

**KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DENITRIFIKASI DARI  
SEDIMEN PERAIRAN RAWA JOMBOR, KLATEN  
DENGAN GEN PENYANDI 16S rRNA**

**Sunarto, Ratna Setyaningsih, Andri Yanti**

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

**ABSTRAK**

Perairan air tawar yang menggenang (lentik) mudah mengalami pencemaran. Penyebab pencemaran perairan air tawar antara lain masuknya limbah domestik dan limbah sektor pertanian di sekitar perairan yang berupa bahan organik dan anorganik, sehingga perairan tersebut mengandung nutrisi yang tinggi dan dapat menyebabkan sedimentasi. Selain itu, diperkirakan kadar nitrat juga tinggi di perairan tersebut. Kadar nitrat yang tinggi dapat menyebabkan terjadinya eutrofikasi dan penurunan kualitas air di perairan tersebut, sehingga dibutuhkan suatu cara pencegahan atau penanggulangan dengan memanfaatkan mikroorganisme perairan yaitu bakteri denitrifikasi. Bakteri ini dapat mengubah nitrat menjadi gas nitrogen ( $N_2$ ) dalam keadaan anaerob, sehingga kandungan nitrat di perairan dapat berkurang. Tujuan penelitian ini adalah; (1) mengidentifikasi isolat-isolat bakteri denitrifikasi yang diisolasi dari sedimen perairan Rawa Jombor dengan karakterisasi bakteri denitrifikasi dan (2) mengetahui status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter lingkungan kecerahan, nitrogen dan fosfor.

Penelitian ini dilakukan isolasi bakteri denitrifikasi dari sedimen perairan Rawa Jombor dengan menggunakan media denitrifikasi cair dan padat, uji reduksi nitrat, uji oksidatif/fermentatif, karakterisasi bakteri dengan pewarnaan gram dan identifikasi bakteri denitrifikasi dengan sekuens gen penyandi 16S rRNA yang dianalisis dengan BLASTn. Status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter nitrogen total, fosfor total dan kecerahan yang dianalisis dengan kriteria status trofik danau yang terlampir pada Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup (PerMNLH) No. 28 Tahun 2009.

Pada penelitian ini, ditemukan 6 isolat bakteri denitrifikasi yang diisolasi dari sedimen di perairan Rawa Jombor Klaten. Karakteristik isolat bakteri tersebut adalah koloni berwarna bening, berbentuk bulat, bersifat gram negatif, selnya berbentuk batang dan motil. Satu isolat yaitu isolat TmK tidak teridentifikasi, sehingga isolat yang dapat diidentifikasi ada 5 isolat bakteri denitrifikasi. Empat isolat bakteri denitrifikasi yang ditemukan teridentifikasi termasuk ke dalam genus *Shewanella*. Isolat TmD (99%) teridentifikasi sebagai *Shewanella putrefaciens*, isolat TmE (98%) dan TmG (97%) memiliki kemiripan dengan *Shewanella putrefaciens*, isolat TmI (98%) memiliki kemiripan dengan *Shewanella xiaminensis* dan isolat TmA (96%) merupakan spesies baru. Status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter nitrogen total, fosfor total dan kecerahan termasuk dalam status hipereutrof.

Kata kunci : Rawa Jombor, sedimen, nitrat, bakteri denitrifikasi, gen penyandi 16S rRNA.

**PENDAHULUAN**

Rawa Jombor merupakan rawa yang sebenarnya danau semi buatan pada zaman Belanda yang luasnya hampir mencapai 12,7 kilometer persegi dan

terletak di Desa Krakitan, Kecamatan Bayat, Kabupaten Klaten. Rawa Jombor mempunyai luas efektif genangan 180 Ha yang dikelilingi oleh jalan lingkar, saluran drainase, perbukitan, pepohonan, pemukiman penduduk dan sebagian areal

persawahan. Rawa Jombor digunakan sebagai sumber irigasi pertanian untuk daerah timur sejak tahun 1967, aktivitas perikanan keramba sejak tahun 1986 dan usaha warung apung sejak tahun 1998 (Ganjarsari, 2008).

Rawa Jombor merupakan perairan air tawar yang menggenang (lentik) yaitu suatu bentuk ekosistem perairan dengan aliran/arus air yang tidak memegang peranan penting. Oleh karena itu, permasalahan yang sering terjadi di perairan Rawa Jombor adalah terjadinya pencemaran perairan akibat masuknya sumber pencemar yang berasal baik dari dalam perairan yang berasal dari limbah warung apung, wisatawan dan keramba ikan maupun dari luar perairan yang berasal dari limbah pertanian dan limbah domestik sekitar perairan. Pada umumnya, bahan pencemar masuk ke perairan bersama aliran air yang mengalir masuk ke dalam perairan yang kemudian mengendap di dasar perairan dan jika terjadi terus menerus akan mengakibatkan terjadinya sedimentasi (pendangkalan).

Material yang diangkutasikan dan mengendap dalam peristiwa sedimentasi disebut dengan sedimen. Sedimen mengandung unsur hara dan nutrisi yang tinggi dan sangat dibutuhkan oleh tumbuhan, yang berasal dari endapan limbah organik dan anorganik yang masuk ke perairan. Oleh karena itu, diperkirakan

kadar nitrat tinggi di perairan tersebut. Nitrat merupakan bentuk senyawa nitrogen yang stabil, sebagai salah satu unsur penting untuk sintesis protein tumbuhan dan pada konsentrasi yang tinggi dapat menstimulasi pertumbuhan fitoplankton secara tidak terbatas bila beberapa syarat lain seperti konsentrasi fosfor dapat terpenuhi. Nitrat merupakan unsur hara yang digunakan untuk menyusun klorofil, sehingga proses pembentukan klorofil pada fitoplankton akan terhenti dengan cepat jika terjadi defisiensi nitrat (Alaerts and Santika, 1987). Nitrat tidak bersifat toksik terhadap organisme akuatik. Kadar nitrat-nitrogen yang lebih dari 0,2 mg/l dapat mengakibatkan terjadinya eutrofikasi perairan, yang dapat menstimulir pertumbuhan alga dan tumbuhan air secara pesat atau *blooming* (Effendi, 2003).

Menurut Mason (1993) eutrofikasi merupakan pengayaan (*enrichment*) air dengan adanya nutrisi (nitrogen dan fosfor) yang berupa bahan anorganik dan sangat dibutuhkan oleh tumbuhan dan dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan produktivitas primer perairan. Selain itu, terdapatnya nitrat di perairan yang tinggi juga menyebabkan kualitas air menurun, menurunkan oksigen terlarut, penurunan populasi ikan dan bau busuk.

Oleh karena itu, diperlukan suatu cara penanggulangan dan pencegahan dengan memanfaatkan mikroorganisme perairan yaitu bakteri denitrifikasi yang dapat mereduksi nitrat menjadi gas nitrogen, sehingga kadar nitrat di perairan dapat berkurang.

Bakteri denitrifikasi merupakan kelompok bakteri pereduksi nitrat. Bakteri ini bersifat heterotrof, memerlukan sumber karbon organik, seperti asam asetat, asam propionat, asam suksinat, gliserol dan glukosa untuk pertumbuhannya (Teixiera and Oliveira, 2002). Bakteri denitrifikasi yang ideal untuk digunakan pada proses pengendalian senyawa nitrogen adalah bakteri denitrifikasi yang menghasilkan produk akhir berupa gas  $N_2$ .

Secara ilmiah kelompok bakteri denitrifikasi hidup dengan baik pada kondisi lingkungan yang mempunyai kandungan oksigen relatif rendah. Menurut Teixera and Olivera (2002) kelompok bakteri denitrifikasi bersifat anaerobik fakultatif dan anaerobik obligat. Oleh karena itu pada sistem lingkungan perairan tawar, kelompok bakteri tersebut dapat hidup dengan baik pada daerah dasar perairan atau sedimen. Kandungan oksigen pada sedimen relatif rendah dan pada kondisi tertentu (malam hari) kandungan oksigennya dapat mencapai nol ppm.

Pada penelitian ini dilakukan uji identifikasi bakteri denitrifikasi dengan

karakterisasi dan analisis sekuen gen penyandi 16S rRNA dan uji status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter lingkungan nitrogen total, fosfor total dan kecerahan.

## METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan uji identifikasi bakteri denitrifikasi yang diisolasi dari sedimen perairan Rawa Jombor dengan karakterisasi dan uji status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter lingkungan nitrogen total, fosfor total dan kecerahan. Sampel sedimen dan air diambil dari perairan Rawa Jombor, Klaten di lima titik sampling yaitu inlet, tengah, outlet, barat warung apung dan timur warung apung. Uji identifikasi bakteri denitrifikasi dengan karakterisasi dilakukan dengan mengisolasi bakteri denitrifikasi dengan media denitrifikasi cair dan padat yang terdiri dari  $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ ,  $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $NH_4Cl$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , Yeast Extract,  $NaNO_3$  dan akuades, untuk media padat ditambahi agar (Setyaningsih dkk., 2013) dan media NA, uji reduksi nitrat dengan media *nitrate broth* (Difco<sup>TM</sup>), uji oksidatif/fermentatif (OF) dengan media OF yang terdiri dari pepton,  $NaCl$ ,  $K_2HPO_4$ , biru bromtimol, agar, glukosa dan akuades (Hugh and Leifson, 1953) serta parafin cair, uji karakterisasi isolat

perpustakaan.uns.ac.id

bakteri denitrifikasi dengan pewarnaan gram, uji ekstraksi DNA bakteri denitrifikasi dengan media *Luria Bertani* (LB) dan menggunakan *geneJET genomic DNA purification kit* (Fermentas), uji amplifikasi gen 16S rRNA dengan PCR Mix yang terdiri dari ddH<sub>2</sub>O, buffer dream taq, dNTP, dream taq DNA Polimerase (Fermentas), DNA sampel (DNA Template), primer 63 F dan primer 1387 R dan uji sekuensing dan purifikasi gen penyandi 16S rRNA dilakukan oleh PT Genetika Science Indonesia – First Base, Singapura.

### ANALISIS DATA

Data sekuen yang telah diperoleh dari hasil pemilihan isolat yang menunjukkan hasil positif pada uji reduksi nitrat dan negatif pada uji oksidatif/fermentatif (O/F), selanjutnya dibandingkan dengan sekuen pada bank data *The National Centre for Biotechnology Information* (NCBI) menggunakan program *Basic Local Alignment Search Tool* untuk nukleotida (BLASTN) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

digilib.uns.ac.id

Untuk mengetahui status trofik perairan Rawa Jombor, data parameter yang diperoleh dibandingkan dengan Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 28 tahun 2009 tentang Daya Tampung Beban Pencemaran Air Danau dan/atau Waduk.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Isolat Bakteri Denitrifikasi dari Sedimen Perairan Rawa Jombor

Pada penelitian ini, isolat bakteri denitrifikasi diisolasi dari sedimen di perairan Rawa Jombor yang terletak di Desa Krakitan, Kecamatan Bayat, Kabupaten Klaten. Sedimen merupakan endapan dari material yang berupa mineral, unsur hara dan lain-lain yang masuk ke dalam perairan.

Sedimen di perairan Rawa Jombor secara keseluruhan dari 5 lokasi sampling yang berbeda mempunyai pH netral yaitu 6,91-7,05, namun pH pada salah satu lokasi sampling mempunyai pH basa yaitu 8,27. Kandungan amonia paling tinggi di barat warung apung dan paling rendah di outlet. Kandungan nitrat dan nitrit paling tinggi di timur warung apung dan paling rendah di inlet (Tabel 2).



Tabel 2. Nilai pH, Kandungan Nitrat, Nitrit dan Amonia di Sedimen Perairan Rawa Jombor, Klaten

Lokasi Sampel	pH	Amonia (mg/l)	Nitrat (mg/l)	Nitrit (mg/l)
<b>Inlet</b>	8,27	0,28	0,08	0,06
<b>Tengah</b>	6,91	0,20	0,23	0,17
<b>Outlet</b>	6,95	0,02	0,10	0,07
<b>Barat Warung Apung</b>	7,05	0,43	0,31	0,23
<b>Timur Warung Apung</b>	6,99	0,33	0,54	0,40

Pada keadaan anaerob dan tersedianya nutrisi yang tinggi terutama nitrat inilah, bakteri denitrifikasi dapat tumbuh dan melakukan proses denitrifikasi dengan optimal. Adanya senyawa amonia, nitrat dan nitrit di dalam perairan tidak hanya hasil dari siklus nitrogen, melainkan sebagian besar berasal dari bahan pencemar yang bersumber dari luar perairan yang masuk ke dalam perairan seperti sisa penggunaan pestisida yang ikut aliran air hujan, penggunaan pupuk dan limbah domestik di sekitar perairan.

Isolasi bakteri denitrifikasi dilakukan menggunakan medium denitrifikasi cair dan ditambahkan gas nitrogen. Dari hasil isolasi diperoleh sebanyak 45 isolat bakteri dari 5 sampel sedimen dengan lokasi pengambilan sampel yang berbeda, yaitu 5 isolat ditemukan di inlet (In), 8 isolat ditemukan di tengah (Te), 6 isolat ditemukan di outlet (Ot), 11 isolat ditemukan di barat warung

apung (Br) dan 15 isolat ditemukan di timur warung apung (Tm). Isolasi tersebut sekaligus merupakan tahap seleksi awal untuk memperoleh isolat bakteri denitrifikasi.

Tahap seleksi selanjutnya adalah uji reduksi nitrat yang bertujuan untuk menyeleksi isolat bakteri yang dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit (Gambar 3). Dari hasil uji reduksi nitrat diperoleh sebanyak 35 isolat bakteri yang hasilnya positif (Lampiran 4), namun ada satu isolat bakteri yang lemah artinya perubahan warna yang terbentuk tidak terlalu pekat. Oleh karena itu, hanya 34 isolat bakteri yang dapat dilanjutkan ke tahap seleksi selanjutnya.

Tahap seleksi yang terakhir adalah uji oksidatif-fermentatif (OF) yang bertujuan untuk menyeleksi isolat bakteri yang bersifat fermentatif (Gambar 4). Dari 34 isolat bakteri yang diuji ada 28 isolat bakteri yang hasilnya positif bersifat

fermentatif dan 6 isolat bakteri yang hasilnya negatif (Lampiran 5), isolat ini ditemukan di timur warung apung (Tm). Bakteri denitrifikasi hidup dan tumbuh pada lingkungan yang mempunyai kandungan senyawa nitrogen tinggi terutama nitrat dan nitrit dan keadaan anaerob. Pada titik sampling di timur warung apung mempunyai kandungan nitrat dan nitrit yang paling tinggi (Tabel 2), sehingga bakteri denitrifikasi dapat ditemukan dititik tersebut. Isolat bakteri yang bersifat fermentatif negatif diperkirakan merupakan bakteri denitrifikasi. Proses denitrifikasi dilakukan oleh mikroorganisme dengan menggunakan senyawa nitrat dan nitrit sebagai penerima elektron dan dihasilkan senyawa berupa gas nitrogen. Sedangkan kelompok bakteri yang bersifat fermentatif positif akan mereduksi nitrat menjadi

amonium (Rusmana and Nedwell, 2004). Kelompok bakteri fermentatif positif tidak dapat menggunakan senyawa nitrat sebagai penerima elektron, justru sebaliknya digunakan sebagai sumber elektron (Widiyanto dkk., 2008). Terhadap kelompok isolat bakteri yang bersifat fermentatif negatif dilakukan uji molekuler untuk proses identifikasi menggunakan gen penyandi 16S rRNA.

#### **B. Karakteristik Koloni dan Sel Isolat Bakteri Denitrifikasi**

Sebanyak 6 isolat bakteri denitrifikasi yang ditemukan di sedimen perairan Rawa Jombor memiliki karakteristik yang hampir sama yaitu koloni berwarna bening, berbentuk bulat dan tepiannya rata, sel bakteri berbentuk batang dan merupakan bakteri gram negatif (Tabel 3)

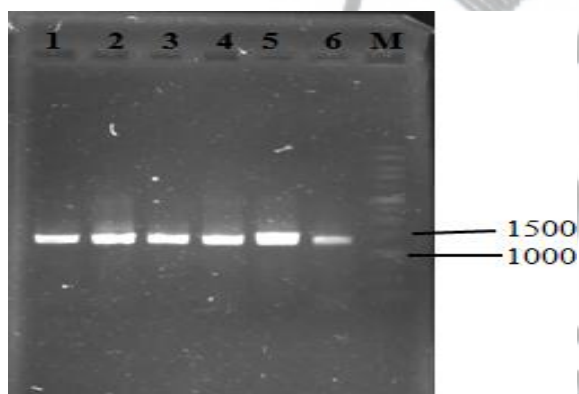
Tabel 3. Karakteristik Isolat Bakteri Denitrifikasi yang Diisolasi dari Sedimen Perairan Rawa Jombor Klaten

<b>Isolat Bakteri</b>	<b>Warna Koloni</b>	<b>Bentuk Koloni</b>	<b>Tepian Koloni</b>	<b>Bentuk Sel</b>	<b>Gram</b>
<b>Tm A</b>	Bening kekuningan	Bulat	Rata	Batang	Negatif
<b>Tm D</b>	Bening kecoklatan	Bulat	Rata	Batang	Negatif
<b>Tm E</b>	Bening	Bulat	Rata	Batang	Negatif
<b>Tm G</b>	Bening kekuningan	Bulat	Rata	Batang	Negatif
<b>Tm i</b>	Bening	Bulat	Rata	Batang	Negatif
<b>Tm K</b>	Bening	Bulat	Rata	Batang	Negatif

Data yang diperoleh, sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Widiyanto dkk. (2008) yang menyebutkan bahwa bakteri denitrifikasi yang ditemukan di tambak udang mempunyai sel berbentuk batang, motil dan gram negatif.

### C. Identifikasi Bakteri Denitrifikasi dengan Sekuen Gen 16S Rrna

Sebanyak 6 isolat bakteri yang mampu mereduksi nitrat dan diduga



Keterangan: M = Marker

- 1 = Fragmen DNA Isolat TmA
- 2 = Fragmen DNA Isolat TmD
- 3 = Fragmen DNA Isolat TmE
- 4 = Fragmen DNA Isolat TmG
- 5 = Fragmen DNA Isolat Tmi
- 6 = Fragmen DNA Isolat TmK

Gambar 5. Fragmen DNA Hasil Amplifikasi Gen 16S rRNA yang Divisualisasi dengan Gel Doc

Hasil amplifikasi DNA kemudian disekuensing untuk mendapatkan sekuen dari DNA isolat bakteri denitrifikasi yang diisolasi dari sedimen perairan Rawa Jombor Klaten. Urutan basa nukleotida yang diperoleh, kemudian dianalisis dan dibandingkan dengan database gen dari

merupakan kelompok bakteri denitrifikasi yaitu isolat TmA, TmD, TmE, TmG, Tmi dan TmK diidentifikasi dengan sekuen gen 16S rRNA. Fragmen produk PCR memiliki ukuran sekitar 1300 *basepair* (bp) yang merupakan ukuran yang diharapkan dengan menggunakan kombinasi primer 63F untuk arah *forward* dan primer 1387R untuk arah *reverse* (Gambar 5).

Genebank DNA menggunakan program BLASTn. Dari hasil sekuensing, hanya ada satu isolat yang tidak teridentifikasi yaitu isolat TmK, sehingga isolat tersebut tidak dapat dilanjutkan ke tahap sekuensing. Hal ini kemungkinan DNA isolat TmK mengalami kerusakan.

Tabel 4. Identitas Bakteri Denitrifikasi di Sedimen Perairan Rawa Jombor Dianalisis dengan BLASTn

Kode Isolat	Kerabat Terdekat	No. Akses	% Kemiripan
Tm A	<i>Shewanella putrefaciens</i> strain KO12	KC607511.1	96%
Tm D	<i>Shewanella putrefaciens</i> strain KO12	KC607511.1	99%
Tm E	<i>Shewanella putrefaciens</i> strain K717	KC607526.1	98%
Tm G	<i>Shewanella putrefaciens</i> strain KO12	KC607511.1	97%
Tm i	<i>Shewanella xiaminensis</i> strain H3	HQ418493.1	98%

Dari hasil sekuensing dapat diketahui bahwa dari 5 isolat yang diidentifikasi ada 4 isolat yang teridentifikasi termasuk ke dalam genus *Shewanella*, satu isolat di antaranya teridentifikasi sebagai *Shewanella putrefaciens* yaitu isolat TmD dengan persentase kemiripan 99%, 2 isolat lainnya yaitu isolat TmE dan isolat TmG memiliki kemiripan dengan *Shewanella putrefaciens* dengan persentase kemiripan masing-masing 98% dan 97%, sedangkan isolat Tmi memiliki kemiripan dengan *Shewanella xiaminensis* dengan persentase kemiripan 98%. Satu isolat lainnya yaitu isolat TmA dengan persentase kemiripan 96%, isolat ini kemungkinan merupakan spesies baru (Tabel 4).

Menurut Dancourt *et al.* (2000), jika kemiripan  $\geq 99\%$  dengan database maka isolat tersebut teridentifikasi pada tingkat spesies,  $\geq 97\%$  teridentifikasi pada tingkat genus, sedangkan jika kemiripan  $<$

97% kemungkinan merupakan spesies baru karena belum adanya data pada database atau ukuran hasil sekuensing yang dibandingkan dengan database terlalu pendek.

Genus *Shewanella* merupakan salah satu genus bakteri pereduksi metal. Bakteri ini banyak ditemukan di lingkungan laut, air tawar, danau, tanah atau terestrial, sungai, lautan Artik dan Antartika, pipa minyak yang berkarat atau berkorosi dan lingkungan akuifer yang terkontaminasi uranium. Bakteri ini banyak digunakan untuk bioremediasi atau pembersihan lingkungan dari polutan seperti senyawa yang mengalami klorinasi, radionuklida dan polutan lingkungan lainnya (Venkateswaran *et al.*, 1999). *Shewanella* tergolong ke dalam bakteri gram negatif dan beberapa spesies ini merupakan patogen penyebab penyakit pada manusia. Ciri-ciri lain dari bakteri ini adalah berbentuk batang, motil (bergerak)



dengan flagela polar dan memiliki metabolisme sebagai organisme fakultatif anaerobik (Huang *et al.*, 2010). Untuk kebutuhan hidupnya, bakteri ini mampu menggunakan bermacam-macam akseptor elektron seperti oksigen, besi, mangan, uranium, nitrat, nitrit, fumarat dan lain-lain.

*Shewanella putrefaciens* adalah bakteri gram negatif yang dapat ditemukan di lingkungan air laut, oksidasi positif dan motil. Bakteri ini merupakan bakteri fakultatif anarobik yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi besi dan metabolik manganese, yang dapat menggunakan besi dan mangan sebagai terminal aseptor elektron dalam rantai transpor elektron. Bakteri ini juga merupakan organisme yang berhubungan dengan bau busuk pada pembusukan ikan, seperti organisme laut yang memproduksi trimetilamin (Johansen *et al.*, 1996). *S. putrefaciens* dapat tumbuh pada media padat dan media cair. Pada media padat, koloni bakteri bulat, tumbuh cepat dan berwarna pink. Bakteri ini juga tumbuh cepat pada media cair dan membuat

seluruh media cair tersebut berwarna pink (Khashe and Janda, 1998).

*Shewanella xiaminensis* merupakan bakteri gram negatif, motil dengan flagel nonpolar tunggal dan bersifat fakultatif anaerobik. Koloni bakteri ini berbentuk sirkular, berwarna coklat, pertumbuhannya pada suhu 4°C dan 37°C tapi jika di bawah 37°C tidak dapat tumbuh, pH 6,0-9,0 dengan pH optimum tumbuh pada pH 7,0. Bakteri ini positif dalam menghidrolisis gelatin, DNA dan Tulens 80. Bakteri ini juga dapat mereduksi nitrat, nitrit, fumarat (Huang *et al.*, 2010).

#### **D. Status Trofik Perairan Rawa Jombor**

Pada penelitian ini, sampel air yang digunakan diambil dari perairan Rawa Jombor pada 5 titik lokasi sampling yaitu inlet, tengah, outlet, barat warung apung dan timur warung apung. Parameter yang diuji untuk mengetahui status trofik di perairan ini adalah nitrogen total, fosfor total dan kecerahan (Tabel 5).

Tabel 5. Data Hasil Pengukuran Parameter Nitrogen Total, Fosfor Total dan Kecerahan Pada Sampel Air Perairan Rawa Jombor Klaten

<b>Sampel</b>	<b>Kadar Total-N (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b>	<b>Kadar Total-P (<math>\mu\text{g/l}</math>)</b>	<b>Kecerahan (m)</b>
<b>Inlet</b>	5643	667,1	0,12
<b>Tengah</b>	19903	260,4	0,12
<b>Outlet</b>	4807	416,1	0,18
<b>Barat Warung Apung</b>	6273	542,2	0,14
<b>Timur Warung Apung</b>	3827	601,6	0,17
<b>Rata – rata</b>	<b>8090,6</b>	<b>497,48</b>	<b>0,146</b>

Dari data di atas berdasarkan data kriteria status trofik danau yang terlampir pada Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 28 Tahun 2009 termasuk dalam status hipereutrof (sangat subur), yaitu perairan tersebut mengandung unsur hara dengan kadar sangat tinggi. Status ini menunjukkan air telah tercemar berat oleh peningkatan kadar nitrogen dan fosfor.

Machbub dkk. (2003) mengemukakan bahwa terjadinya eutrofikasi di suatu perairan danau dan waduk dapat dideteksi melalui berbagai indikator, yaitu: (1) menurunnya konsentrasi oksigen terlarut di zona hipolimnion, (2) meningkatnya zat hara yaitu nitrogen dan fosfor badan air, (3) menurunnya transparansi perairan, serta (4) meningkatnya padatan tersuspensi, terutama yang mengandung bahan organik. Indikator-indikator tersebut merupakan

tanda umum, namun pemantauan parameter kualitas air tetap harus dilakukan, terutama parameter terkait dengan proses eutrofikasi. Kondisi perairan yang sudah mengalami penyuburan dapat menyebabkan proses pengelolaan air yang digunakan sebagai bahan baku air minum akan lebih sulit (Suryono dkk., 2008).

## KESIMPULAN

1. Bakteri denitrifikasi yang ditemukan di sedimen perairan Rawa Jombor ada 6 isolat dengan karakteristik koloninya berbentuk bulat, berwarna bening, bersifat gram negatif dan selnya berbentuk batang. Namun isolat bakteri denitrifikasi yang teridentifikasi ada 5 isolat, karena yang satu isolat yaitu isolat TmK tidak teridentifikasi. Satu isolat yaitu isolat TmD teridentifikasi sebagai

- Shewanella putrefaciens* dengan persentase kemiripan 99%, isolat TmE dan TmG memiliki kemiripan dengan *Shewanella putrefaciens* dengan persentase kemiripan masing-masing 98% dan 97%, isolat Tmi memiliki kemiripan dengan *Shewanella xiaminensis* dengan persentase kemiripan 98% dan isolat TmA dengan persentase kemiripan 96% kemungkinan merupakan spesies baru.
2. Status trofik perairan Rawa Jombor berdasarkan parameter nitrogen total, fosfat total dan kecerahan termasuk dalam status hipereutrof (sangat subur), yaitu perairan tersebut mengandung unsur hara dengan kadar sangat tinggi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Dancourt, M., Bollet, C., Carlouz, A., Martelin, R., Gayral, J.P. and Raoult, D. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of a Large Collection of Environmental and Clinical Unidentifiable Bacteria Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 38(10) : 3623 – 3630.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya Lingkungan Perairan*. Yogyakarta : PT. Kanisius.
- Ganjarsari, S. 2008. *Karakteristik Pemberdayaan Masyarakat Lokal Dalam Keterlanjutan Pengembangan Kawasan Rawa Jombor Kabupaten Klaten Terdapat Perbedaan Upaya Pemberdayaan yang Dilakukan Pihak Internal dan Eksternal*. TA. Perencanaan Wilayah Kota. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Huang, J., Sun, B. and Zhang, X. 2010. *Shewanella xiaminensis* sp. nov., Isolated from Coastal Sea Sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60 : 1585-1589.
- Hugh, R. and Leifson, E. 1953. The Taxonomic Significance of Fermentative Versus Oxidative Metabolism of Carbohydrates by Various Gram Negative Bacteria. *J. Bacteriol* 66 : 24-26.
- Johansen, C., Gill, T. and Gram, L. 1996. Changes in Morphology of *Listeria monocytogenes* and *Shewanella putrefaciens* Resulting from the Action of Protamine. *Applied and Environmental Microbiology* 62(3) : 1058-1064.
- Khashe, S. and Janda, J.M. 1998. Biochemical and Pathogenic Properties of *Shewanella alga* and *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Clinical Microbiology* 36(3) : 783-787.
- Machbub, B., Fulazzaky, M.A., Brahmana, S. dan Yusuf, I.A. 2003. Eutrophication of Lakes and Reservoir and its Restoration in Indonesia. *Jurnal Litbang Pengairan Bandung* 17(50) : 72 – 78.
- Mason, C.F. 1993. *Biology of Freshwater Pollution*. Second edition. New York : Longman Scientific and Technical.

- perpustakaan.uns.ac.id
- Sumatra Barat dan Bali. *Jurnal Limnotek* 15(2) : 99 – 111.
- Peraturan Menteri Negara Lingkungan Hidup (PerMNLH) No. 28 Tahun 2009. *Daya Tampung Beban Pencemaran Air Danau dan/atau Waduk*. Jakarta : Menteri Negara Lingkungan Hidup.
- Rusmana, I. and Nedwell, D.B. 2004. Use of chlorate as a selective inhibitor to distinguish membran-bound nitrate reductase (Nar) and periplasmic nitrate reductase (Nap) of dissimilative nitrate reducing bacteria in sediment. *J. FEMS Microbiol Ecol* 48 : 379 – 386.
- Setyaningsih, R., Rusmana, I., Setyanto, P. dan Suwanto, A. 2013. Nitrous Oxide Reduction Activity of Denitrifying *Ochrobatrium anthropi* Isolated from Rice Field. *Microbiology Indonesia* 7(2) : 45 – 50.
- Suryono, T., S. Nomosatryo dan E. Mulyana. 2008. Tingkat Kesuburan Danau-danau di
- Teixeira, P. and Oliveira, R. 2002. Metabolism of *Alcaligenes denitrificans* in Bio Film vs Planktonic Cells. *J Appl Microbiol* 92 (2) : 256–260.
- Venkateswaran, K., Moser, D.P., Dollhopf, M.E., Lies, D.P., Saffarini, D.A., MacGregor, B.J., Ringelberg, D.B., White, D.C., Nishijima, M., Sano, H., Burghardt, J., Stackebrandt, E. and Nealson, K.H. 1999. Polyphasic Taxonomy of the Genus *Shewanella* and Description of *Shewanella oneidensis* sp. nov. *International Journal of systematic Bacteriology* 49 : 705-724.
- Widiyanto, T., Rusmana, I. dan Hermawan, T. 2008. Kemampuan Bakteri Denitrifikasi Asal Tambak Udang Dalam Menurunkan Senyawa Nitrat dan Nitrit. *LIMNOTEK* 15(1) : 22-30.
- engine.uns.ac.id