

LAMPIRAN-LAMPIRAN



Lampiran 01. Komposisi dan cara pembuatan medium nitrosomonas.

Komposisi medium nitrosomonas perliter :

- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 gr
- K_2HPO_4 0,5 gr
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05 gr
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4,0 mg
- Cressol red (0,0005 %) 25 ml
- Ferric EDTA

Komposisi per 100 ml :

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 mg
- Dissodium EDTA 0,14 gr
- H_2SO_4 0,05 ml
- pH : 8,2 – 8,4
- Sterilisasi dengan autoklaf.

Cara kerja pembuatan medium nitrosomonas adalah sebagai berikut :

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dicampur. Kemudian ditambah akuades sampai volume 500 ml kemudian dikocok sampai larut dan disimpan dalam erlenmeyer kemudian dinamakan larutan I.
- Pada erlenmeyer yang lain dimasukkan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, K_2HPO_4 , Cressol red dan Ferric EDTA (dibust dengsn melarutkan 0,5 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,14 Dissodium EDTA, dengan menggunakan 0,05 ml H_2SO_4 , kemudian ditambahkan akuades hingga volume 100 ml). Setelah semua komponen tercampur, kemudian ditambahkan akuades hingga volume 500 ml.
- Kedua campuran tadi di autoklaf selama 15 menit pada tekanan 2 atm dan temperatur 121°C .
- Kedua larutan didinginkan hingga suhunya mencapai 25°C .
- Untuk medium padat maka ditambahkan agar-agar sebanyak 20 % volume medium

- pH medium yaitu 8,2 – 8,4. Jika pH medium belum sesuai, ditambah dengan 50 % K_2CO_3 steril (50 mg K_2CO_3 dalam 100 ml akuades).

Atlas (1993)



Lampiran 01. Pembuatan kurva standar ammonia.

Tabel 04. Data absorbansi larutan standar ammonia pada $\lambda = 425 \text{ nm}$.

| X | Y | X ² | Y ² | XY |
|-----|--------|----------------|----------------|---------|
| 0,1 | 0,0506 | 0,01 | 0,00256 | 0,00506 |
| 0,2 | 0,0757 | 0,04 | 0,00573 | 0,01514 |
| 0,4 | 0,1487 | 0,16 | 0,0221 | 0,05948 |
| 0,8 | 0,2840 | 0,64 | 0,0806 | 0,2272 |
| 1,0 | 0,3468 | 1,0 | 0,1202 | 0,3468 |

$$\sum X = 2,5 \quad \sum Y = 0,9058 \quad \sum X^2 = 1,85 \quad \sum Y^2 = 0,23119 \quad \sum XY = 0,65368$$

$$\bar{X} = 0,5$$

$$\bar{Y} = 0,18116$$

Keterangan : X = Konsentrasi ammonia (ppm)

Y = Absorbansi

$$\bar{Y} = A + B\bar{X}$$

$$B = \frac{n \sum XY - \sum X \cdot \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

$$B = \frac{(5)(0,65368) - (2,5)(0,9058)}{5 \cdot 1,85 - (2,5)^2}$$

$$B = \frac{1,0039}{3}$$

$$= 0,33463$$

$$\bar{Y} = A + B\bar{X}$$

$$A = \bar{Y} - B\bar{X}$$

$$= 0,18116 - 0,167315$$

$$= 0,013843$$

Persamaan Kurva standar : $Y = 0,013843 + 0,33463 X$

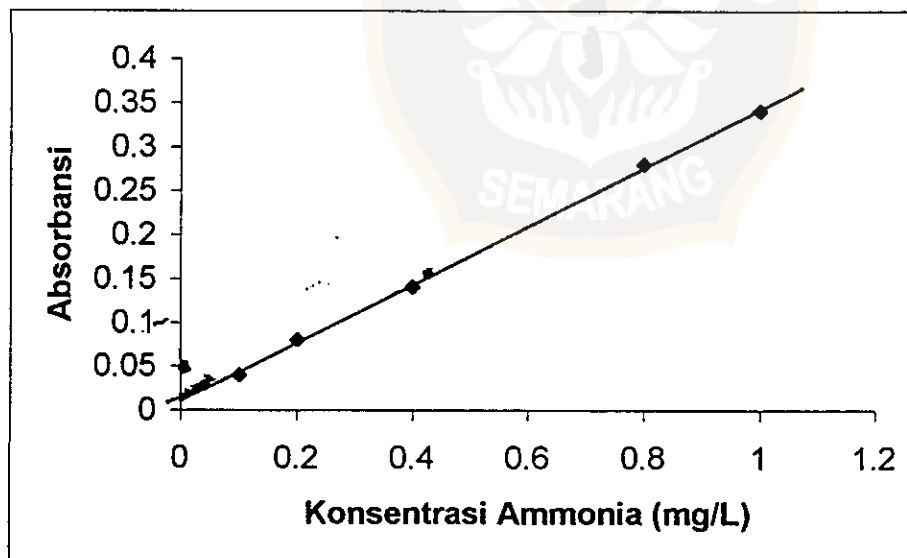
$$R = \frac{n \cdot \sum XY - \sum X \sum Y}{\sqrt{\{n \sum X^2 - (\sum X)^2\} \{n \sum Y^2 - (\sum Y)^2\}}}$$

$$= \frac{5,0,65368 - (2,5,0,9058)}{\sqrt{\{5,1,85 - (2,5)^2\} \{5,0,23119 - (0,9058)^2\}}}$$

$$= 1,000697$$

$$R^2 = 1,001394$$

Nilai IRI = 1,000697 = 1 → korelasi kuat



Gambar 03. Grafik Kurva Standar Ammonia.

Lampiran 02. Uji homogenitas konsentrasi ammonia pada medium nitrosomonas yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

Tabel 05. Uji homogenitas konsentrasi ammonia yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

| Ulangan | Xi | Xi - X | (Xi-X) ² |
|----------|----------|---------|---------------------|
| 1 | 1306,66 | 46,42 | 2154,82 |
| 2 | 1292,91 | 32,67 | 1067,33 |
| 3 | 1292,91 | 32,67 | 1067,33 |
| 4 | 1251,33 | -8,91 | 79,39 |
| 5 | 1222,81 | -37,43 | 1401,00 |
| 6 | 1193,63 | -66,55 | 4428,90 |
| 7 | 1279,46 | 19,22 | 369,41 |
| 8 | 1237,03 | -23,21 | 538,70 |
| 9 | 1265,41 | 5,17 | 26,73 |
| Σ | 11342,15 | | 11133,61 |
| 1 | 1175,90 | 19,47 | 379,08 |
| 2 | 1306,26 | 149,85 | 22455,02 |
| 3 | 1073,88 | -82,55 | 6814,50 |
| 4 | 1119,38 | -37,05 | 1372,70 |
| 5 | 1078,98 | -77,45 | 5998,50 |
| 6 | 989,28 | -167,15 | 27939,12 |
| 7 | 1152,59 | -3,84 | 14,74 |
| 8 | 1152,59 | -3,84 | 14,74 |
| 9 | 1359,02 | 202,59 | 41042,71 |
| Σ | 10407,88 | | 106031,11 |
| 1 | 1149,68 | 4,95 | 24,50 |
| 2 | 1149,68 | 4,95 | 24,50 |
| 3 | 1149,68 | 4,95 | 24,50 |
| 4 | 1149,68 | 4,95 | 24,50 |
| 5 | 1233,68 | 88,95 | 7912,10 |
| 6 | 966,18 | -178,55 | 31880,10 |
| 7 | 1364,22 | 219,94 | 48175,86 |
| 8 | 1015,46 | -129,27 | 16710,73 |
| 9 | 1103,75 | -40,98 | 1679,36 |
| | 1170,32 | 25,59 | 654,85 |
| Σ | 10302,65 | | 107086,5 |

Tabel 06. Uji homogenitas konsentrasi ammonia yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp* (ppm).

| Sampel ke | Dk | 1/dk | Si ² | Log Si ² | Dk . Log Si ² |
|-----------|----|-------|-----------------|---------------------|--------------------------|
| 1 | 8 | 0,125 | 1391,70 | 3,14 | 25,12 |
| 2 | 8 | 0,125 | 13253,89 | 4,12 | 33,96 |
| 3 | 8 | 0,125 | 13385,81 | 4,13 | 33,04 |
| Σ | 24 | 0,375 | 28031,40 | - | 91,12 |

$$Si^2 = Xi - X^2 / n - 1$$

$$S^2 = (\sum (ni - 1) Si^2 / \sum (ni - i))$$

$$= 8 \times 28031,40 / 24$$

$$= 9343,80$$

$$\text{Log } S^2 = 3,97$$

$$B = (\text{Log } S^2) \times \sum (ni - i)$$

$$= 3,97 \times 24$$

$$= 95,28$$

$$X^2 = (\text{Ln } 10) \times (B - \sum (ni - i) \text{Log } Si^2)$$

$$= 2,3026 (95,28 - 91,12)$$

$$= 2,3026 (4,16)$$

$$= 9,58$$

$$X^2 (0,95) (8) = 15,5$$

Karena X^2 hitung (9,58) < X^2 tabel (15,5) jadi data pengurangan konsentrasi ammonia memenuhi asumsi data yang homogen.



Lampiran 03. Uji normalitas data konsentrasi ammonia pada medium nitrosomonas yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

Tabel 07. Uji normalitas data konsentrasi ammonia pada medium nitrosomonas yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

| Xi | Xi ² | Xi - X | Zi | DF | F(Zi) | S(Zi) | F(Zi)-S(Zi) |
|---------|-----------------|---------|-------|---------|-------|-------|-------------|
| 966,18 | 933503,79 | -220,96 | -2,07 | -0,4808 | 0,02 | 0,04 | 0,02 |
| 989,26 | 978635,35 | -197,86 | -1,85 | -0,4678 | 0,03 | 0,07 | 0,04 |
| 1015,46 | 1031159,01 | -171,68 | -1,61 | -0,4463 | 0,05 | 0,11 | 0,06 |
| 1073,88 | 1153218,25 | -113,26 | -1,06 | -0,3554 | 0,14 | 0,15 | 0,01 |
| 1078,98 | 1164197,84 | -108,16 | -1,01 | -0,3438 | 0,16 | 0,18 | 0,02 |
| 1103,25 | 1218264,06 | -83,39 | -0,78 | -0,2823 | 0,22 | 0,22 | 0 |
| 1119,38 | 1253011,58 | -67,76 | -0,63 | -0,2357 | 0,26 | 0,26 | 0 |
| 1149,68 | 1321764,10 | -37,46 | -0,35 | -0,1368 | 0,36 | 0,30 | 0,06 |
| 1149,68 | 1321764,10 | -37,46 | -0,35 | -0,1368 | 0,36 | 0,33 | 0,03 |
| 1149,68 | 1321764,10 | -37,46 | -0,35 | -0,1368 | 0,36 | 0,37 | 0,01 |
| 1152,59 | 1328463,71 | -34,55 | -0,32 | -0,1255 | 0,37 | 0,41 | 0,04 |
| 1152,59 | 1328463,71 | -34,55 | -0,32 | -0,1255 | 0,37 | 0,44 | 0,07 |
| 1170,32 | 1369648,91 | -16,82 | -0,16 | -0,0636 | 0,44 | 0,48 | 0,04 |
| 1175,90 | 1382740,81 | -11,24 | -0,10 | -0,0398 | 0,46 | 0,52 | 0,06 |
| 1193,63 | 1424752,58 | 6,55 | 0,06 | 0,0239 | 0,52 | 0,55 | 0,03 |
| 1222,81 | 1495264,30 | 35,67 | 0,33 | 0,1293 | 0,63 | 0,59 | 0,04 |
| 1233,68 | 1521966,34 | 46,54 | 0,43 | 0,1664 | 0,67 | 0,63 | 0,04 |
| 1237,03 | 1530243,22 | 49,89 | 0,47 | 0,1808 | 0,68 | 0,66 | 0,02 |
| 1251,33 | 1565826,77 | 64,15 | 0,60 | 0,2258 | 0,72 | 0,70 | 0,02 |
| 1265,41 | 1601262,47 | 78,27 | 0,73 | 0,2673 | 0,77 | 0,74 | 0,03 |
| 1279,46 | 1637017,89 | 92,32 | 0,86 | 0,3051 | 0,80 | 0,77 | 0,03 |
| 1292,91 | 1671616,27 | 105,77 | 0,99 | 0,3389 | 0,84 | 0,81 | 0,03 |
| 1292,91 | 1671616,12 | 105,77 | 0,99 | 0,3389 | 0,84 | 0,82 | 0,02 |
| 1306,26 | 1706315,19 | 119,14 | 1,11 | 0,3665 | 0,87 | 0,88 | 0,01 |
| 1306,66 | 1707360,36 | 119,52 | 1,12 | 0,3686 | 0,87 | 0,93 | 0,06 |
| 1359,02 | 1846935,36 | 171,88 | 1,61 | 0,4463 | 0,95 | 0,96 | 0,01 |
| 1364,22 | 1861096,21 | 171,06 | 1,60 | 0,4452 | 0,94 | 1 | 0,06 |

$$\sum Xi = 32052,68$$

$$\bar{Xi} = 1187,14$$

$$\sum Xi^2 = 38347872,55$$

$$Z_i = \frac{X_i - \bar{X}_i}{S}$$

$$S^2 = \frac{n \sum X_i^2 - (\sum X_i)^2}{n(n-1)}$$

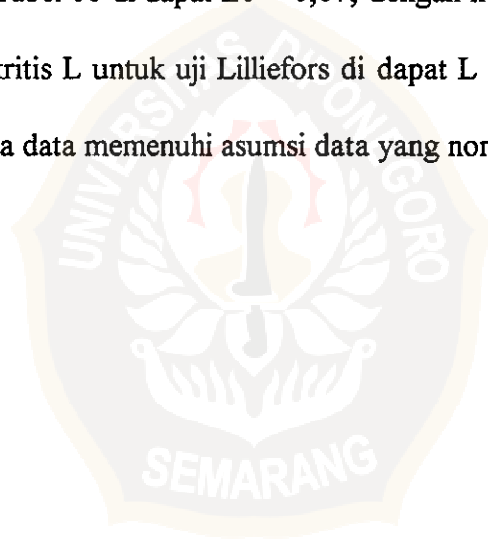
$$= \frac{27 \cdot 38347872,55 - (32052,68)^2}{702}$$

$$= 11422,03$$

$$S = 106,87$$

$$F(Z_i) = 0,5 + DF$$

Dari kolom terakhir dalam Tabel 06 di dapat $L_0 = 0,07$, dengan $n = 27$ dan taraf nyata $\alpha = 0,05$, dari daftar nilai kritis L untuk uji Lilliefors di dapat $L = 0,1778$ yang lebih besar dari $L_0 = 0,07$ sehingga data memenuhi asumsi data yang normal.



Lampiran 04. Perhitungan statistik konsentrasi ammonia pada medium nitrosomonas yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

Tabel 08. Konsentrasi Ammonia yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp* (ppm).

| Ulangan | Media | | |
|---------|----------|----------|----------|
| | K1 | K2 | K3 |
| 1 | 1306,66 | 1175,90 | 1149,68 |
| 2 | 1292,91 | 1306,26 | 1149,68 |
| 3 | 1292,91 | 1073,88 | 1149,68 |
| 4 | 1251,33 | 1119,38 | 1233,68 |
| 5 | 1222,81 | 1078,98 | 966,18 |
| 6 | 1193,63 | 989,28 | 1364,22 |
| 7 | 1279,46 | 1152,59 | 1015,46 |
| 8 | 1237,03 | 1152,59 | 1103,75 |
| 9 | 1265,41 | 1359,02 | 1170,32 |
| Jumlah | 11342,15 | 10407,88 | 10302,65 |
| Rerata | 1260,24 | 1156,43 | 1144,74 |

Data primer oleh Mohamad Soleh, tahun 1999.

Perhitungan analisa varians data konsentrasi ammonia pada medium nitrosomonas yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

$$1. \text{Faktor Koreksi} = \frac{(1306,66 + 1292,91 + \dots + 1170,32)^2}{3 \times 9}$$

$$= 38050899,82$$

$$2. \text{JK Total} = (1306,66^2 + 1292,91^2 + \dots + 1170,32^2) - \text{FK}$$

$$= 38347912,11 - 38050899,82$$

$$= 297012,29$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JKP} &= \frac{\{11342,21^2 + 10407,88^2 + 10302,65^2\} - \text{FK}}{9} \\
 &= \frac{38123856,34}{9} - 38050899,82 \\
 &= 72956,52 \\
 4. \text{ JKG} &= \text{JK Total} - \text{JKP} \\
 &= 297012,29 - 72956,52 \\
 &= 224055,77 \\
 5. \text{ KTP} &= \text{JKP/DB perlakuan} \\
 &= \frac{72956,52}{2} \\
 &= 36478,26 \\
 6. \text{ KTG} &= \text{JKG/DB galat} \\
 &= \frac{224055,77}{24} \\
 &= 9335,66 \\
 7. \text{ F hitung} &= \text{KTP/KTG} \\
 &= 3,90
 \end{aligned}$$

Tabel 09. Hasil Anova konsentrasi ammonia di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp* (ppm).

| Sumber Keragaman | DB | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F Hitung | F Tabel 5% |
|------------------|----|----------------|----------------|----------|------------|
| Konsentrasi | 2 | 72956,52 | 36478,26 | 3,90* | 3,4 |
| Galat | 24 | 224055,77 | 9335,66 | | |
| Jumlah Total | 26 | 297012,29 | - | - | - |

Keterangan * F hitung Lebih Besar Dari F Tabel 5 %

Lampiran 05. Perhitungan uji Beda Nyata Jujur (BNT)

$$\text{BNT } \alpha = t \alpha [\text{DBE}]. S\bar{d}$$

$$S\bar{d} = \sqrt{\frac{2KTG}{r}} = \sqrt{\frac{2(9335,66)}{9}} = 45,55$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= 2,064 \times 45,55 \\ &= 94,0152 \end{aligned}$$

Tabel 10. Hasil uji BNT konsentrasi ammonia yang di oksidasi isolat bakteri *Nitrosomonas sp* (ppm).

| Perlakuan | Rerata | Selisih | | |
|-----------|----------------------|---------|---------------------|----|
| K1 | 1260,24 ^a | K1 | | |
| K2 | 1156,43 ^b | 103,81* | K2 | |
| K3 | 1144,74 ^b | 115,50* | 11,69 ^{ns} | K3 |

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang nyata.

Lampiran 06. Pola Pertumbuhan Isolat Bakteri Pada Medium.

Tabel 11. Data pengukuran 'Optical Density' isolat bakteri *Nitrosomonas* pada medium perlakuan pada λ 660 nm.

| Jam Ke | "Optical Density" pada medium | | | |
|--------|-------------------------------|------|------|------|
| | K0 | K1 | K2 | K3 |
| 0 | 0,05 | 0,09 | 0,08 | 0,1 |
| 4 | 0,1 | 0,17 | 0,19 | 0,19 |
| 8 | 0,16 | 0,26 | 0,28 | 0,28 |
| 12 | 0,25 | 0,29 | 0,38 | 0,35 |
| 16 | 0,27 | 0,31 | 0,36 | 0,34 |
| 20 | 0,29 | 0,35 | 0,35 | 0,33 |
| 24 | 0,29 | 0,39 | 0,35 | 0,31 |
| 28 | 0,29 | 0,39 | 0,33 | 0,31 |
| 32 | 0,28 | 0,37 | 0,31 | 0,29 |
| 36 | 0,26 | 0,35 | 0,28 | 0,27 |
| 40 | 0,19 | 0,31 | 0,25 | 0,26 |

Keterangan : K0 = Medium tanpa penambahan konsentrasi ammonia
 K1 = Medim dasar (818,18 ppm) + 500 ppm = 1318,18 ppm
 K2 = Medim dasar (818,18 ppm) + 1000 ppm = 1818,18 ppm
 K3 = Medim dasar (818,18 ppm) + 1500 ppm = 2318,18 ppm



Gambar 04. Gambar isolat bakteri *Nitrosomonas sp.*

