

Oksidasi Nitrit Oleh Bakteri Heterotrofik Pada Kondisi Aerobik

¹⁾Dwi Agustiyani, ²⁾Ruly Marthina Kayadoe & ¹⁾Hartati Imamuddin

¹⁾Bidang Mikrobiologi, Puslit Biologi-LIPI, Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16002

²⁾Dep. Biologi, Fak. MIPA-UI

ABSTRACT

Nitrite Oxidation by Heterotrophic Bacteria Under Aerobic Condition. The nitrite transforming activities of heterotrophic bacteria from isolates from agriculture soil, Lampung were studied under aerobic conditions. Among the 9 bacterial isolates tested, almost all are reported have ability to consume of nitrite, but none of the bacterial isolates formed significant nitrate in the medium. NOB H1 (*Bacillus licheniformis*), is denitrification-negative, consumed 16.4 mg/L of nitrites with the accumulation of 4.45 mg/L nitrates. While, NOB H8 (*Pseudomonas* sp.) is denitrification-positive, consumed 49.64 mg/L of nitrite with the accumulation of 3.34 mg/L nitrates. Nitrite oxidations of both isolates NOB H1 and NOB H8 took place during stationery phase to the dead phase. Growth pattern of both isolates NOB H1 and NOB H8 were sigmoid with generation time of 1.69 and 2.19 hour, respectively

Key words: heterotrophicbacteria; nitrite oxidation; denitrification

PENDAHULUAN

Nitrifikasi merupakan reaksi penting dalam siklus nitrogen, yaitu oksidasi amonium menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat. Nitrifikasi autotrofik dilakukan oleh dua kelompok bakteri kemolitotrofik yang berbeda, yaitu *ammonia-oxidizing bacteria* (AOB) seperti *Nitrosomonas* dan *nitrite-oxidizing bacteria* (NOB) seperti *Nitrobacter* (Prosser 1989). Proses nitrifikasi sebenarnya tidak hanya dilakukan oleh bakteri kemolitotrofik tetapi berbagai mikroorganisme lainnya, seperti bakteri heterotrofik, kapang, dan khamir juga mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi berbagai komponen nitrogen (Sakai *et al.* 1996). Nitrifikasi

heterotrofik pertama kali dilaporkan pada tahun 1894. Proses ini merupakan komponen minor dari biogeokimia siklus nitrogen (Hans *et al.* 1989). Secara kuantitatif, peran nitrifikasi heterotrofik relatif kecil dibanding nitrifikasi autotrofik, namun nitrifikasi heterotrofik menjadi dominan di tanah hutan konifer yang bersifat asam (Killham 1986, Schimel *et al.* 1984, Both 1990).

Bakteri heterotrofik berperan dalam proses nitrifikasi di alam jika bakteri kemolitotrofik berada dalam kondisi tidak aktif, seperti pada tanah yang terlalu asam atau basa, pada kondisi kadar oksigen yang rendah, kadar nitrogen terlarut yang tinggi, suhu yang terlalu rendah atau tinggi, atau terdapatnya senyawa penghambat

nitrifikasi seperti nitrapirin (Nishio *et al.* 1994, Müller 2002). Bakteri nitrifikasi heterotrofik yang telah banyak dipelajari adalah *Alcaligenes* sp. yang diisolasi dari tanah (Castignetti *et al.* 1980, Castignetti *et al.* 1981, Castignetti *et al.* 1982, Castignetti *et al.* 1983). Bakteri ini dapat mengoksidasi pyruvic oxime (PO) (Castignetti *et al.* 1983), mampu mengasimilasi nitrat (Castignetti *et al.* 1980) dan denitrifikasi (Castignetti *et al.* 1981).

Bakteri heterotrofik pengoksidasi nitrit pada umumnya memiliki aktivitas mengoksidasi nitrit lebih rendah; sekitar 10^3 - 10^4 kali lebih rendah dibandingkan bakteri kemolitotrofik, (Focht & Verstraete 1977, Killham 1986, Gupta 1997). Aktivitas yang rendah tersebut disebabkan nitrit bukan sumber energi sehingga bakteri heterotrofik hanya mengoksidasi nitrit dalam jumlah yang rendah dibandingkan kemampuannya mengoksidasi sumber organik (Nishio 1994). Menurut Kuenen & Robertson (1994), proses nitrifikasi heterotrofik membutuhkan NADPH tetapi tidak menghasilkan ATP, reaksi oksidasi senyawa nitrogen secara lengkap tersebut oleh bakteri heterotrofik belum banyak diketahui (Killham 1986, Koops & Pommerening-Roser 2001, Barraclough & Puri 1995).

Bakteri heterotrofik pengoksidasi nitrit mempunyai waktu generasi lebih cepat dibandingkan bakteri kemolitotrofik. Waktu generasi bakteri heterotrofik bervariasi antara 12 menit hingga 24 jam (Todar 2002). Akumulasi produk nitrifikasi pada bakteri heterotrofik pengoksidasi nitrit hanya dapat diamati setelah kultur mencapai fase pertum-

bahan stasioner. Banyak bakteri heterotrofik menghasilkan nitrit dan nitrat setelah fase aktif pertumbuhan (fase log), sehingga diduga proses nitrifikasi pada bakteri heterotrofik berhubungan dengan proses autolisis (Verstraete & Alexander 1972). Focht & Verstraete (1977) menduga bahwa bakteri nitrifikasi heterotrofik dapat menggunakan nitrit sebagai faktor pertumbuhan atau faktor biosidal untuk membantu kompetisi dan kelangsungan hidupnya (Paavolainen 1999).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri nitrifikasi heterotrofik, mengetahui pola pertumbuhan dan pola reduksi nitrit dan produk nitrat yang dihasilkannya.

BAHAN DAN CARA KERJA

Medium yang digunakan

Beberapa media digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrien Agar* (NA) untuk mengamati pertumbuhan, medium heterotrofik pengoksidasi nitrit dari Sakai *et al.* (1996) medium *Giltay*, dan medium *Nutrient Broth* (NB).

Kultivasi bakteri

Sumber isolat bakteri diambil dari tanah pertanian di Lampung. Tanah sebanyak 1 gram ditumbuhkan pada Erlenmeyer (100 ml) yang berisi 50 ml media pertumbuhan (pH 7,2) yang mengandung 100 mg/L NaNO_2 . Kultur tersebut kemudian diinkubasi selama 15 hari pada suhu ruang diatas pengocok (*shaker*), dengan kecepatan 120 rpm.

Selama inkubasi dilakukan pengamatan pertumbuhan mikroba pengoksidasi nitrit, yaitu dengan cara mengamati

perubahan nitrit dan terbentuknya nitrat secara kualitatif, menggunokulasikan masing-masing ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml medium heterotrofik yang dilengkapi tabung durham dengan posisi terbalik dalam kondisi aerobik dan semi anaerobik (dengan pemberian 2 ml paraffin oil), pada medium Giltay dan medium NB. Kultur tersebut kemudian diinkubasi selama 1 minggu pada suhu ruang. Kemampuan isolat bakteri heterotrofik dalam memproduksi gas N dipantau dengan cara mengamati pembentukan gelembung udara di dalam tabung durham.

HASIL

Isolasi bakteri heterotrofik pengoksidasi nitrit

Hasil isolasi diperoleh 8 isolat bakteri heterotrofik murni (NOB H1–NOB H8). Pengamatan morfologi makroskopik koloni bakteri tersebut memiliki morfologi yang berbeda (Tabel 1). Berdasarkan pengamatan mikroskopis, 6 isolat bakteri bersifat gram negatif dan 2 isolat bersifat gram positif (Tabel 2). Perbedaan morfologi makroskopik dan mikroskopik tersebut, diduga kedelapan isolat bakteri heterotrofik merupakan jenis yang berbeda.

Seleksi kemampuan isolat bakteri heterotrofik dalam mengoksidasi nitrit

Konsentrasi nitrit pada awal inkubasi terdeteksi sebesar 71 mg/L N-NO₂. Hasil pengukuran konsentrasi nitrit pada akhir inkubasi dari delapan isolat bakteri yang diuji berbeda, berkisar

antara 21,40 sampai 64,21 mg/L N-NO₂. Sedangkan konsentrasi nitrat yang terbentuk berkisar antara 3,03 sampai 4,45 mg/L N-NO₃ (Tabel 3).

Penurunan konsentrasi nitrit terbesar ditunjukkan oleh isolat NOB H8, yaitu sebanyak 49,60 mg/L N-NO₂, namun nitrat yang terbentuk hanya sebesar 3,34 mg/L N-NO₃ atau 6,73% dari jumlah penurunan konsentrasi nitrit. Pembentukan konsentrasi nitrat terbesar ditunjukkan oleh isolat NOB H1, yaitu sebanyak 4,45 mg/L N-NO₃, sedangkan penurunan nitrit sebanyak 16,4 mg/L N-NO₂. Berdasarkan hasil tersebut isolat NOB H1 dan NOB H8 dipilih untuk pengujian penentuan pola pertumbuhan dan aktivitas oksidasi nitrit.

Pola pertumbuhan isolat bakteri heterotrofik terpilih

1. Pola pertumbuhan isolat NOB H1

Fase lag isolat NOB H1 berlangsung sampai jam ke 4. Fase eksponensial terjadi sampai jam ke 8 dan fase stasioner hingga kematian terjadi pada jam ke 24 (Gambar 1). Pada saat fase eksponensial, isolat NOB H1 tumbuh dengan cepat, dengan waktu generasi isolat bakteri NOB H1 mencapai 1,69 jam.

2. Pola pertumbuhan isolat NOB H8

Kurva pertumbuhan isolat bakteri NOB H8 menunjukkan pola yang hampir sama dengan isolat NOB H1. Fase lag berlangsung selama 1 jam, fase eksponensial berlangsung sampai jam ke 11, dan selanjutnya memasuki fase stasioner dan kematian (Gambar 2). Fase lag pada isolat NOB H8 tidak berlangsung lama dan

mengindikasikan bakteri dapat cepat beradaptasi. Fase eksponensial pada isolat NOB H8 berlangsung cukup lama hingga jam ke 11. Berdasarkan hasil TPC waktu generasi isolat NOB H8 mencapai 2,19 jam.

D. Pola reaksi oksidasi nitrit isolat bakteri heterotrofik terpilih

1. Pola reaksi oksidasi nitrit isolat NOB H1

Hasil pengujian pola reaksi perubahan nitrit isolat NOB H1 menunjukkan bahwa secara umum dari jam ke 0 sampai ke 120 terjadi penurunan konsen-

trasi nitrit. Amonium mengalami kenaikan sampai jam ke 22, dan pada jam ke 24 mengalami penurunan, kemudian konstan sampai akhir inkubasi. Penurunan konsentrasi nitrit diikuti dengan kenaikan konsentrasi nitrat mulai terjadi jam ke 24 sampai jam ke 120 (Gambar 3). Efisiensi penurunan nitrit dari isolat bakteri NOB H1 mencapai 16,6%, dan efisiensi pembentukan nitratnya 6,2%.

2. Pola reaksi oksidasi nitrit isolat NOB H8

Konsentrasi nitrit sampai 8 jam inkubasi, tidak memperlihatkan peruba-

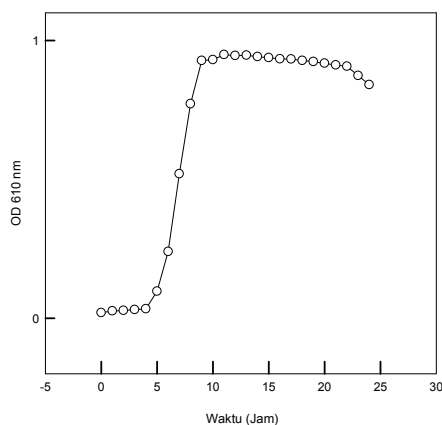
Tabel 1. Karakter morfologi makroskopik koloni isolat-isolat bakteri heterotrofik

Kode Isolat	Pada agar dalam cawan petri				Pada agar miring
	Warna	Kemiringan	Permukaan	Tepi	
NOB H1	Oranye	Bundar	Cembung	Rata	<i>Effuse</i>
NOB H2	Kuning	Bundar	Cembung	Rata	Bentuk benang
NOB H3	Putih	Kriting	Menonjol	<i>Erose</i>	<i>Effuse</i>
NOB H4	Krem	Bundar	Cembung	Beralun	<i>Echinulate</i>
NOB H5	Kuning	Tidak beratur	Menonjol	Beringgit	<i>Effuse</i>
NOB H6	Kuning terang	Bundar	Cembung	Rata	<i>Effuse</i>
NOB H7	Putih	Bundar	Cembung	Rata	Bentuk benang
NOB H8	Putih	Bundar	Cembung	Rata	<i>Effuse</i>

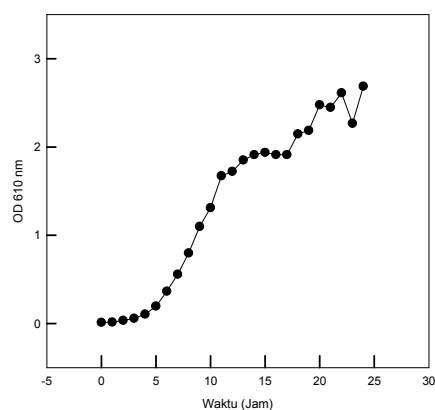
Tabel 2. Karakter morfologi mikroskopik isolat-isolat bakteri heterotrofik

Kode isolat	Jenis Gram	Bentuk Sel
NOB H1	+	Batang
NOB H2	-	Bulat
NOB H3	+	Bulat
NOB H4	-	Bulat
NOB H5	-	Batang
NOB H6	-	Bulat
NOB H7	-	Bulat
NOB H8	-	Batang

Oksidasi Nitrit Oleh Bakteri Heterotrofik Pada Kondisi Aerobik



Gambar 1. Kurva pertumbuhan isolat bakteri heterotrofik NOB H1 selama 24 Jam



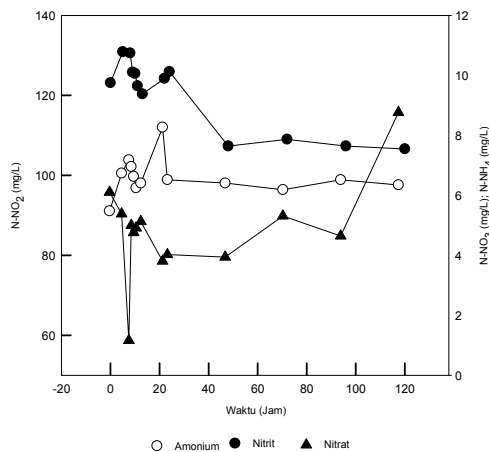
Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat bakteri heterotrofik NOB H8 selama 24 Jam

han yang signifikan, nampak turun pada jam ke 8 sampai jam ke 11, setelah itu mengalami kenaikan dan penurunan secara bergantian sampai jam ke 24. Amonium mengalami kenaikan dari jam ke 0 sampai jam ke 5, kemudian turun hingga jam ke 14, naik kembali pada jam ke 17 kemudian turun hingga akhir reaksi. Penurunan konsentrasi nitrit yang diikuti dengan kenaikan nitrat terjadi pada jam ke 8 sampai jam ke 11. Setelah jam ke 11, konsentrasi nitrat cenderung menunjukkan penurunan sampai jam ke 24 (Gambar 4).

Penurunan konsentrasi nitrit yang diikuti peningkatan konsentrasi nitrat menunjukkan reaksi oksidasi nitrit. Oksidasi nitrit pada isolat NOB H8 terjadi pada jam ke 8 sampai jam ke 16, tetapi konsentrasi nitrat yang terbentuk sangat rendah. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan isolat bakteri NOB H8 dalam mengoksidasi nitrit sangat rendah. Apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan pada Gambar 2, reaksi oksidasi nitrit menjadi nitrat juga terjadi ketika bakteri berada pada fase stasioner. Setelah jam ke 11, konsentrasi

Tabel 3. Rerata penurunan konsentrasi nitrit dan pembentukan nitrat isolat-isolat bakteri Heterotrofik

Kode Isolat	N-NO ₂ awal (mg/L)	N-NO ₂ akhir (mg/L)	Penurunan N-NO ₂ (mg/L)	Pembentukan N-NO ₃ (mg/L)
NOB H1	71	54,60	16,4	4,45
NOB H2	71	62,04	8,96	3,03
NOB H3	71	77,55	0	4,60
NOB H4	71	55,84	15,6	3,84
NOB H5	71	64,21	6,79	3,38
NOB H6	71	63,28	7,72	4,04
NOB H7	71	44,98	26,02	3,26
NOB H8	71	21,40	49,60	3,34



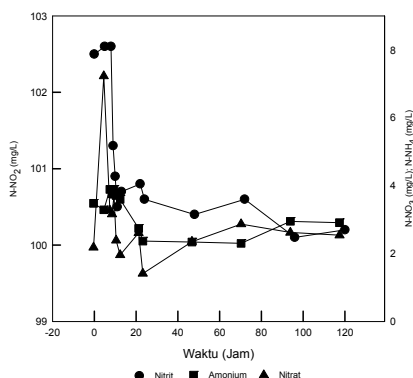
Gambar 3. Grafik perubahan nitrit serta produksi nitrat dan amonium isolat bakteri NOB H1 selama 120 jam

nitrit mengalami penurunan dan kenaikan secara bergantian sampai jam ke 24, sedangkan konsentrasi nitrat cenderung mengalami penurunan.

Uji produksi gas N isolat bakteri heterotrofik terpilih

Hasil pengujian produksi gas dari kedua isolat bakteri yang diuji menunjukkan bahwa isolat NOB H1 tidak memperlihatkan pembentukan gas di dalam tabung durham pada medium heterotrofik dalam kondisi aerobik dan

semi anaerobik (Gambar tidak ditampilkan). Isolat NOB H1 juga tidak memperlihatkan kemampuan membentuk gas pada medium Giltay dan medium Nutrient Broth (NB) dalam kondisi semi anaerobik. Sedangkan isolat bakteri NOB H8 mampu membentuk gelembung gas di dalam tabung durham pada medium heterotrofik aerobik dan anaerobik, juga pada medium Giltay, dan medium Nutrien Broth (NB) dalam kondisi semi anaerobik.



Gambar 4. Grafik perubahan nitrit serta produksi nitrat dan amonium isolat bakteri NOB H8 selama 24 jam

Identifikasi isolat bakteri heterotrofik terpilih

Hasil identifikasi oleh Balai Penelitian Veteriner (Balitvet) menyimpulkan bahwa isolat bakteri NOB H1 adalah bakteri *Bacillus licheniformis*. dan isolat NOB H8 adalah *Pseudomonas* sp. (data tidak ditampilkan).

PEMBAHASAN

Pengamatan makroskopik dan mikroskopik dari delapan isolat bakteri heterotrofik memperlihatkan hasil yang berbeda (Tabel 1 dan 2). Berdasarkan perbedaan tersebut dapat diasumsikan bahwa kedelapan isolat bakteri heterotrofik yang diamati merupakan jenis yang berbeda. Menurut Alexander (1965), berbagai jenis mikroorganisme heterotrofik diketahui mampu melakukan proses nitrifikasi, tetapi tidak ada karakter khusus yang menjadi ciri khas untuk mengelompokkan mikroorganisme heterotrofik nitrifikasi kedalam kelompok taksonomi tertentu.

Dari hasil pengukuran penurunan konsentrasi nitrit, kedelapan isolat bakteri

heterotrofik yang diuji juga memperlihatkan kemampuan reduksi nitrit dan produksi nitrat yang berbeda (Tabel 3). Penurunan konsentrasi nitrit terbesar ditunjukkan oleh isolat NOB H8, yaitu sebanyak 49,60 mg/l N-NO₂. sedangkan pembentukan konsentrasi nitrat terbesar ditunjukkan oleh isolat NOB H1, yaitu sebanyak 4,45 mg/l N-NO₃. Berdasarkan hasil tersebut maka isolat NOB H1 dan NOB H8 dijadikan isolat terpilih untuk penentuan pola pertumbuhan dan uji aktivitas reduksi nitrit.

Pertumbuhan isolat bakteri NOB H1 dalam medium heterotrofik cukup cepat, waktu generasinya mencapai sebesar 1,69 jam. Waktu generasi isolat bakteri NOB H1 pada media heterotrofik dengan glukosa sebagai sumber karbon cukup pendek. Menurut Gottschalk (1986) sel membutuhkan lebih banyak energi untuk sintesis biomassa jika menggunakan asetat dari pada glukosa. Bakteri membutuhkan 99,5 mmol ATP untuk membentuk 1 g sel dari asetat, sedangkan jika menggunakan glukosa energi yang dibutuhkan bakteri hanya

34,8 mmol ATP. Glukosa merupakan monosakarida yang memiliki enam karbon dan lebih mudah digunakan oleh bakteri daripada sumber karbon lainnya (Boyer, 2002). Apabila dibandingkan dengan isolat NOB H1, fase eksponensial isolat bakteri NOB H8 berlangsung lebih lama, hingga jam ke 11. Berdasarkan hasil TPC (data tidak ditampilkan) dapat dihitung waktu generasi isolat NOB H8 sebesar 2,19 jam.

Pola reaksi perubahan nitrit isolat NOB H1 (Gambar 3) menunjukkan bahwa secara umum terjadi penurunan konsentrasi nitrit yang diikuti oleh kenaikan konsentrasi amonium dan nitrat. Proses penurunan nitrit yang terjadi pada jam ke 0 sampai jam ke 22, tidak diikuti dengan kenaikan konsentrasi nitrat, melainkan kenaikan konsentrasi amonium (Gambar 3). Penurunan nitrit pada fase ini diduga disebabkan oleh reaksi reduksi nitrit menjadi amonium. Apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan pada Gambar 1, reaksi reduksi nitrit menjadi amonium terjadi pada masa pertumbuhan sel bakteri. Pada masa pertumbuhan, isolat NOB H1 mereduksi nitrit menjadi amonium untuk digunakan dalam sintesis biomasa. Menurut Gottschalk (1986), mikroorganisme cenderung untuk mereduksi nitrit menjadi amonium karena amonium dapat digunakan untuk sintesis biomassa sel. Amonium juga digunakan untuk sintesis asam amino dan protein melalui glutamin dan glutamat (Joklik *et al.* 1992). Reaksi penurunan nitrit yang diikuti dengan kenaikan nitrat terjadi dari jam ke 24 sampai jam ke 120. Menurut Sakai *et al.* (1996), penurunan nitrit yang diikuti

dengan pembentukan nitrat mengindikasikan terjadinya proses oksidasi. Hasil identifikasi menyimpulkan bahwa isolat NOB H1 adalah bakteri *Bacillus licheniformis*. memperkuat dugaan bahwa isolat bakteri ini adalah bakteri pengoksidasi nitrit karena menurut Sakai *et al.* (1994) beberapa kelompok *Bacillus* merupakan bakteri pengoksidasi nitrit. Apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan pada Gambar 1, terlihat bahwa perubahan nitrit menjadi nitrat terjadi pada jam ke 22 sampai jam ke 120 yang berarti sudah memasuki fase stasioner sampai kematian. Menurut Verstraete & Alexander (1972), kebanyakan mikroorganisme heterotrofik menghasilkan nitrit atau nitrat setelah fase aktif pertumbuhan. Nitrit atau nitrat dihasilkan oleh mikroorganisme setelah sumber karbon telah habis digunakan untuk sintesis biomassa pada fase aktif pertumbuhan. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan reaksi oksidasi nitrit pada isolat NOB H1 terjadi pada fase stasioner hingga kematian.

Oksidasi nitrit pada isolat NOB H8 terjadi pada jam ke 8 sampai jam ke 11, tetapi konsentrasi nitrat yang terbentuk sangat rendah (Gambar 4). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan isolat bakteri NOB H8 dalam mengoksidasi nitrit sangat rendah. Apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan pada Gambar 3, reaksi oksidasi nitrit menjadi nitrat juga terjadi ketika bakteri berada pada fase stasioner. Setelah jam ke 11 sampai jam ke 24, konsentrasi nitrit mengalami penurunan dan kenaikan secara bergantian, sedangkan konsentrasi nitrat cenderung mengalami penurunan.

Dari pola reaksi ini dapat disimpulkan bahwa penurunan nitrit pada isolat NOB H8 lebih besar disebabkan oleh reaksi reduksi nitrit menjadi gas N. Dugaan tersebut diperkuat dengan hasil perhitungan stokiometri yang menunjukkan adanya kehilangan jumlah N sekitar 4-5% pada akhir reaksi (data tidak ditampilkan). Menurut Gupta (1997), reaksi reduksi nitrit menjadi gas N merupakan bagian dari reaksi denitrifikasi, sehingga diduga bakteri NOB H8 adalah bakteri denitrifikasi. Castignetti & Hollocher (1984) bahwa beberapa bakteri denitrifikasi heterotrofik juga mampu melakukan proses nitrifikasi atau sebaliknya. Diduga isolat NOB H8 adalah bakteri denitrifikasi yang juga mempunyai kemampuan mengoksidasi nitrit (nitrifikasi). Hasil pengamatan kemampuan produksi gas pada media denitrifikasi (gambar tidak ditampilkan) menunjukkan bahwa isolat NOB H8 mampu memproduksi gas sedangkan isolat NOB H1 tidak memperlihatkan kemampuan memproduksi gas. Hasil uji produksi gas N pada isolat NOB H8 memperkuat dugaan bahwa isolat NOB H8 merupakan bakteri denitrifikasi. Hasil identifikasi yang menyimpulkan bahwa isolat bakteri NOB H8 adalah *Pseudomonas* sp. memperkuat dugaan bahwa isolat bakteri ini adalah bakteri denitrifikasi. Menurut Tchobanoglous *et al.* (2003), *Pseudomonas* sp. merupakan satu kelompok bakteri denitrifikasi.

KESIMPULAN

Pola pertumbuhan isolat bakteri heterotrofik NOB H1 dan NOB H8

mengikuti pola pertumbuhan yang sigmoid, dengan waktu generasi sebesar 1,69 jam untuk isolat NOB H1, dan 2,19 jam untuk isolat NOB H8. Isolat NOB H1 memiliki kemampuan mengoksidasi nitrit lebih besar dibandingkan dengan isolat NOB H8. Penurunan nitrit dari isolat NOB H8 tidak hanya disebabkan oleh reaksi oksidasi tetapi juga melalui reaksi reduksi (denitrifikasi). Isolat bakteri NOB H1 teridentifikasi sebagai bakteri *Bacillus licheniformis* dan isolat bakteri NOB H8 teridentifikasi sebagai bakteri *Pseudomonas*, sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Nani Mulyani yang telah membantu penelitian ini hingga selesai. Penelitian ini dibiayai dari anggaran DIPA Puslit Biologi-LIPI.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1965. Nitrification. *In*: Bartholomew, WV. & FE. Clark (eds). 1965. *Soil nitrogen*. American Society of Agronomy Inc., Publ., Madison.
- Barrachlough, D. & G. Puri. 1995. The use of ¹⁵N pool dilution and enrichment to separate the heterotrophic and autotrophic pathways of nitrification. *Soil Biol. Biochem.* 27(1): 17-22.
- Boyer, RF. 2002. Concepts in biochemistry. Books/Cole, Australia.
- Both, GJ. 1990. *The ecology of nitrite-oxidizing bacteria in grassland soils*. Institute for Ecological Research, Heteren.

- Castignetti D., and HB Gunner. 1980. Sequential nitrification by an *Alcaligenes* sp. and *Nitrobacter agilis*. *Can. J. Microbiol.* 26: 1114-1119.
- Castignetti D., and HB Gunner. 1981. Nitrite and Nitrate synthesis from pyruvic oxime by an *Alcaligenes* sp. *Curr. Microbiol.* 5: 379-384.
- Castignetti, D. & TC. Hollocher. 1981. Vigorous denitrification by a heterotrophic nitrifier of the genus *Alcaligenes* *Curr. Microbiol.* 6: 274-252.
- Castignetti, D. & TC. Hollocher. 1982. Nitrogen redox metabolism of a heterotrophic nitrifying-denitrifying *Alcaligenes* sp. From soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 923-928
- Castignetti, D., JR Petithory, and TC Hollocher. 1983. Pathway of oxidation of pyruvic oxime by a heterotrophic nitrifier of the genus *Alcaligenes*: evidence against hydrolysis to pyruvate and hydroxylamine. *Arch. Biochem. Biophys.* 224: 587-593.
- Castignetti, D. & TC. Hollocher. 1984. Heterotrophic nitrification among denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.* 47(4): 620-623.
- Departemen Pekerjaan Umum. 1990. Kumpulan SNI bidang pekerjaan umum mengenai kualitas air. Departemen Pekerjaan Umum, Jakarta.
- Gottschalk, G. 1986. *Bacterial metabolism*. 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
- Gupta, AB. 1997. *Thiosphaera pantotropha*: a sulphur bacterium capable of simultaneous heterotrophic nitrifications and aerobic denitrification. *Enzyme Microb. Technol.* 21: 589-595.
- Hans P, Regina von Berg, I Hinkel, B Thoene and H Renneberg. 1989. Heterotrophic Nitrification by *Alcaligenes faecalis*: NO₂⁻, NO₃⁻, N₂O, and NO Production in Exponentially Growing Cultures. *App. Environ. Mic.* 55, No. 8: 2068-2072
- Joklik, WK., HP. Willet, DB. Amos & CM. Wilfert. 1992. *Zinsser microbiology*. 20th ed. Appleton & Lange, Norwalk.
- Koops, HP. & A. Pommerening-Röser. 2001. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species. *FEMS Microbiol. Ecol.* 37: 1-9.
- Müller, C., RJ. Stevens, RJ. Laughlin. 2002. Evidence of carbon stimulated N transformations in grassland soil after slurry applications. *Soil Biol. Biochem.* : 1-9.
- Nishio, T., T. Yoshikura, K. Chiba & Z. Inouye. 1994. Effects of organic acids on heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* OKK17. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58(9): 1574-1578.
- Prosser, JI. 1989. Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 30:125-181.
- Sakai, K., Y. Ikehata, Y. Ikenaga, M. Wakayama & M. Moriguchi. 1996. Nitrite oxidation by heterotrophic bacteria under various nutritional and aerobic conditions. *J. Ferment. Bioeng.* 82(6): 613-617.

Oksidasi Nitrit Oleh Bakteri Heterotrofik Pada Kondisi Aerobik

- Tchobanoglous, G., FL. Burton & HD. Stensel. 2003. *Wastewater engineering: Treatment and reuse*. 4th ed. McGraw-Hill, Boston.
- Todar, K. 2002. Growth of bacterial population. [http://www.textbook of bacteriology.net](http://www.textbookofbacteriology.net).
- Verstraete, W. & M. Alexander. 1972. Heterotrophic nitrification by *Arthrobacter* sp. *J. Bacteriol.* 110 (3): 955-961.

Memasukkan: November 2008

Diterima: Februari 2009