), atau uji mutasi genetik.

Layanan dari 1st-BASE memastikan bahwa proses identifikasi dilakukan dengan standar tinggi, didukung oleh peralatan canggih dan keahlian teknis di bidang biologi molekuler. Dengan demikian, peneliti atau industri yang menggunakan jasa ini dapat memperoleh data fragmen DNA/RNA yang andal untuk kebutuhan penelitian, diagnostik, atau pengembangan produk bioteknologi.

6. Pengolahan Data

Kepadatan Bakteri

Kepadatan populasi *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB) dalam sampel lingkungan diestimasi menggunakan metode *Most*

Probable Number (MPN), sebuah pendekatan statistik yang banyak digunakan dalam mikrobiologi untuk menghitung jumlah mikroorganisme viable dalam sampel yang tidak dapat dihitung secara langsung melalui metode cawan. Perhitungan ini dilakukan dengan memanfaatkan program *MPN Calculator build 23* (Fegan et al., 2004), yang dirancang khusus untuk mengolah data serial pengenceran sampel secara akurat dan efisien.

Prinsip dasar metode MPN melibatkan serangkaian pengenceran sampel bertingkat yang kemudian diinokulasikan ke dalam media selektif untuk pertumbuhan AOB. Setiap tingkat pengenceran biasanya diulang dalam beberapa seri tabung (biasanya 3-5 ulangan per pengenceran) untuk meningkatkan akurasi perhitungan. Parameter utama yang harus dimasukkan ke dalam *MPN Calculator* meliputi:

a. Jumlah tingkat pengenceran yang dilakukan, misalnya pengenceran 10^{-1}, 10^{-2}, hingga 10^{-5}.
b. Jumlah tabung positif (menunjukkan pertumbuhan AOB) pada setiap tingkat pengenceran, yang ditandai dengan perubahan warna media atau produksi nitrit yang terdeteksi melalui uji kimia.
c. Volume inokulum yang digunakan dalam setiap tabung, biasanya 1 mL atau 10 mL tergantung desain eksperimen.

Program *MPN Calculator build 23* kemudian menggunakan algoritma statistik berbasis distribusi Poisson untuk menghitung nilai MPN beserta interval kepercayaannya (95% confidence interval). Keunggulan program ini terletak pada kemampuannya menangani variasi desain eksperimen, termasuk jumlah tabung yang tidak seragam antar pengenceran, serta penyediaan output yang mudah diinterpretasikan. Nilai MPN yang dihasilkan dinyatakan dalam satuan sel per mililiter (sel/mL) atau sel per gram (sel/g) untuk sampel padat, dan dapat dikonversi ke skala logaritmik untuk memudahkan analisis statistik lebih lanjut.

Metode ini sangat cocok untuk analisis AOB karena sifatnya yang *obligate chemolithotroph* sehingga sulit ditumbuhkan pada media padat konvensional. Namun, penting untuk dicatat bahwa hasil MPN hanya memberikan estimasi probabilistik, bukan penghitungan absolut, sehingga interpretasinya harus mempertimbangkan faktor-faktor seperti efisiensi media selektif dan potensi *false positive* dari bakteri non-AOB. Untuk meningkatkan validitas data, hasil MPN sebaiknya dikombinasikan dengan analisis molekuler seperti *quantitative PCR* (qPCR) yang menargetkan gen *amoA*.

Dengan demikian, penggunaan *MPN Calculator build 23* memberikan solusi praktis dan terstandarisasi dalam mengkuantifikasi kelimpahan AOB, terutama dalam studi ekologi mikroba perairan yang memerlukan pendekatan kultivasi berbasis media cair. Metode ini tetap relevan sebagai alat komplementer dalam era genomik, khususnya untuk verifikasi hasil metagenomik atau uji aktivitas fungsional komunitas AOB.

Komunitas Bakteri

Komunitas bakteri dilihat dengan profil fragmen pada masing-masing sampel dianalisis menggunakan software Peak Scanner™ v1.0. Profil fragmen terpilih adalah fragmen dengan ukuran 50-500 bp. Untuk menghilangkan bias pada T-RF maka data T-RF tiap sampel diolah kembali dengan membagi nilai peak area fragmen dengan total peak area fragmen. T-RF terpilih memiliki persen peak area ≥ 1 %. T-RF terpilih dilakukan analisa menggunakan program Talign pada http://inismor.ucd.ie/~talign/. Data yang diperoleh berupa data binomial dilakukan analisa similaritas dengan program NTSYSPc v2.1 (Tymensen *et al*., 2012; Winter *et al*., 2013).

Analisis kelompok bakteri dilakukan dengan menggunakan web based program pada situs Microbial Community Analysis (MiCA) (http://mica.ibest.uidaho.edu) (Setioningsih *et al*., 2014). Hasil pemotongan enzim *Bsu*RI mendapatkan satu jenis bakteri nitrifikasi, yaitu uncultured *Nitrospirae* VHS-B4-29, hasil pemotongan enzim

*Msp*I juga mendapatkan satu jenis bakteri nitrifikasi, yaitu uncultured *Nitrospirae* bacterium 11, namun hasil pemotongan enzim *Alu*1 tidak ada jenis bakteri nitirifikasi yang ditemukan. Analisis ini juga menambah database yang dibuat sendiri berdasarkan data dari NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) yaitu sebanyak 146 dari enzim *Alu*I, 364 dari enzim *BsuR*I dan 132 dari enzim *Msp*I dengan pemotongan secara *in silico* menggunakan program BioEdit version 7.1.9. Database tambahan tersebut mencakup genus *Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus,* dan *Nitrosolobus*. Penentuan jenis bakteri hasil analisis T-RFLP berdasarkan gen 16S rRNA menggunakan database dari MiCA dan databese tambahan, namun penentuan jenis bakteri hasil analisis T-RFLP berdasarkan gen *amo*A hanya menggunakan database tambahan.

Penghitungan indeks diversitas berdasarkan profil T-RFLP dilakukan untuk menentukan *phylotype richness* (S), yaitu total puncak TRF berbeda/tipe restriksi yang berbeda yang ditemukan pada sampel. Untuk menggambarkan keragaman komunitas dan nilai penting relative dari tiap filotipe dalam keseluruhan komunitas dihitung dengan indeks keragaman Shannon-Wiener (H') dengan rumus 3.1.

$$H' = -\sum pi \ln pi \quad (3.1)$$

pi adalah proporsi filotipe terhadap jumlah total klon setiap sampel yang dianalisis (Setioningsih *et al*., 2014).

Untuk memahami pengaruh parameter fisika-kimia perairan terhadap struktur komunitas *Ammonia-Oxidizing Bacteria* (AOB), dilakukan analisis multivariat menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA). Analisis ini bertujuan untuk mengidentifikasi pola hubungan antara variabel lingkungan (independen) dan parameter biologis AOB (dependen) dalam bentuk biplot, yang menggambarkan pengelompokan habitat berdasarkan kondisi optimumnya. PCA bekerja dengan mereduksi dimensi data melalui transformasi linier, menghasilkan sumbu-sumbu utama (*principal*

components) yang mampu menjelaskan variasi terbesar dalam dataset. Dalam penelitian ini, input data menggunakan korelasi tipe Pearson, di mana seluruh data terlebih dahulu distandarisasi (*auto-scaling*) untuk menghindari bias akibat perbedaan skala pengukuran antarparameter. Nilai *loading* yang digunakan sebagai batas signifikansi adalah ≥0,5, yang menunjukkan bahwa variabel tersebut memberikan kontribusi kuat dalam pembentukan komponen utama (Rozirwan, 2015).

Parameter fisika-kimia perairan yang dianalisis meliputi suhu, oksigen terlarut (DO), pH, dan konsentrasi amonia, sementara data komunitas AOB mencakup kepadatan populasi AOB (dihitung dari *quantitative PCR* atau MPN) dan indeks diversitas bakteri (seperti indeks Shannon-Wiener atau Simpson). Dengan menggabungkan kedua kelompok data tersebut, PCA mampu mengungkap korelasi tersembunyi, misalnya apakah peningkatan suhu atau konsentrasi amonia berkorelasi positif dengan kelimpahan AOB tertentu. Analisis ini dilakukan menggunakan perangkat lunak XLSTAT, yang memungkinkan visualisasi biplot interaktif serta perhitungan nilai eigen, persentase kumulatif varians, dan *cross-validation*. Hasil PCA dapat mengidentifikasi parameter lingkungan dominan yang berperan dalam struktur komunitas AOB, seperti apakah variasi pH atau DO menjadi faktor pembeda utama antarstasiun sampling. Selain itu, pengelompokan habitat dalam biplot dapat mengindikasikan kesamaan kondisi lingkungan atau tekanan ekologis yang memengaruhi distribusi AOB. Pendekatan ini sangat relevan dalam studi ekologi mikroba perairan, khususnya untuk memahami respons komunitas AOB terhadap perubahan lingkungan, baik alami maupun antropogenik.

Dengan demikian, PCA tidak hanya memberikan gambaran komprehensif tentang hubungan kompleks antara faktor abiotik dan komunitas AOB, tetapi juga membantu dalam perumusan hipotesis lanjutan terkait mekanisme adaptasi bakteri pengoksidasi amonia dalam berbagai kondisi perairan.

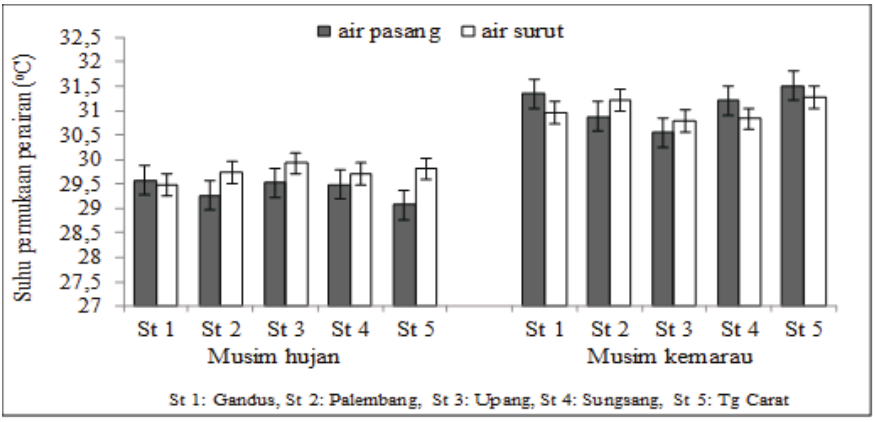
BAB IV

KOMUNITAS *AMMONIA-OXIDIZING BACTERIA* DI AIR

1. Parameter Fisika dan Kimia di Permukaan Perairan

Suhu

Suhu permukaan perairan pada musim hujan berkisar antara 29,07 - 29,92°C nilainya lebih rendah dari musim kemarau berkisar antara 30,55 - 31,51°C (Gambar 4.1). Suhu permukaan perairan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim kemarau, sedangkan terendah ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim hujan.



Gambar 4.1. Suhu permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

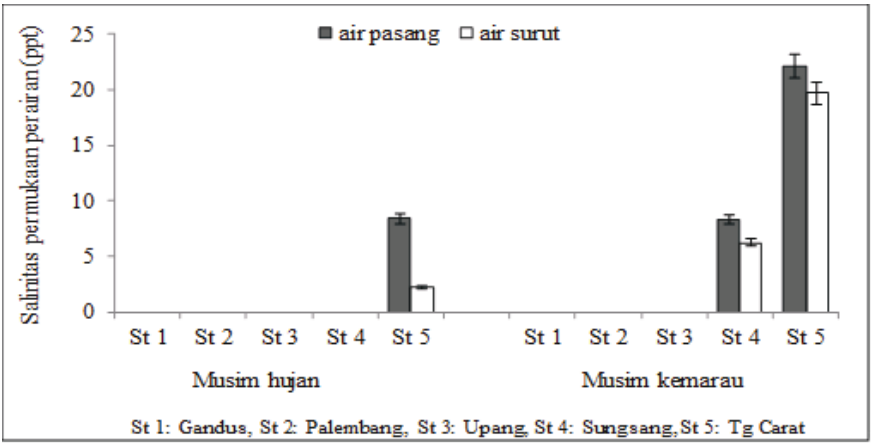
Suhu permukaan perairan pada musim hujan nilainya cenderung tinggi saat air surut. Suhu saat air pasang berkisar antara 29,07 - 29,57°C terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (29,07°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (29,57°C), sedangkan saat air surut berkisar antara 29,48 - 29,92°C terendah ditemukan di stasiun Gandus (29,48°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (29,92°C). Suhu permukaan pada musim kemarau nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 30,55 - 31,51°C terendah ditemukan di stasiun Upang (30,55°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (31,51°C), sedangkan saat air surut berkisar antara 30,79 - 31,27°C terendah ditemukan di stasiun Upang (30,79°C) dan

tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (31,27 °C).

Berdasarkan hasil pengamatan suhu permukaan perairan pada lima stasiun selama musim hujan dan musim kemarau, terlihat bahwa suhu permukaan perairan cenderung lebih tinggi pada musim kemarau dibandingkan musim hujan. Perbedaan suhu ini konsisten di seluruh stasiun pengamatan, dengan suhu pada musim kemarau berkisar antara 30,8°C hingga 31,5°C, sedangkan pada musim hujan berada di kisaran 28,7°C hingga 30,3°C. Selain itu, perbedaan suhu antara kondisi air pasang dan air surut juga terlihat lebih signifikan pada musim kemarau, di mana suhu saat air pasang umumnya sedikit lebih tinggi dibandingkan saat air surut. Variasi suhu antar stasiun juga menunjukkan bahwa stasiun di Gandus dan Tg Carat memiliki suhu permukaan tertinggi pada musim kemarau, sementara stasiun lainnya menunjukkan suhu yang sedikit lebih rendah. Tingkat konsistensi data yang tinggi, ditunjukkan oleh error bar yang kecil, mengindikasikan bahwa pengukuran suhu pada setiap kondisi pasang surut cukup stabil dan dapat dipercaya. Temuan ini menegaskan bahwa musim kemarau berperan penting dalam meningkatkan suhu permukaan perairan, yang tentunya dapat mempengaruhi kondisi ekosistem perairan di wilayah tersebut.

Salinitas

Salinitas permukaan perairan pada musim kemarau berkisar antara 0 - 22,14 ppt nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan berkisar antara 0 - 8,4 ppt (Gambar 4.2). Salinitas permukaan perairan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim kemarau, sedangkan terendah ditemukan di stasiun sungai (stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang) saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau.



Gambar 4.2. Salinitas permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Salinitas permukaan perairan pada musim hujan lebih tinggi saat air pasang. Salinitas saat air pasang berkisar antara 0 - 8,4 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang, stasiun Upang dan stasiun Sungsang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (8,4 ppt), sedangkan saat air surut berkisar antara 0 - 2,2 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang, stasiun Upang dan stasiun Sungsang (0 ppt) serta tertinggi pada stasiun Tg Carat (2,2 ppt). Salinitas permukaan perairan pada musim kemarau juga tinggi saat air pasang. Salinitas saat air pasang berkisar antara 0 - 22,14 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (22,14 ppt), sedangkan saat air surut berkisar antara 0 - 19,69 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (19,69 ppt).

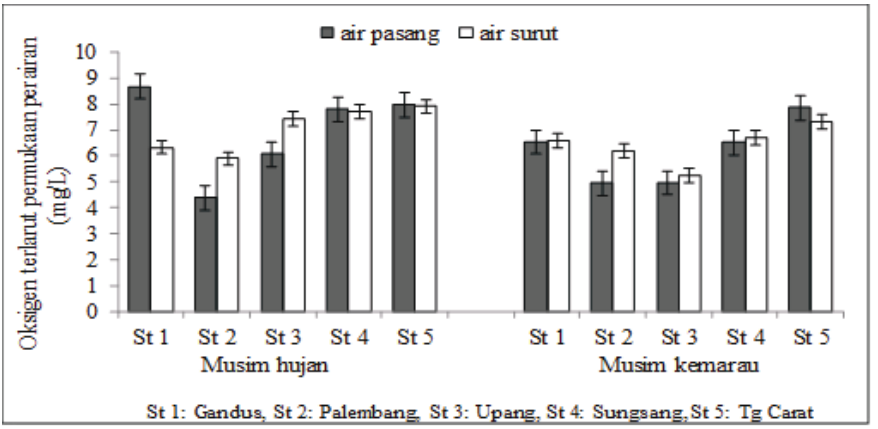
Berdasarkan grafik salinitas permukaan perairan pada lima stasiun selama musim hujan dan musim kemarau, ditemukan bahwa nilai salinitas sangat rendah atau hampir nol pada sebagian besar stasiun selama musim hujan, kecuali di Stasiun 5 (Tg Carat) yang menunjukkan peningkatan salinitas terutama pada kondisi air pasang. Sedangkan pada musim kemarau, salinitas permukaan

perairan mengalami peningkatan signifikan di Stasiun 4 (Sungsang) dan Stasiun 5 (Tg Carat), dengan nilai salinitas tertinggi terdapat di Stasiun 5, baik pada kondisi air pasang maupun air surut. Selain itu, nilai salinitas pada kondisi air pasang secara konsisten lebih tinggi dibandingkan dengan kondisi air surut di kedua stasiun tersebut. Temuan ini menunjukkan bahwa musim kemarau menyebabkan peningkatan salinitas permukaan perairan, terutama di wilayah yang dekat dengan muara atau pantai, dan perbedaan antara air pasang dan air surut memberikan pengaruh yang signifikan terhadap variasi salinitas di area tersebut.

Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut permukaan perairan pada musim hujan berkisar antara 4,38 - 8,67 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar antara 4,95 - 7,86 mg/L (Gambar 4.3). Oksigen terlarut permukaan perairan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang pada musim hujan dan nilai terendah ditemukan di stasiun Palembang saat air pasang pada musim hujan.

Oksigen terlarut permukaan perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 4,38 - 8,67 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (4,38 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (8,67 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 5,89 - 7,91 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (5,89 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,91 mg/L). Oksigen terlarut permukaan perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 4,95 - 7,86 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (4,95 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,86 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 5,24 - 7,33 mg/L terendah ditemukan di stasiun Upang (5,24 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,33 mg/L).



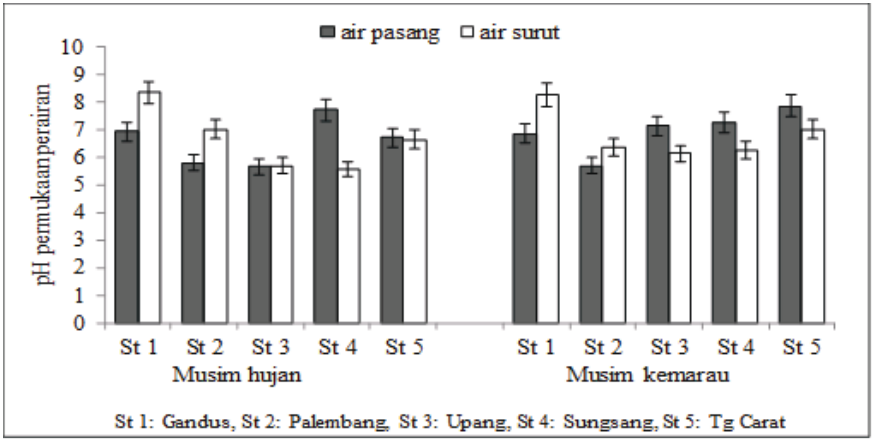
Gambar 4.3. Oksigen terlarut permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Berdasarkan grafik kandungan oksigen terlarut pada permukaan perairan di lima stasiun selama musim hujan dan musim kemarau, dapat dilihat bahwa kadar oksigen terlarut bervariasi antar stasiun dan musim. Pada musim hujan, kandungan oksigen terlarut cenderung lebih tinggi pada kondisi air pasang dibandingkan air surut di sebagian besar stasiun, terutama di Stasiun 1 (Gandus) dan Stasiun 2 (Palembang). Namun, di Stasiun 4 (Sungsang) dan Stasiun 5 (Tg Carat), perbedaan antara kondisi air pasang dan air surut relatif kecil dengan kandungan oksigen terlarut yang cukup stabil. Pada musim kemarau, kadar oksigen terlarut cenderung menurun secara keseluruhan dibandingkan musim hujan, dengan nilai yang lebih merata antara air pasang dan air surut. Stasiun 1 menunjukkan kandungan oksigen terlarut tertinggi pada musim hujan, sementara Stasiun 2 memiliki nilai terendah pada musim kemarau. Temuan ini mengindikasikan bahwa musim hujan memberikan pengaruh positif terhadap peningkatan oksigen terlarut di permukaan air, terutama saat air pasang, sedangkan musim kemarau cenderung menurunkan kadar oksigen terlarut yang dapat mempengaruhi kualitas dan ekosistem perairan di wilayah tersebut.

pH

pH permukaan perairan pada musim hujan berkisar antara 5,56 - 8,33 nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar antara 5,68 - 8,26 (Gambar 4.4). pH permukaan perairan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus saat air surut pada musim hujan dan musim kemarau sedangkan terendah ditemukan di stasiun Sungsang saat surut pada musim hujan.

pH permukaan perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 5,65 - 7,7 terendah ditemukan di stasiun Upang (5,65) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang (7,7), sedangkan saat air surut berkisar antara 5,56 - 8,33 terendah ditemukan di stasiun Sungsang (5,56) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (8,33). pH permukaan perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 5,68 - 7,84 terendah ditemukan di stasiun Palembang (5,68) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,84), sedangkan saat air surut berkisar antara 6,12 - 8,26 terendah ditemukan di stasiun Upang (6,12) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (8,26).



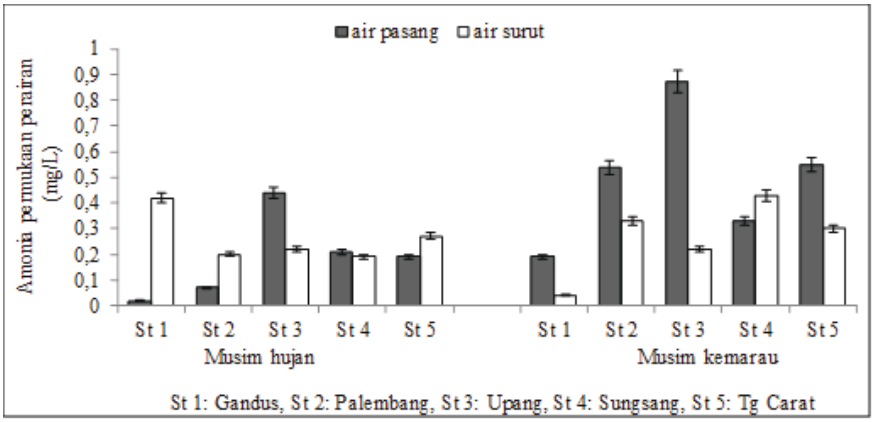
Gambar 4.4. pH permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Berdasarkan grafik pH permukaan perairan pada lima stasiun selama musim hujan dan musim kemarau, terlihat bahwa nilai pH

bervariasi antara kondisi air pasang dan air surut serta antar musim. Pada musim hujan, sebagian besar stasiun menunjukkan pH yang lebih tinggi pada kondisi air surut dibandingkan air pasang, dengan nilai pH berkisar antara 6 hingga hampir 9, terutama di Stasiun 1 (Gandus) dan Stasiun 2 (Palembang). Sebaliknya, pada musim kemarau, perbedaan pH antara air pasang dan air surut cenderung lebih kecil dan nilai pH relatif lebih stabil di semua stasiun, dengan rentang pH sekitar 6,5 hingga 8,5. Secara umum, pH permukaan perairan berada dalam rentang netral hingga sedikit basa di kedua musim tersebut. Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh siklus pasang surut terhadap perubahan pH di musim hujan yang lebih signifikan dibandingkan musim kemarau, serta menunjukkan bahwa kondisi pH tetap berada dalam kisaran yang mendukung kehidupan perairan di wilayah pengamatan.

Amonia

Secara umum konsentrasi amonia permukaan perairan berkisar antara 0,02 - 0,87 mg/L (Gambar 4.5). Konsentrasi amonia permukaan perairan pada musim kemarau berkisar antara 0,04 - 0,87 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan berkisar antara 0,02 - 0,44 mg/L. Konsentrasi amonia permukaan perairan tertinggi ditemukan di stasiun Upang saat air pasang pada musim kemarau dan terendah ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang pada musim hujan.



Gambar 4.5. Amonia permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Konsentrasi amonia permukaan perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 0,02 - 0,44 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,02 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,44 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 0,19 - 0,42 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,19 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (0,42 mg/L). Konsentrasi amonia permukaan perairan pada musim kemarau nilainya cenderung tinggi saat air pasang, saat air pasang berkisar antara 0,19 - 0,87 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,19 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,87 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 0,04 - 0,43 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,04 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang (0,43 mg/L).

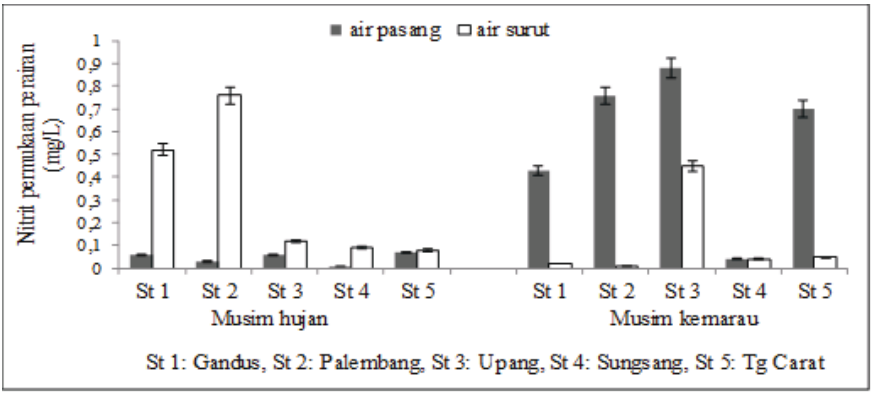
Konsentrasi amonia permukaan perairan menunjukkan variasi yang signifikan antara musim kemarau dan hujan, dengan kisaran secara umum antara 0,02 hingga 0,87 mg/L. Pada musim kemarau, konsentrasi amonia lebih tinggi, yaitu 0,04–0,87 mg/L, sedangkan pada musim hujan berkisar antara 0,02–0,44 mg/L. Nilai tertinggi tercatat di Stasiun Upang saat air pasang pada musim kemarau (0,87 mg/L), sementara nilai terendah ditemukan di Stasiun Gandus saat air pasang pada musim hujan (0,02 mg/L). Pola musiman

menunjukkan bahwa pada musim kemarau, konsentrasi amonia cenderung tinggi saat air pasang, dengan fluktuasi yang lebih stabil saat air surut (0,04–0,43 mg/L). Sebaliknya, pada musim hujan, nilai amonia lebih rendah tetapi lebih fluktuatif, terutama saat air pasang (0,02–0,44 mg/L) dibandingkan saat air surut (0,19–0,42 mg/L). Perbedaan antar-stasiun juga terlihat jelas, dengan Stasiun Upang menunjukkan konsentrasi tinggi secara konsisten, sementara Stasiun Gandus memiliki variasi yang lebih dinamis, termasuk nilai terendah saat pasang dan tertinggi saat surut pada musim hujan.

Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh aktivitas antropogenik atau aliran air yang membawa limbah organik di Stasiun Upang, serta sensitivitas Stasiun Gandus terhadap kondisi pasang-surut dan perubahan musim. Investigasi lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi sumber pencemar dan faktor-faktor hidrodinamika yang memengaruhi distribusi amonia di perairan tersebut.

Nitrit

Secara umum konsentrasi nitrit permukaan perairan berkisar antara 0,01 - 0,88 mg/L (Gambar 4.6). Konsentrasi nitrit permukaan perairan pada musim kemarau berkisar antara 0,01 - 0,88 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan berkisar antara 0,01 - 0,76 mg/L.



Gambar 4.6. Nitrit permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

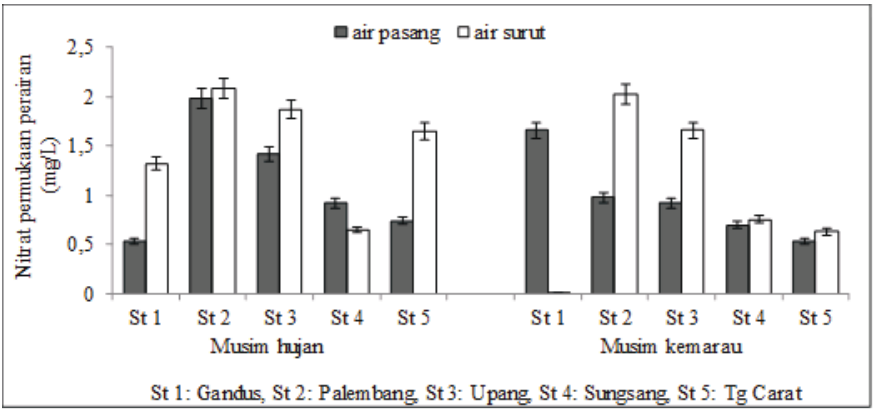
Konsentrasi nitrit permukaan perairan pada musim hujan nilainya tinggi saat air surut, saat air pasang berkisar antara 0,01 - 0,07 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,01 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (0,07 mg/L), sedangkan saat surut berkisar antara 0,08 - 0,76 mg/L terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (0,08 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (0,76 mg/L). Konsentrasi nitrit permukaan perairan pada musim kemarau nilainya tinggi saat air pasang, saat air pasang berkisar antara 0,04 - 0,88 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,04 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,88 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 0,01 - 0,45 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (0,01 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,45 mg/L).

Secara umum, konsentrasi nitrit permukaan perairan berada pada kisaran 0,01-0,88 mg/L dengan pola distribusi yang bervariasi berdasarkan musim dan kondisi pasang-surut. Pada musim kemarau, konsentrasi nitrit cenderung lebih tinggi (0,01-0,88 mg/L) dibandingkan musim hujan (0,01-0,76 mg/L). Temuan mencolok menunjukkan bahwa konsentrasi nitrit tertinggi secara absolut tercatat di Stasiun Upang saat air pasang pada musim kemarau (0,88 mg/L), sementara nilai terendah ditemukan di Stasiun Sungsang (0,01 mg/L) baik pada musim hujan maupun kemarau. Pola musiman yang menarik terlihat dimana pada musim hujan konsentrasi nitrit justru lebih tinggi saat air surut (mencapai 0,76 mg/L di Stasiun Palembang), berbeda dengan pola pada musim kemarau dimana konsentrasi puncak terjadi saat air pasang. Variasi spasial yang signifikan teramati antara stasiun pengamatan, dengan Stasiun Upang secara konsisten menunjukkan nilai tinggi baik saat pasang maupun surut pada musim kemarau, sementara Stasiun Tg Carat dan Sungsang cenderung memiliki nilai lebih rendah. Temuan ini mengindikasikan adanya dinamika proses biogeokimia yang kompleks di perairan tersebut, dimana faktor musim, kondisi pasang-surut, dan karakteristik lokasi spesifik secara bersama-sama

memengaruhi distribusi nitrit.

Nitrat

Secara umum konsentrasi nitrat permukaan perairan berkisar antara 0,02 - 2,09 mg/L (Gambar 4.7). Konsentrasi nitrat permukaan perairan pada musim hujan berkisar antara 0,54 - 2,09 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar antara 0,02 - 2,03 mg/L.



Gambar 4.7. Nitrat permukaan perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Konsentrasi nitrat permukaan perairan pada musim hujan nilainya cenderung tinggi saat air surut, saat air pasang berkisar antara 0,54 - 1,99 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,54 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (1,99 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 0,65 - 2,09 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,65 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (2,09 mg/L). Konsentrasi nitrat permukaan perairan pada musim kemarau nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 0,54 - 1,66 mg/L terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (0,54 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (1,66 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar antara 0,02 - 2,03 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,02 mg/L) dan tertinggi

ditemukan di stasiun Palembang (2,03 mg/L).

Konsentrasi nitrat permukaan perairan menunjukkan variasi yang menarik dengan kisaran 0,02-2,09 mg/L, dimana secara mengejutkan nilai tertinggi justru ditemukan pada musim hujan (0,54-2,09 mg/L) dibandingkan musim kemarau (0,02-2,03 mg/L). Pola yang paling mencolok terlihat pada musim hujan dimana konsentrasi nitrat cenderung meningkat saat air surut, mencapai puncaknya di Stasiun Palembang (2,09 mg/L). Sementara itu, Stasiun Palembang secara konsisten menunjukkan nilai tinggi baik pada kondisi pasang (1,99 mg/L) maupun surut (2,09 mg/L) selama musim hujan, mengindikasikan kemungkinan sumber input nitrat yang signifikan di wilayah tersebut. Pada musim kemarau, pola distribusi nitrat lebih fluktuatif dengan nilai ekstrim terendah tercatat di Stasiun Gandus saat air surut (0,02 mg/L) dan tertinggi lagi-lagi di Stasiun Palembang saat surut (2,03 mg/L). Temuan menarik lainnya adalah peran kondisi pasang-surut yang berbeda pengaruhnya terhadap konsentrasi nitrat antara musim hujan dan kemarau, dimana pada musim hujan konsentrasi cenderung meningkat saat surut, sementara pada musim kemarau pola ini tidak terlihat jelas. Variasi spasial yang signifikan antar stasiun pengamatan, terutama peran dominan Stasiun Palembang sebagai lokasi dengan konsentrasi tertinggi, menunjuk pada kebutuhan investigasi lebih lanjut mengenai sumber nitrat dan faktor lingkungan yang memengaruhi distribusinya di perairan ini.

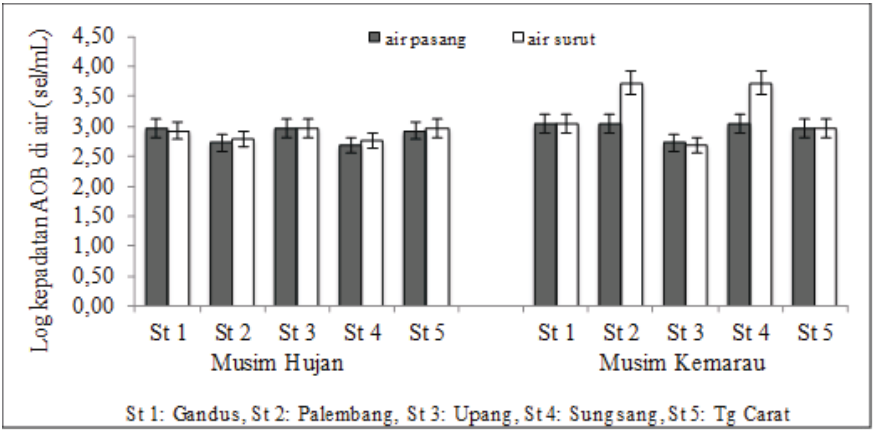
2. Kepadatan *Ammonia-Oxidizing Bacteria* di Air

Secara umum kepadatan AOB di air berkisar antara $4{,}9\times10^2$ - $5{,}3\times10^3$ sel/mL (Gambar 4.8). Kepadatan AOB di air pada musim kemarau berkisar antara $4{,}9\times10^2$ - $5{,}3\times10^3$ sel/mL nilainya lebih tinggi dibandingkan pada musim hujan berkisar antara $4{,}9\times10^2$ - $9{,}4\times10^2$ sel/mL. Kepadatan AOB di air tertinggi ditemukan di stasiun Palembang dan stasiun Sungsang saat air surut pada musim kemarau sedangkan terendah ditemukan di stasiun Sungsang saat

air pasang pada musim hujan dan di stasiun Upang saat air surut pada musim kemarau.

Kepadatan AOB di air pada musim hujan nilainya fluktuatif, kepadatan AOB saat air pasang berkisar antara $4{,}9\times10^2$ - $9{,}4\times10^2$ sel/mL nilai terendah ditemukan di stasiun Sungsang dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus dan stasiun Upang, sedangkan saat air surut berkisar antara $5{,}8\times10^2$ - $9{,}4\times10^2$ sel/mL nilai terendah ditemukan di stasiun Sungsang dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang dan stasiun Tg Carat.

Kepadatan AOB di air pada musim kemarau nilainya fluktuatif dan saat air surut nilainya cenderung tinggi. Kepadatan AOB saat air pasang berkisar antara $5{,}3\times10^2$ - $1{,}1\times10^3$ sel/mL nilai terendah ditemukan di stasiun Upang dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus, Palembang dan Sungsang, sedangkan saat air surut berkisar antara $4{,}9\times10^2$ - $5{,}3\times10^3$ sel/mL nilai terendah ditemukan di stasiun Upang dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang dan Sungsang.



Gambar 4.8. Log kepadatan AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Kepadatan bakteri pengoksidasi amonia (AOB) di perairan menunjukkan variasi yang signifikan antara musim, dengan kisaran $4{,}9\times10^2$ hingga $5{,}3\times10^3$ sel/mL. Hasil pengamatan mengungkapkan

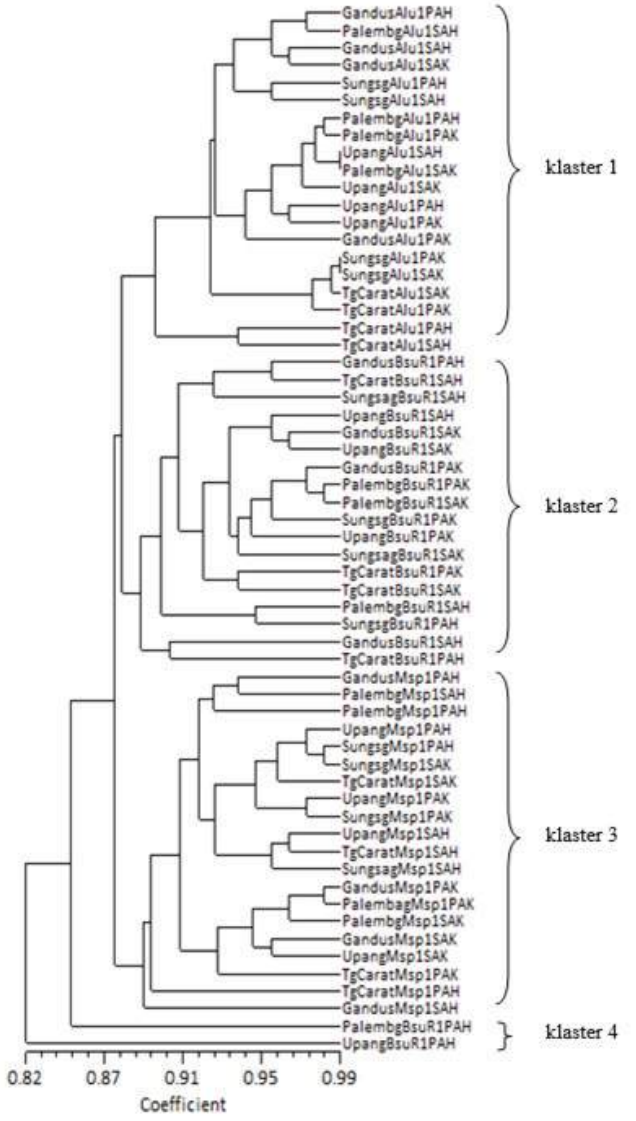
bahwa kepadatan AOB secara konsisten lebih tinggi pada musim kemarau ($4,9\times10^2$-$5,3\times10^3$ sel/mL) dibandingkan musim hujan ($4,9\times10^2$-$9,4\times10^2$ sel/mL). Nilai tertinggi tercatat di Stasiun Palembang dan Sungsang saat air surut pada musim kemarau ($5,3\times10^3$ sel/mL), sementara nilai terendah ditemukan di Stasiun Sungsang saat air pasang musim hujan dan Stasiun Upang saat air surut musim kemarau ($4,9\times10^2$ sel/mL). Pola distribusi yang menarik terlihat dimana pada musim kemarau, kepadatan AOB cenderung meningkat saat air surut, khususnya di Stasiun Palembang dan Sungsang. Sebaliknya, pada musim hujan, fluktuasi kepadatan AOB lebih bervariasi antar stasiun dengan nilai tertinggi saat surut di Stasiun Upang dan Tg Carat ($9,4\times10^2$ sel/mL). Temuan ini menunjukkan bahwa kondisi lingkungan selama musim kemarau, terutama saat air surut, lebih mendukung pertumbuhan populasi AOB. Perbedaan signifikan kepadatan AOB antar stasiun, dengan Stasiun Palembang dan Sungsang secara konsisten menunjukkan nilai tinggi, sementara Stasiun Upang cenderung memiliki kepadatan rendah, mengindikasikan adanya variasi lokal dalam faktor-faktor yang mempengaruhi komunitas AOB, seperti ketersediaan substrat atau kondisi fisiko-kimia perairan.

3. Keragaman AOB berdasarkan Gen 16S rRNA di Air

Similaritas

Similaritas bakteri di air berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA dengan enzim restriksi *Alu*I, *BsuR*I dan *Msp*I terbagi menjadi 4 klaster (Gambar 4.9). Adapun klaster tersebut yaitu klaster 1 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Alu*I dengan nilai koefisien similaritas antara 0,89 - 0,99 berjumlah 20 sampel, klaster 2 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *BsuR*I dengan nilai koefisien similaritas antara 0,88 - 0,98 berjumlah 18 sampel, klaster 3 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Msp*I dengan nilai koefisien similaritas antara 0,88 - 0,98

berjumlah 20 sampel, dan klaster 4 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *BsuR*I dengan nilai koefisien similaritas antara 0,82 - 0,85 berjumlah 2 sampel. Klaster 4 merupakan penyimpangan dari klaster 2 hasil pemotongan enzim *BsuR*I.

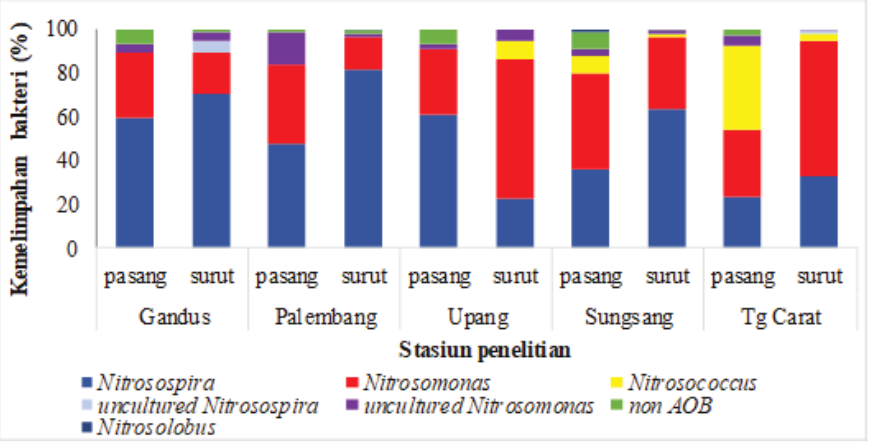


Gambar 4.9. Dendogram bakteri di air berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA dengan enzim restriksi *Alu*I, *BsuR*I dan *Msp*I di Sungai Musi

Hasil analisis data menunjukkan tingkat kesamaan yang sangat tinggi antar sampel dari berbagai lokasi dan kondisi perairan, dengan nilai koefisien berkisar antara 0,82 hingga 0,99. Sampel-sampel yang berasal dari stasiun Gandus, Palembang, Sungsang, Upang, dan Tg Carat ini dikelompokkan berdasarkan tiga kategori utama: Mu1 (mewakili kondisi musiman tertentu), *BsuR*1 (mengindikasikan kondisi khusus), dan Map1 (berkaitan dengan pemetaan). Pola nilai koefisien yang hampir mendekati 1,00 pada seluruh sampel mengungkapkan adanya homogenitas yang kuat dalam karakteristik yang diukur, baik itu parameter fisika-kimia perairan maupun aspek biologis. Temuan ini cukup mengejutkan mengingat keragaman lokasi pengambilan sampel, dan mengindikasikan bahwa mungkin terdapat faktor lingkungan atau antropogenik yang menciptakan kondisi serupa di berbagai stasiun tersebut. Nilai tertinggi (0,99) yang muncul pada beberapa sampel, terutama dari stasiun Palembang dan Upang, memperkuat dugaan adanya kesamaan kondisi dasar di perairan-perairan ini. Namun, interpretasi lebih mendalam membutuhkan pemahaman yang lebih lengkap tentang parameter spesifik yang dianalisis dan metodologi yang digunakan dalam pengolahan data. Hasil analisis ini membuka peluang untuk penelitian lanjutan guna mengidentifikasi faktor-faktor apa saja yang berkontribusi terhadap kemiripan tinggi antar sampel dari lokasi yang secara geografis berbeda.

Jenis dan Kemelimpahan

Jenis bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA diketahui beberapa jenis bakteri teridentifikasi AOB, yaitu *Nitrosospira, Nitrosomonas, Nitrosococcus, uncultured Nitrosomonas, uncultured Nitrosospira* dan *Nitrosolobus* serta teridentifikasi juga *non AOB* (Gambar 4.10).



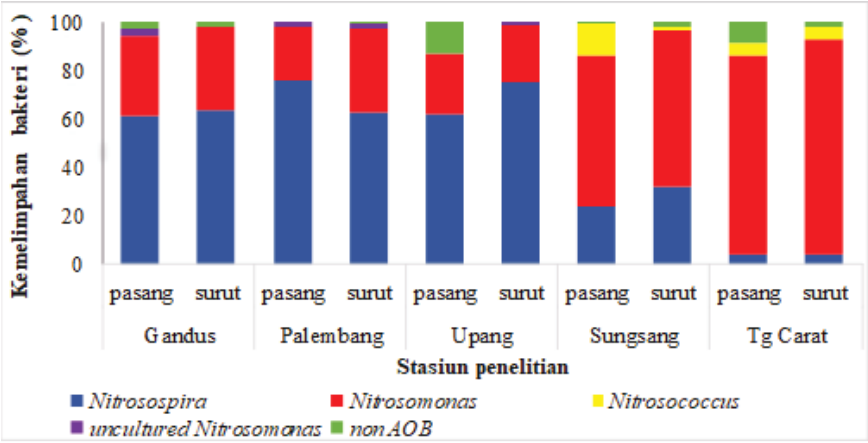
Gambar 4.10. Jenis dan kemelimpahan bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Gambar 4.10 terlihat kemelimpahan AOB nilainya fluktuatif dan didominasi oleh *Nitrosospira* (22 - 81%) dan *Nitrosomonas* (15 - 64%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosospira* tertinggi (81%) ditemukan di stasiun Palembang saat air surut dan kemelimpahan *Nitrosomonas* tertinggi (64%) ditemukan di stasiun Upang saat air surut. Kemelimpahan AOB di stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat terdapat perbedaan komposisi dengan stasiun lainya karena ditemukan *Nitrosococcus* dari kelas γ-Proteobacteria (2 - 39%), bakteri ini hidup pada lingkungan yang mempunyai kadar garam, juga ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* sebesar 9% akan tetapi dari kelas β-Proteobacteria di stasiun Upang saat air surut.

Gambar 4.10 menampilkan komposisi komunitas bakteri pengoksidasi amonia (AOB) di lima stasiun penelitian (Gandus, Palembang, Upang, Sungsang, dan Tg Carat) dengan perbandingan antara kondisi pasang dan surut. Hasil analisis menunjukkan variasi signifikan dalam dominansi kelompok AOB di setiap lokasi. Beberapa temuan kunci yang menonjol meliputi: (1) *Nitrosospira* dan *Nitrasomonas* muncul sebagai genus dominan di sebagian besar lokasi, terutama pada kondisi pasang; (2) Terdapat perbedaan

komposisi yang jelas antara kondisi pasang dan surut di semua stasiun, dimana kondisi surut cenderung menunjukkan peningkatan proporsi kelompok *uncultured Nitrosomonas* dan *Nitrosolobus*; (3) Stasiun Palembang dan Upang menunjukkan keragaman genus AOB yang lebih tinggi dibandingkan stasiun lainnya; (4) Kelompok *non-AOB* terdeteksi dalam proporsi yang signifikan di beberapa stasiun, terutama Tg Carat; serta (5) Genus *Nitrosococcus* menunjukkan distribusi yang tidak merata dengan konsentrasi tertentu di stasiun Sungsang. Temuan ini mengindikasikan bahwa kondisi lingkungan spesifik di setiap lokasi serta perbedaan perlakuan pasang dan surut) secara signifikan memengaruhi struktur komunitas AOB. Variasi ini mungkin berkaitan dengan perbedaan parameter fisika-kimia perairan atau sumber input nutrien di masing-masing lokasi penelitian.

Jenis bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA diketahui beberapa jenis bakteri teridentifikasi AOB, yaitu *Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus* dan *uncultured Nitrosomonas* serta teridentifikasi juga *non AOB* (Gambar 4.11).



Gambar 4.11. Jenis dan kemelimpahan bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Gambar 4.11 terlihat kemelimpahan AOB nilainya fluktuatif. Namun terbentuk pola mulai dari stasiun Gandus sampai stasiun Upang (lokasi sungai) didominasi oleh kemelimpahan *Nitrosospira* (61 - 75%) dan *Nitrosomonas* (22 - 35%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosospira* sebesar 75% ditemukan di stasiun Upang saat air surut dan kemelimpahan *Nitrosomonas* sebesar 35% ditemukan di stasiun Gandus dan stasiun Palembang saat air surut.

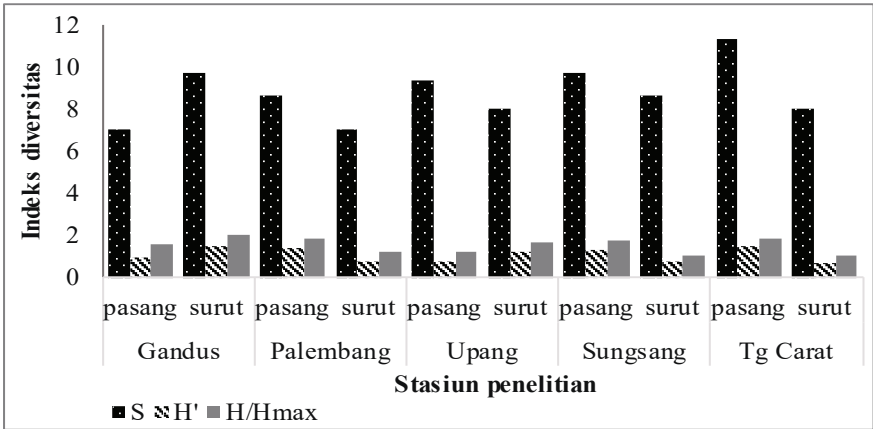
Sedangkan mulai dari stasiun Sungsang sampai stasiun Tg Carat (lokasi muara dan laut) didominasi oleh kemelimpahan *Nitrosomonas* (62 - 89%) dan *Nitrosospira* (4 - 32%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosomonas* sebesar 89% ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut dan kemelimpahan *Nitrosospira* sebesar 32% ditemukan di stasiun Sungsang saat air surut. Selain itu, di stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat terdapat perbedaan komposisi kemelimpahan dengan stasiun lainya karena ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* (2 - 14%) dari kelas γ-Proteobacteria.

Analisis komposisi bakteri pengoksidasi amonia (AOB) pada lima stasiun penelitian (Gandus, Palembang, Upang, Songsang, dan Tg Carat) menunjukkan pola distribusi yang bervariasi antara kondisi pasang dan surut. Beberapa temuan utama yang teridentifikasi meliputi: (1) Genus *Nitrosispira* dan *Nitrosomonas* mendominasi di sebagian besar lokasi, terutama pada kondisi pasang, menunjukkan peran penting kedua genus ini dalam proses nitrifikasi; (2) Kondisi surut cenderung meningkatkan proporsi *uncultured Nitrosomonas*, mengindikasikan adanya adaptasi spesifik bakteri terhadap perubahan lingkungan; (3) Kelompok *non AOB* terdeteksi dalam proporsi yang signifikan di beberapa stasiun, terutama Tg Carat, yang mungkin mencerminkan pengaruh faktor eksternal atau kompetisi ekologis; (4) Genus *Nitrosococcus* menunjukkan distribusi yang sporadis dengan keberadaan yang lebih menonjol di stasiun tertentu; serta (5) Variasi komposisi antar stasiun mengindikasikan bahwa karakteristik lokal seperti kualitas air, ketersediaan nutrien, atau aktivitas antropogenik berperan penting dalam membentuk

komunitas AOB. Temuan ini menyoroti kompleksitas dinamika komunitas bakteri nitrifikasi di lingkungan perairan dan pentingnya mempertimbangkan faktor lokal dalam pengelolaan ekosistem perairan.

Indeks Diversitas

Indeks diversitas bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA disajikan pada Gambar 4.12. Kekayaan jenis di air pada musim hujan menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 7 - 11 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 7 - 10 ukuran TRF saat air surut, kekayaan jenis yang tinggi sebesar 11 ukuran TRF ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar antara 0,81 - 1,47 dan saat air surut berkisar antara 0,72 - 1,50, indeks Shannon-Wiener yang tinggi sebesar 1,50 ditemukan di stasiun Gandus saat air surut. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 1,03 -2,03.



Gambar 4.12. Indeks diversitas bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

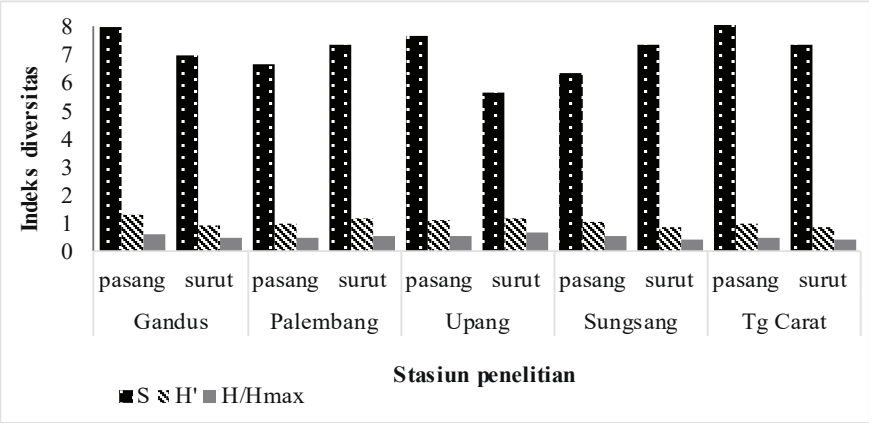
Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Indeks diversitas bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA disajikan pada Gambar 4.13. Kekayaan jenis di air pada musim kemarau menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 6 - 8 ukuran TRF saat air pasang dan 6 - 7 ukuran TRF saat air surut, kekayaan jenis yang tinggi sebesar 8 ukuran TRF ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang, di stasiun Upang saat air pasang, dan di stasiun Tg Carat saat air pasang. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 0,99 - 1,29 dan saat air surut berkisar 0,86 - 1,18, indeks Shannon-Wiener tertinggi sebesar 1,29 ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,43 - 0,68.



Gambar 4.13. Indeks diversitas bakteri di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

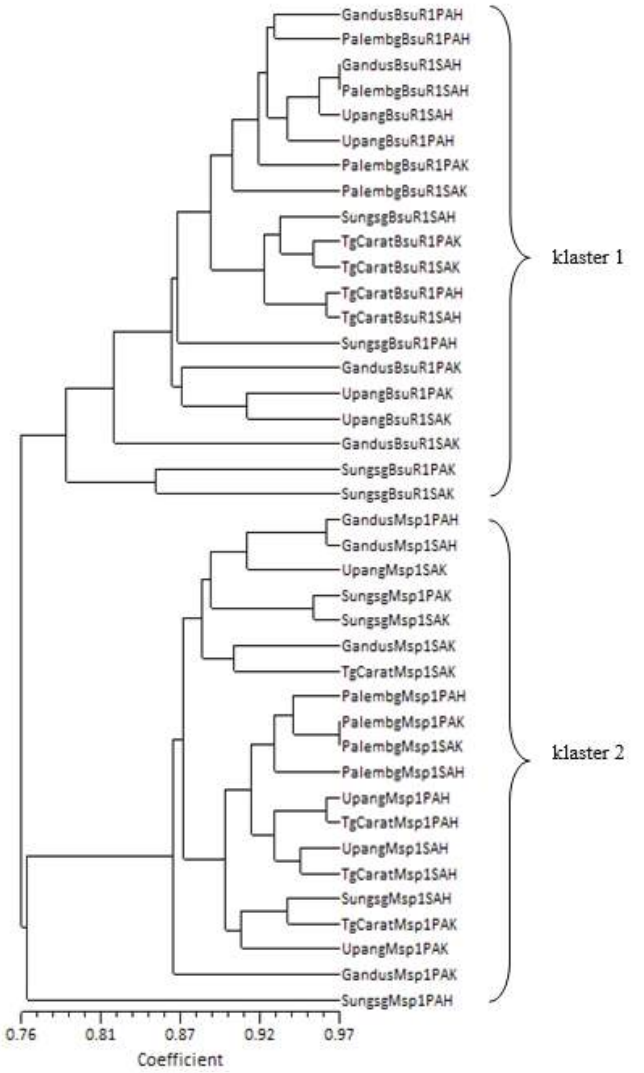
4. Keragaman AOB berdasarkan Gen *amo*A di Air

Similaritas

Similaritas AOB di air berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A dengan enzim restriksi *Bsu*RI dan *Msp*I terbagi menjadi 4 klaster (Gambar 4.14). Adapun klaster tersebut yaitu klaster 1 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Bsu*RI berjumlah 20 sampel dengan nilai koefisien similaritas antara 0,78 - 0,97 dan klaster 2 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Bsu*RI (20 sampel) dengan nilai 0,76 - 0,97.

Beberapa temuan kunci yang teridentifikasi dari Gambar 4.14 meliputi: (1) Kisaran nilai koefisien yang lebar mengindikasikan tingkat heterogenitas tinggi dalam komposisi komunitas bakteri antar sampel, dengan beberapa pasangan sampel menunjukkan kesamaan sangat tinggi (0.92-0.97) sementara lainnya memiliki kemiripan rendah (0.37); (2) Pola pengelompokan berdasarkan lokasi terlihat jelas dimana sampel dari stasiun yang sama (misalnya PalembangBsuR1 dan PalembangMsp1) cenderung memiliki nilai koefisien lebih tinggi; (3) Perbedaan antara kelompok BsuR1 dan Msp1 tampak signifikan, mengindikasikan kemungkinan pengaruh faktor temporal atau metodologis terhadap komposisi komunitas; serta (4) Nilai ekstrim seperti 0.37 dan 0.97 muncul dalam dataset yang sama, menyoroti adanya perbedaan ekologis yang mendasar antara beberapa kondisi sampling. Temuan ini menggarisbawahi kompleksitas komunitas bakteri perairan dan pentingnya

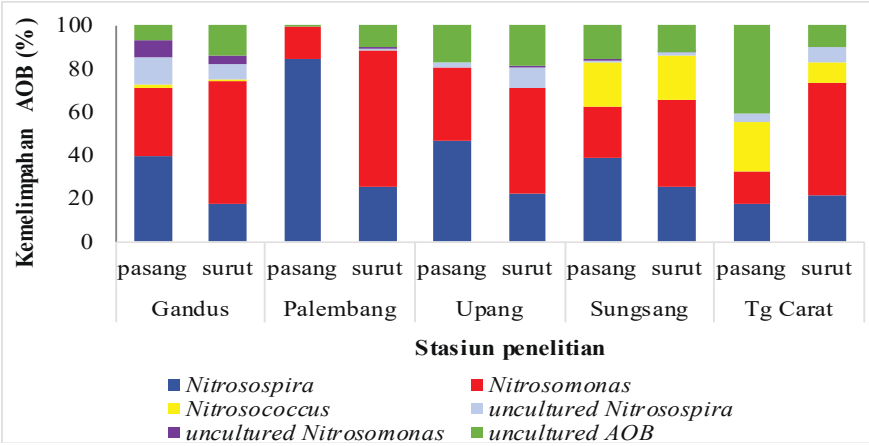
mempertimbangkan variabel spasial-temporal dalam interpretasi data mikrobiologis lingkungan.



Gambar 4.14. Dendogram AOB di air berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A dengan enzim restriksi *Bsu*RI dan *Msp*I di Sungai Musi

Jenis dan Kemelimpahan

Jenis AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A diketahui beberapa jenis yaitu *Nitrosospira, Nitrosomonas, uncultured AOB, Nitrosococcus, uncultured Nitrosospira, uncultured Nitrosomonas* (Gambar 4.15).



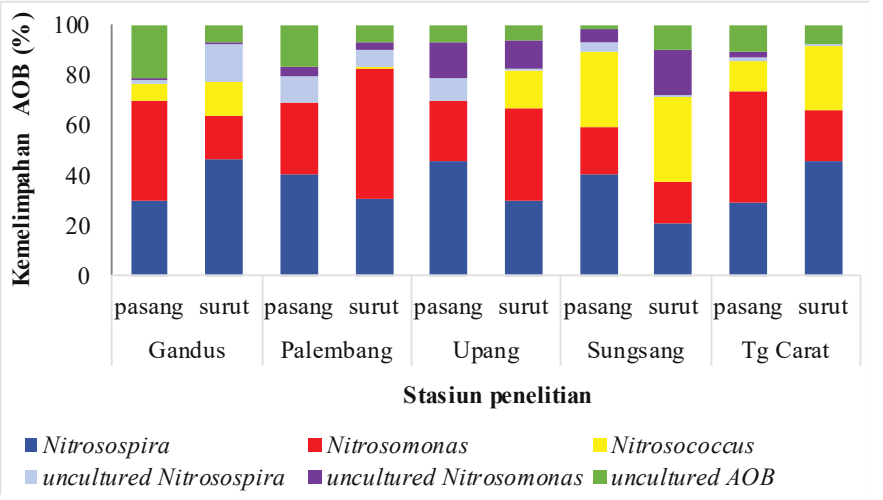
Gambar 4.15. Jenis dan kemelimpahan AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Gambar 4.15 terlihat kemelimpahan AOB nilainya fluktuatif dan saat air pasang didominasi oleh *Nitrosospira* (17 - 84%) dengan nilai yang tinggi ditemukan di stasiun Palembang (84%), sedangkan saat air surut didominasi oleh *Nitrosomonas* (15 - 63%) dengan nilai yang tinggi ditemukan di stasiun Palembang (63%). Kemelimpahan AOB di stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat terdapat perbedaan komposisi dengan stasiun lainya karena ditemukan *Nitrosococcus* (kelas γ-Proteobacteria) mencapai 23%, juga ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* sebesar 1% di stasiun Gandus akan tetapi dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *uncultured AOB* juga cukup tinggi ditemukan mencapai 41% di stasiun Tg Carat saat air pasang.

Hasil utama yang menonjol ditunjukkan oleh Gambar 4.15 meliputi: (1) Dominansi genus *Nitrosospira* dan *Nitrosomonas*

yang konsisten di semua lokasi, dengan proporsi lebih tinggi pada kondisi pasang; (2) Adanya kelompok termodifikasi (*uncultured Nitrosospira* dan *uncultured Nitrosomonas*) yang menunjukkan peningkatan proporsi pada kondisi surut, mengindikasikan adaptasi spesifik terhadap perubahan lingkungan; (3) Variasi spasial yang signifikan, dimana stasiun Palembang dan Upang cenderung memiliki keragaman genus AOB lebih tinggi dibandingkan stasiun lainnya; (4) Keberadaan kelompok *uncultured AOB* (non-klasik) yang terdeteksi di beberapa lokasi, terutama Tg Carat, dengan proporsi mencapai 20-40% pada kondisi surut; serta (5) Pola respons berbeda antar genus terhadap perubahan kondisi, dimana *Nitrosococcus* menunjukkan fluktuasi paling tajam antara pasang dan surut. Temuan ini mengungkapkan dinamika kompleks komunitas AOB yang dipengaruhi oleh interaksi faktor lokal dan kondisi lingkungan, sekaligus menekankan pentingnya pemantauan berbasis genus untuk memahami proses nitrifikasi di perairan.

Jenis AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A diketahui beberapa jenis yaitu *Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus, uncultured AOB, uncultured Nitrosomonas,* dan *uncultured Nitrosospira* (Gambar 4.16).



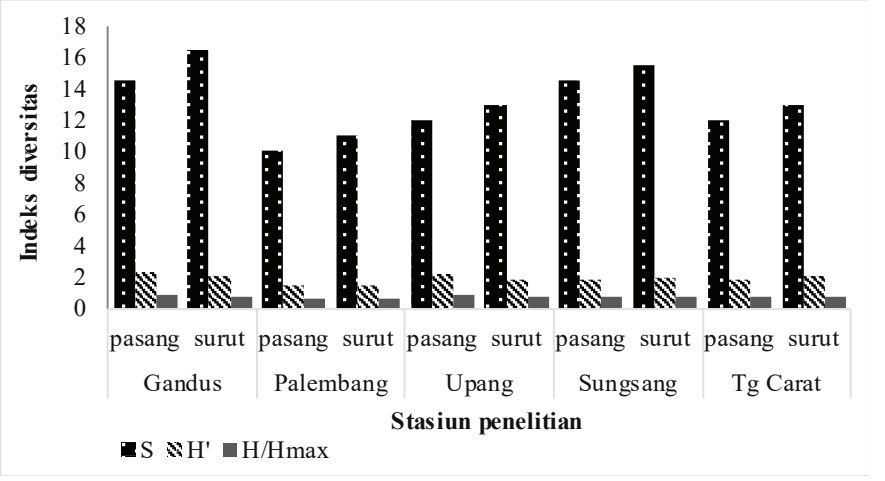
Gambar 4.16. Jenis dan kemelimpahan AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Gambar 4.16 terlihat kemelimpahan AOB nilainya fluktuatif dan didominasi oleh *Nitrosomonas* (16 - 52%) dan *Nitrosospira* (21 - 46%). Kemelimpahan *Nitrosomonas* tertinggi (52%) ditemukan di stasiun Palembang saat air surut dan *Nitrosospira* tertinggi (46%) ditemukan di stasiun Gandus saat air surut. Namun pada stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat ada perubahan komposisi kemelimpahan dengan stasiun lainya karena ditemukan *Nitrosococcus* (kelas γ-Proteobacteria) mencapai 34% di stasiun Sungsang saat air surut. Kemelimpahan *Nitrosococcus* dari kelas β-Proteobacteria juga ditemukan di stasiun Gandus saat pasang (7%), saat surut (14%), dan stasiun Upang saat surut (15%). Kemelimpahan *uncultured AOB* tertinggi ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang sebesar 22%.

Beberapa temuan utama yang teridentifikasi pada Gambar 4.16 meliputi: (1) Dominasi genus Nitrosospira yang konsisten di semua lokasi dengan proporsi mencapai 40-60% pada kondisi pasang, menandai peran utamanya dalam proses nitrifikasi; (2) Peningkatan signifikan kelompok termodifikasi (*uncultured Nitrosospira* dan *uncultured Nitrosomonas*) pada kondisi surut di stasiun Palembang dan Tg Carat (20-35%), mengindikasikan respons adaptif terhadap perubahan lingkungan; (3) Variasi spasial mencolok dengan stasiun Upang menunjukkan komposisi paling seimbang antar genus, sementara Smagsang didominasi oleh *Nitrosomonas* (hingga 70%) pada kondisi surut; (4) Keberadaan *uncultured AOB* (non-klasik) yang terdeteksi di semua lokasi (5-15%), terutama pada kondisi surut, menyoroti keragaman komunitas AOB yang belum terkarakterisasi dengan baik; serta (5) Pola berbeda antar genus, dimana *Nitrosococcus* menunjukkan distribusi terbatas (<10%) dan hanya dominan di stasiun tertentu. Temuan ini mengungkapkan kompleksitas komunitas AOB yang dipengaruhi oleh interaksi faktor lokal dan kondisi lingkungan, sekaligus menekankan pentingnya pendekatan spesifik-lokasi dalam pengelolaan ekosistem perairan.

Indeks Diversitas

Indeks diversitas AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A disajikan pada Gambar 4.17. Kekayaan jenis di air pada musim hujan menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 10 - 15 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 11 - 17 ukuran TRF saat air surut, kekayaan jenis yang tinggi sebesar 17 ukuran TRF ditemukan di stasiun Gandus saat air surut. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 1,46 - 2,30 dan saat air surut berkisar 1,44 - 2,10, indeks Shannon-Wiener yang tinggi sebesar 2,30 ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,60 - 0,88.



Gambar 4.17. Indeks diversitas AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

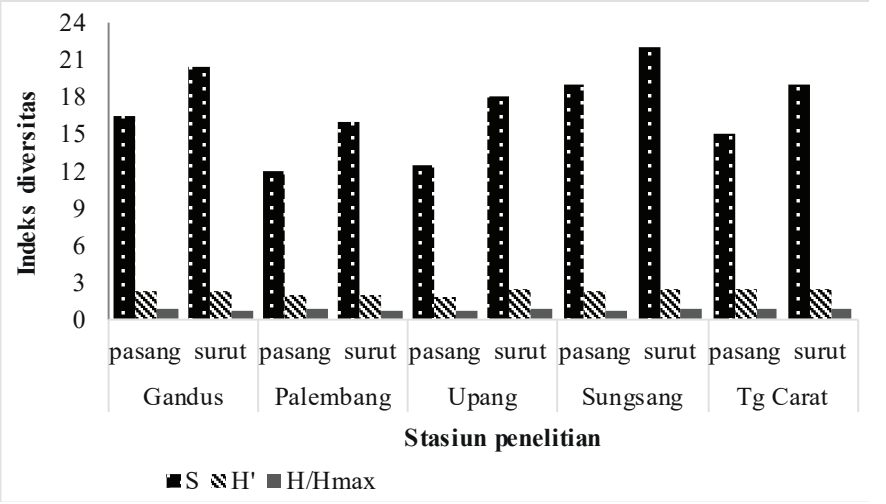
Berdasarkan grafik indeks diversitas pada Gambar 4.17 terlihat bahwa nilai indeks keanekaragaman (*H'*) tertinggi secara umum cenderung terjadi pada saat kondisi surut, terutama di stasiun Gandus dan Sungsang. Nilai *S* di stasiun Gandus saat surut mencapai nilai tertinggi dibandingkan seluruh kondisi lainnya, menunjukkan tingkat keanekaragaman mikroba atau organisme yang lebih tinggi saat surut di lokasi tersebut. Sebaliknya, stasiun Palembang menunjukkan nilai indeks *S* paling rendah dibandingkan stasiun lainnya, baik saat pasang maupun surut, yang mengindikasikan kemungkinan tekanan lingkungan yang lebih tinggi atau kondisi habitat yang kurang mendukung keanekaragaman.

Selain itu, nilai rasio *H'/Hmax* di semua stasiun dan kondisi relatif konstan dan rendah, menandakan bahwa meskipun keanekaragaman total bisa tinggi, distribusi spesies masih belum merata atau terdapat dominansi spesies tertentu di masing-masing stasiun. Hal ini penting untuk dicermati dalam interpretasi ekologi, karena keanekaragaman yang tinggi belum tentu menunjukkan ekosistem yang stabil apabila dominansi spesies terlalu besar.

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan adanya variasi spasial dan temporal terhadap keanekaragaman organisme di wilayah estuari yang diamati, dengan pengaruh signifikan dari dinamika pasang surut serta karakteristik lokal masing-masing stasiun.

Indeks diversitas AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A disajikan pada Gambar 4.18. Kekayaan jenis di air pada musim kemarau menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 12 - 19 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 16 - 22 ukuran TRF saat air surut, kekayaan jenis yang tinggi sebesar 22 ukuran TRF ditemukan di stasiun Sungsang saat air surut. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 1,80 -

2,51 dan saat air surut berkisar 2,04 - 2,48, indeks Shannon-Wiener yang tinggi sebesar 2,51 ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,71 - 0,93.



Gambar 4.18. Indeks diversitas AOB di air saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H′ : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Berdasarkan grafik indeks diversitas yang ditampilkan, terlihat bahwa indeks keanekaragaman (*H'*) mengalami variasi antara kondisi pasang dan surut. Secara umum, nilai indeks *S'* cenderung lebih tinggi saat kondisi surut di seluruh stasiun, menunjukkan bahwa fase surut memberikan kondisi lingkungan yang lebih mendukung bagi keanekaragaman organisme.

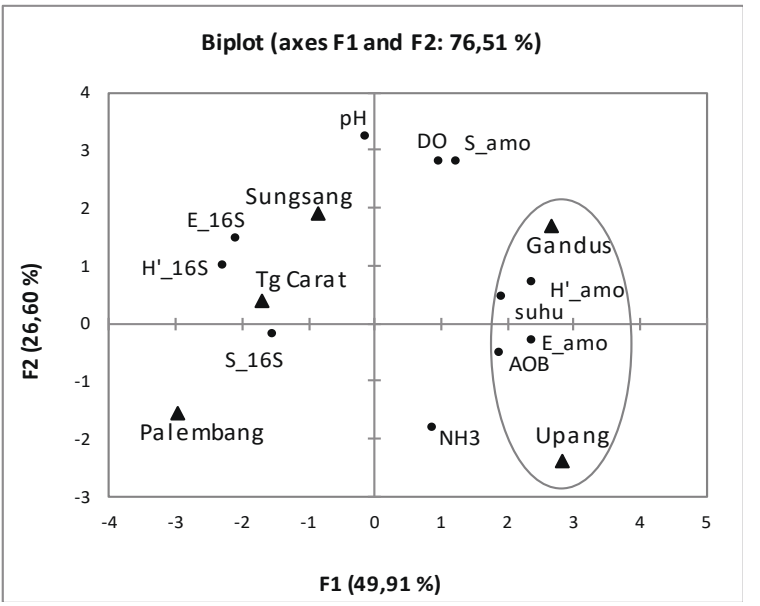
Stasiun Sungsang menunjukkan nilai indeks *S* tertinggi, baik saat pasang maupun surut, dengan puncaknya terjadi saat surut. Hal ini mengindikasikan bahwa Sungsang memiliki keanekaragaman organisme yang paling tinggi di antara semua lokasi, yang kemungkinan besar disebabkan oleh kondisi ekologi yang lebih stabil atau lebih kaya sumber daya. Sebaliknya, stasiun Palembang menunjukkan nilai indeks yang paling rendah secara umum, terutama saat pasang, mengisyaratkan bahwa kondisi lingkungan di lokasi ini mungkin kurang mendukung keberagaman organisme.

Sementara itu, nilai rasio *H'/Hmax* yang ditunjukkan oleh batang abu-abu tampak relatif rendah dan seragam di seluruh stasiun dan kondisi pasang surut. Ini mengindikasikan bahwa meskipun jumlah spesies mungkin tinggi, distribusi kelimpahannya tidak merata atau terdapat dominansi spesies tertentu dalam komunitas.

Secara keseluruhan, hasil ini menggambarkan adanya pengaruh nyata dari kondisi pasang surut terhadap keanekaragaman organisme di masing-masing stasiun. Keanekaragaman tertinggi yang konsisten pada kondisi surut menunjukkan bahwa faktor-faktor lingkungan seperti paparan substrat, ketersediaan nutrien, dan salinitas kemungkinan memainkan peran penting dalam menentukan struktur komunitas mikroorganisme atau biota lain di wilayah estuari yang diamati.

Hubungan antara Parameter Fisika-Kimia Perairan dengan Komunitas AOB di Air

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air pasang pada musim hujan di stasiun disajikan pada Gambar 4.19.

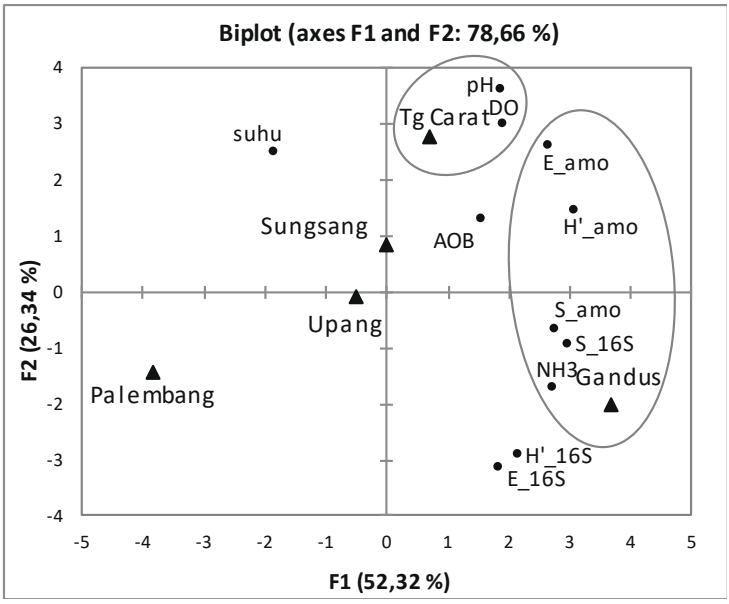


Gambar 4.19. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air pasang pada musim hujan di stasiun

Gambar 4.19 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun dengan nilai akar kumulatif sebesar 76,51% yang di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 49,91% dan sumbu F2 sebesar 26,60%. Terbentuk satu kelompok pada sumbu positif yang mengindikasikan stasiun Gandus dan stasiun Upang. Pada stasiun Gandus dicirikan oleh suhu (29,57^{o}C), kepadatan AOB (9,4×10^{2} sel/mL), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,3) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,86). Keanekaragaman berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (39%), *Nitrosomonas* (32%), *uncultured Nitrosospira* (13%), *uncultured Nitrosomonas* (8%) dan *uncultured AOB* (7%). Pada stasiun Upang dicirikan oleh suhu (29,53^{o}C), kepadatan AOB (9,4×10^{2} sel/mL), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,16) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,88). Keanekaragaman berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (47%), *Nitrosomonas* (33%), *uncultured AOB*

(17%) dan *uncultured Nitrosospira* (3%).

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air surut pada musim hujan di stasiun disajikan pada Gambar 4.20.



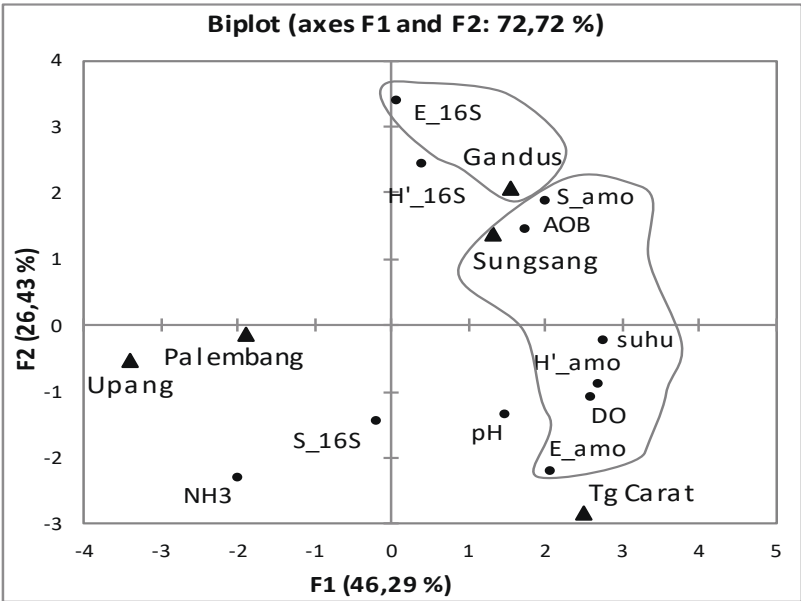
Gambar 4.20. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air surut pada musim hujan di stasiun

Gambar 4.20 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun dengan nilai akar kumulatif sebesar 78,66% yang di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 53,32% dan sumbu F2 sebesar 26,34%. Terbentuk dua kelompok pada sumbu positif. Kelompok pertama mengindikasikan stasiun Gandus dicirikan oleh konsentrasi amonia (0,42 mg/L), kekayaan jenis berdasarkan gen 16S rRNA (10 ukuran TRF) dan berdasarkan gen *amo*A (17 ukuran TRF), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,1) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,75). Kepadatan AOB di stasiun Gandus sebesar $8{,}4 \times 10^2$ sel/mL. Keanekaragaman di stasiun Gandus berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas*

(57%), *Nitrosospira* (17%), *uncultured AOB* (14%), *uncultured Nitrosospira* (7%), *uncultured Nitrosomonas* (4%) dan *Nitrosococcus* (1%).

Kelompok kedua mengindikasikan stasiun Tg Carat dicirikan oleh pH (7,84) dan oksigen terlarut (7,86 mg/L). Kepadatan AOB sebesar $9{,}4\times10^2$ sel/mL. Indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (0,72) dan berdasarkan gen *amo*A (2,01). Keanekaragaman di stasiun Tg Carat berdasarkan gen 16S rRNA tergolong rendah dan didominasi oleh bakteri *Nitrosomonas* (61%), *Nitrosospira* (33%) dan *Nitrosococcus* (3%). Sedangkan keanekaragaman di stasiun Tg Carat berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (52%), *Nitrosospira* (21%), *Nitrosococcus* (10%), *uncultured AOB* (10%) dan *uncultured Nitrosospira* (7%).

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air pasang pada musim kemarau di stasiun disajikan pada Gambar 4.21.

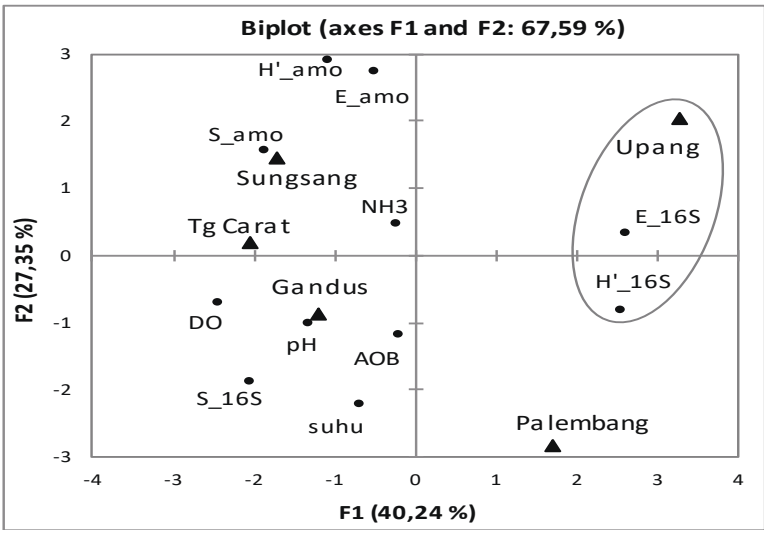


Gambar 4.21. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air pasang pada musim kemarau di stasiun

Gambar 4.21 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun dengan nilai akar kumulatif sebesar 72,72% yang di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 46,29% dan sumbu F2 sebesar 26,43%. Terbentuk dua kelompok pada sumbu positif. Kelompok pertama mengindikasikan stasiun Sungsang dicirikan oleh suhu (31,2^{o}C), oksigen terlarut (6,51 mg/L), kepadatan AOB (1,1×10^{3} sel/mL), kekayaan jenis berdasarkan gen *amo*A (19 ukuran TRF), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,24) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,76). Keanekaragaman di stasiun Sungsang berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (40%), *Nitrosococcus* (30%), *Nitrosomonas* (19%), *uncultured Nitrosomonas* (6%), *uncultured Nitrosospira* (4%) dan *uncultured AOB* (1%).

Kelompok kedua mengindikasikan stasiun Gandus dicirikan oleh frekuensi distribusi berdasarkan gen 16S rRNA (0,62). Kepadatan AOB sebesar 1,1×10^{3} sel/mL. Indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,29) dan berdasarkan gen *amo*A (2,23). Keanekaragaman di stasiun Gandus berdasarkan gen 16S rRNA tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (61%), *Nitrosomonas* (33%), *uncultured AOB* (3%) dan *uncultured Nitrosomonas* (3%). Sedangkan keanekaragaman di stasiun Gandus berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (40%), *Nitrosospira* (30%), *uncultured AOB* (22%), *Nitrosococcus* (7%), *uncultured Nitrosospira* (1%) dan *uncultured Nitrosomonas* (1%).

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air surut pada musim kemarau di stasiun an disajikan pada Gambar 4.22.



Gambar 4.22. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di air saat air surut pada musim kemarau di stasiun an

Gambar 4.22 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun an dengan nilai akar kumulatif sebesar 67,59% yang di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 40,24% dan sumbu F2 sebesar 27,35%. Terbentuk satu kelompok pada sumbu positif. Kelompok tersebut mengindikasikan stasiun Upang dicirikan oleh indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,17) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen 16S rRNA (0,68). Namun kepadatan AOB terendah dari stasiun lainnya ($4,9\times10^2$ sel/mL). Indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A sebesar 2,39. Keanekaragaman di stasiun Upang berdasarkan gen 16S rRNA tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (75%), *Nitrosomonas* (23%) dan *uncultured Nitrosomonas* (1%). Sedangkan keanekaragaman di stasiun Gandus berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahnnya terdiri dari *Nitrosomonas* (37%), *Nitrosospira* (30%), *Nitrosococcus* (15%), *uncultured Nitrosomonas* (12%), *uncultured AOB* (6%) dan *uncultured Nitrosospira* (1%).

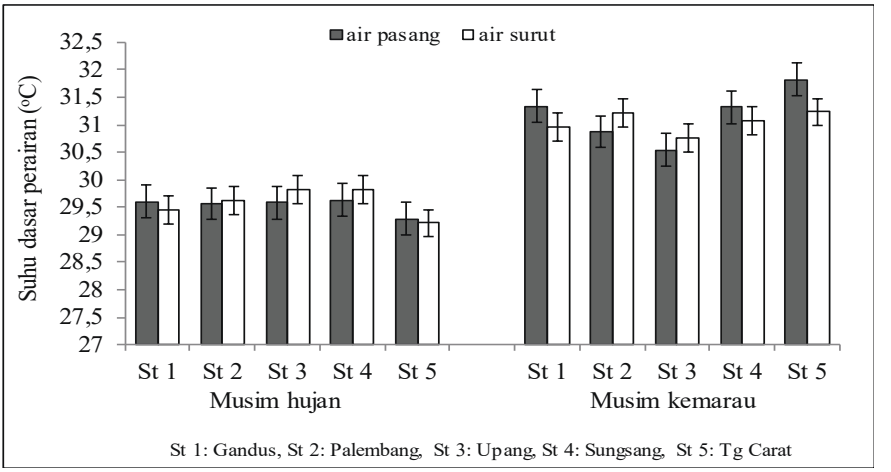
BAB V

KOMUNITAS *AMMONIA-OXIDIZING BACTERIA* DI SEDIMEN

1. Parameter Fisika dan Kimia di Dasar Perairan

Suhu

Suhu dasar perairan pada musim kemarau berkisar 30,54 - 31,82°C nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan berkisar 29,21 - 29,82°C (Gambar 5.1). Suhu dasar perairan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim kemarau dan terendah ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut pada musim hujan.



Gambar 5.1. Suhu dasar perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

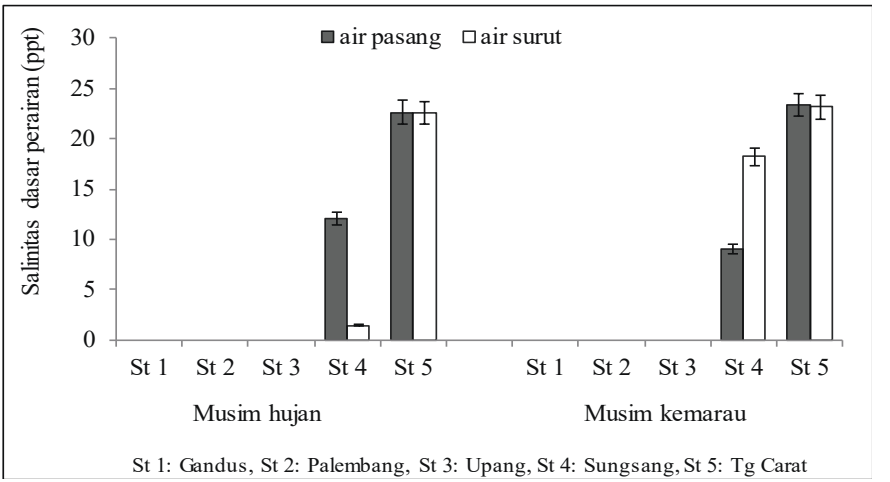
Suhu dasar perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar 29,29 - 29,63°C terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (29,29°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang (29,63°C), sedangkan saat air surut berkisar 29,21 - 29,82°C terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (29,21°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (29,82°C). Suhu dasar perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar 30,54 - 31,82°C terendah ditemukan di stasiun Upang (30,54°C) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (31,82°C), sedangkan saat air surut berkisar 30,76 - 31,23°C terendah ditemukan di stasiun Upang dan

tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat.

Beberapa temuan utama yang dapat diidentifikasi pada Gambar 5.1 meliputi: (1) Variasi kondisi yang jelas antara air pasang dan air surut terlihat di semua stasiun, mengindikasikan perbedaan karakteristik lingkungan antara kedua kondisi tersebut; (2) Pola berulang dalam urutan stasiun (St 1 hingga St 5) yang konsisten untuk kedua kondisi, memungkinkan analisis komparatif antar lokasi; (3) Keunikan setiap stasiun dengan penamaan spesifik (Gandus, Palembang, Upang, Sungsang, Tg Carat) menunjukkan karakteristik geografis atau lingkungan yang berbeda di masing-masing lokasi; serta (4) Keterkaitan dengan musim hujan yang disebutkan sebagai faktor tambahan, mungkin merujuk pada pola musiman atau kondisi lingkungan tertentu yang mempengaruhi hasil pengamatan. Temuan ini menyoroti pentingnya pemahaman mendalam tentang variasi kondisi perairan dan faktor-faktor yang mempengaruhinya dalam penelitian ekosistem akuatik. Untuk interpretasi lebih lanjut, diperlukan data pendukung tentang parameter spesifik yang diukur pada masing-masing kondisi dan stasiun.

Salinitas

Salinitas dasar perairan pada musim kemarau berkisar antara 0 - 23,38 ppt nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan berkisar antara 0 - 22,64 ppt (Gambar 5.2). Salinitas dasar perairan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim kemarau, sedangkan terendah ditemukan di stasiun sungai (stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang) saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau.



Gambar 5.2. Salinitas dasar perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

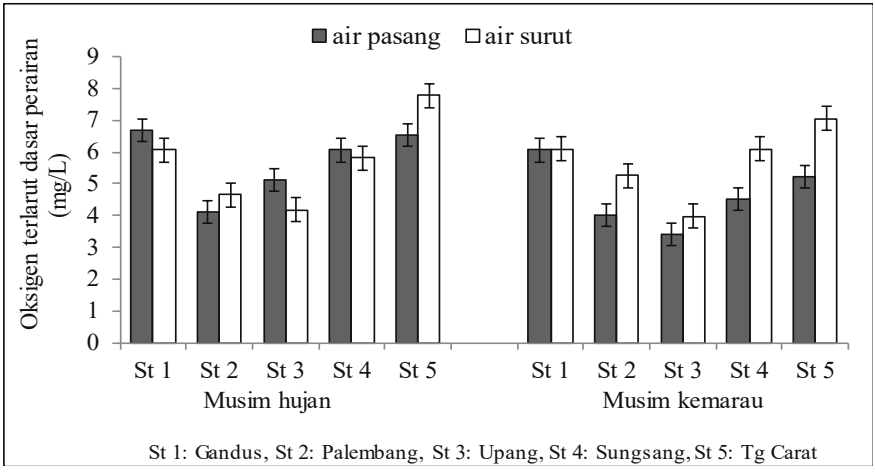
Salinitas dasar perairan pada musim hujan tinggi saat air pasang, salinitas saat air pasang berkisar 0 - 22,64 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (22,64 ppt), sedangkan saat air surut berkisar antara 0 - 22,53 ppt dengan suhu terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (22,53 ppt). Salinitas dasar perairan pada musim kemarau nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara 0 - 23,38 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (23,38 ppt), sedangkan saat air surut berkisar antara 0 - 23,16 ppt terendah ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang (0 ppt) serta tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (23,16 ppt).

Berdasarkan gambar tersebut, ditemukan bahwa salinitas dasar perairan (ppt) pada kondisi air pasang dan air surut mengalami variasi yang signifikan antara musim hujan dan musim kemarau di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, salinitas di stasiun St 4 (Sungsang) dan St 5 (Tg Carat) menunjukkan nilai tertinggi, masing-masing mencapai sekitar 23 ppt untuk air pasang dan air

surut, sedangkan stasiun lainnya menunjukkan salinitas yang sangat rendah atau hampir nol. Sebaliknya, pada musim kemarau, salinitas di kedua stasiun tersebut tetap tinggi, dengan nilai salinitas air surut di St 4 mencapai sekitar 18 ppt dan di St 5 mencapai sekitar 24 ppt, menunjukkan peningkatan yang lebih signifikan pada kondisi air surut dibandingkan musim hujan. Hal ini menunjukkan bahwa musim kemarau menyebabkan peningkatan konsentrasi garam di perairan, terutama pada area St 4 dan St 5, yang kemungkinan dipengaruhi oleh penguapan air yang lebih tinggi dan aliran air tawar yang lebih rendah. Temuan ini relevan untuk memahami dinamika salinitas yang berdampak pada ekosistem perairan di daerah tersebut.

Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut dasar perairan pada musim hujan berkisar antara 4,12 - 7,77 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar antara 3,42 - 7,06 mg/L (Gambar 5.3). Oksigen terlarut dasar perairan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut pada musim hujan dan nilai terendah ditemukan di stasiun Upang saat air pasang pada musim kemarau.



Gambar 5.3. Oksigen terlarut dasar perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

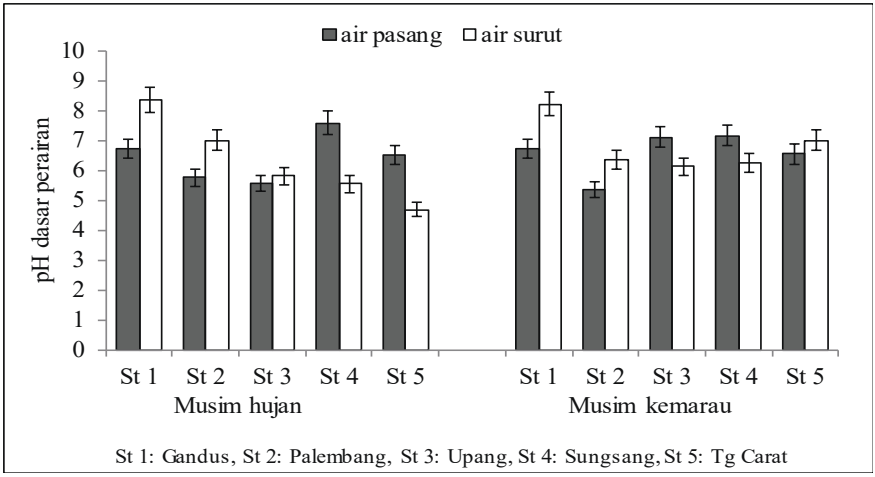
Oksigen terlarut dasar perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar 4,12 - 6,67 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (4,12 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (6,67 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 4,18 - 7,77 mg/L terendah ditemukan di stasiun Upang (4,18 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,77 mg/L). Oksigen terlarut dasar perairan musim kemarau nilainya cenderung tinggi saat air surut, saat air pasang pada berkisar 3,42 - 6,06 mg/L terendah ditemukan di stasiun Upang (3,42 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (6,06 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 3,97 - 7,06 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (3,97 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (7,06 mg/L).

Berdasarkan gambar tersebut, temuan menunjukkan bahwa konsentrasi oksigen terlarut dasar perairan (mg/L) bervariasi antara kondisi air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, oksigen terlarut cenderung lebih tinggi pada kondisi air pasang dibanding air surut di sebagian besar stasiun, dengan nilai tertinggi di St 5 (Tg Carat) yang mencapai sekitar 7,5 mg/L pada air surut. Sedangkan pada musim kemarau, oksigen terlarut pada air surut umumnya lebih tinggi dibanding air pasang, terutama di St 5 dan St 1, di mana konsentrasi oksigen terlarut air surut mencapai sekitar 7 mg/L dan 5,5 mg/L secara berurutan. Stasiun lain seperti St 2 dan St 3 menunjukkan nilai oksigen terlarut yang relatif lebih rendah pada musim kemarau. Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh musiman dan pasang surut terhadap kadar oksigen terlarut di perairan, yang penting untuk kesehatan ekosistem akuatik dan keseimbangan biologis di area tersebut.

pH

pH dasar perairan pada musim hujan berkisar 4,69 - 8,34 nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar 5,35 - 8,22 (Gambar 5.4). pH dasar perairan pada musim hujan nilainya

fluktuatif, saat air pasang berkisar 5,55 - 7,59 terendah ditemukan di stasiun Upang (5,55) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang (7,59), sedangkan saat air surut berkisar 4,69 - 8,34 terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (4,69) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (8,34). pH dasar perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar 5,35 - 7,16 terendah ditemukan di stasiun Palembang (5,35) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang (7,16), sedangkan saat air surut berkisar 6,12 - 8,22 terendah ditemukan di stasiun Upang (6,12) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (8,22).



Gambar 5.4. pH dasar perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

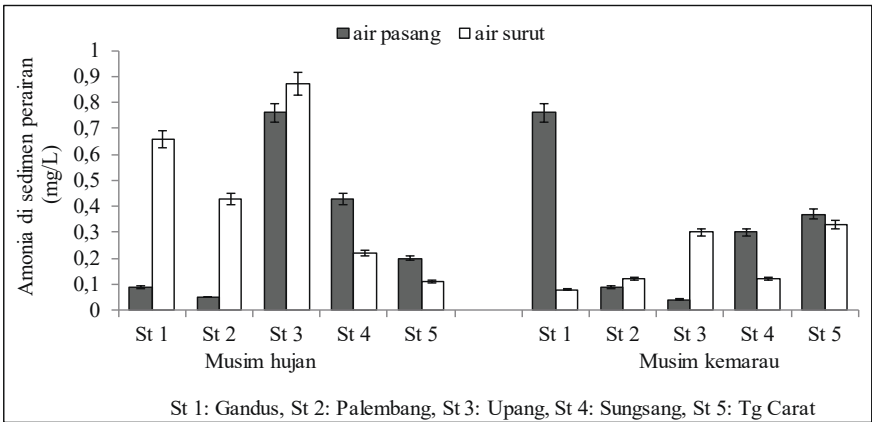
Berdasarkan gambar tersebut, ditemukan bahwa pH dasar perairan di lima stasiun pengamatan menunjukkan variasi yang berbeda antara musim hujan dan musim kemarau serta antara kondisi air pasang dan air surut. Pada musim hujan, nilai pH pada umumnya lebih tinggi pada kondisi air surut dibandingkan air pasang, terutama terlihat di St 1 (Gandus) dan St 4 (Sungsang) dengan pH mencapai sekitar 8 dan 7,5. Sebaliknya, di St 5 (Tg Carat) pH air pasang lebih tinggi dibandingkan air surut. Pada musim kemarau, nilai pH cenderung lebih stabil dengan sedikit perbedaan

antara air pasang dan air surut, namun secara umum pH berkisar antara 6,5 hingga 7,5 di semua stasiun. Temuan ini menunjukkan bahwa kondisi pasang surut dan perubahan musim berpengaruh terhadap tingkat keasaman (pH) perairan dasar, yang penting untuk menjaga keseimbangan kimia dan kesehatan ekosistem perairan di daerah pengamatan.

Amonia

Secara umum konsentrasi amonia di sedimen perairan berkisar 0,04 - 0,87 mg/L (Gambar 5.5). Konsentrasi amonia di sedimen perairan pada musim hujan berkisar 0,04 - 0,87 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau berkisar 0,08 - 0,76 mg/L. Konsentrasi amonia di dasar perairan tertinggi di stasiun Upang saat air surut pada musim kemarau dan terendah di stasiun Upang saat pasang pada musim kemarau.

Konsentrasi amonia di sedimen perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar 0,05 - 0,76 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (0,05 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,76 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,11 - 0,87 mg/L terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (0,11 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (0,87 mg/L). Konsentrasi amonia di sedimen perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar 0,04 - 0,76 mg/L terendah ditemukan di stasiun Upang (0,04 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (0,76 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,08 - 0,33 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,08 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (0,33 mg/L).



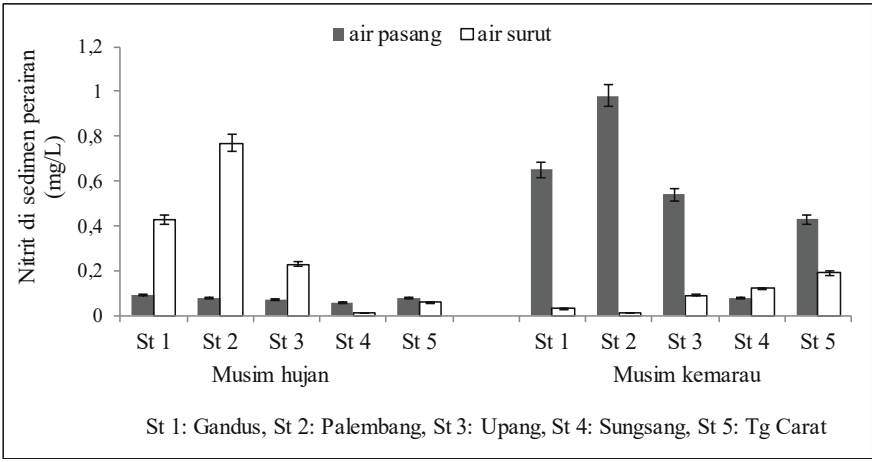
Gambar 5.5. Amonia di sedimen perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Berdasarkan gambar tersebut, temuan menunjukkan bahwa konsentrasi amonia di sedimen perairan (mg/L) bervariasi secara signifikan antara musim hujan dan musim kemarau serta antara kondisi air pasang dan air surut di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, konsentrasi amonia tertinggi terjadi di St 3 (Upang) dan St 1 (Gandus) dengan nilai amonia air surut mencapai sekitar 0,9 mg/L dan amonia air pasang sekitar 0,75 mg/L, sedangkan stasiun lainnya memiliki nilai yang lebih rendah atau bahkan mendekati nol seperti di St 5 (Tg Carat). Sebaliknya, pada musim kemarau, konsentrasi amonia di semua stasiun cenderung lebih rendah dan lebih merata dengan nilai berkisar antara 0,1 hingga 0,35 mg/L pada air pasang dan air surut. Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh musiman dan kondisi pasang surut terhadap kadar amonia di sedimen, yang berpotensi berdampak pada kualitas lingkungan dan kesehatan ekosistem perairan di wilayah pengamatan.

Nitrit

Secara umum konsentrasi nitrit di sedimen perairan berkisar 0,01 - 0,88 mg/L (Gambar 5.6). Konsentrasi nitrit di sedimen perairan pada musim kemarau berkisar 0,01 - 0,98 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan pada musim hujan berkisar 0,01 - 0,77 mg/L.

Konsentrasi nitrit di sedimen perairan pada musim hujan nilainya cenderung tinggi saat air surut, saat air pasang berkisar 0,06 - 0,09 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,06 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (0,09 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,01 - 0,77 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,01 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (0,77 mg/L). Konsentrasi nitrit di sedimen perairan pada musim kemarau nilainya tinggi saat air pasang, saat air pasang berkisar 0,08 - 0,98 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,08 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (0,98 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,01 - 0,19 mg/L terendah ditemukan di stasiun Palembang (0,01 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat (0,19 mg/L).



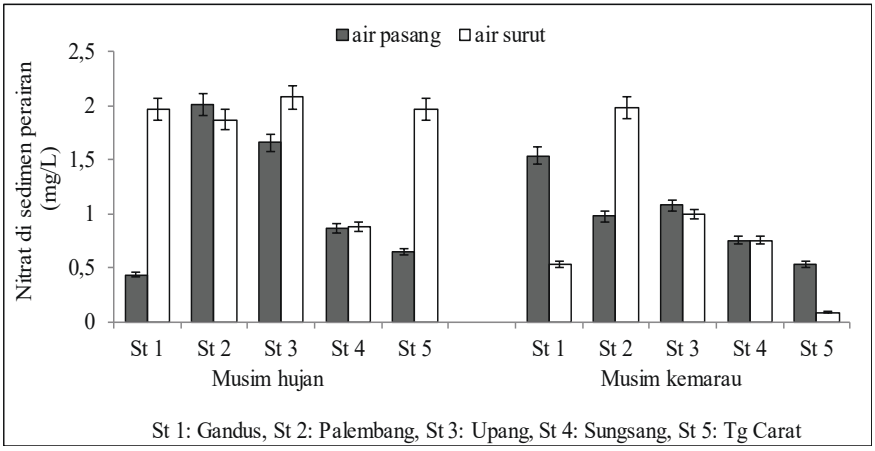
Gambar 5.6. Nitrit di sedimen perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Berdasarkan gambar tersebut, ditemukan bahwa konsentrasi nitrit di sedimen perairan (mg/L) menunjukkan perbedaan yang signifikan antara musim hujan dan musim kemarau serta kondisi air pasang dan air surut di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, nitrit air surut lebih tinggi dibandingkan air pasang, terutama terlihat di St 1 (Gandus) dan St 2 (Palembang) dengan nilai nitrit mencapai sekitar 0,8 mg/L dan 0,4 mg/L. Sebaliknya, pada musim

kemarau, konsentrasi nitrit air pasang meningkat tajam di St 1 dan St 2 dengan nilai mencapai hampir 1 mg/L dan 0,6 mg/L, sementara nitrit air surut cenderung rendah di semua stasiun. Stasiun lainnya menunjukkan nilai nitrit yang relatif rendah dan stabil sepanjang musim. Temuan ini menunjukkan adanya pengaruh yang kuat dari musim dan kondisi pasang surut terhadap kadar nitrit di sedimen, yang berpotensi mempengaruhi proses biogeokimia dan kualitas ekosistem perairan di daerah tersebut.

Nitrat

Secara umum konsentrasi nitrat di sedimen perairan berkisar 0,02 - 2,09 mg/L (Gambar 5.7). Konsentrasi nitrat di sedimen perairan pada musim hujan berkisar 0,44 - 2,08 mg/L nilainya lebih tinggi dibandingkan pada musim kemarau berkisar 0,09 - 1,98 mg/L.



Gambar 5.7. Nitrat di sedimen perairan saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Konsentrasi nitrat di sedimen perairan pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar 0,44 - 2,01 mg/L terendah ditemukan di stasiun Gandus (0,44 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (2,01 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,88 - 2,08 mg/L terendah ditemukan di stasiun Sungsang (0,88 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Upang (2,08 mg/L).

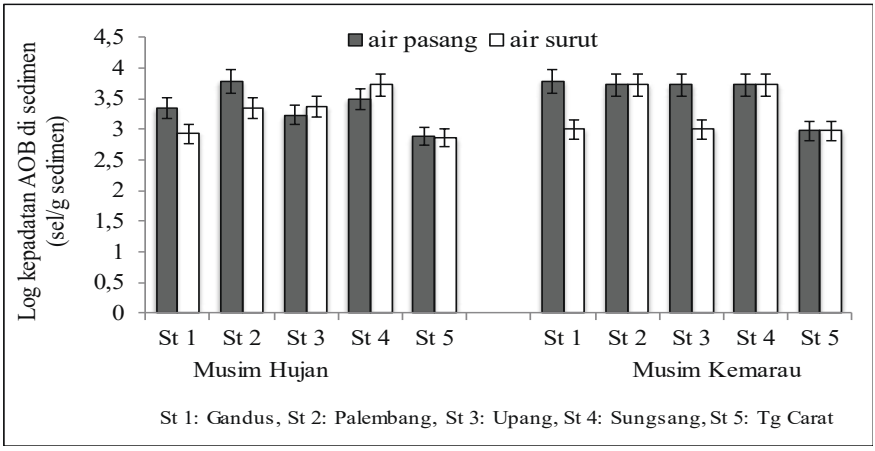
Konsentrasi nitrat di sedimen perairan pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar 0,54 - 1,54 mg/L terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (0,54 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus (1,54 mg/L), sedangkan saat air surut berkisar 0,09 - 1,98 mg/L terendah ditemukan di stasiun Tg Carat (0,09 mg/L) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang (1,98 mg/L).

Berdasarkan gambar tersebut, temuan menunjukkan variasi konsentrasi nitrat di sedimen perairan (mg/L) yang berbeda antara musim hujan dan musim kemarau serta kondisi air pasang dan air surut di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, nitrat pada air surut cenderung lebih tinggi dibandingkan air pasang, khususnya di St 1 (Gandus) dan St 5 (Tg Carat) dengan nilai mencapai sekitar 2 mg/L. Stasiun lain seperti St 2 (Palembang) dan St 3 (Upang) menunjukkan nilai nitrat yang relatif seimbang antara air pasang dan air surut. Pada musim kemarau, nitrat air pasang menunjukkan peningkatan yang cukup signifikan di St 1 dan St 2, sementara nitrat air surut cenderung menurun di sebagian besar stasiun. Secara umum, nitrat di sedimen pada musim hujan lebih dominan di kondisi air surut, sedangkan pada musim kemarau lebih dominan pada kondisi air pasang. Temuan ini mengindikasikan adanya pengaruh musiman dan dinamika pasang surut terhadap distribusi nitrat di sedimen, yang berperan penting dalam siklus nutrien dan kualitas ekosistem perairan.

Kepadatan *Ammonia-Oxidizing Bacteria* di Sedimen

Secara umum kepadatan AOB di sedimen pada musim hujan dan musim kemarau berkisar antara $7{,}2\times10^2$ - $6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen (Gambar 5.8). Kepadatan AOB di sedimen ditemukan di musim kemarau berkisar antara $9{,}4\times10^2$ - $6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen nilainya cenderung lebih tinggi dibandingkan di musim hujan berkisar antara $7{,}2\times10^2$ - $6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen. Kepadatan AOB di sedimen tertinggi ditemukan di stasiun Palembang saat air pasang pada musim hujan dan stasiun Gandus saat air pasang pada musim

kemarau sedangkan terendah ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut pada musim hujan.



Gambar 5.8. Log kepadatan AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan dan musim kemarau di Sungai Musi

Kepadatan AOB di sedimen pada musim hujan nilainya fluktuatif, saat air pasang berkisar antara $7{,}8\times10^2$ - $6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen terendah ditemukan di stasiun Tg Carat ($7{,}8\times10^2$ sel/g sedimen) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang ($6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen), sedangkan saat air surut berkisar antara $7{,}2\times10^2$ - $5{,}3\times10^3$ sel/g sedimen terendah ditemukan di stasiun Tg Carat ($7{,}2\times10^2$ sel/g sedimen) dan tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang ($5{,}3\times10^3$ sel/g sedimen). Kepadatan AOB di sedimen pada musim kemarau nilainya juga fluktuatif, saat air pasang berkisar antara $9{,}4\times10^2$ - $6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen terendah ditemukan di stasiun Tg Carat ($9{,}4\times10^2$ sel/g sedimen) dan tertinggi ditemukan di stasiun Gandus ($6{,}1\times10^3$ sel/g sedimen), sedangkan saat air surut berkisar antara $9{,}4\times10^2$ - $5{,}3\times10^3$ sel/g sedimen terendah ditemukan di stasiun Tg Carat ($9{,}4\times10^2$ sel/g sedimen) dan tertinggi ditemukan di stasiun Palembang dan stasiun Sungsang ($5{,}3\times10^3$ sel/g sedimen).

Berdasarkan gambar tersebut, ditemukan bahwa kepadatan AOB di sedimen, yang diukur dalam log sel/g sedimen, menunjukkan pola yang relatif stabil antara kondisi air pasang dan air surut

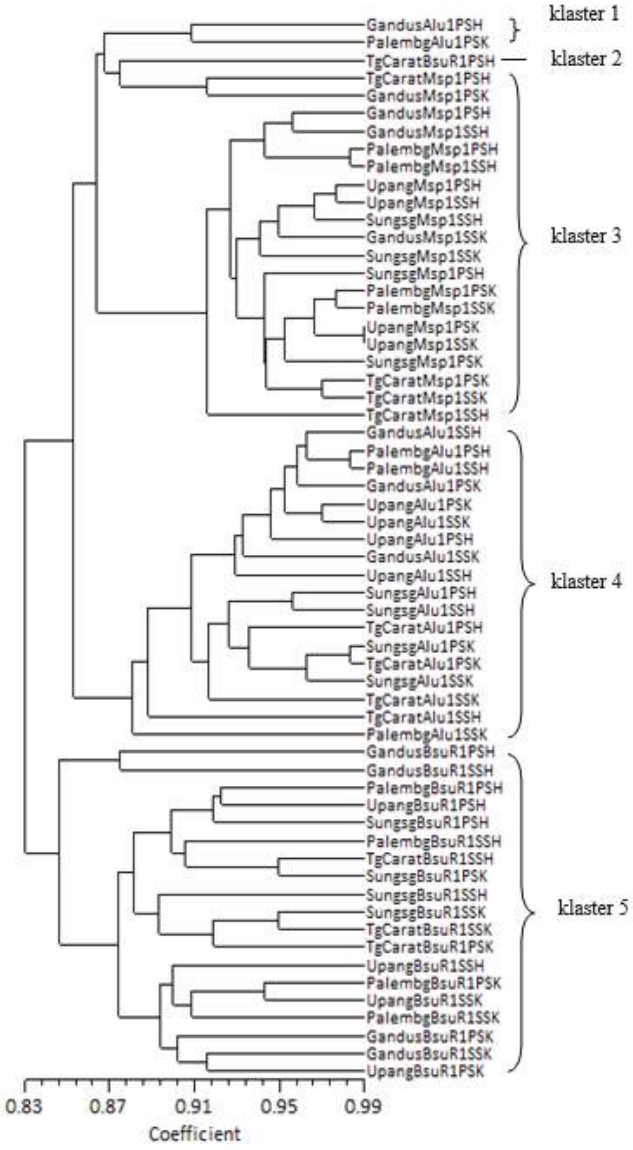
serta antara musim hujan dan musim kemarau di lima stasiun pengamatan. Pada musim hujan, kepadatan AOB cenderung sedikit lebih tinggi pada air pasang dibanding air surut di sebagian besar stasiun, dengan nilai berkisar antara 3 hingga hampir 4 log sel/g sedimen. Pada musim kemarau, perbedaan kepadatan AOB antara air pasang dan air surut lebih kecil dan cenderung merata di semua stasiun, dengan nilai berkisar antara 3 hingga 3,8 log sel/g sedimen. Stasiun 5 (Tg Carat) menunjukkan kepadatan AOB yang paling rendah dibandingkan stasiun lainnya di kedua musim. Temuan ini menunjukkan bahwa kepadatan AOB di sedimen relatif konsisten sepanjang musim dan kondisi pasang surut, menandakan bahwa bakteri pengoksidasi amonia ini memiliki adaptasi yang baik terhadap perubahan lingkungan di wilayah tersebut dan berperan penting dalam siklus nitrogen di ekosistem perairan.

2. Keragaman AOB berdasarkan Gen 16S rRNA di Sedimen

Similaritas

Similaritas bakteri di sedimen berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA dengan enzim restriksi *Alu*I, *BsuR*I dan *Msp*I terbagi menjadi 5 klaster (Gambar 5.9). Adapun klaster tersebut yaitu klaster 1 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Alu*I nilai koefisien similaritasnya 0,91 berjumlah 2 sampel, klaster 2 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *BsuR*I nilai koefisien similaritasnya 0,87 berjumlah 1 sampel, klaster 3 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Msp*I nilai koefisien similaritasnya antara 0,92 - 0,99 berjumlah 20 sampel, klaster 4 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Alu*I nilai koefisien similaritasnya antara 0,88 - 0,98 berjumlah 18 sampel dan klaster 5 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *BsuR*I nilai koefisien similaritasnya 0,85 - 0,95 berjumlah 19 sampel. Klaster 1 merupakan penyimpangan dari klaster 4 hasil pemotongan enzim *Alu*I dan klaster 2 merupakan penyimpangan dari klaster 5

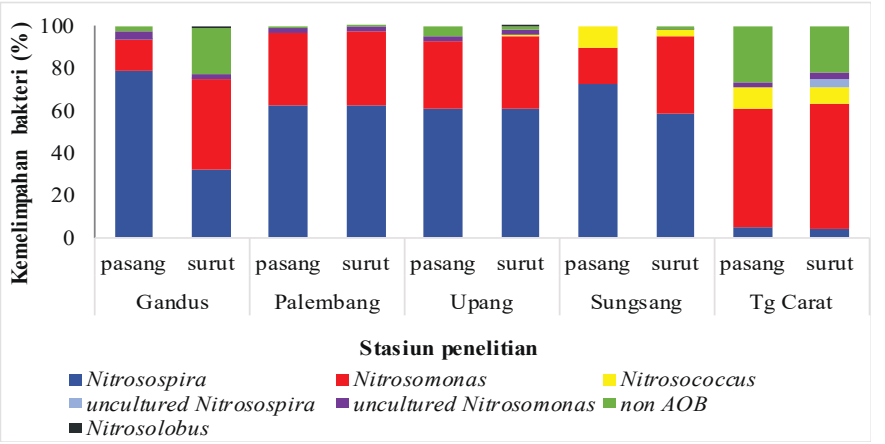
hasil pemotongan enzim *Bsu*RI.



Gambar 5.9. Dendogram bakteri di sedimen berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA dengan enzim restriksi *Alu*I, *Bsu*RI dan *Msp*I di Sungai Musi

Jenis dan Kemelimpahan

Jenis bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA diketahui beberapa jenis bakteri teridentifikasi AOB, yaitu *Nitrosospira, Nitrosomonas, Nitrosococcus, uncultured Nitrosospira, uncultured Nitrosomonas* dan *Nitrosolobus* serta teridentifikasi juga *non AOB* (Gambar 5.10).

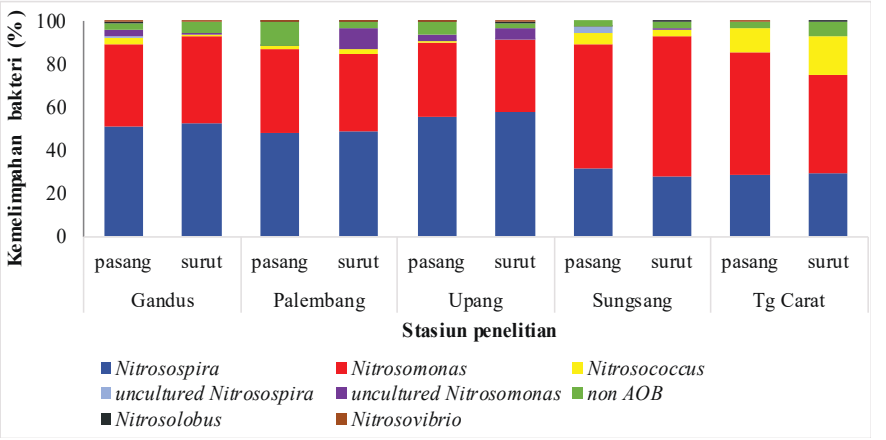


Gambar 5.10. Jenis dan kemelimpahan bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Gambar 5.10 terlihat kemelimpahan AOB nilainya fluktuatif dan didominasi oleh *Nitrosospira* (4 - 79%) dan *Nitrosomonas* (15 -60%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosospira* tertinggi ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang (79%) dan *Nitrosomonas* tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut (60%). Kemelimpahan AOB di stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat ada perubahan komposisi dengan stasiun lainya karena ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* (kelas γ-Proteobacteria) antara 3 - 11%, juga ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* (0,4%) namun dari kelas β-Proteobacteria di stasiun Upang saat air surut. Selain itu, ditemukan kemelimpahan *non AOB* tertinggi di stasiun Tg Carat saat air pasang (27%).

Berdasarkan Gambar 5.10 tersebut, temuan menunjukkan distribusi dan kemelimpahan relatif berbagai kelompok bakteri pengoksidasi amonia (AOB) di lima stasiun penelitian selama kondisi air pasang dan air surut. Bakteri Nitrosospira mendominasi hampir di semua stasiun dan kondisi pasang surut, dengan persentase kemelimpahan mencapai lebih dari 50% pada sebagian besar sampel. Stasiun Gandus dan Sungsang menunjukkan dominasi *Nitrosospira* yang paling tinggi baik pada kondisi pasang maupun surut. Kelompok *Nitrosomonas* juga hadir signifikan, terutama di Palembang dan Upang, dengan persentase kemelimpahan yang relatif besar terutama pada kondisi air surut. Kelompok bakteri *Nitrosococcus* dan *Nitrosolobus* hanya ditemukan dalam jumlah kecil dan tersebar di beberapa stasiun, sedangkan kelompok non AOB (bakteri non pengoksidasi amonia) cukup dominan di stasiun Tg Carat, terutama pada kondisi air surut. Temuan ini menggambarkan bahwa komposisi komunitas bakteri AOB bervariasi antar lokasi dan kondisi pasang surut, yang mencerminkan dinamika ekosistem mikroba yang berperan penting dalam proses nitrifikasi dan siklus nitrogen di lingkungan perairan.

Jenis bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA diketahui beberapa jenis bakteri teridentifikasi AOB, yaitu *Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus, uncultured Nitrosomonas, uncultured Nitrosospira, Nitrosolobus* dan *Nitrosovibrio* serta teridentifikasi juga *non AOB* (Gambar 5.11).



Gambar 5.11. Jenis dan kemelimpahan bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

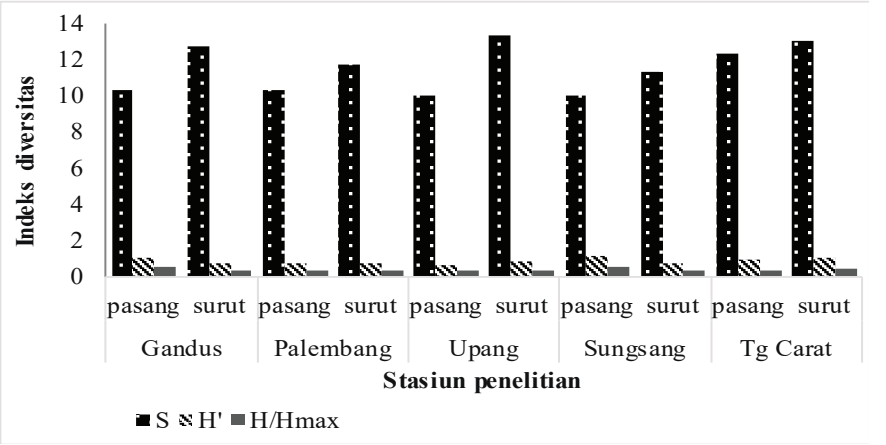
Gambar 5.11 terlihat kemelimpahan AOB dengan nilai fluktuatif. Namun terbentuk pola mulai dari stasiun Gandus sampai stasiun Upang (lokasi sungai) didominasi oleh kemelimpahan *Nitrosospira* (48 - 57%) dan *Nitrosomonas* (34 – 40%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosospira* sebesar 57% ditemukan di stasiun Upang saat air surut dan *Nitrosomonas* sebesar 40% ditemukan di stasiun Gandus saat air surut. Sedangkan mulai dari stasiun Sungsang sampai stasiun Tg Carat (lokasi muara dan laut) didominasi oleh kemelimpahan *Nitrosomonas* (46 - 65%) dan *Nitrosospira* (28 - 31%) dari kelas β-Proteobacteria. Kemelimpahan *Nitrosomonas* sebesar 65% ditemukan di stasiun Sungsang saat air surut dan *Nitrosospira* sebesar 31% ditemukan di stasiun Sungsang saat air pasang. Serta terdapat kemelimpahan *Nitrosococcus* dari kelas β-Proteobacteria (1 - 3%) ditemukan di stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang, serta *Nitrosococcus* dari kelas γ-Proteobacteria (3 - 18%) ditemukan di stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat.

Berdasarkan Gambar 5.11 tersebut, ditemukan bahwa komposisi komunitas bakteri pengoksidasi amonia (AOB) di lima stasiun penelitian menunjukkan variasi yang signifikan antara kondisi air pasang dan air surut. Bakteri *Nitrosospira* tetap menjadi kelompok dominan di sebagian besar stasiun, terutama di Gandus,

Palembang, dan Upang dengan persentase kemelimpahan lebih dari 40%. Namun, *Nitrosomonas* juga menunjukkan kemelimpahan yang cukup tinggi, terutama di Sungsang dan Tg Carat, di mana persentasenya meningkat secara signifikan pada kondisi air surut. Kelompok *Nitrosococcus* mulai muncul lebih dominan di Tg Carat pada kondisi air surut, menunjukkan adaptasi spesifik terhadap lingkungan tersebut. Kelompok non AOB juga hadir dalam jumlah kecil di beberapa stasiun. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa dinamika komunitas bakteri AOB dipengaruhi oleh kondisi pasang surut dan lokasi stasiun, yang berperan penting dalam proses nitrifikasi dan siklus nitrogen di ekosistem perairan tersebut.

Indeks Diversitas

Indeks diversitas bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA disajikan pada Gambar 5.12. Kekayaan jenis di sedimen pada musim hujan menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 10 - 12 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 11 - 13 ukuran TRF saat air surut, kekayaan jenis yang tinggi sebesar 13 ukuran TRF ditemukan di stasiun Gandus saat air surut, di stasiun Upang saat air surut dan di stasiun Tg Carat saat air surut. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 0,68 - 1,10 dan saat air surut berkisar 0,74 - 1,05, nilai tertinggi sebesar 1,10 ditemukan di stasiun Sungsang saat air pasang. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,29 - 0,51.



Gambar 5.12. Indeks diversitas bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

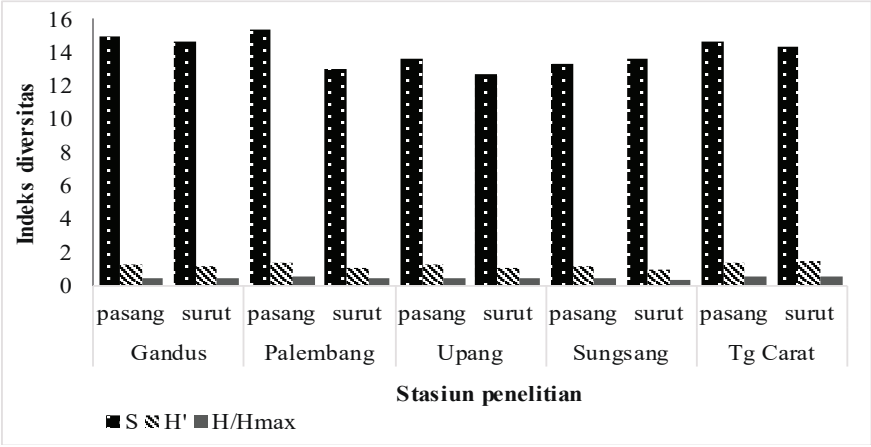
H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Berdasarkan Gambar 5.12 tersebut, temuan menunjukkan bahwa indeks diversitas bakteri di lima stasiun penelitian sangat dipengaruhi oleh kondisi pasang dan surut. Indeks diversitas Shannon-Wiener (S dan H') menunjukkan nilai yang tinggi pada kondisi air pasang di semua stasiun, dengan nilai berkisar sekitar 10 hingga lebih dari 13, sedangkan pada kondisi air surut nilai indeks ini menurun drastis, mendekati angka 1 atau bahkan lebih rendah. Hal serupa juga terlihat pada indeks H/Hmax yang menunjukkan pola menurun signifikan saat air surut. Temuan ini mengindikasikan bahwa keanekaragaman komunitas bakteri lebih tinggi pada kondisi air pasang dibandingkan air surut, yang kemungkinan dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti ketersediaan nutrien dan kondisi fisik perairan. Kondisi air surut tampaknya menyebabkan penurunan

signifikan dalam keanekaragaman bakteri, yang dapat berdampak pada fungsi ekosistem perairan di wilayah pengamatan.

Indeks diversitas bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA disajikan pada Gambar 5.13. Kekayaan jenis di sedimen pada musim kemarau menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 13 - 15 ukuran TRF saat air pasang dan saat air surut, nilai tertinggi sebesar 15 ukuran TRF ditemukan di stasiun Gandus saat air pasang dan air surut, di stasiun Palembang saat air pasang, dan di stasiun Tg Carat saat air pasang. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 1,18 - 1,42 dan saat air surut berkisar 0,96 - 1,47, nilai tertinggi sebesar 1,47 ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,36 - 0,56.



Gambar 5.13. Indeks diversitas bakteri di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen 16S rRNA di Sungai Musi

Keterangan:

S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

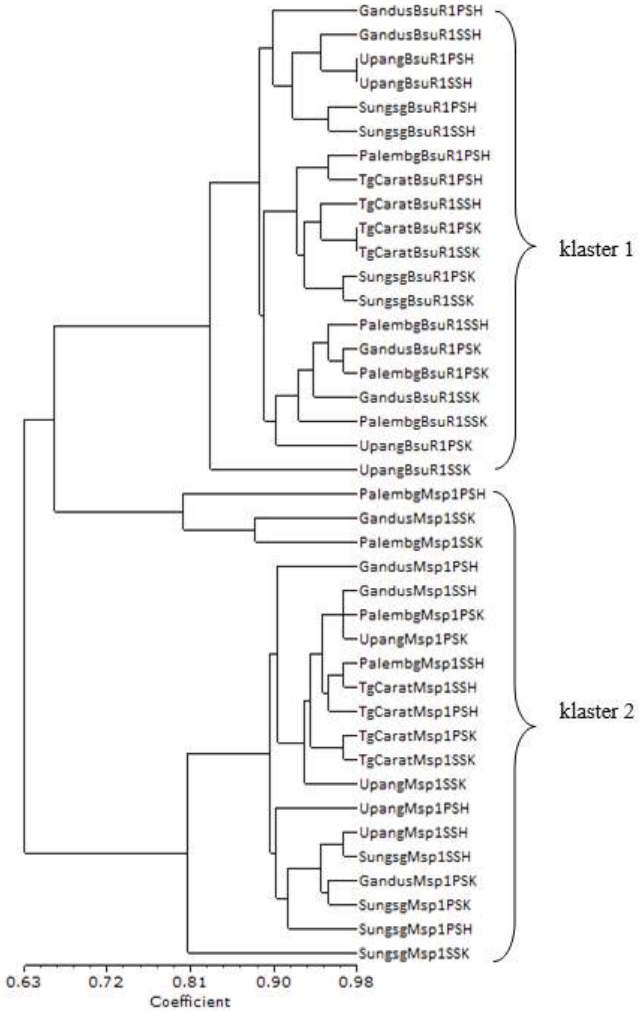
H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Berdasarkan gambar diagram batang yang menunjukkan indeks keanekaragaman pada berbagai stasiun penelitian (Gandus, Palembang, Upang, Sungsang, dan Tanjung Carat) selama kondisi pasang dan surut, dapat disimpulkan bahwa indeks jumlah spesies (S) secara konsisten memiliki nilai yang paling tinggi dibandingkan dengan indeks keanekaragaman Shannon-Wiener (H') dan rasio H'/Hmaks. Nilai indeks S berkisar antara 13 hingga 15 di semua stasiun dan kondisi pasang surut, menunjukkan kekayaan spesies yang relatif stabil. Indeks H' dan H'/Hmaks menunjukkan nilai yang jauh lebih rendah, dengan nilai H' berkisar antara sekitar 1 hingga 2, dan rasio H'/Hmaks berada di bawah 0,2. Ini mengindikasikan bahwa meskipun jumlah spesies tinggi, distribusi individu antar spesies tidak merata, yang menunjukkan dominasi spesies tertentu di setiap lokasi. Secara umum, tidak terdapat perbedaan mencolok antara kondisi pasang dan surut di setiap stasiun, yang menandakan bahwa dinamika pasang surut tidak secara signifikan memengaruhi keanekaragaman hayati pada saat pengambilan data.

3. Keragaman AOB berdasarkan Gen *amo*A di Sedimen

Similaritas

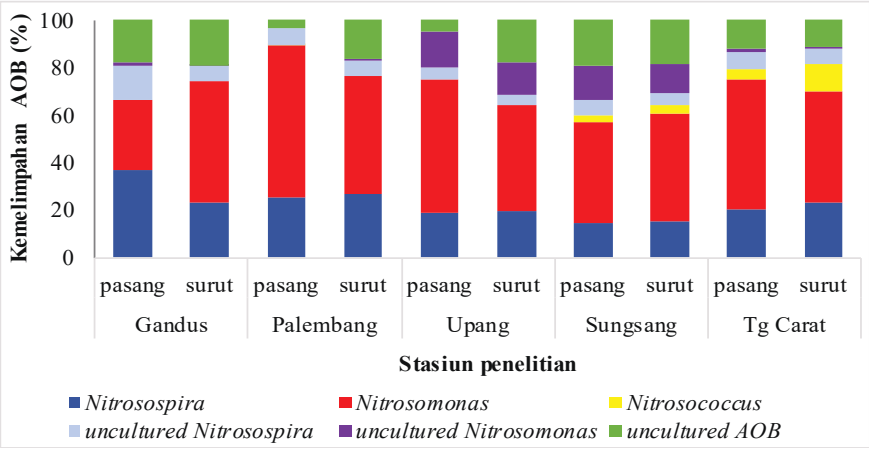
Similaritas AOB di sedimen berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A dengan enzim restriksi *Bsu*RI dan *Msp*I terbagi menjadi 2 klaster (Gambar 5.14). Adapun klaster tersebut yaitu klaster 1 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Bsu*RI berjumlah 20 sampel dengan nilai koefisien similaritas antara 0,82 - 0,98 dan klaster 2 mengelompok berdasarkan hasil pemotongan enzim *Msp*I berjumlah 20 sampel dengan nilai koefisien similaritas antara 0,81 - 0,97.



Gambar 5.14. Dendogram AOB di sedimen berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A dengan enzim restriksi *Bsu*RI dan *Msp*I di Sungai Musi

Jenis dan Kelimpahan

Jenis AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A diketahui beberapa jenis yaitu *Nitrosomonas, Nitrosospira, uncultured AOB, uncultured Nitrosomonas, uncultured Nitrosospira* dan *Nitrosococcus* (Gambar 5.15).



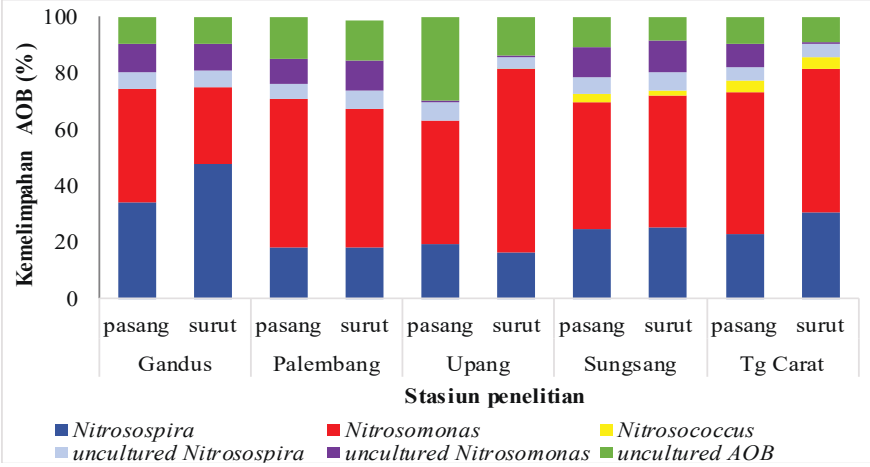
Gambar 5.15. Jenis dan kemelimpahan AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Gambar 5.15 terlihat kemelimpahan AOB didominasi oleh *Nitrosomonas* (30 - 64%) dan *Nitrosospira* (14 - 37%) dari kelas β-Proteobacteria. Stasiun Palembang saat air pasang memiliki kemelimpahan *Nitrosomonas* paling tinggi yaitu 64% dan stasiun Gandus saat air pasang memiliki kemelimpahan *Nitrosospira* paling tinggi sebesar 37%. Kemelimpahan *uncultured AOB* juga ditemukan diseluruh stasiun an nilainya 3 - 19% tertinggi ditemukan di stasiun Sungsang saat air pasang. Namun pada stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat ada perubahan komposisi kemelimpahan dengan stasiun lainya karena ditemukan kemelimpahan *Nitrosococcus* (kelas γ-Proteobacteria) mencapai 12%. Akan tetapi kemelimpahan *Nitrosococcus* dari kelas β-Proteobacteria juga ditemukan di stasiun Palembang saat pasang sebesar 1%.

Berdasarkan diagram batang komposisi relatif AOB (Ammonia Oxidizing Bacteria) pada berbagai stasiun penelitian (Gandus, Palembang, Upang, Sungsang, dan Tanjung Carat) dalam kondisi pasang dan surut, dapat disimpulkan bahwa genus *Nitrosomonas* mendominasi komunitas AOB di semua lokasi dan kondisi, dengan proporsi yang sangat besar (sekitar 50–70%). Diikuti oleh *Nitrospira* dan *uncultured Nitrosospira*, yang juga menunjukkan kontribusi

yang cukup signifikan di hampir semua stasiun, meskipun dengan persentase yang lebih rendah. Keberadaan *uncultured AOB* serta *uncultured Nitrosomonas* juga terlihat konsisten, meskipun dalam jumlah yang kecil. Sementara itu, *Nitrosococcus* hanya muncul dalam jumlah terbatas di beberapa lokasi, khususnya pada kondisi surut di Sungsang dan Tanjung Carat. Secara umum, tidak terdapat perbedaan yang mencolok antara kondisi pasang dan surut, yang menunjukkan bahwa kondisi pasang surut tidak memberikan pengaruh besar terhadap struktur komunitas AOB. Dominasi *Nitrosomonas* di seluruh stasiun menunjukkan bahwa genus ini mungkin memiliki toleransi lingkungan yang tinggi atau lebih adaptif terhadap kondisi perairan di wilayah penelitian.

Jenis AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A diketahui beberapa jenis yaitu *Nitrosomonas, Nitrosospira, uncultured AOB, uncultured Nitrosomonas, uncultured Nitrosospira* dan *Nitrosococcus* (Gambar 5.16).



Gambar 5.16. Jenis dan kemelimpahan AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Gambar 5.16 terlihat kemelimpahan AOB didominasi oleh *Nitrosomonas* (27 - 65%) dan *Nitrosospira* (16 - 48%) dari kelas β-Proteobacteria. Stasiun Upang saat air surut memiliki

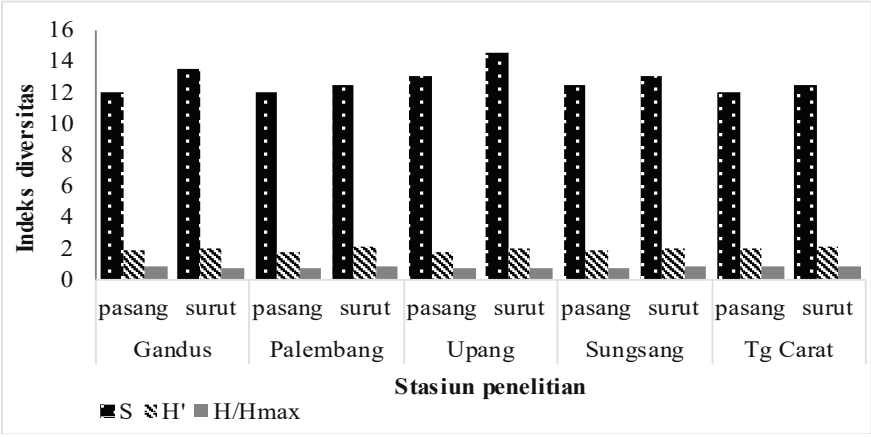
kemelimpahan *Nitrosomonas* paling tinggi yaitu 65% dan stasiun Gandus saat air surut memiliki kemelimpahan *Nitrosospira* paling tinggi sebesar 48%. Kemelimpahan *uncultured AOB* juga ditemukan diseluruh stasiun an nilainya 8 - 30% tertinggi ditemukan di stasiun Upang saat air pasang. Namun pada stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat tada perubahan komposisi kemelimpahan dengan stasiun lainya karena ditemukan *Nitrosococcus* (kelas γ-Proteobacteria) mencapai 4%.

Berdasarkan diagram batang yang menunjukkan kemelimpahan relatif AOB (Ammonia Oxidizing Bacteria) dapat diidentifikasi bahwa genus *Nitrosomonas* merupakan kelompok dominan di seluruh stasiun, dengan proporsi tertinggi dibandingkan kelompok AOB lainnya. Kelimpahan *Nitrosomonas* tampak sangat menonjol terutama di stasiun Upang dan Palembang. Genus *Nitrosospira* juga hadir secara konsisten di semua lokasi, meskipun dalam proporsi yang lebih rendah dibandingkan *Nitrosomonas*, khususnya tinggi di stasiun Gandus saat pasang. Selain itu, kelompok *uncultured Nitrosospira*, *uncultured Nitrosomonas*, dan *uncultured AOB* juga terdeteksi namun dengan proporsi yang lebih kecil. Keberadaan *Nitrosococcus* hanya terlihat di beberapa lokasi dan kondisi, khususnya pada surut di Sungsang dan Tanjung Carat. Perbedaan antara kondisi pasang dan surut terlihat paling mencolok di Gandus, di mana terjadi perubahan signifikan dalam proporsi antara *Nitrosospira* dan *Nitrosomonas*. Secara keseluruhan, struktur komunitas AOB menunjukkan variasi spasial dan temporal, namun dominasi *Nitrosomonas* tetap konsisten, menandakan peran pentingnya dalam proses nitrifikasi di lingkungan perairan estuarin yang diteliti.

Indeks Diversitas

Indeks diversitas AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A disajikan pada Gambar 5.17. Kekayaan jenis di sedimen pada musim

hujan menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 12 - 13 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 13 - 15 ukuran TRF saat air surut, nilai tertinggi sebesar 15 ukuran TRF ditemukan di stasiun Upang saat air surut. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 1,71 - 1,95 dan saat air surut berkisar 1,93 - 2,05, nilai tertinggi sebesar 2,05 ditemukan di stasiun Tg Carat saat air surut. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,69 - 0,81.



Gambar 5.17. Indeks diversitas AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim hujan berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Keterangan:

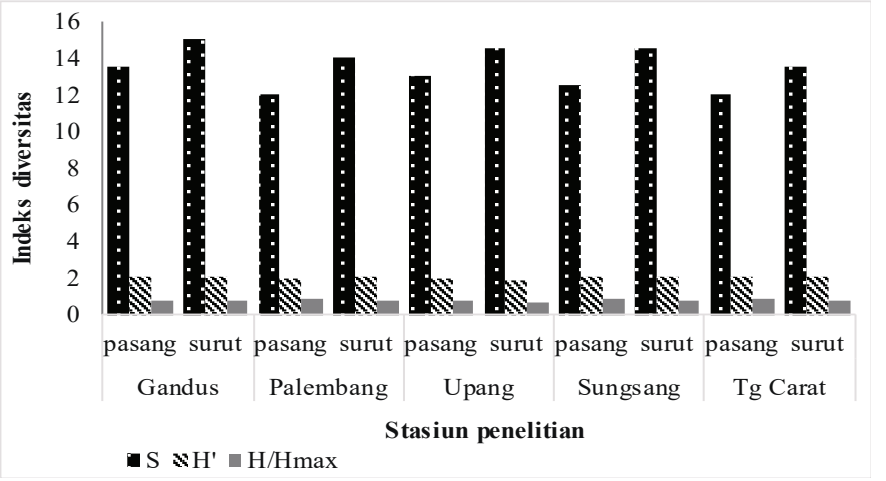
S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Indeks diversitas AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A disajikan pada Gambar 5.18. Kekayaan jenis di sedimen pada musim kemarau menghasilkan nilai yang bervariasi, sebanyak 12 -

14 ukuran TRF saat air pasang dan sebanyak 14 - 15 ukuran TRF saat air surut, nilai tertinggi sebesar 15 ukuran TRF ditemukan di stasiun Gandus saat air surut, stasiun Upang saat air surut dan stasiun Sungsang saat surut. Indeks Shannon-Wiener juga menghasilkan nilai yang bervariasi, saat air pasang berkisar 2,00 - 2,09 dan saat air surut berkisar 1,88 - 2,09, nilai tertinggi sebesar 2,09 ditemukan di stasiun Gandus saat air surut dan stasiun Sungsang saat air pasang. Frekuensi distribusi pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener dengan nilai 0,70 - 0,83.



Gambar 5.18. Indeks diversitas AOB di sedimen saat air pasang dan air surut pada musim kemarau berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A di Sungai Musi

Keterangan:

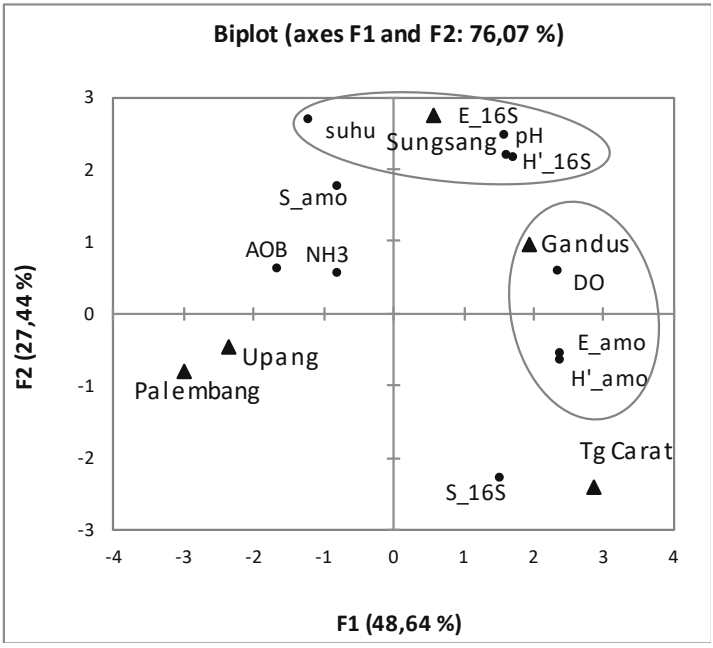
S : Kekayaan jenis, dihitung sebagai total ukuran TRF yang berbeda dari setiap profil T-RFLP dari masing-masing sampel

H' : Indeks Shannon-Wiener

H/H_{max} : Frekuensi distribusi, dihitung dari fungsi Shannon-Wiener

Hubungan antara Parameter Fisika-Kimia Perairan dengan Komunitas AOB di Sedimen

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air pasang pada musim hujan di stasiun dan disajikan pada Gambar 5.19.



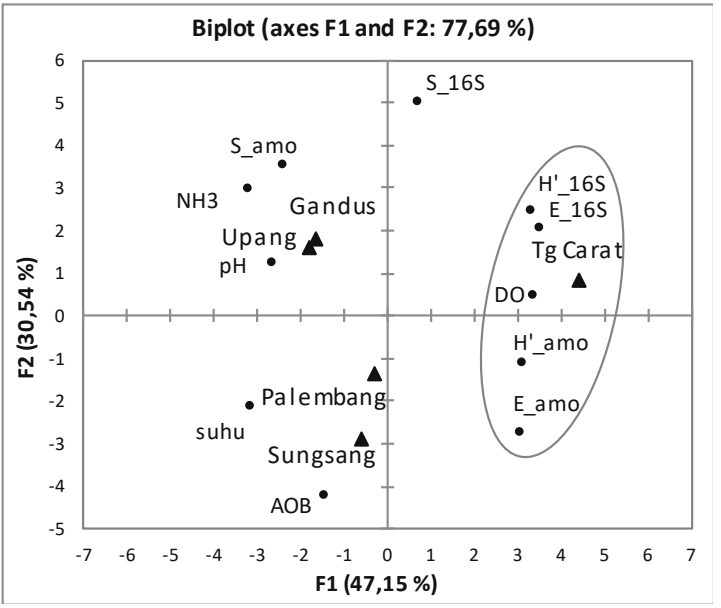
Gambar 5.19. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air pasang pada musim hujan di stasiun an

Gambar 5.19 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun an dengan nilai akar kumulatif sebesar 76,07% di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 48,64% dan sumbu F2 sebesar 27,44%. Terbentuk dua kelompok pada sumbu positif. Kelompok pertama mengindikasikan stasiun Gandus dicirikan oleh oksigen terlarut (6,67 mg/L), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (1,9) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,77). Kepadatan AOB di stasiun Gandus sebesar $2{,}2\times10^{3}$ sel/g sedimen. Keanekaragaman di stasiun Gandus berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya

terdiri dari *Nitrosospira* (37%), *Nitrosomonas* (30%), *uncultured AOB* (18%), *uncultured Nitrosospira* (15%) dan *uncultured Nitrosomonas* (1%).

Kelompok kedua mengindikasikan stasiun Sungsang dicirikan oleh suhu (29,63^{o}C), pH (7,59), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,1) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen 16S rRNA (0,51). Kepadatan AOB sebesar $3{,}1\times10^{3}$ sel/g sedimen. Keanekaragaman di stasiun Sungsang berdasarkan gen 16S rRNA tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (73%), *Nitrosomonas* (17%) dan *Nitrosococcus* (11%).

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air surut pada musim hujan di stasiun dan disajikan pada Gambar 5.20.

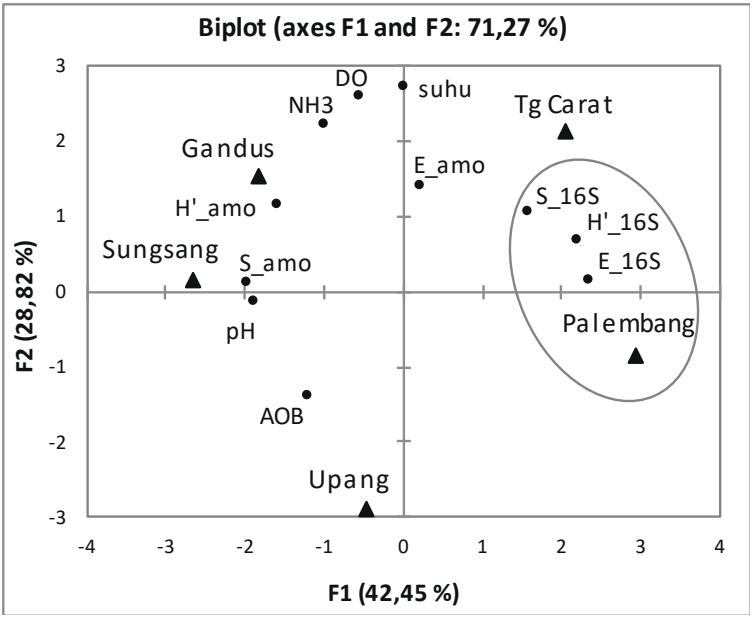


Gambar 5.20. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air surut pada musim hujan di stasiun an

Gambar 5.20 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di stasiun an dengan nilai akar kumulatif sebesar 77,69% di bentuk oleh sumbu F1 sebesar

47,15% dan sumbu F2 sebesar 30,54%. Terbentuk satu kelompok pada sumbu positif mengindikasikan stasiun Tg Carat dicirikan oleh oksigen terlarut (7,77 mg/L), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,05), frekuensi distribusi berdasarkan gen 16S rRNA (0,41), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,05) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,81). Kepadatan AOB di stasiun Tg Carat sebesar $7{,}2\times10^2$ sel/g sedimen. Keanekaragaman di stasiun Tg Carat berdasarkan gen 16S rRNA tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (60%), *non AOB* (22%), *Nitrosococcus* (7%), *Nitrosospira* (4%), *uncultured Nitrosospira* (4%) dan *uncultured Nitrosomonas* (3%). Sedangkan keanekaragaman di stasiun Tg Carat berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (47%), *Nitrosospira* (23%), *Nitrosococcus* (12%), *uncultured AOB* (11%), *uncultured Nitrosospira* (6%) dan *uncultured Nitrosomonas* (1%).

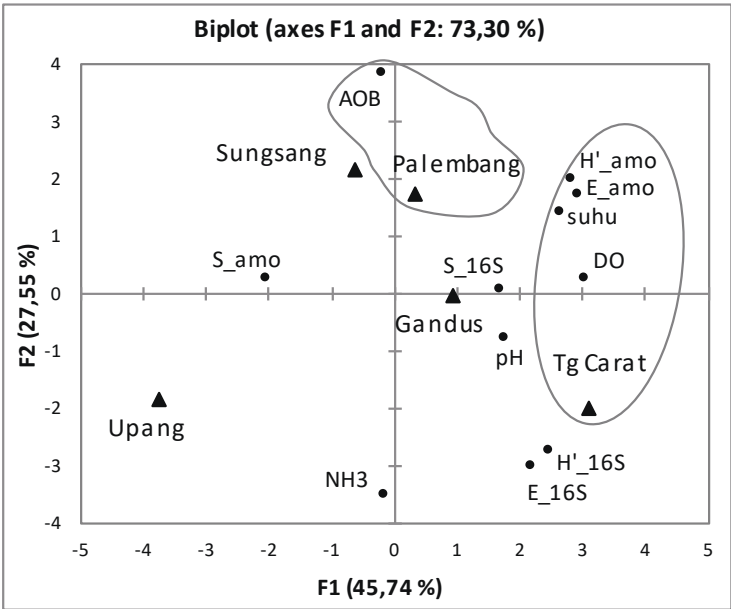
Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air pasang pada musim kemarau di stasiun dan disajikan pada Gambar 5.21.



Gambar 5.21. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air pasang pada musim kemarau di stasiun an

Gambar 5.21 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB terhadap stasiun an dengan nilai akar kumulatif sebesar 71,27% di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 42,45% dan sumbu F2 sebesar 28,82%. Terbentuk satu kelompok pada sumbu positif mengindikasikan stasiun Palembang dicirikan oleh kekayaan jenis berdasarkan gen 16S rRNA (15 ukuran TRF), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,42) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen 16S rRNA (0,52). Kepadatan AOB di stasiun Palembang sebesar $5{,}3\times10^{3}$ sel/g sedimen. Keanekaragaman di stasiun Palembang berdasarkan gen 16S rRNA tergolong sedang dan kemelimpahnnya terdiri dari *Nitrosospira* (48%), *Nitrosomonas* (39%), *non AOB* (11%) dan *Nitrosococcus* (1%).

Hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air surut pada musim kemarau di stasiun dan disajikan pada Gambar 5.22.



Gambar 5.22. PCA hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB di sedimen saat air surut pada musim kemarau di stasiun an

Gambar 5.22 menunjukkan adanya hubungan antara parameter fisika-kimia perairan dengan komunitas AOB terhadap stasiun an dengan nilai akar kumulatif sebesar 73,30% di bentuk oleh sumbu F1 sebesar 45,74% dan sumbu F2 sebesar 27,55%. Terbentuk dua kelompok pada sumbu positif. Kelompok pertama mengindikasikan stasiun Tg Carat dicirikan oleh suhu (31,23°C), oksigen terlarut (7,06 mg/L), indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,08) dan frekuensi distribusi berdasarkan gen *amo*A (0,8). Kepadatan AOB di stasiun Tg Carat sebesar $9{,}4\times10^{2}$ sel/g sedimen. Keanekaragaman di stasiun Tg Carat berdasarkan gen *amo*A tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (51%), *Nitrosospira* (31%), *uncultured AOB* (9%), *uncultured Nitrosospira* (5%) dan *Nitrosococcus* (4%).

Kelompok kedua mengindikasikan stasiun Palembang dicirikan oleh kepadatan AOB sebesar $5{,}3\times10^{3}$ sel/g sedimen. Pada stasiun Palembang indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen 16S rRNA (1,07) tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosospira* (49%), *Nitrosomonas* (36%), *uncultured Nitrosomonas* (10%), *non AOB* (3%) dan *Nitrosococcus* (2%), serta di stasiun Palembang indeks Shannon-Wiener berdasarkan gen *amo*A (2,08) tergolong sedang dan kemelimpahannya terdiri dari *Nitrosomonas* (49%), *Nitrosospira* (18%), *uncultured AOB* (14%), *uncultured Nitrosomonas* (10%) dan *uncultured Nitrosospira* (6%).

Hasil pengukuran suhu permukaan perairan pada musim kemarau (30,55 - 31,51°C) nilainya lebih tinggi dari musim hujan (29,07 - 29,92°C). Demikian juga suhu dasar perairan pada musim kemarau (30,54 - 31,82°C) nilainya lebih tinggi dari musim hujan (29,21 - 29,82°C). Suhu tinggi di musim kemarau disebabkan oleh tingginya intensitas cahaya matahari yang masuk ke dalam perairan. Suhu perairan di Sungai Musi merupakan suhu optimal untuk proses nitrifikasi. Menurut Koops *et al.* (2001) dan Effendi (2003) proses nitrifikasi berlangsung pada suhu optimum 30 - 35°C.

Hasil pengukuran oksigen terlarut permukaan perairan pada musim hujan (4,38 - 8,67 mg/L) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (4,95 - 7,86 mg/L). Begitu juga oksigen terlarut dasar perairan pada musim hujan (4,12 - 7,77 mg/L) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (3,97 - 7,06 mg/L). Oksigen terlarut hasil pengkuran di Sungai Musi mengalami penurunan dengan bertambahnya kedalaman karena suplai oksigen dari proses fotosintesis dan difusi menurun. Oksigen terlarut di Sungai Musi masih mendukung untuk proses nitrifikasi. Menurut Effendi (2003) proses nitrifikasi berlangsung optimum dengan nilai oksigen terlarut di atas 2 mg/L.

Hasil pengukuran pH permukaan perairan pada musim hujan (5,56 - 8,33) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (5,68 - 8,26). Serta pH dasar perairan pada musim hujan (4,69 - 8,34) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (5,35 - 8,22). Hasil pengukuran pH permukaan perairan lebih tinggi di dasar perairan disebabkan oleh aktivitas organisme (bakteri) dalam menguraikan bahan organik membutuhkan oksigen sehingga oksigen terlarut menurun dan karbondioksida meningkat membuat pH menurun. pH perairan di Sungai Musi masih mendukung proses nitrifikasi. Menurut Ripple (2003) dan Effendi (2003) proses nitrifikasi berlangsung pada pH optimum 7,5 - 8,5.

Salinitas di Sungai Musi berkisar antara 0 - 22,64 ppt. Nilai salinitas 0 ppt ditemukan di stasiun sungai (stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang). Nilai salinitas tertinggi ditemukan di stasiun Tg Carat saat air pasang pada musim kemarau. Salinitas di stasiun Sungsang nilainya berfluktuasi tergantung masukan air laut saat air pasang (salinitas naik) dan masukan air sungai saat air surut (salinitas turun). Bakteri nitrifikasi dijumpai diseluruh air tawar maupun air laut baik air ataupun sedimen. Menurut Buchanan dan Gibbon (1974) dan Spotte (1979), bakteri nitrifikasi merupakan bakteri kemoautotrof yang menyebar di air tawar, air payau, air laut dan tanah.

Secara umum konsentrasi amonia di Sungai Musi berkisar antara 0,02 - 0,87 mg/L. Konsentrasi amonia di permukaan perairan pada musim kemarau (0,04 - 0,87 mg/L) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim hujan (0,02 - 0,44 mg/L). Namun di sedimen perairan pada musim hujan (0,05 - 0,87 mg/L) nilainya lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (0,08 - 0,76 mg/L). Konsentrasi amonia di permukaan dan dasar perairan tertinggi ditemukan di stasiun Upang saat air pasang dan saat air surut pada musim kemarau. Tingginya konsentrasi amonia di stasiun Upang berasal dari limbah pupuk pertanian karena kawasan ini merupakan daerah pertanian. Amonia di Sungai Musi konsentrasinya tidak toksik bagi bakteri AOB. Menurut Hatzenpichler *et al*. (2008) amonia sebagai sumber energi pertama dalam aktivitas bakteri AOB, akan tetapi konsentrasi amonia yang terlalu tinggi bisa menghambat aktivitas bakteri AOB. Menurut Anthonisen *et al*. (1976) amonia sebagai sumber energi pertama dalam aktivitas bakteri nitrifikasi, akan tetapi amonia dapat bersifat toksik terhadap bakteri nitrifikasi karena amonia yang terkandung tidak terionisasi, konsentrasi amonia 10 - 150 mg/L dapat menghambat aktivitas AOB.

Kepadatan AOB di air berkisar antara $4{,}9\times10^{2}$ - $5{,}3\times10^{3}$ sel/mL, sedangkan di sedimen berkisar antara $7{,}2\times10^{2}$ - $6{,}1\times10^{3}$ sel/g sedimen. Kepadatan AOB di air tertinggi ditemukan di stasiun Palembang dan stasiun Sungsang, sedangkan di sedimen tertinggi ditemukan di stasiun Palembang dan stasiun Gandus. Kepadatan AOB yang tinggi di stasiun tersebut disebabkan oleh konsentrasi amonia yang tinggi karena amonia sebagai sumber energi pertama dalam aktivitas bakteri nitrifikasi. Menurut Anthonisen *et al*. (1976) dan Hatzenpichler *et al*. (2008), bakteri nitrifikasi (khususnya AOB) mendapatkan energinya dengan oksidasi senyawa nitrogen anorganik berupa amonia dan bakteri ini terkonsentrasi di daerah yang tinggi akan konsentrasi amonia.

Amonia di stasiun Gandus berasal dari hilir sungai yang banyak mengandung limbah amonia dari aktivitas industri dan

limbah perkotaan terbawa arus saat air pasang. Hilir dari stasiun Gandus terdapat aktivitas budidaya keramba apung, saat proses budidayanya melakukan peningkatan laju pemberian pakan dan peningkatan kandungan protein pada pakan yang berdampak peningkatan amonia di perairan. Menurut Utpalasari dan Anwar (2017) Kecamatan Gandus adalah wilayah yang termasuk dalam program pengembangan wilayah kawasan minapolitan dimana penduduknya melakukan kegiatan budidaya ikan air tawar dengan total luas lahan yang digunakan 10.840 m^2 (70% di aliran Sungai Musi dan 30% di kolam tanah).

Amonia di stasiun Palembang berasal dari limbah amonia yang berasal dari buangan limbah industri dan limbah domestik. Stasiun ini terletak di kota Palembang, banyak terdapat aktivitas manusia dan industri. Aktivitas manusia diantaranya pemukiman, pasar dan transportasi sungai. Aktivitas industri diantaranya pabrik pupuk, pengilangan minyak bumi, pengolahan sawit dan pengolahan karet alam. Menurut Widiastuty (2001) kualitas lingkungan air di Sungai Musi sudah mengalami pencemaran yang berasal dari bahan organik akibat dampak pengolahan limbah cair PT Pupuk Sriwidjaja yang kegiatannya menghasilkan pupuk urea dan amonia cair. Menurut Samuel dan Adjie (2008) bahwa aliran air Sungai Musi dari hulu melalui beberapa tata guna lahan yang beragam dimulai dari kawasan hutan lindung di bagian hulu dan di bagian hilir merupakan lahan pertanian, areal pemukiman, kawasan industri dan areal hutan mangrove. Selanjutnya Zulkifli *et al.* (2009) menambahkan perubahan parameter fisika dan kimia air di Sungai Musi disebabkan oleh adanya aktivitas pembuangan limbah, baik limbah pabrik, industri, pertanian, dan limbah domestik.

Secara umum konsentrasi amonia di daerah hulu berkisar antara 0,02 – 0,87 mg/L dan di daerah hilir berkisar antara 0,11 – 0,55 mg/L. Konsentrasi tersebut menunjukkan bahwa daerah hulu mempunyai konsentrasi amonia lebih tinggi dibanding daerah hilir. Kecenderungan tersebut menunjukkan bahwa sumber kegiatan

pertanian dan perikanan berkontribusi besar dalam peningkatan konsentrasi amonia di hulu Sungai Musi.

Amonia di permukaan perairan pada musim hujan nilai lebih rendah dibanding musim hujan. Hal ini disebabkan oleh adanya proses pengenceran oleh air hujan dan tingginya debit air pada musim hujan sehingga dapat mengurangi konsentrasi amonia. Menurut Widiastuty (2001) debit air Sungai Musi mencapai 4.000 m^3/s pada musim hujan nilainya lebih tinggi dibandingkan pada musim kemarau sebesar 2.700 m^3/s. Menurut Sipayung dan Cholianawati (2011) bahwa Daerah Aliran Sungai (DAS) Musi dipengaruhi oleh curah hujan bulanan sehingga mempengaruhi debit aliran permukaan secara signifikan. Debit aliran sungai mengalami peningakatan pada musim hujan (November, Desember, Januari, Februari, Maret, April, dan Mei), sedangkan debit aliran sungai akan menurun pada musim kemarau (Juni, Juli, Agustus, September, dan Oktober).

Kepadatan AOB di air Sungai Musi berkisar antara $4,9\times10^2$ - $5,3\times10^3$ sel/mL. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan di perairan laut Ariake, Pulau Kyushu berkisar $3,5\times10^2$ - $9,2\times10^2$ sel/mL (Isnansetyo *et al*., 2014). Sedangkan di sedimen Sungai Musi berkisar $7,2\times10^2$ - $6,1\times10^3$ sel/g sedimen. Nilai ini lebih rendah dibandingkan di sedimen laut Ariake, Pulau Kyushu berkisar antara $7,2\times10^3$ - $1,6\times10^5$ sel/g sedimen (Isnansetyo *et al*., 2011).

Jenis dan kemelimpahan AOB berdasarkan gen 16S rRNA dan gen *amo*A di semua stasiun an baik di air maupun di sedimen nilainya fluktuatif dan didominasi oleh *Nitrosospira* dan *Nitrosomonas* dari kelas β-Proteobacteria. *Nitrosospira* mendominasi di stasiun sungai (stasiun Gandus, stasiun Palembang dan stasiun Upang), sedangkan *Nitrosomonas* mendominasi di lokasi muara dan laut (stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat). Hal ini sejalan dengan hasil an Kim *et al.* (2008) tentang identifikasi AOB di air dan sedimen dari danau Plubsee dan Schohsee serta laut Baltic, hasilnya *Nitrosospira* dan *Nitrosomonas* ditemukan disemua lokasi an, namun *Nitrosospira* lebih banyak ditemukan di lokasi danau dan *Nitrosomonas* lebih

banyak ditemukan di lokasi laut, serta di sedimen laut Baltic lebih banyak ditemukan *Nitrosomonas*. Santos *et al*. (2018) genus *Nitrosomonas* dan *Nitrosospira* dominan ditemukan pada ekosistem estuari pada sedimen yang diberi perlakuan air laut dengan salinitas 0, 15 dan 30 ppt. Sahan dan Muyzer (2008), sebelumnya juga melaporkan bahwa genus *Nitrosospira* lebih dominan dijumpai di salinitas rendah dibanding salinitas tinggi.

Nitrosococcus dari kelas γ-Proteobacteria hanya di temukan pada stasiun Sungsang dan stasiun Tg Carat. Bakteri ini hanya hidup di lingkungan yang mempunyai kadar garam. Stasiun Sungsang dan Tg Carat merupakan kawasan yang dipengaruhi pasang surut sehingga salinitas air laut hanya sampai pada stasiun ini. Hasil pengukuran salinitas menunjukkan bahwa stasiun Sungsang dan Tg Carat termasuk daerah estuari, salinitasnya berkisar antara 2,2 - 23,38 ppt. Menurut Melin *et al*. (1996) dan Purkhold *et al*. (2000) sebagian besar AOB termasuk dalam dua garis keturunan monofiletik yaitu kelas β-Proteobacteria termasuk genera *Nitrosomonas* (termasuk *Nitrosococcus mobilis*), *Nitrosospira, Nitrosolobus* dan *Nitrosovibrio*. Serta kelas γ-Proteobacteria termasuk spesies *Nitrosococcus oceani* dan *Nitrosococcus halophilus*. *Nitrosococcus* (γ-Proteobacteria) merupakan bakteri AOB yang tersebar di perairan laut dan danau air asin (Campbell *et al*., 2011).

Jenis dan kemelimpahan bakteri berdasarkan gen 16S rRNA juga teridentifikasi *non AOB*. Kategori kelompok *non AOB* adalah bakteri yang juga memanfaatkan nitrogen anorganik berupa amonia untuk metabolismenya yaitu bakteri anammox. Bakteri anammox merupakan bakteri yang mengoksidasi amonia dalam kondisi anaerob. Menurut Karthikeyan dan Joseph (2009) proses anammox menghilangkan amonium/amonia dalam sistem autrotrop dengan meninggalkan sedikit biomassa. Karbon organik tidak dibutuhkan dalam sistem ini karena amonia digunakan sebagai donor elektron dalam reduksi nitrit. Menurut van Niftrik *et al*. (2004) bakteri anammox dapat melakukan oksidasi amonia secara anaerob karena

memiliki enzim *hydrazine hydrolase* (HH), *hydrazine oxidizing* (HZO) dan *nitrite reducing* (NR). Dalam proses ini, nitrit digunakan sebagai akseptor elektron dalam konversi amonia menjadi gas nitrogen. Bakteri yang berperan penting dalam proses anammox ini adalah *Brocadia anammoxidans*, *Kuenenia stuttgartiensis* dan *Scalindua sorokinii*.

Jenis dan kemelimpahan bakteri berdasarkan hasil analisis T-RFLP pada gen *amo*A teridentifikasi *uncultured AOB*. Kategori kelompok *uncultured AOB* yang dimaksud adalah bakteri AOB dari sampel lingkungan hasil kultur independent dan tingkat similaritasnya rendah dengan bakteri AOB (*Nitrosospira, Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosolobus* dan *Nitrosovibrio*). Menurut Kuo *et al.* (2006) penyebab perbedaan *uncultured AOB* dengan kelompok AOB lainnya karena setiap bakteri memiliki sifat kinetik berbeda yang menentukan laju pertumbuhan dan kelangsungan hidup pada berbagai lingkungan.

Kekayaan jenis di air berdasarkan gen 16S rRNA berkisar 7 - 11 ukuran TRF lebih rendah dibandingkan di sedimen berkisar 10 - 13 ukuran TRF. Sedangkan kekayaan jenis di air berdasarkan gen *amo*A berkisar 10 - 17 ukuran TRF lebih tinggi dibandingkan di sedimen berkisar 12 - 19 ukuran TRF. Kekayaan jenis di air dan sedimen berdasarkan gen 16S rRNA dan gen *amo*A pada musim kemarau lebih tinggi dibanding musim hujan. Kelimpahan relatif dengan indeks Shannon-Wiener tidak hanya mempertimbangkan jumlah jenis yang terdeteksi namun juga mempertimbangkan kelimpahan dari jenis yang terdeteksi. Semakin tinggi indeks Shannon-Wiener maka mengindikasikan keanekaragaman semakin tinggi, stabilitas ekosistem seimbang, produktivitas tinggi dan tahan terhadap tekanan ekologis (Krebs, 1978).

Indeks Shannon-Wiener di air berdasarkan gen 16S rRNA berkisar 0,72 - 1,50 lebih tinggi dibandingkan di sedimen berkisar 0,68 - 1,47. Indeks Shannon-Wiener di air pada musim hujan (0,72 - 1,50) lebih tinggi dibandingkan musim kemarau (0,86 - 1,29), namun sebaliknya di sedimen pada musim kemarau (0,96 - 1,47)

lebih tinggi dibandingkan musim hujan (0,68 - 1,10). Menurut Krebs (1978) apabila indeks Shannon-Wiener (H') berkisar kurang dari 1,0 maka diketahui sampel memiliki keanekaragaman rendah, produktivitas sangat rendah sebagai indikasi adanya tekanan yang berat dan ekosistem tidak stabil, sedangkan apabila nilai H' berkisar antara 1,0 sampai dengan 3,322 artinya keanekaragaman sedang, produktivitas cukup, saat ekosistem cukup seimbang, dan tekanan ekologis sedang. Indeks Shannon-Wiener bakteri di Sungai Musi hasil berdasarkan gen 16S rRNA termasuk kategori rendah sampai sedang (0,68 - 1,50).

Indeks Shannon-Wiener di air berdasarkan gen *amo*A berkisar 1,44 - 2,51 lebih tinggi dibandingkan di sedimen berkisar 1,71 - 2,09. Indeks Shannon-Wiener di air dan sedimen pada musim kemarau lebih tinggi dibandingkan musim hujan. Menurut Krebs (1978) apabila indeks Shannon-Wiener (H') kurang dari 1,0 maka dapat diketahui sampel memiliki keanekaragaman rendah, produktivitas sangat rendah sebagai indikasi adanya tekanan yang berat dan ekosistem tidak stabil, sedangkan apabila nilai H' berkisar 1,0 - 3,322 maka sampel tersebut memiliki keanekaragaman sedang, produktivitas cukup, ekosistem cukup seimbang dan tekanan ekologis sedang. Sehingga indeks Shannon-Wiener AOB di Sungai Musi berdasarkan gen *amo*A termasuk kategori sedang (1,44 - 2,30).

Frekuensi distribusi di air berdasarkan gen 16S rRNA pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener berkisar 0,43 - 0,68 dan di sedimen berkisar 0,43 - 0,51. Demikian juga untuk frekuensi distribusi di air berdasarkan gen *amo*A pola penyebarannya sama dengan indeks Shannon-Wiener berkisar 0,60 - 0,88 dan di sedimen berkisar 0,69 - 0,81. Perhitungan kelimpahan relatif dengan indeks Shannon-Wiener dapat diikuti dengan perhitungan frekuensi distibusi dengan menghitung nilai H'/H_{max}. Menurut Margalef (1958), bahwa kecenderungan indeks diversitas yang tinggi seharusnya juga diikuti dengan kecenderungan nilai frekuensi distribusi yang tinggi pula, sehingga tidak adanya spesies yang mendominasi dalam suatu

komunitas. Perhitungan dari an ini menunjukkan bahwa sampel yang mempunyai indeks diversitas tinggi cenderung diikuti oleh tingginya frekuensi distribusi, sehingga hasil ini sesuai dengan teori yang ada.

Hasil analisis PCA menunjukkan adanya korelasi antara parameter fisika-kimia dengan komunitas AOB di stasiun an dengan melihat seberapa besar persentase nilai akar kumulatif (*eigen values cumulative*) dan nilai loading diatas 0,5 dianggap mempunyai pengaruh. Perbedaan pada setiap stasiun an menggambarkan pada masing-masing stasiun an mempunyai nilai parameter fisika-kimia dan komunitas AOB yang berbeda satu sama lain. Hal ini disebabkan karena sumber pencemar tiap stasiun an berbeda. Adapun parameter tersebut adalah suhu, oksigen terlarut, pH dan konsentrasi amonia. Semakin tinggi parameter fisika dan kimia perairan yang terukur maka kepadatan dan keragaman AOB juga semakin tinggi. Keberadaan AOB di perairan dipengaruhi oleh parameter fisika dan kimia perairan yang mendukung atau menekan ketahanan hidup bakteri. Parameter fisika dan kimia perairan tersebut berupa suhu, salinitas, pH, oksigen terlarut, dan nutrien (Sahan dan Muyzer, 2008; Bernhard *et a*l., 2010; Li *et al*., 2015). Selain itu, musim juga mempengaruhi komunitas bakteri (Christman *et al*., 2011; Sher *et al*., 2013). Menurut Zulkifli *et al.* (2009) perubahan parameter fisika dan kimia air di Sungai Musi disebabkan oleh adanya aktivitas pembuangan limbah, baik limbah pabrik, industri, pertanian, dan limbah domestik dari suatu pemukiman penduduk ke dalam badan air suatu perairan. Limbah-limbah tersebut mempunyai potensi sebagai sumber nitrogen pada perairan.

DAFTAR PUSTAKA

Akbarurrasyid, M., Prajayati, V., Katresna, M., Sudinno, D. dan Sofian, A., 2024, "Keanekaragaman Temporal Plankton Sebagai Bioindikator Kualitas Lingkungan Di Area Tambak Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)", Jurnal Perikanan Unram, 13(3), 783-795.

Alzerreca, J.J., Norton, J.M. and Klotz, M.G., 1999, "The *amo* Operon in Marine, Ammonia-Oxidizing γ-Proteobacteria", FEMS Microbiology Letters, 180(1), 21–29.

Andersson, A.F., Riemann, L. and Bertilsson, S., 2010, "Pyrosequencing Reveals Contrasting Seasonal Dynamics of Taxa within Baltic Sea Bacterioplankton Communities", The ISME Journal, 4(2), 171–181.

Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B.S. and Srinath, E.G., 1976, "Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid, Journal of Water Pollution Control Federation, 48, 835-852.

APHA, 2005, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, edisi ke 20th, Clesceri, L.S., Greenberg, A.E., and Eaton, A.D., eds., American Public Health Association (APHA), Washington, DC, USA.

Arfiati, D., 1989, Komunitas-komunitas Alga Perifiton di Sungai Cikaranggelam, Cikampek Jawa Barat, Sebagai Tempat Pembuangan Limbah Cair Pabrik Pupuk Urea, Tesis: Institut Teknologi Bandung.

Bernhard, A.E., Donn, T., Giblin, A.E. and Stahl, D.A., 2005, "Loss of Diversity of Ammonia-Oxidizing Bacteria Correlates with Increasing Salinity in an Estuary System", Environmental Microbiology, 7(9), 1289–1297.

Bernhard, A.E., Tucker, J., Giblin, A.E. and Stahl, D.A., 2007, "Functionally Distinct Communities of Ammonia-Oxidizing Bacteria Along an Estuarine Salinity Gradient", Environmental Microbiology, 9(6), 1439–1447.

Bernhard, A.E., Landry, Z.C., Blevins, A., de la Torre, J.R., Giblin, A.E. and Stahl, D.A., 2010, "Abundance of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria Along an Estuarine Salinity Gradient in Relation to Potential Nitrification Rates", Applied and Environmental Microbiology, 76(4), 1285–1289.

BMKG, 2016, *Buletin Prakiraan Musim Kemarau 2016 Provinsi Sumatera Selatan*, Badan Meteorologi Klimatologi dan Geofisika Stasiun Klimatologi Klas 1 Kenten, Palembang.

Bollmann, A. and Laanbroek, H., 2001, "Continuous Culture Enrichments of Ammonia-Oxidizing Bacteria at Low Ammonium Concentrations", FEMS Microbiology Ecology, 37, 211-221.

Bothe, H., Jost, G., Schloter, M., Ward, B.B. and Witzel, K., 2000, "Molecular Analysis of Ammonia Oxidation and Denitrification in Natural Environments", FEMS Microbiology Reviews, 24(5), 673–690.

Boyd, C.E., 1989, *Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming*, Fisheries and Allied Aquacultures Departmental Series No. 2 Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn

University.

BPS Kabupaten Banyuasin., 2016, Luas Lahan Sawah dan Perkebunan menurut Kecamatan di Kabupaten Banyuasin, 2016 (internet), Badan Pusat Statistik Kabupaten Banyuasin, <https://banyuasinkab.bps.go.id> (diakses 27 November 2018).

Bruns, M.A.N.N., Stephen, J.R., Kowalchuk, G.A., Prosser, J.I. and Paul, E.A., 1999, "Comparative Diversity of Ammonia Oxidizer 16S rRNA Gene Sequences in Native, Tilled, and Successional Soils", Applied and Environmental Microbiology, 65(7), 2994–3000.

Buchanan, E.R. and Gibbon, N.E., 1974, *Bergey Manual of Determinative Bacteriology*, Wiiliems and Welkins Co., Baltimore.

Campbell, M.A., Chain, P.S.G., Dang, H., El Sheikh, A.F., Norton, J.M., Ward, N.L., Ward, B.B. and Klotz, M.G., 2011, "*Nitrosococcus watsonii* sp. nov., a New Species of Marine Obligate Ammonia-Oxidizing Bacteria that is not Omnipresent in the World's Oceans: Calls to Validate the Names *Nitrosococcus halophilus* and *Nitromonas mobilis"*, FEMS Microbiology Ecology, 76, 39–48.

Chapra, S.C., 1997, *Surface Water-Quality Modeling,* McGraw-Hill International Edition, New York.

Chen, Y.L., Hu, H.W., Han, H.Y., Du, Y., Wan, S.Q., Xu, Z.W. and Chen, B.D., 2014, "Abundance and Community Structure of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Response to Fertilization and Mowing in a Temperate Steppe in Inner Mongolia", FEMS Microbiology Ecology, 89(1), 67–79.

Christman, G.D., Cottrell, M.T., Popp, B.N., Gier, E. and Kirchman, D.L., 2011, "Abundance, Diversity, and Activity Of Ammonia-Oxidizing Prokaryotes in the Coastal Arctic Ocean in Summer and Winter", Applied and Environmental Microbiology, 77(6), 2026–2034.

Cote, R..J. and Ghena, R..L., 1994, *Nutrition and Media*. In: Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A., Krieg, N.R (Eds). *Methods for general and molecular bacteriology*. American Society for Microbiology.

Danovaro, R. and Pusceddu, A., 2007, "Biodiversity and Ecosystem Functioning in Coastal Lagoons : Does Microbial Diversity Play any Role?", Estuarine Coastal and Shelf Science, 75, 4–12.

DKIKP, 2018, Geografis Kota Palembang (internet), Dinas Komunikasi dan Infromatika Kota Palembang, <http://www.palembang.go.id/35/gallery-detail.html> (diakses 27 November 2018).

Dodsworth, J., Hungate, B., de la Torre, J., Jiang, H. and Hedlund., 2011, "Measuring Nitrification, Denitrification, and Related Biomarkers in Terrestrial Geothermal Ecosystems", Methods in Enzymology. 486. 171-203.

Dong, L.F., Nedwell, D.B., Underwood, G.J.C., Thornton, D.C.O. and Rusmana, I., 2002, "Nitrous Oxide Formation in the Colne Estuary, England : the central role of nitrite", Applied and Environmental Microbiology, 68(3), 1240–1249.

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

Engebretson, J.J. and Moyer, C.L., 2003, "Fidelity of Select Restriction Endonucleases in Determining Microbial Diversity by Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism", Applied and Environmental Microbiology, 69(8), 4823–4829.

Fegan, N., Higgs, G., Vanderlinde, P. and Desmarchelier, P., 2004, "Enumeration of *Escherichia coli* O157 in Cattle Faeces using Most Probable Number Technique and Automated Immunomagnetic Separation", Letters in Applied Microbiology, 38(1), 56–59.

Ferguson, S.J., Richardson, D.R. and van Spanning, R.J.M., 2007, *Biochemistry and Molecular Biology of Nitrification*. In: Bothe, H., Newton, W.E. and Ferguson, S.J., 2007, *Biology of the Nitrogen Cycle,* Elsevier.

Ford, D.L., Churchwell, R.L. and Kachtick, R.L., 1980, "Comprehensive Analysis of Nitrification of Chemical Processing Wastewaters", Journal of the Water Pollution Control Federation, 52, 2726–2745.

Fuhrman, J.A. and Hagstrom, A., 2008, *Bacterial and Archaeal Community Structure and Its Patterns*. In Kirchman, D.L., (ed) *Microbial Ecology of the Oceans*. 2nd edn, John Wiley & Sons Inc, New York.

Groffman, P. M., Altabet, M. A., Böhlke, H., Butterbach-Bahl, K., David, M. B., Firestone, M. K., Giblin A.E., Kana, T.M., Nielsen, L.P. and Voytek, M. A., 2006, "Methods For Measuring Denitrification: Diverse Approaches To A Difficult Problem", Ecological applications, *16*(6), 2091-2122.

Hatzenpichler, R., Lebedeva, E. V, Spieck, E., Stoecker, K., Richter, A., Daims, H. and Wagner, M., 2008, "A Moderately Thermophilic Ammonia-Oxidizing Crenarchaeote from a Hot Spring", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(6), 2134–2139.

Head, I.M., Hiorns, W.D., Embley, T.M., McCarthy, A.J. and Saunders, J.R., 1993, "The Phylogeny of Autotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria as Determined by Analysis of 16S Ribosomal RNA Gene Sequences", Journal of General Microbiology, 139(6), 1147–1153.

Hendrawan, A., Afiati, N. dan Rahman, A., 2021, "Laju Nitrifikasi Pada Bioremediasi Air Limbah Organik Menggunakan *Chlorella* sp. dan Bakteri Nitrifikasi-Denitrifikasi", Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of Natural

Resources and Environmental Management), 11(2), 309-323.

Hutagalung, H.P. dan Rozak, A., 1997, *Metode Analisis Air Laut, Sedimen dan Biota Laut,* Institut Pertanian Bogor.

Imas, T., Hadioetomo, R.S., Gunawan, A.W. dan Setiadi, Y., 1989, Mikobiologi Tanah II, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Isnansetyo, A., Seguchi, M. and Koriyama, M., 2011, "Nitrification Potential Rate of Different Sediment Types of the Ariake Sea Tidal Flat in Summer and Autumn", Research Journal of Environmental and Earth Sciences, 3(6), 704–716.

Isnansetyo, A., Getsu, S., Seguchi, M. and Koriyama, M., 2014, "Independent Effects of Temperature, Salinity, Ammonium Concentration and pH on Nitrification Rate of the Ariake Seawater Above Mud Sediment", HAYATI Journal of Biosciences, 21(1), 21–30.

Jinsheng, S., Fei, G., Xuyun, G., Junli, W., Xiang, L. and Jingjing, L., 2011, "Seasonal Changes and Diversity of Bacteria in Bohai Bay by RFLP Analysis of PCR-Amplified 16S rDNA Gene Fragments", World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(2), 275–284.

Karthikeyan, O.P., and Joseph., K., 2009, "ANAMMOX A Novel Process for Nitrogen Management in Bioreactor Landfills - A Review, Centre for Environmental Studies, Anna University, Chennai.

Kim, B.H. and Gadd, G.M., 2008, *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge University Press.

Kim, O.S., Junier, P., Imhoff, J.F. and Witzel, K.P., 2008, "Comparative Analysis of Ammonia Monooxygenase (*amo*A) Genes in the Water Column and Sediment-Water Interface of Two Lakes and the Baltic Sea", FEMS Microbiology Ecology, 66(2), 367–378.

Kirchman, D.L., 2008, *Introduction and Overview*, In, D. L. Kirchman, ed. *Microbial Ecology of the Oceans*, John Wiley and Sons, Inc., New Jersey, pp. 1–26.

Koops, H.P., Bottcher, B., Moller, U.C., Pommerening-Roser, A. and Stehr, G., 2001, "Classification of eight new species of ammonia-oxidizing bacteria: *Nitrosomonas communis* sp. nov., *Nitrosomonas ureae* sp. nov., *Nitrosomonas aestuarii* sp. nov., *Nitrosomonas marina* sp. nova, *Nitrosomonas nitrosa* sp. nov., *Nitrosomonas eutropha* sp. nov., *Nitrosomonas oligotropha* spa nov. and *Nitrosomonas halophila* sp. nova", Journal of General Microbiology, 137, 1689-1699.

Koops, H.P. and Moller, U.C., 1992, *The Lithotrophic Ammoniaoxidizing Bacteria. In: The Prokaryotes* (Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., and Schleifer, K.H., Eds.), Springer Verlag, New York.

Krebs, C.J., 1978, *Ecological Methodology,* Harper and Row, New York.

Kuo, D.H.W., Robinson, K.G., Layton, A.C., Meyers, A.J. and Sayler, G.S., 2006, "Real-Time PCR Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB): Solids Retention Time (SRT) Impacts during Activated Sludge Treatment of Industrial Wastewater", Environmental Engineering Science, 23(3), 507-520.

Kurniawan, E., Pranowo, W. dan Putra, I., 2023, "Karakteristik Sebaran Klorofil-A Di Perairan Teluk Jakarta", Jurnal Chart Datum, 9(2), 113-122.

Li, J., Nedwell, D.B., Beddow, J., Dumbrell, A.J., McKew, B.A., Thorpe, E.L. and Whitby, C., 2015, "*amo*A Gene Abundances and Nitrification Potential Rates Suggest that Benthic Ammonia-Oxidizing Bacteria and not Archaea Dominate N Cycling in the Colne Estuary, United Kingdom", Applied and Environmental Microbiology, 81(1), 159–165.

Lueders, T. and Friedrich, M.W., 2003, "Evaluation of PCR Amplification Bias by Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of Small-Subunit rRNA and *mcr*A Genes by Using Defined Template Mixtures of Methanogenic Pure Cultures and Soil DNA Extracts", Applied and Environmental Microbiology, 69(1), 320–326.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J., 2003, *Biology of Microorganism*. 10th. Printice-Hall, New Jersey.

Margalef, R., 1958, "Information Theory in Ecology", General System, 3, 36-71.

Marsh, T.L., 1999, "Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP): An Emerging Method for Characterizing Diversity Among Homologous Populations of Amplification Products", Current Opinion in Microbiology, 2, 323–327.

Matulewich, V.A., Strom P.F. and Finstein, M.S., 1975, "Length of Incubation for Enumerating Nitrifying Bacteria Present in Various Environments", Applied Microbiology, 29, 256–268.

Mctavish, H., Fuchs, J.A. and Hooper, A.B., 1993, "Sequence of the Gene Coding for Ammonia Monooxygenase in *Nitrosomonas europaea"*, Journal of Bacteriology, 175(8), 2436–2444.

Melin, E.S., Puhakka, J.A., Strand, S.E., Rockne, K.J. and Ferguson, J.F., 1996, "Fluidized-bed Enrichment of Marine Ammonia-to-Nitrite Oxidizers and their Ability to Degrade Chloroaliphatics", International Biodeterioration & Biodegradation, 9–18.

Metcalf, and Eddy., 1991, *Wastewater Engineering Treatment. Disposal Reuse*. Tchobanoglous, G., Burton, F.L., (Eds.), McGraw-Hill, New York.

MNLH, 2004, *Baku Mutu Air Laut,* Keputusan MNLH No. 5 Tahun 2004, Jakarta. Indonesia.

Molina, V., Ulloa, O., Farias, L., Urrutia, H., Ramirez, S., Junier, P. and Witzel, K.P., 2007, "Ammonia-Oxidizing β-Proteobacteria from the Oxygen Minimum Zone of Northern Chile", Applied and Environmental Microbiology, 73(11), 3547–3555.

Munthe, Y.V., Aryawati, R. dan Isnaini., 2012, "Struktur Komunitas dan Sebaran Fitoplankton di Perairan Sungsang, Sumatera Selatan", Maspari Journal, 4(1), 122-130.

Murray, R.G.E. and E. Stackebrandt., 1995, "Taxonomic Notes: Implementation of the Provisional Status Candidatus for Incompletely Describes Procaryotes", International Jurnal of Systematic Bacteriology, 45, 186-187.

Nindrasari, G., Meitinarti, I. dan Mangimbulude, J.C., 2011, Pengurangan Kadar Amonium pada Limbah Cair Industri Terasi melalui Proses Nitrifikasi dan Anammox menggunakan Kombinasi Kultur Aerob-Anaerob, Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2011, Universitas Negeri Surabaya.

Nold, S.C., Zhou, J., Devol, A.H. and Tiedje, J.M., 2000, "Pacific Northwest Marine Sediments Contain Ammonia-Oxidizing Bacteria in the β Subdivision of the Proteobacteria", Applied and Environmental Microbiology, 66(10), 4532-4535.

Nugroho, G. A., Lutfi, M. W. and Hanuf, A. A., 202, Pengelolaan N-tanah dan Pemupukan N. Universitas Brawijaya Press.

Nurisman, N., Fauziyah. dan Surbakti, H., 2012, "Karateristik Pasang Surut di Alur Pelayaran Sungai Musi Menggunakan Metode Admiralty", Maspari Journal, 4(1), 110-115.

Pangastuti, A., 2006, "R E V I E W: Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16S rRNA dan Gen Penyandi Protein", BIODIVERSITAS, 7(3), 292-296.

Pergub Sumatera Selatan, 2005, *Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air*, Peraturan Gubernur Sumsel

No. 16, Palembang, Indonesia.

Prayitno, J., 2020, "Aspek Mikrobiologi Dalam Pengolahan Air Siap Minum Menggunakan Membran Reverse Osmosis", Jurnal Rekayasa Lingkungan, 12(2).

PT Pupuk Siwidjaja, 2016, *Laporan Tahunan 2016*. PT Pupuk Siwidjaja Palembang, Indonesia.

Pujihastuti, Y., 2011, "Nitrification and Denitrification In Pond", Jurnal Akuakultur Indonesia, 10(1), 89.

Purkhold, U., Pommerening-röser, A., Schmid, M.C., Koops, H.-P., Juretschko, S. and Wagner, M., 2000, "Phylogeny of All Recognized Species of Ammonia Oxidizers Based on Comparative 16S rRNA and *amo*A Sequence Analysis: Implications for Molecular Diversity Surveys", Applied and Environmental Microbiology, 66(12), 5368–5382.

Putra, A.S., 2014, "Analisis Distribusi Kecepatan Aliran Sungai Musi (Ruas Sungai: Pulau Kemaro sampai dengan Muara Sungai Komering)", Jurnal Teknik Sipil dan Lingkungan, 2(3), 603-608.

Rabalais, N.N., 2002, "Nitrogen in Aquatic Ecosystems", AMBIO A Journal of the Human Environment, 31(2), 102–112.

Randall, D.J. and Tsui, T.K.N., 2002, "Ammonia Toxicity in Fish", Marine Pollution Bulletin, 45, 17-23.

Razi, N., Fildzah, F., Dhani, D., Nasir, M., Rizki, A. and Firdus, F., 2023, "Literatur Review: Pencemaran Logam Berat Di Pelabuhan Indonesia", Jurnal Laot Ilmu Kelautan, 5(1), 48.

Ripple, W., 2003, *Nitrification Basics for Aerated Lagoon Operators*. 4th Annual Lagoon Operators Round Table Discussion Ashland WWTF.

Rotthauwe, J.-H., Witzel, K.P. and Liesack, W., 1997, "The Ammonia Monooxygenase Structural Gene *amo*A as a Functional Marker: Molecular Fine-Scale Analysis of Natural Ammonia-Oxidizing

Populations", Applied and Environmental Microbiology, 63(12), 4704–4712.

Rozirwan, 2015, Eksplorasi Spasial Karang Lunak Kaitannya dengan Senyawa Bioaktif Bakteri Simbion, Disertasi: Institut Pertanian Bogor.

Safitri, S., Trimuliani, I., Rahmawati, A., Wahyuana, B. dan Saeroji, A., 2023, "Pemberdayaan Kelompok Tani Melalui Pelatihan Pembuatan Starter Pengomposan Dari Nitrobacter Di Desa Kanoman Kabupaten Klaten", Jurnal Abdi Masyarakat Indonesia, 3(2), 555-562.

Sahan, E. and Muyzer, G., 2008, "Diversity and Spatio-Temporal Distribution of Ammonia-Oxidizing Archaea and Bacteria in Sediments of the Westerschelde Estuary", FEMS Microbiology Ecology, 64(2), 175–186.

Samuel, dan Adjie, S., 2008, "Zonasi, Karateristik Fisika-Kimia Air dan Jenis-Jenis Ikan yang Tertangkap di Sungai Musi, Sumatera Selatan", Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia, 15(1), 41-48.

Santos, J.P., Mendes, D., Monteiro, M., Ribeiro, H., Baptista, M.S., Borges, M.T. and Magalhães, C., 2018, "Salinity Impact on Ammonia Oxidizers Activity and *amo*A Expression in Estuarine Sediments", Estuarine, Coastal and Shelf Science, 211, 177-187.

Santoso, A., 2018, "Keragaan Nilai DO, BOD Dan COD Di Danau Bekas Tambang Batubara Studi Kasus Pada Danau Sangatta North PT. KPC Di Kalimatan Timur", Jurnal Teknologi Lingkungan, 19(1), 89.

Sayavedra-Soto, L.A., Hommes, N.G., Alzerreca, J.J., Arp, D.J., Norton, J.M. and Klotz, M.G., 1998, "Transcription of the *amo*C, *amo*A and *amo*B Genes in *Nitrosomonas europaea* and *Nitrosospira* sp. NpAV", FEMS Microbiology Letters, 167, 81–88.

Setiapermana, D., 2006, "Siklus Nitrogen di Laut", Oseana, XXXI(2), 19–31.

Setioningsih, E., Suranto, dan Pangastuti, A., 2014, "Analisis T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) Komunitas Metanogen selama Fermentasi Anaerobik Limbah Cair Tahu", EL-VIVO, 2(1), 37–48.

Sher, Y., Zaady, E. and Nejidat, A., 2013, "Spatial and Temporal Diversity and Abundance of Ammonia Oxidizers in Semi-Arid and Arid Soils: Indications for a Differential Seasonal Effect on Archaeal and Bacterial Ammonia Oxidizers", FEMS Microbiology Ecology, 86(3), 544–556.

Shimomura, Y., Morimoto, S., Takada Hoshino, Y., Uchida, Y., Akiyama, H. and Hayatsu, M., 2012, "Comparison among *amo*A Primers Suited for Quantification and Diversity Analyses of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Soil", Microbes and environments, 27(1), 94–8.

Simpson, G.G., 1961, *Principles of Animal Taxonomy*. New York: Columbia University Press.

Sipayung, S.B. dan Cholianawati, N., 2011, Prediksi Debit Aliran di DAS Musi (Sumatera Selatan), Seminar Nasional Sains Atmosfer dan Antariksa, Lembaga Penerbangan dan Antariksa Nasional, Jakarta.

Spotte, S., 1979, *Fish and Invertebrate Culture. Water Management in Closed Cystem*, 2nd Edition, A Willey Int. Pub. John Willey and sons, New York.

Stackebrandt, E. and Goebel, B.M., 1995, "A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology", International Jurnal of Systematic Bacteriology, 44, 846-849.

Stoica, E., 2009, "Application of T-RFLP Analysis to the Study of the Coastal Black Sea Bacterioplankton", Romanian Biotechnological Letters, 14(5), 4710–4719.

Stres, B., 2006, "The First Decade of Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) in Microbial", Acta Agriculturae Slovenica, 88(2), 65–73.

Tymensen, L., Barkley, C. and McAllister, T.A., 2012, "Relative Diversity and Community Structure Analysis of Rumen Protozoa According to T-RFLP and Microscopic Methods", Journal of Microbiological Methods, 88(1), 1–6.

Utomo, M., Prabaningtyas, S., Lelitawati, M., Rizqiyah, A., Lovely, F., Zahida, N. and Pratama, N., 2022, "Perbandingan Kemampuan Effective Microorganisms (Em4) Dan *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Cair Tahu Pada Kondisi Aerob", Jurnal Ilmu Hayat, 6(1), 42.

Utpalasari, R.L. dan Anwar, S., 2017, Peran Kelompok Budidaya Ikan (POKPADAN) Kecamatan Gandus terhadap Kebutuhan Konsumsi di Kota Palembang, Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2017, Pusat Unggulan Riset Pengembangan Lahan Suboptimal Universitas Sriwijaya.

van Niftrik, L.A., Fuerst, J.A., Damste, J.S.S., Kuenen, J.G., Jetten, M.S.M. and Strous, M, 2004, "The Anammoxosome: An Intracytoplasmic Compartment in Anammox Bacteria", *FEMS Microbiology Letters,* 233(1), 7–13.

Ward, D.M., 1998, "A Natural Species Concepts for Procaryotes", Current Opinion in Microbiology, 1, 271-277.

Ward, B.B., 2000, *Nitrification and the Marine Nitrogen Cycle in Microbial Ecology of the Oceans*, Wiley-Liss, New York.

Watson, S.W., Bock, E., Harms, H., Koops, H.P. and Hooper, A.B., 1989, *Nitrifying Bacteria*, p. 1808–1834. *In* Staley, J.T., Bryant, M.P.,

Pfennig, N., and Holt, J.G., (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 3. Williams and Wilkins, Baltimore, Md.

Whitby, C.B., Saunders, J.O.N.R., Rodriguez, J. and Pickup, R.W., 1999, "Phylogenetic Differentiation of Two Closely Related *Nitrosomonas* spp. that Inhabit Different Sediment Environments in an Oligotrophic Freshwater Lake", Applied and Environmental Microbiology, 65(11), 4855–4862.

Widiastuty, S., 2001, Dampak Pengolahan Limbah Cair PT Pupuk Sriwidjaja terhadap Kualitas Air Sungai Musi Kotamadya Palembang. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Indonesia.

Winter, C., Matthews, B. and Suttle, C.A., 2013, "Effects of Environmental Variation and Spatial Distance on Bacteria, Archaea and Viruses in Sub-Polar and Arctic Waters", The ISME Journal, 7(8), 1507–1518.

Zhang, R., Thiyagarajan, V. and Qian, P.-Y., 2008, "Evaluation of Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis in Contrasting Marine Environments", FEMS Microbiology Ecology, 65(1), 169–178.

Zheng, Y., Hou, L., Newell, S., Liu, M., Zhou, J., Zhao, H., You, L. and Cheng, X., 2014, "Community Dynamics and Activity of Ammonia-Oxidizing Prokaryotes in Intertidal Sediments of the Yangtze Estuary", Applied and Environmental Microbiology, 80(1), 408–419.

Zulapriansyah, R., Supraba, I. and Azis, M., 2022, "Kajian Pengaruh Lapisan Media Pada Non-Vegetated Swale Sebagai Filter Larutan Pupuk NPK", Jurnal Sains &Teknologi Lingkungan, 14(2), 136-146.

PROFIL PENULIS

Dr. Melki, S.Pi., M.Si.

Lahir di Payaraman pada 25 Mei 1980, Dr. Melki adalah seorang akademisi dan pakar di bidang Ilmu Kelautan. Saat ini, beliau menjabat sebagai Lektor Kepala di Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Sriwijaya. Dedikasinya dalam dunia pendidikan dan penelitian telah memberikan kontribusi signifikan bagi pengembangan ilmu kelautan di Indonesia, khususnya dalam bidang mikrobiologi laut dan ekosistem perairan.

Keahlian Dr. Melki mencakup studi tentang komunitas mikroba, termasuk mikroba pengoksidasi amonia yang menjadi fokus buku ini. Pengalaman luasnya sebagai peneliti dan pendidik menjadikannya sosok yang kompeten untuk menyajikan pembahasan mendalam tentang peran mikroba dalam siklus nitrogen di lingkungan perairan.

Buku berjudul "Komunitas Mikroba Pengoksidasi Amonia" ini merupakan wujud komitmennya dalam menyebarluaskan pengetahuan ilmiah terkini kepada akademisi, peneliti, dan praktisi di bidang ilmu kelautan dan mikrobiologi. Dr. Melki berdomisili di Indralaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan, dan aktif berkontribusi dalam pengembangan sains melalui karya tulis dan penelitian.

Catatan:

KOMUNITAS MIKROBA PENGOKSIDASI AMONIA

Pernahkah kamu berpikir bahwa di balik bau tanah basah, jernihnya air sungai, atau bahkan di dalam instalasi pengolahan limbah, ada pasukan mikroba kecil yang bekerja tanpa henti menjaga keseimbangan alam?

Buku ini mengajakmu menyelami dunia tersembunyi para mikroba pengoksidasi ammonia makhluk-makhluk mikroskopis yang menjadi tokoh utama dalam proses nitrifikasi, bagian penting dari siklus nitrogen. Mereka bukan sekadar bakteri biasa. Mereka adalah pahlawan tak terlihat yang menyaring limbah, menjaga kualitas air, dan bahkan membantu menyuburkan tanah tanpa kita sadari.

SCAN ME

Penerbit Adab
@penerbitadab
www.penerbitadab.id
@penerbitadab

Layanan Pembaca :
0812-2115-1025

ISBN 978-634-216-201-9
9 786342 162019