

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Januari 2019 hingga Mei 2019. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Teknobiologi-Lingkungan Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Sampel limbah cair berasal dari IPAL Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan

Pada penelitian, alat yang digunakan yaitu petri microwave, ose gelas objek, tabung reaksi, jarum ose, bunsen, haemocytometer, gelas benda, gelas penutup, mikroskop, akuarium, Erlenmeyer, spektrofotometer, labu penyuling, kuvet, TDS meter, kertas saring, timbangan, oven, propipet, pipet ukur, mikrotip, autoclave dan inkubator.

Bahan yang digunakan yaitu medium NA (Nutrien Agar), medium NB (Nutrien Broth), akuades, kapas, gram A, gram B, gram C, gram D, H₂O₂, arang kayu, indikator Fenolftalin, H₂SO₄ 5N, larutan campuran, larutan penyangga Borat, butir batu didih, larutan Nessler, MnSO₄, larutan Alkali Azida, indikator Kanji, Natrium Throsulfate 0,1N, isolat murni bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi*.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* dengan beberapa perlakuan koloni / gram (tanpa perlakuan, penambahan tabung A bakteri, penambahan tabung B bakteri, penambahan tabung C bakteri). Tahap pelaksanaan dilakukan meliputi analisis

sempel yang dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, ke-9, ke-12 dan ke-15.

Rancangan percobaan yang akan dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Faktorial

Pengulangan	<i>Acinetobacter baumannii</i>			<i>Nitrobacter winogradskyi</i>				
	Kontrol	TR. A ₁	TR. B ₁	TR. C ₁	Kontrol	TR. A ₂	TR. B ₂	TR. C ₂
1	K ₁	A.A ₁	A.B ₁	A.C ₁	K ₂	A.A ₂	A.B ₂	A.C ₂
2	K ₁	B.A ₁	B.B ₁	B.C ₁	K ₂	B.A ₂	B.B ₂	B.C ₂
3	K ₁	C.A ₁	C.B ₁	C.C ₁	K ₂	C.A ₂	C.B ₂	C.C ₂

Keterangan:

K : Kontrol (Tanpa penambahan bakteri)

TR. A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8

TR. B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$

TR. C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

TR. A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8

TR. B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$

TR. C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8

D. Cara Kerja

1. Pembuatan Medium

a. Nutrien Agar (NA)

Medium *Nutrient Agar* dibuat dengan cara melarutkan 42 gr *Nutrient Agar* kedalam 1500 ml aquades steril dalam erlenmeyer. Larutan ini selanjutnya dipanaskan diatas kompor listrik sambil diaduk-aduk selama 10-15 menit, selanjutnya disterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit (Hadioetomo, 1993).

b. Nutrien Broth (NB)

Medium *Nutrient Broth* dibuat menurut Hadioetomo (1993) dengan cara melarutkan 9,6 gr *Nutrient Broth* ke dalam 1200 ml akuades steril dalam erlenmeyer. Larutan ini selanjutnya dipanaskan diatas kompor listrik sambil

diaduk-aduk selama 10-15 menit, selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Uji Kemurnian

Isolat murni bakteri *Nitrobacter winogradskyi* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pasca Sarjana UGM. Isolat murni bakteri dan isolat murni bakteri *Acinetobacter baumannii* diperoleh dari Departemen Mikrobiologi Klinik FKUA RSUD Dr. Soetomo. Uji kemurnian dilakukan dengan pengamatan morfologi, pengecatan Gram, uji katalase dan uji motilitas.

a. Pengamatan Morfologi

Biakan murni bakteri diambil menggunakan ose, kemudian digoreskan pada petri yang berisikan medium agar. Petri kemudian diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 37°C. Morfologi biakan diamati (Joddi, 2006).

b. Pengecatan Gram

Bakteri biakan diambil lalu diletakan pada gelas benda yang sudah steril. Gram A ditambahkan dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dan dikering anginkan. Gram B ditambahkan dan diberi perlakuan yang sama dengan gram A. Gram C ditambahkan dan didiamkan selama 30 detik, dibilas dan dikering anginkan. Gram D ditambahkan dan didiamkan selama 2 menit, dibilas dan dikering anginkan. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop (Umsil, 2008).

c. Uji Katalase

Biakan bakteri diambil menggunakan ose kemudian dioleskan pada gelas objek. Senyawa H_2O_2 kemudian ditetaskan pada preparat bakteri lalu diamati ada

tidaknya gelembung udara berupa buih pada preparat (Page, 2006).

d. Uji Motilitas

Medium NA disiapkan pada tabung reaksi. Biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose pada isolat bakteri. Jarum ose kemudian ditusukan pada medium dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 37°C. motilitas ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar pada medium NA (Volk dan Margaretha, 1988).

3. Perbanyakan Biakan

Perbanyakan biakan dilakukan pada medium NB yang sudah disiapkan dan disterilisasi sebelumnya. Bakteri biakan diambil menggunakan ose yang sudah difiksasi menggunakan bunsen dan digoreskan secara perlahan tanpa menyentuh dinding tabung. Mulut tabung reaksi difiksasi lalu ditutup menggunakan kapas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Jutono dkk., 1973)

4. Perhitungan Bakteri (Wijaya dkk., 2015)

a. Perhitungan Sel Total

Biakan dari medium NB diambil sebanyak 1 ml dan diencerkan dengan akuades steril sebanyak 9 ml dalam tabung reaksi kemudian diambil lagi sebanyak 1 ml dan diencerkan kembali hingga 10^{-5} . Hasil pengenceran ditetaskan pada haemocytometer lalu ditutup menggunakan gelas penutup dan diamati menggunakan mikroskop.

Jumlah sel total dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah Rata – rata Bakteri} \times 25 \times 10^3 \times 1/\text{Faktor Pengenceran}$$

b. Perhitungan Koloni

Perhitungan koloni bakteri dihitung menggunakan metode tidak langsung dengan cara mengambil 1 ml sampel air limbah yang telah ditambahkan bakteri kemudiah diencerkan menggunakan akuades 9 ml hingga didapatkan pengenceran 10^{-3} . Jumlah koloni dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan:

N : Jumlah koloni (koloni/ml)
 n_1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n_2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d : Pengenceran pertama yang dihitung
 $\sum C$: Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

5. Persiapan Sampel

Sampel limbah cair diambil dari Rumah Sakit Panti Rapih yang dibagikan ke dalam 21 tabung akuarium untuk 3 kali pengulangan. Masing-masing tabung akuarium akan diisi air limbah sebanyak 10 liter. Air limbah akan diambil dari bak penangkap pasir IPAL RS Panti Rapih Yogyakarta.

Sampel limbah yang telah dimasukkan ke dalam akuarium ditambahkan arang kayu sebagai media pertumbuhan lekat. Masing-masing akuarium diberi penambahan bakteri tabung A_1 , tabung B_1 , tabung C_1 , tabung A_2 , tabung B_2 dan tabung C_2 .

6. Pengecekan Sampel Limbah

a. Pengecekan Kadar Fosfat

Air sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 50 ml dan ditambahkan 1 tetes indikator fenolftalin. Jika warna sampel berubah menjadi

merah muda, tambahkan H_2SO_4 5 N hingga warna hilang. Lalu ditambahkan larutan campuran (larutan H_2SO_4 5 N 50 ml, larutan kalium antimotil tartrat 5 ml, larutan ammonium molibdat 15 ml dan larutan asam askorbat 30 ml) sebanyak 8 ml dan dihomogenkan. Larutan sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer. Hasil yang tertera dicatat serapannya pada panjang gelombang 880 nm dalam kisaran 10 menit hingga 30 menit. Kadar fosfat dihitung dengan cara berikut (SNI 06-6989.31-2005 dimodifikasi)

$$\text{Kadar Fosfat (mg P/L)} : C \times fp$$

Keterangan :

C : Kadar yang didapat dari hasil pengukuran (mg/L)

fp : Faktor pengenceran

b. Pengecekan Amonia

Sampel dimasukkan ke dalam labu penyuling berukuran 500 ml sebanyak 300 ml. Lalu ditambahkan 25 ml larutan penyangga borat serta beberapa butir batu didih. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 50 ml dan ditambahkan larutan Nessler sebanyak 1 ml lalu digojok. Sampel didiamkan selama 10 menit dan 1 ml sampel dimasukkan ke dalam kuvet pada alat spektrofotometer. Hasil yang tertera dicatat (SNI 06-2480-1991 dalam modifikasi)

c. Pengukuran Parameter BOD

Sampel dimasukkan ke dalam botol sebanyak 5 ml, ditambahkan 1 ml MnSO_4 dan 1 ml larutan alkali azida. Botol sampel ditutup dan digojog, lalu dibiarkan hingga membentuk endapan. Sampel kemudian ditambahkan 1 ml H_2SO_4 pekat dan botol digojog hingga endapan yang terbentuk dapat terlarut. Sampel ditambahkan indikator kanji 1-2 tetes dan dititrasi dengan

menggunakan natrium thiosulfate 0,1 N hingga warna pada sampel berubah (Alaerts dan Santika, 1984).

d. Pengukuran Parameter TDS

Pengukuran TDS menggunakan alat TDS Meter dengan mark Eutech CON 700. Alat dinyalakan dengan menekan tombol power kemudian alat dibilas menggunakan akuades dan dikeringkan menggunakan tissue. TDS Meter dicelupkan ke dalam sampel hingga batas elektroda dan ditekan tombol CAL/MEAS. Ditunggu nilai pembacaan TDS hingga stabil dan dicatat nilai TDS yang muncul pada layar (Nicola, 2015).

e. Pengukuran Parameter TSS

Pengujian dilakukan dengan penyaringan menggunakan kertas saring yang telah dicuci menggunakan air suling sebanyak 3 kali dan kertas dibiarkan kering. Penyaringan sampel kemudian dilanjutkan dengan menggunakan vakum selama 3 menit agar didapatkan penyaringan sempurna. Kertas saring kemudian dipindahkan secara hati-hati dari peralatan penyaringan ke wadah timbang aluminium. Wadah kemudian dikeringkan di dalam oven selama 1 jam pada suhu 103°C-105°C

7. Teknik Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan ANAVA untuk mengetahui letak beda nyata dengan kontrol menggunakan uji Dunnet dan uji Duncan untuk mengetahui letak beda nyata antara perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%. Analisis data juga dilakukan menggunakan uji DMRT (Uji Duncan Multiple

Range Test) dengan program SPSS 17 untuk melihat jenis terbaik berdasarkan ranking.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan pengamatan morfologi menggunakan metode *streak plate*, uji pengecatan gram, uji motilitas, dan uji katalase. Hasil uji kemurnian bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 1.

Tabel 3. Hasil Uji Kemurnian Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Uji Kemurnian Bakteri	Hasil Uji Kemurnian	Bergey and Boone (2001)
Morfologi Koloni	Bulat	Bulat
Pengecatan Gram	Negatif	Negatif
Uji Motilitas	Nonmotil	Nonmotil
Uji Katalase	Positif	Positif

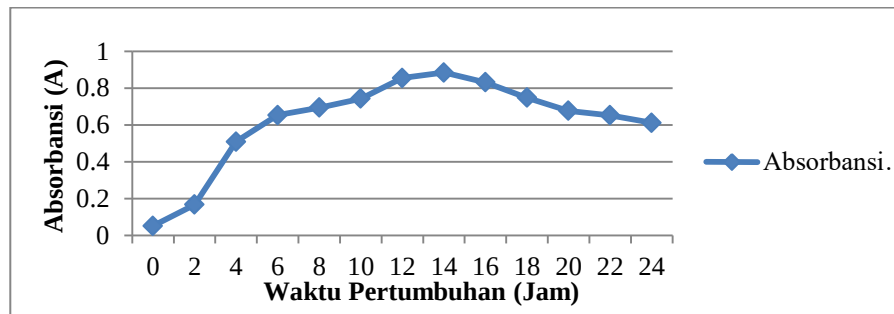
Pada Tabel 3 menunjukkan hasil uji kemurnian bakteri *Acinetobacter baumannii* dan hasil menunjukkan karakteristik dari bakteri *Acinetobacter baumannii* berdasarkan teori dari Bergey and Boone (2001). Karakteristik berdasarkan hasil uji kemurnian bakteri *Nitrobacter winogradskyi* sama dengan teori dari Bergey and Boone (2001). Hasil uji kemurnian bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Tabel 4 dan Lampiran 1.

Tabel 4. Hasil Uji Kemurnian Bakteri *Nitrobacter winogradskyi*

Uji Kemurnian Bakteri	Hasil Uji Kemurnian	Bergey and Boone (2001)
Morfologi Koloni	Bulat	Bulat
Pengecatan Gram	Negatif	Negatif
Uji Motilitas	Nonmotil	Nonmotil
Uji Katalase	Positif	Positif

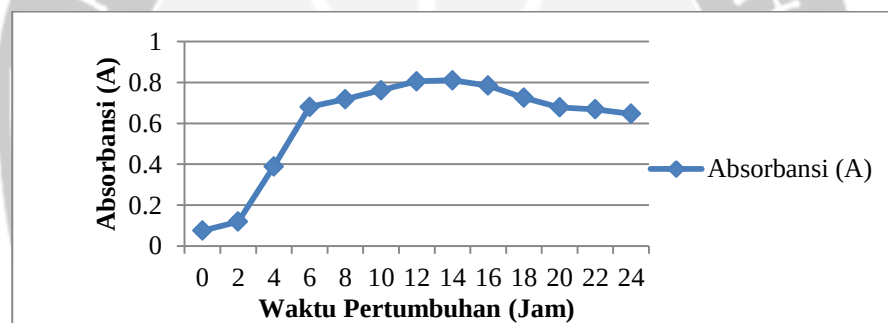
B. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* pada medium *broth* cair selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pertumbuhan Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Pada Gambar 2, jam ke-0 hingga jam ke-14 adalah fase eksponensial. Jam ke-16, grafik mengalami penurunan memasuki fase kematian. Kurva pertumbuhan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* medium *broth* cair selama 24 jam dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pertumbuhan Bakteri *Nitrobacter winogradskyi*.

Pada Gambar 3 menunjukkan fase eksponensial pada jam ke-0 hingga jam ke-12. Pada jam ke-14 hingga jam ke-24, bakteri masuk ke dalam fase kematian ditunjukkan dengan penurunan grafik.

C. Perhitungan Sel Total Bakteri

Perhitungan sel bakteri dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan bakteri setelah dimasukkan ke dalam limbah (Rajasa, 2010). Jumlah sel bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Jumlah Sel Total Bakteri *Acinetobacter baumannii* pada Variasi Jumlah Tabung Reaksi

No	Variasi				Jumlah Sel Total <i>Acinetobacter baumannii</i>
1	Penambahan	Tabung	A ₁	Bakteri	45 x 10 ⁸
	<i>Acinetobacter baumannii</i>				
2	Penambahan	Tabung	B ₁	Bakteri	67,5 x 10 ⁸
	<i>Acinetobacter baumannii</i>				
3	Penambahan	Tabung	C ₁	Bakteri	90 x 10 ⁸
	<i>Acinetobacter baumannii</i>				

Pada Tabel 5 menunjukkan jumlah sel total bakteri *Acinetobacter baumannii* yang dimasukkan ke dalam sampel limbah cair. Kepadatan jumlah sel bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Jumlah Sel Total Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* pada Variasi Jumlah Tabung Reaksi

No	Variasi				Jumlah Sel Total <i>Nitrobacter winogradskyi</i>
1	Penambahan	Tabung	A ₂	Bakteri	43 x 10 ⁸
	<i>Nitrobacter winogradskyi</i>				
2	Penambahan	Tabung	B ₂	Bakteri	64,5 x 10 ⁸
	<i>Nitrobacter winogradskyi</i>				
3	Penambahan	Tabung	C ₂	Bakteri	86 x 10 ⁸
	<i>Nitrobacter winogradskyi</i>				

D. Limbah Cair Rumah Sakit

Sampel limbah cair diambil dari bak penangkap pasir. Bak penangkap pasir adalah bak dimana limbah cair masuk kedalam bak inlet dan telah melalui proses penyaringan secara fisik. Bak penangkap pasir dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bak Pengambilan Sampel Limbah Cair Rumah Sakit

Limbah cair pada IPAL berasal dari kegiatan pelayanan poli, kegiatan ruang rawat inap, kegiatan pada dapur, kegiatan *laundry* dan lain-lain. Pengecekan limbah cair meliputi uji kandungan fosfat, amonia, BOD, TDS dan TSS dengan hasil kandungan fosfat, Amonia, BOD dan TSS masih di atas standar baku mutu air limbah untuk kegiatan Rumah Sakit berdasarkan Peraturan Daerah DIY No. 7 Tahun 2016 dan Peraturan Daerah DIY No. 7 Tahun 2010. Kadar TDS berdasarkan hasil pengecekan di bawah standar baku mutu limbah cair. Hasil pengujian limbah cair dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Limbah Cair pada Bak Penangkap Pasir

Parameter	Hasil Pengecekan (mg/L)	Standar Baku Mutu (mg/L)
Fosfat ^(b)	14,467	2
Amonia ^(a)	45,550	1
BOD ^(a)	84,220	30
TDS ^(a)	885	2000
TSS ^(a)	165	30

Keterangan :

a) Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta No. 7 Tahun 2016

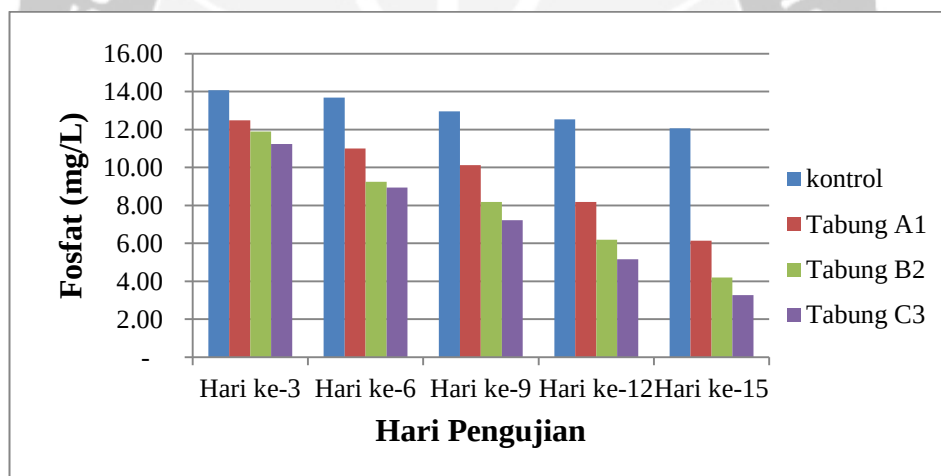
b) Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta No. 7 Tahun 2010

E. Perhitungan Fosfat

Fosfat adalah salah satu bahan penting dalam pembuatan deterjen. Kandungan fosfat yang tinggi dalam badan air dapat meningkatkan pertumbuhan

alga yang mengakibatkan warna air menjadi kehijauan, berbau tidak sedap dan kadar kekeruhan meningkat (Budi, 2006). Kandungan fosfat pada sampel limbah dilakukan sebelum diaplikasikan yaitu 14,467 mg/L. Pengujian fosfat dilakukan pengulangan pengukuran setiap 3 hari selama 15 hari.

Selain terjadi penurunan kandungan fosfat pada perlakuan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi*, penurunan kandungan fosfat juga terjadi pada perlakuan kontrol. Hal ini membuktikan adanya aktifitas mikrobial alami dari limbah cair rumah sakit yang mampu menurunkan kandungan fosfat. Penurunan kadar fosfat dengan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengukuran Fosfat pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari

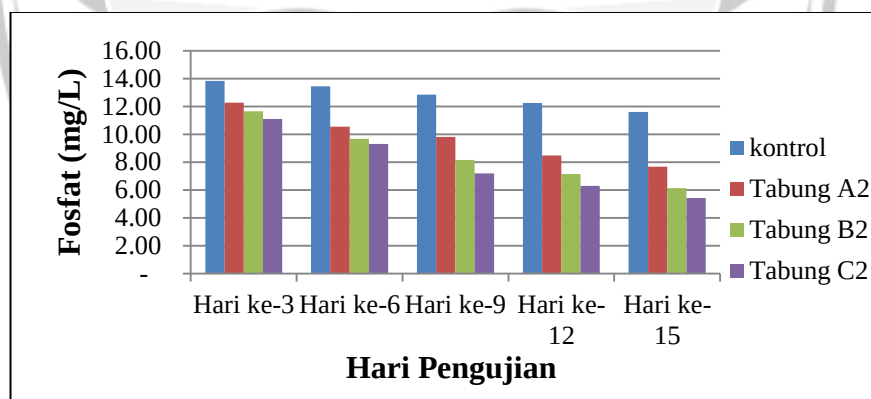
Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

Pada Gambar 5 memperlihatkan penurunan kandungan fosfat dengan empat perlakuan. Pada grafik penurunan fosfat, dapat dilihat bahwa kandungan fosfat tertinggi terdapat pada hari ke-3 dengan perlakuan kontrol yaitu 14,082 mg/L dan kandungan fosfat terendah pada hari ke-15 dengan perlakuan

penambahan tabung C₁ bakteri *Acinetobacter baumannii* yaitu 3,268 mg/L. Hasil analisis ANAVA menunjukkan ada beda nyata antara setiap perlakuan pada tingkat kepercayaan 95%.

Menurut Arifah (2008), bakteri *Acinetobacter baumannii* termasuk bakteri golongan *polyphosphate accumulating organisms* (PAO) yaitu memiliki kemampuan mengkonsusmsi fosfat melebihi kebutuhan sel normal. Efektifitas penurunan kandungan fosfat dalam limbah cair rumah sakit dengan bantuan bakteri *Acinetobacter baumannii* sebesar 68,67%. Menurut Kusnadi dkk (2003), bakteri dapat menyusun bahan anorganik menjadi senyawa organik yang sangat kompleks, juga memperlihatkan kemampuan dalam memanfaatkan bahan makanan yang tersebar. Penurunan kandungan fosfat menggunakan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Tabel 6.



Gambar 6. Pengukuran Fosfat pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
- Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
- Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8

Pada Gambar 6 menunjukan penurunan fosfat dengan penambahan bakteri *Nitrobacter winogradskyi*. Kandungan fosfat tertinggi dapat dilihat pada

Lampiran 5 yaitu hari ke-3 perlakuan kontrol dengan kandungan fosfat yaitu 13,835 mg/L dan kandungan fosfat terendah pada hari ke-15 dengan perlakuan penambahan tabung C₂ bakteri *Nitrobacter winogradskyi* yaitu 5,422 mg/L. Hasil ANAVA menunjukkan adanya beda nyata antara perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%. Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat menurunkan 65,23% kandungan fosfat.

Fosfat dalam bentuk cair berupa orthophosphate, polyphosphate dan organic phosphate. Senyawa orthophosphate dimanfaatkan oleh bakteri untuk pertumbuhan bakteri. Unsur P berperan dalam pembentukan asam nukleat dan fosfolipid (Sucipta, 2012). Menurut Peleazar (1988), garam-garam fosfat merupakan salah satu nutrisi penting untuk pertumbuhan mikrobial. Pemanfaatan fosfat sebagai sumber nutrisi untuk proses metabolisme organisme di lingkungan menyebabkan penurunan kandungan fosfat. Maka fosfat yang terkandung pada limbah cair dimanfaatkan langsung oleh bakteri *Nitrobacter winogradskyi* sebagai sumber nutrisi.

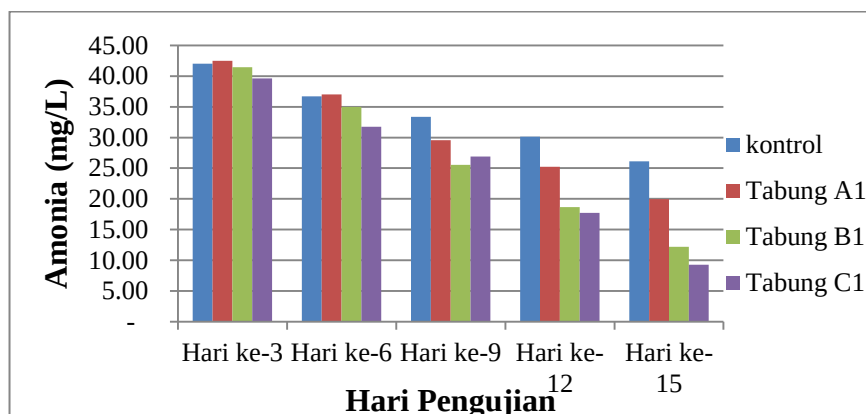
Berdasarkan hasil DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dapat dilihat bahwa terjadi beda nyata dalam uji penurunan fosfat antara kedua jenis bakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa penurunan kandungan fosfat paling baik yaitu penambahan tabung C₁ dan tabung C₂ bakteri dan dari hasil rata-rata perbandingan kedua bakteri yang lebih baik dalam penurunan kandungan fosfat yaitu dengan menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* karena menurunkan 68,67% kandungan fosfat, sedangkan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* mampu menurunkan 65,23% kandungan fosfat.

Menurut Yahya (2010), bakteri membutuhkan nutrisi berupa nitrogen dan fosfat yang terdapat di dalam limbah cair untuk sumber energi. Bakteri akan mendekomposisi nutrisi tersebut. Penurunan kadar fosfat dengan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* maupun bakteri *Nitrobacter winogradskyi* belum mencapai baku mutu sesuai Peraturan Daerah DIY No.7 Tahun 2016. Menurut Pelczar (1988), mikroorganisme memiliki persyaratan tertentu dalam bentuk zat-zat kimiawi. Nutrisi yang dibutuhkan sangat beragam untuk pertumbuhan dan fungsi yang normal. Penurunan kandungan fosfat menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* sudah mendekati standar baku mutu Peraturan Daerah DIY.

F. Perhitungan Amonia

Amonia dalam limbah cair dapat berasal dari air seni, tinja dan juga dari oksidasi zat organik secara mikrobiologis yang berasal dari air buangan industri dan penduduk. Kadar amonia yang tinggi pada badan air dapat menyebabkan keracunan pada biota air dan jika terpapar oleh manusia dapat menyebabkan iritasi pada kulit, gangguan pernapasan dan iritasi pada mata. Maka dari sebab itu, pengelolaan air yang mengandung kadar amonia yang tinggi sangatlah penting (Effendi, 2003).

Menurut Salmin (2000), bakteri pengoksidasi amonia merupakan bakteri aerob. Kadar amonia pada sampel limbah cair diukur sebelum diaplikasikan dengan bakteri yaitu 45,550 mg/L. Penurunan kandungan amonia menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Gambar 7.



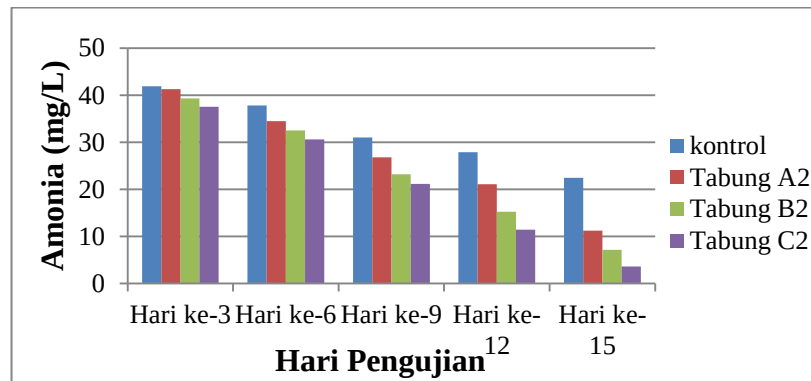
Gambar 7. Pengukuran Amonia pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

Pada Gambar 7 penurunan kadar amonia tertinggi pada perlakuan tabung A₁ bakteri *Acinetobacter baumannii* yaitu 42,475 mg/L dan kadar terendah amonia terdapat pada hari ke-15 dengan uji perlakuan penambahan tabung C₁ yaitu 9,266 mg/L. Hasil analisis ANAVA menunjukkan ada beda nyata dari setiap pengujian yang dilakukan dengan tingkat kepercayaan 95%. Penurunan kandungan amonia menggunakan bakteri *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari sebesar 63,75%.

Menurut Prashanth dan Badrinath (2000), bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat memanfaatkan nitrat dan amonia sebagai sumber N. Hal ini dikarenakan bakteri memiliki enzim nitrat reduktase yang ada di membran plasma. Sehingga terjadi penurunan kandungan amonia pada sampel limbah cair dengan bantuan bakteri bakteri *Acinetobacter baumannii*. Penurunan kandungan amonia menggunakan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengukuran Amonia pada Limbah Cair Rumah Sakit bakteri menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
- Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
- Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8

Pada Gambar 8 menunjukkan kadar amonia tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol hari ke-3 yaitu 41,321 mg/L dan kadar amonia terendah terdapat pada perlakuan penambahan tabung C₂ yaitu 3,589 mg/L. Berdasarkan hasil analisis ANAVA pada setiap hari uji, didapatkan beda nyata dengan tingkat kepercayaan 95%. Penurunan kandungan amonia selama 15 hari pengujian sebesar 56,87%. Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* merupakan bakteri nitrifikasi, yaitu bakteri yang dapat mengubah amonia menjadi nitrat melalui proses oksidasi biologi (Kusumastuti, 2013).

Menurut Spotte (1979), proses nitrifikasi melalui dua tahap reaksi. Tahap pertama yaitu oksidasi amonium (NH_4^+) menghasilkan senyawa nitrit (NO_2^-). Tahap kedua yaitu senyawa nitrit diubah menjadi nitrat (NO_3^-). Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi. Penurunan kandungan amonia pada penelitian yang dilakukan karna bakteri *Nitrobacter winogradskyi* mengubah amonia menjadi senyawa nitrat menggunakan enzim nitrit oksidase.

Perbandingan antara penurunan amonia menggunakan *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* berdasarkan hasil uji DMRT yaitu terdapat beda nyata. Berdasarkan hasil rata-rata kedua bakteri, bakteri yang paling baik dalam menurunkan kandungan amonia yaitu bakteri *Acinetobacter baumannii* karena dapat menurunkan 29,036 mg/L (63,75%), sedangkan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* menurunkan 25,902 mg/L (56,87%).

Menurut Said (2000), senyawa polutan yang ada di dalam air limbah misalnya senyawa organik (BOD, COD), amonia, fosfat dan lainnya akan terdifusi ke dalam lapisan atau film biologis yang melekat pada permukaan medium. Pada saat yang bersamaan dengan bantuan kandungan oksigen yang terlarut dalam limbah cair, polutan tersebut akan diuraikan oleh mikroorganisme yang ada di dalam lapisan biofilm dan energi yang dihasilkan akan diubah menjadi biomasa.

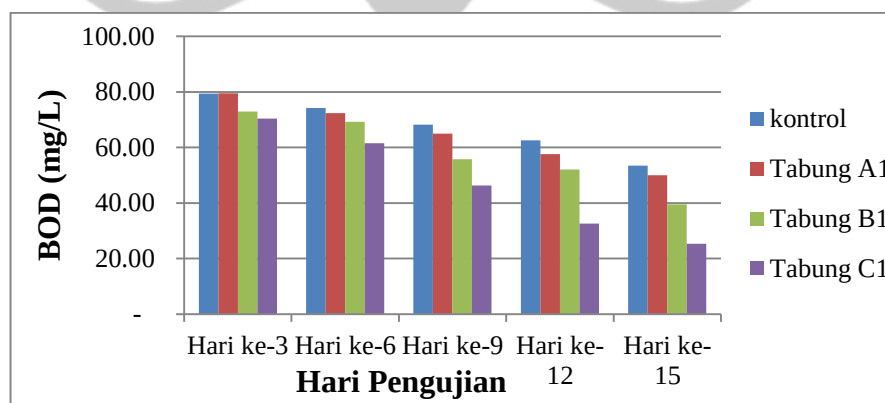
Pada penelitian ini, kadar amonia pada sampel limbah cair menurun dikarenakan amonia diuraikan oleh *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* yang ada di dalam biofilm yang terbentuk. Amonia akan diubah menjadi nitrat, selanjutnya nitrat yang terbentuk mengalami proses denitrifikasi menjadi gas nitrogen (Said, 2000). Hasil penurunan kadar amonia menggunakan *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* dalam 15 hari pengujian belum sesuai standar baku mutu peraturan daerah DIY No.7 Tahun 2016.

G. Perhitungan BOD (Biochemical Oxygen Demand)

BOD menunjukkan karakteristik jumlah oksigen yang terlarut dalam air yang dibutuhkan mikroorganisme untuk menguraikan bahan organik dalam air

(Metcalf & Eddy, 1991). Semakin tinggi nilai pada BOD maka semakin tinggi bahan organik yang terlarut dalam limbah cair dan mutu air semakin rendah. Kebutuhan oksigen pada bakteri mencerminkan yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi (Welma, 2013).

Nilai BOD sebelum dilakukan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7. Penurunan nilai BOD terjadi pada kontrol, perlakuan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan bakteri *Nitrobacter winogradskyi*. Menurut Pelchzar (1988), semakin banyak jumlah bakteri maka semakin tinggi juga jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan untuk peruraian. Penambahan bakteri tabung C₁ dan tabung C₂ menurunkan nilai BOD pada limbah cair rumah sakit lebih tinggi dibandingkan kontrol dan perlakuan yang lain. Bakteri aerob membutuhkan oksigen untuk beberapa reaksi biokimia diantaranya untuk mengoksidasi bahan organik, oksidasi sel dan sintesis sel. Penurunan kadar BOD dengan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Gambar 9.

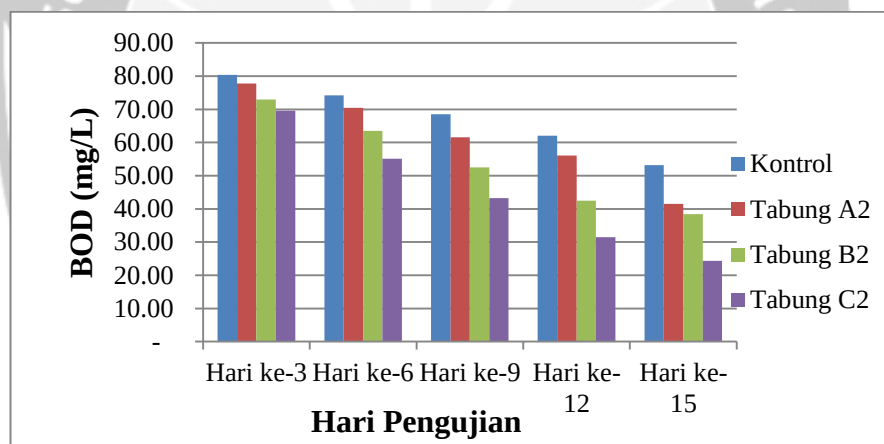


Gambar 9. Pengukuran BOD pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

Penurunan nilai BOD berdasarkan pada Gambar 9 dilihat bahwa terjadi penurunan kadar BOD. Hasil uji ANAVA terdapat beda nyata antara setiap hari uji dengan tingkat kepercayaan 95%. Nilai BOD tertinggi terdapat pada hari ke-3 dengan perlakuan kontrol dan tabung A₁ yaitu 79,38 mg/L dan 79,516 mg/L. Nilai BOD terendah terdapat pada perlakuan tabung C₁ nilai BOD yaitu 25,367 mg/L. Menurut Sitanggang (2008), semakin besar kepadatan bakteri yang ditambahkan pada limbah cair maka akan semakin cepat dalam menurunkan kadar BOD karena dapat mendekomposisi senyawa yang terlarut dalam limbah cair dengan efektif. Penurunan nilai BOD menggunakan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Pengukuran BOD pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
- Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
- Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8

Pada Gambar 10 yaitu grafik yang memperlihatkan penurunan kadar BOD. Berdasarkan analisis ANAVA, terdapat beda nyata antara tiap hari uji dengan tingkat kepercayaan 95%. Kadar tertinggi BOD terdapat pada hari ke-3 dengan perlakuan kontrol yaitu 80,427 mg/L dan kadar BOD terendah terdapat

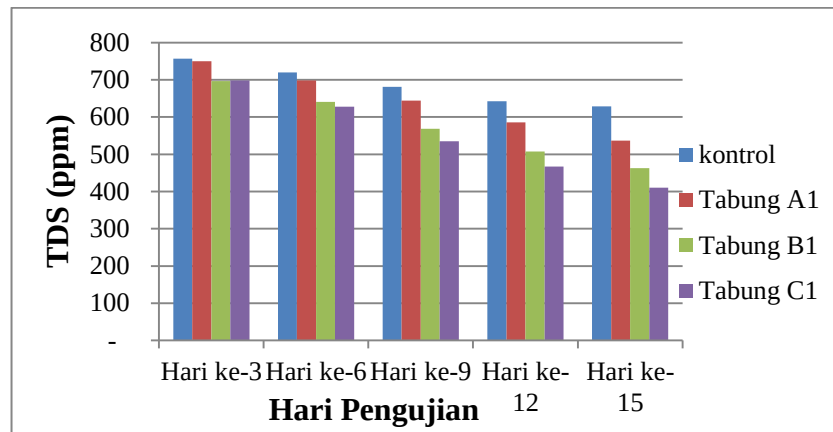
pada hari uji ke-15 dengan perlakuan uji penambahan tabung C_2 yaitu 24,331 mg/L.

Pada uji DMRT (Lampiran 10) dapat dilihat bahwa dari kedua jenis bakteri tersebut terdapat beda nyata dalam penurunan BOD. Berdasarkan hasil rata-rata penurunan, bakteri *Acinetobacter baumannii* lebih baik dalam penurunan kadar BOD karena dapat menurunkan 59,380 mg/L sedangkan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* menurunkan 56,973 mg/L. Nilai BOD dipengaruhi oleh kecepatan aktivitas mikroorganisme dalam mendekomposisikan bahan organik dan senyawa-senyawa (Fachrurrozi dkk., 2010). Penurunan BOD pada penelitian dapat disebabkan oleh penurunan bahan organik atau senyawa-senyawa yang telah didekomposisikan oleh mikroorganisme pada sampel limbah. Hasil penurunan BOD sudah memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan oleh peraturan daerah DIY No.7 Tahun 2016.

H. Perhitungan TDS (Total Dissolve Solid)

TDS atau *Total Dissolve Solid* atau padatan terlarut total dapat berupa zat organik, anorganik, atau material lainnya dengan diameter kurang dari 10^{-3} μm yang terdapat di dalam larutan yang terlarut dalam air (Mukhtasor, 2007). Perubahan kadar TDS dalam badan air dapat menyebabkan perubahan salinitas. Perubahan salinitas yang terjadi dapat mengganggu keseimbangan biota air, biodiversitas, menimbulkan spesies yang kurang toleran dan menyebabkan toksisitas yang tinggi terhadap kehidupan suatu organisme (Weber-Scannel and Duffy, 2007). Nilai TDS sebelum dilakukan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7.

Penurunan nilai TDS dengan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Gambar 11.



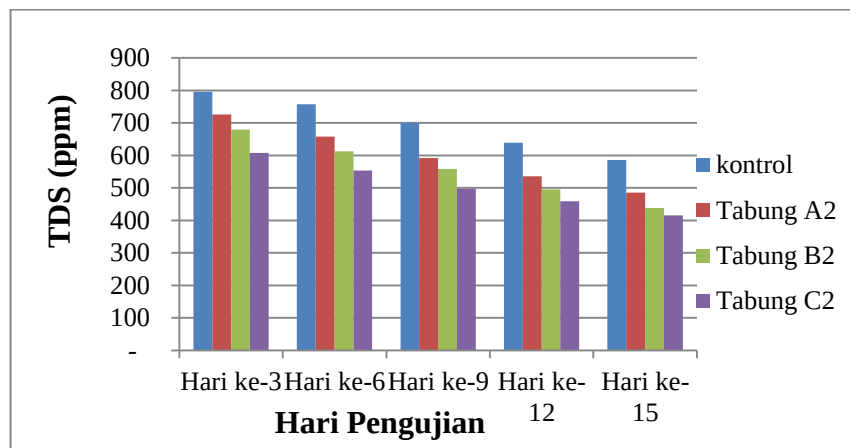
Gambar 11. Pengukuran TDS pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

Pada Gambar 11 menunjukkan penurunan kadar TDS. Berdasarkan analisis ANAVA tiap hari uji, terdapat beda nyata antara setiap hari uji dengan tingkat kepercayaan 95%. Kadar TDS tertinggi terdapat pada hari ke-3 dengan perlakuan kontrol yaitu 756,333 ppm dan kadar terendah TDS terdapat pada hari ke-15 dengan perlakuan penambahan tabung C₁ yaitu 410 ppm.

Pada Gambar 12 menunjukkan penurunan TDS menggunakan bakteri *Nitrobacter*. Nilai TDS tertinggi terdapat pada hari ke-3 dengan perlakuan kontrol dan nilai TDS terendah terdapat pada hari uji ke-15 dengan perlakuan penambahan tabung C₂ (Lampiran 8). Pada hasil analisis uji DMRT diketahui bahwa dengan penambahan tabung B₂ dan tabung C₂ sama bagusnya dalam menurunkan kadar TDS. Penurunan TDS menggunakan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Pengukuran TDS pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
- Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
- Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8

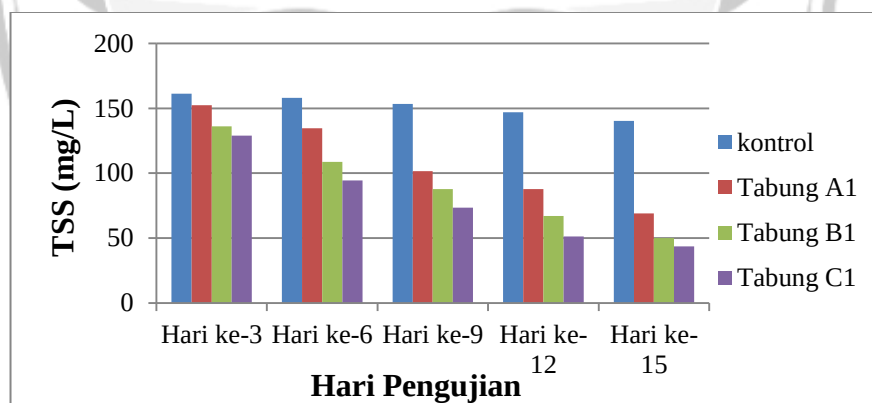
Berdasarkan hasil rata-rata kedua bakteri makan dapat dilihat bahwa bakteri *Acinetobacter baumannii* lebih baik dalam menurunkan TDS yaitu 612,766 ppm sedangkan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* menurunkan 589,5 ppm dalam waktu 15 hari uji. Menurut Titriesmi (2006), penurunan konsentrasi TDS dalam biofilter menunjukkan terjadinya proses penguraian dan penurunan TDS. Penguraian TDS oleh mikroorganisme untuk mensitesa sel.

Nilai TDS pada sampel limbah selama mengalami penurunan karna mikroorganisme menguraikan bahan organik maupun senyawa-senyawa yang terkandung di dalam sampel limbah. Nilai TDS pada sampel limbah kontrol, perlakuan penambahan bakteri bakteri *Acinetobacter baumannii* dan perlakuan penambahan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* memenuhi standar baku mutu pemerintah daerah DIY No.7 Tahun 2016.

I. Perhitungan TSS (Total Suspended Solid)

TSS merupakan bahan tersuspensi atau materi yang terkandung dalam air yang dapat menyebabkan kekeruhan air. Bahan tersuspensi dapat berupa lumpur, pasir halus dan jasad-jasad renik yang disebabkan oleh kikisan tanah atau erosi yang terbawa oleh badan air (Effendi, 2003). Nilai TSS sebelum dilakukan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 7.

Pada Gambar 13 menunjukkan penurunan nilai TSS. Hasil analisis ANAVA yaitu ada beda nyata antara setiap perlakuan uji. Nilai tertinggi TSS terdapat pada hari uji ke-3 dengan perlakuan kontrol dan nilai TSS terendah terdapat pada hari ke-15, perlakuan penambahan tabung C₁ dengan nilai TSS yaitu 43,667 mg/L (Lampiran 9). Penurunan kadar TSS dengan perlakuan penambahan bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Gambar 13.



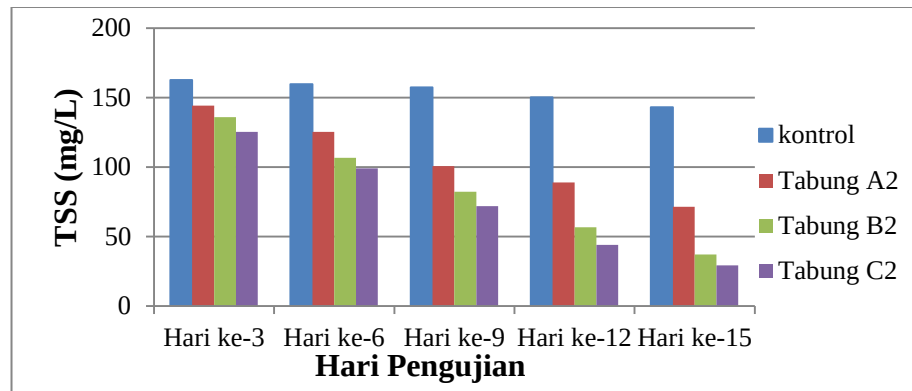
Gambar 13. Pengukuran TSS pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Acinetobacter baumannii* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8

Pada Gambar 14 menunjukkan adanya penurunan TSS dengan penambahan bakteri *Nitrobacter winogradskyi*. Nilai tertinggi TSS terdapat pada

hari uji ke-3 dengan perlakuan kontrol yaitu 162,667 mg/L dan nilai terendah TSS terdapat pada hari uji ke-15 dengan perlakuan penambahan tabung C₂ yaitu 29,333 mg/L (Lampiran 9). Penurunan TSS menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Pengukuran TSS pada Limbah Cair Rumah Sakit menggunakan *Nitrobacter winogradskyi* selama 15 hari

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
 - Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
 - Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8
- Hasil uji DMRT pada Lampiran 10 terdapat beda nyata antara bakteri

Acinetobacter baumannii dan *Nitrobacter winogradskyi* dalam menurunkan nilai TSS. Penambahan tabung C₁ dan tabung C₂ bekerja paling baik dalam menurunkan nilai TSS. Berdasarkan nilai rata-rata penurunan, bakteri *Acinetobacter baumannii* lebih baik dalam menurunkan nilai TSS yaitu 107,316 mg/L sedangkan rata-rata penurunan TSS menggunakan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dalam waktu 15 hari yaitu 104,6 mg/L.

Nilai TSS menunjukkan banyaknya bahan yang tersuspensi di dalam air. TSS berhubungan erat dengan kekeruhan air. Semakin tinggi nilai TSS maka air akan semakin keruh. Pada sampel limbah cair, endapan, koloid dan bahan terlarut yang berbentuk padat akan mengendap di dasar bila tidak dapat larut (Fachrurrozi

dkk., 2010). Hasil penelitian yang diketahui bahwa bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat menurunkan TSS hingga 29,333 mg/L dan memenuhi standar baku mutu pemerintah daerah DIY No.7 Tahun 2016 tentang standar baku mutu limbah cair instansi kesehatan yaitu 30 mg/L.

J. Perhitungan Koloni

Jumlah koloni bakteri dapat dilakukan dengan metode perhitungan secara tidak langsung. Suatu sampel yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per liter, per gram atau per cm permukaan harus dilakukan pengenceran sebelum ditambahkan pada medium. Jumlah terbaik yaitu 30-300 koloni (Pelczar, 2008). Hasil perhitungan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Hari Uji	Kontrol	Tabung A ₁	Tabung B ₁	Tabung C ₁
Hari ke-3	9959	4424	4587	36060
Hari ke-6	6358	3123	4303	5004
Hari ke-9	5383	1093	1200	4128
Hari ke-12	4833	733	TFTC	433
Hari ke-15	1004	TFTC	TFTC	TFTC

Keterangan :

- Tabung A₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 45×10^8
- Tabung B₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan $67,5 \times 10^8$
- Tabung C₁ : Bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan kepadatan 90×10^8
- TFTC: *Too Few To Count*

Jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat dilihat pada Lampiran 11. Pada Tabel 8, menunjukan hasil perhitungan jumlah koloni menggunakan rumus ALT dari hasil pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Jumlah koloni mengalami penurunan hingga pada hari ke-15.

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Perwakilan Jumlah Koloni Bakteri *Nitrobacter winogradskyi*

Hari Uji	Kontrol	Tabung A ₂	Tabung B ₂	Tabung C ₂
Hari ke-3	5976	3585	3939	3807
Hari ke-6	3848	2039	2272	3258
Hari ke-9	7774	1700	1810	1703
Hari ke-12	2714	TFTC	386	340
Hari ke-15	510	TFTC	TFTC	TFTC

Keterangan :

- Tabung A₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 43×10^8
- Tabung B₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan $64,5 \times 10^8$
- Tabung C₂ : Bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dengan kepadatan 86×10^8
- TFTC : Too Few To Count

Jumlah koloni bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat dilihat pada Lampiran 12. Pada Tabel 9, jumlah koloni bakteri *Nitrobacter winogradskyi* menurun hingga hari ke-15. Penurunan pertumbuhan koloni bakteri berkaitan dengan pemanfaatan bahan alam yang ada atau terjadi pendauran nutrient (Rajasa, 2010). Berkurangnya jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* seiring dengan berkurangnya kadar fosfat dan amonia dalam sampel limbah cair rumah sakit.

Menurut Nainggolan (2008), jumlah populasi mikrobia yang meningkat dapat menimbulkan kompetisi antar mikroorganisme. Kompetisi antar mikroorganisme ini dapat berupa perebutan air, ruang dan unsur-unsur hara yang terkandung di dalam limbah cair. Berkurangnya jumlah koloni bakteri dari *Acinetobacter baumannii* dan *Nitrobacter winogradskyi* juga dapat disebabkan oleh adanya kompetisi antara bakteri sejenis dan bakteri alami dari limbah cair rumah sakit.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat menurunkan kadar fosfat sebesar 9,935mg/L atau 68,67% dan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat menurunkan kadar fosfat sebesar 9,742 mg/L atau 65,23%. Bakteri *Acinetobacter baumannii* dapat menurunkan kadar amonia sebesar 29,037 mg/L atau 63,75% dan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dapat menurunkan 25,903 mg/L atau 56,87%.
2. Pada pengelolaan limbah cair Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta, perlakuan penambahan tabung C₁ dan tabung C₂ untuk *Acinetobacter baumannii* yaitu 90×10^8 sel bakteri dan *Nitrobacter winogradskyi* yaitu 86×10^8 sel bakteri mampu menurunkan kandungan fosfat dan amonia lebih cepat dalam waktu 15 hari.
3. Bakteri *Acinetobacter baumannii* lebih efektif dalam mendegradasi fosfat dan amonia dibandingkan bakteri *Nitrobacter winogradskyi*.

B. Saran

Saran yang perlu diberikan setelah melihat dan membaca hasil penelitian ini adalah:

1. Perlu adanya kajian penelitian lebih lanjut tentang kemampuan bakteri *Acinetobacter baumannii* dan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* dalam menurunkan kandungan fosfat dan amonia dalam limbah cair Rumah Sakit Panti Rapih Yogyakarta.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan kepadatan sel bakteri *Acinetobacter baumannii* dan bakteri *Nitrobacter winogradskyi* yaitu 10^8 , 10^{10} dan 10^{12} agar dapat melihat kemampuan bakteri mendegradasi fosfat dan amonia dalam jumlah sel bakteri yang lebih banyak.