

# PEMANFAATAN MIKROBA AUTOTROPH DALAM PENGOLAHAN LIMBAH NITRAT KONSENTRASI TINGGI

Rudi Nugroho

Peneliti di Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan BPPT

## Abstract

*The treatment of wastewater containing high concentration of nitrate and low concentration of BOD using autotrophic bacteria were conducted in batch suspension experiment to investigate nitrate concentration level which can be treated by the bacteria. The autotrophic bacteria were enriched by acclimating activated sludge with inorganic substrates. The experimental result shows that denitrification reaction with initial nitrate concentration in synthetic wastewater from 200 to 850 mg/l proceeded according to the one-order reaction. The denitrification rate increased with increasing the initial nitrate concentration. Sulfate was detected as the by product of the denitrification reaction. The sulfate produced for 1 mmol of nitrate decreased was 1.09 mmol.*

**Kata kunci :** Denitrifikasi, nitrat, autotropik bakteri, elemen sulfur.

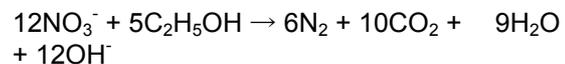
## 1. PENDAHULUAN

Pencemaran air oleh nitrat akhir-akhir ini banyak dijumpai. Beberapa sumber yang sering menyebabkan pencemaran nitrat antara lain limbah domestik, penggunaan pupuk untuk pertanian yang tidak efektif dan air limbah yang berasal dari limbah industri. Nitrat dikenal sebagai salah satu senyawa yang menyebabkan kerusakan lingkungan yaitu eutrophikasi di badan-badan air seperti danau sungai dan tempat rekreasi. Disamping itu juga nitrat apabila dikonsumsi oleh manusia, didalam lambung akan tereduksi menjadi nitrit yang kemudian terbawa masuk ke aliran darah sehingga bisa berikatan dengan hemoglobin. Gejala ini sering kita kenal sebagai methemoglobinemia, yaitu berkurangnya daya ikat sel darah merah terhadap oksigen karena sel tersebut sudah terkontaminasi oleh nitrit. Nitrit apabila bereaksi dengan bahan organik tertentu baik itu di alam maupun di dalam tubuh manusia dapat membentuk senyawa nitrosoamin yang merupakan salah satu senyawa penyebab kanker. Dengan mengingat bahaya yang ditimbulkan oleh nitrat tersebut, maka sangatlah perlu dilakukan reduksi nitrat atau yang lebih populer disebut proses denitrifikasi.

Ada beberapa proses yang bisa diterapkan untuk denitrifikasi yaitu proses kimia fisika seperti penukar ion, pemisahan dengan membran dan proses biologis dengan menggunakan bakteri heterotroph dan

autotroph. Dahab 1988, melakukan kajian berbagai proses denitrifikasi tersebut diatas untuk air limbah dan menyimpulkan kalau sistem biologis adalah yang paling ekonomis dan layak<sup>(4)</sup>.

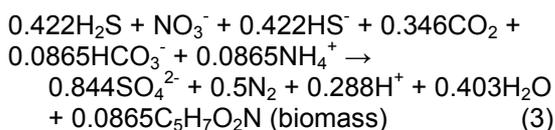
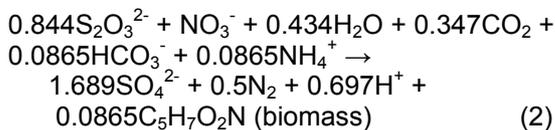
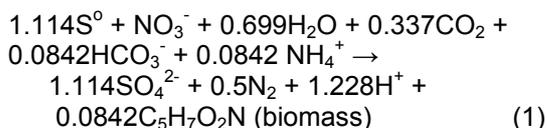
Denitrifikasi dengan menggunakan sistem biologis untuk air limbah yang cukup kandungan BOD (Biological Oxygen Demand)/N nya seperti untuk limbah domestik dan limbah industri, biasanya menggunakan mikroba heterotroph. Kandungan organik (sebagai BOD) yang ada di dalam air limbah digunakan sebagai donor hidrogen pada reaksi denitrifikasi heterotroph. Reaksi denitrifikasi yang terjadi pada pengolahan limbah dengan mikroba heterotroph adalah sebagai berikut:



Pada proses konvensional, denitrifikasi air limbah yang mempunyai kandungan BOD/N rendah atau kandungan senyawa nitrogennya relatif tinggi dilakukan dengan menggunakan mikroba heterotroph, yaitu dengan menambahkan bahan organik sebagai donor hidrogen kedalam air limbah. Akibatnya biaya pengolahan limbah menjadi besar. Disamping itu, untuk mempertinggi efisiensi reaksi denitrifikasi, penambahan bahan organik tersebut dilakukan berlebihan. Agar supaya bahan organik yang tidak bereaksi atau yang tersisa dalam air limbah setelah proses denitrifikasi tidak menimbulkan

pencemaran lingkungan, perlu dilakukan proses biodegradasi lagi sebelum limbah dibuang ke perairan. Dengan demikian denitrifikasi secara konvensional dengan mikroba heterotroph disamping perlu biaya besar juga prosesnya menjadi rumit karena perlu banyak unit-unit pengolahan. Untuk air limbah nitrat yang mengandung BOD rendah, penulis mengusulkan alternatif lain yaitu dengan menggunakan mikroba autotroph.

Mikroba autotroph adalah jenis mikroba atau bakteri yang dalam melakukan aktifitas maupun pertumbuhannya tidak memerlukan bahan organik tapi cukup dengan menggunakan bahan anorganik dan sumber karbon dari CO<sub>2</sub>. Salah satu jenis mikroba ini adalah *Thiobacillus denitrificans* yang dapat mereduksi nitrat menjadi nitrogen gas dengan menggunakan senyawa belerang tereduksi seperti batuan belerang, thiosulfat, ferry sulfat maupun hidrogen sulfida sebagai donor elektron. Senyawa belerang ini pada akhir reaksi denitrifikasi akan teroksidasi menjadi sulfat dengan reaksi sebagai berikut<sup>(1,3)</sup>:



Kelebihan dari proses denitrifikasi dengan mikroba autotroph yaitu:

1. Tidak memerlukan penambahan bahan organik sehingga biaya pengolahan limbah dapat ditekan.
2. Mempunyai sifat yang lambat dalam pertumbuhan dibanding bakteri heterotroph sehingga bila diterapkan dalam pengolahan limbah sistem biologis tidak akan banyak menghasilkan sisa lumpur. Sisa-sisa lumpur merupakan salah satu kendala dalam penanganan dan pengolahan limbah sistem biologis karena untuk mengolahnya perlu biaya yang cukup besar.

3. Tidak menimbulkan polusi sampingan oleh bahan organik yang tidak terolah.
4. Bisa diterapkan dengan sistem yang sederhana yaitu dengan reaktor bahan isian batu belerang dan batu kapur.

Pada makalah ini penulis memaparkan tentang hasil studi penggunaan mikroba autotroph untuk mendenitrifikasi air limbah nitrat buatan dengan kadar organik (BOD) rendah kadar nitratnya tinggi dengan sistem batch mikroba tersuspensi. Tujuan dari percobaan ini adalah untuk meneliti sampai seberapa besar konsentrasi nitrat dalam air limbah dapat diolah tanpa menimbulkan efek hambatan terhadap kinerja mikroba.

## 2. PROSEDUR PENELITIAN

### 2.1. Pembibitan Mikroba dan Aklimatisasi

Bibit mikroba diambil dari lumpur aktif instalasi pengolahan limbah domestik komunal di Propinsi Oita, Jepang. Lokasi pengambilan dipilih pada bak pengendap akhir setelah proses biologis aerob dengan pertimbangan konsentrasi MLSS (Mixed Liquor Suspended Solid) tinggi sekitar 9000 mg/l. Lumpur dari sini setelah diambil dan disaring untuk menghilangkan padatan yang bukan termasuk lumpur aktif, kemudian dilakukan pencucian dengan air. Setelah itu didiamkan lebih kurang 12 jam sehingga terjadi dua bagian lumpur, yaitu lumpur yang mengendap dan lumpur yang terapung. Selanjutnya lumpur yang diambil untuk proses aklimatisasi mikroba autotroph adalah bagian yang mengapung. Kenapa demikian, karena penulis berasumsi bahwa proses pengapungan lumpur salah satu sebabnya adalah timbulnya gas diantaranya gas nitrogen disela-sela lumpur. Gas nitrogen ini adalah sebagai indikasi akibat dari terjadinya reaksi denitrifikasi. Dengan demikian lumpur yang mengapung sebagian besar terdiri dari mikroba denitrifikasi. Selanjutnya lumpur tersebut diencerkan dengan menggunakan air limbah buatan dalam tangki dengan kapasitas 10 liter. Konsentrasi mikroba dalam campuran ini diatur pada MLSS 2000 – 3000 mg/L. Komposisi air limbah buatan untuk proses aklimatisasi terdiri dari bahan anorganik dan dapat dilihat di tabel 1. Potasium nitrat berfungsi sebagai sumber nitrogen untuk reaksi denitrifikasi, sedangkan amonium klorida dipakai sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan mikroba autotroph. Magnesium

dan besi dipakai sebagai “trace mineral” untuk metabolisme mikroba. Sebagai sumber karbon digunakan senyawa bikarbonat. Kalium dihidrogen fosfat dan natrium hidrogen fosfat dipakai sebagai penyangga pH. Natrium thiosulfat dan bubuk belerang dipakai sebagai donor elektron pada reaksi denitrifikasi.

Table 1. Komposisi air limbah buatan untuk aklimatisasi mikroba denitrifikasi autotroph.

Bahan	Konsentrasi (mg/l)
KNO <sub>3</sub>	144
NH <sub>4</sub> Cl	148
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	122
FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	10
NaHCO <sub>3</sub>	1000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1500
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	3500
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	300

Aklimatisasi dilakukan selama kurang lebih satu bulan dengan sistem batch “fill and draw”. Penambahan air limbah buatan dilakukan setiap hari. Setelah satu bulan aklimatisasi, aktifitas mikroba dalam mendenitrifikasi air limbah buatan di coba pada reaktor batch sistem mikroba tersuspensi.

### 2.2. Pengujian aktifitas mikroba autotroph untuk mendenitrifikasi limbah nitrat konsentrasi tinggi

Percobaan untuk melakukan pengujian aktifitas mikroba autotroph hasil aklimatisasi dilakukan dalam gelas beker volume 300 ml. Mikroba hasil aklimatisasi sebelumnya dicuci 3 kali dengan menggunakan air. Mikroba yang telah dicuci diambil 100 ml dengan kandungan MLSS diatur 2000 mg/l. Air limbah yang akan didenitrifikasi adalah air limbah buatan dengan komposisi seperti yang tercantum di tabel 2.

Air limbah buatan tersebut diatas di campurkan kedalam gelas beker yang berisi mikroba hasil aklimatisasi. Sesaat setelah pencampuran, sample diambil secepatnya lebih kurang 10 ml. Kemudian campuran dalam gelas beker di hembus dengan gas nitrogen selama 3 menit untuk membuat kondisi anaerob. Selanjutnya beker ditutup dengan penutup karet dan diletakkan dalam pemanas air temperatur 30°C sambil digoyang

dengan “shaker”. Reaksi denitrifikasi dilakukan selama 4 jam dengan periode pengambilan sampel 1 jam.

### 2.3. Analisa

Senyawa nitrat, nitrit dan sulfat dianalisa dengan menggunakan ion chromatografy merek JASCO dilengkapi dengan kolom analisa merek DIONEX. MLSS diukur dengan cara menyaring campuran antara air limbah dengan mikroba (sludge) dengan kertas saring 45 mikron yang telah dikeringkan. Selanjutnya kertas saring dan mikroba yang tertahan di masukkan kedalam oven dengan temperature 105°C selama 12 jam. Selisih berat kertas tanpa mikroba dengan berat kertas ada mikroba nya dihitung sebagai MLSS dan dinyatakan dalam mg/l.

Tabel 2. Komposisi air limbah buatan untuk tes aktifitas mikroba autotroph

Senyawa	Konsentrasi (mg/l)
KNO <sub>3</sub> (sebagai nitrat)	200sampai 850
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1500
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	3500
Serbuk belerang	10 g

## 3. HASIL PERCOBAAN

### 3.1. Pengujian aktifitas mikroba autotroph untuk mendenitrifikasi limbah nitrat konsentrasi tinggi.

Grafik 1 menunjukkan perubahan konsentrasi nitrat maupun nitrit terhadap waktu pada percobaan pengujian aktifitas mikroba autotroph untuk mendegradasi air limbah nitrat buatan dengan konsentrasi awal masing-masing 200, 420, 670 dan 850 g-nitrat/m<sup>3</sup> dengan menggunakan sistem mikroba tersuspensi. Dari grafik tersebut memper lihatkan terjadinya penurunan konsentrasi nitrat terhadap waktu untuk semua konsentrasi awal nitrat. Nitrit sebagai produk antara pada reaksi denitrifikasi tidak terakumulasi dan konsentrasinya selalu mendekati 0 untuk semua percobaan. Tahapan denitrifikasi nitrat menjadi gas nitrogen secara sederhana dapat dituliskan sebagai berikut:



Karena reaksi denitrifikasi berlangsung dengan tahapan nitrat berubah jadi nitrit dan

nitrit berubah menjadi gas nitrogen, tidak mengakumulasi nitrit pada hasil percobaan tersebut menunjukkan bahwa kecepatan reaksi nitrit menjadi gas nitrogen lebih cepat daripada kecepatan reaksi nitrat menjadi nitrit. Tidak mengakumulasi nitrit merupakan nilai positif dari denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph. Ini dikarenakan nitrit merupakan senyawa yang lebih berbahaya dari pada nitrat. Selain itu juga nitrit adalah bersifat menghambat (inhibitor) terhadap kinerja mikroba walaupun pada konsentrasi yang relatif rendah, terutama apabila nitrit berbentuk asam nitrit<sup>(10)</sup>.

Grafik 2 menunjukkan hubungan antara kecepatan reaksi denitrifikasi dengan konsentrasi awal nitrat. Kecepatan reaksi dihitung dari penurunan konsentrasi nitrat pada setiap percobaan di grafik 1, yaitu penurunan konsentrasi pada jam ke 0 sampai dengan jam ke 1. Dari grafik 2 tersebut terlihat bahwa untuk konsentrasi awal nitrat sampai dengan 850 g/m<sup>3</sup>, kecepatan reaksi denitrifikasi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi nitrat atau bisa dikatakan bahwa reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph dengan sistem mikroba tersuspensi berjalan mengikuti orde 1. Ini menunjukkan bahwa mikroba autotroph dapat mendegradasi limbah nitrat walaupun dengan konsentrasi yang relatif tinggi.

Konstanta kecepatan reaksi denitrifikasi dihitung dengan menggunakan rumus :

$$r = kC^n \quad (4)$$

dimana r = kecepatan reaksi denitrifikasi  
 k = konstanta kecepatan reaksi denitrifikasi  
 C = konsentrasi  
 n = orde reaksi (nilai n=1)

Dari hubungan konsentrasi dan kecepatan reaksi denitrifikasi pada grafik 2, nilai k dapat dihitung yaitu sebesar 0.11 h<sup>-1</sup>. Nilai k ini sangat penting untuk mendesain reaktor denitrifikasi sistem mikroba tersuspensi.

Bertambahnya kecepatan reaksi denitrifikasi dengan kenaikan konsentrasi nitrat, menunjukkan pula tingginya daya tahan mikroba autotroph terhadap konsentrasi substrat yang tinggi. Dengan demikian sangatlah tepat apabila mikroba autotroph ini

dipakai untuk mendenitrifikasi limbah-limbah nitrat dengan kadar nitrat tinggi BOD rendah seperti air limbah dari industri pupuk, air limbah dari proses pencucian menggunakan asam nitrat dan lain sebagainya.

Seperti yang tertulis dalam persamaan reaksi 1 diatas, denitrifikasi dengan mikroba autotroph dan belerang sebagai donor elektronnya, untuk setiap 1 mmol nitrat akan menghasilkan 1.114 mmol sulfat. Ini berlaku untuk mikroba murni yang terdiri hanya dari jenis *Thiobacillus denitrificans*. Grafik 4 menunjukkan hubungan antara sulfat yang terbentuk dengan nitrat yang terdenitrifikasi pada percobaan di grafik 2. Dari grafik tersebut terlihat kalau hubungan antara sulfat yang terbentuk dengan nitrat yang terdenitrifikasi adalah linier dengan slope 1.09. Slope ini hampir sama dengan angka stoikiometri pada persamaan 1. Dengan demikian dapat ditarik kesimpulan bahwa sebagian besar mikroba hasil aklimatisasi adalah jenis *thiobacillus denitrificans*.

Gambar 1 menunjukkan foto SEM (Scanning Electro Microscopy) dari mikroba autotroph hasil aklimatisasi. Terlihat mikroba menyerupai bentuk bulat lonjong dengan ukuran sekitar 4 mikron.

#### 4. KESIMPULAN

Denitrifikasi dengan menggunakan mikroba autotroph dapat diterapkan untuk limbah buatan dengan konsentrasi nitrat tinggi dan BOD rendah. Pada percobaan dengan sistem mikroba tersuspensi dengan konsentrasi awal nitrat pada air limbah 200 sampai dengan 850 g/m<sup>3</sup> reaksi denitrifikasi berjalan mengikuti orde 1, yaitu semakin besar konsentrasi awal nitrat semakin tinggi kecepatan reaksi denitrifikasinya. Dengan demikian, konsentrasi nitrat pada substrat sampai dengan 850 g/m<sup>3</sup> tidak menimbulkan efek hambatan pada aktifitas mikroba autotroph. Nilai k dapat dihitung dari percobaan yaitu 0.11 h<sup>-1</sup>. Mikroba autotroph yang diaklimatisasi dari lumpur aktif diperkirakan sebagian besar terdiri dari jenis *Thiobacillus denitrificans*. Perkiraan ini di perkuat dengan hampir samanya koefisien stoikiometri hasil percobaan dengan koefisien stoikiometri reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba *Thiobacillus denitrificans* murni pada literatur.

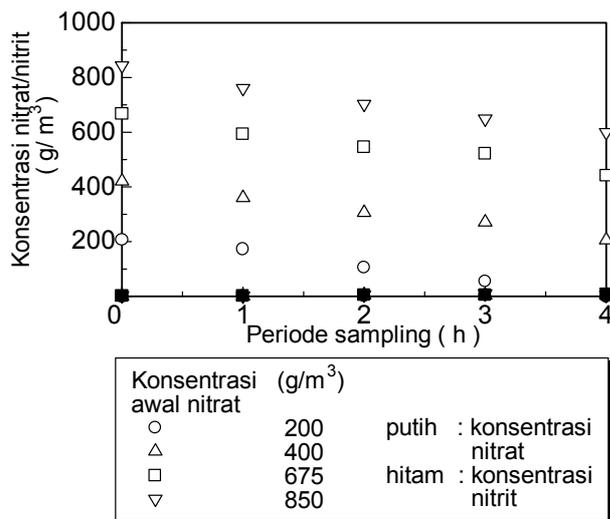
## DAFTAR PUSTAKA

1. Bisogni, J. J. and C. T. Driscoll, Denitrification using Thiosulfate and Sulfide, *J. Env. Eng.*, 1977, Vol. 103 pp 593-604.
2. Claus, G. and H. J. Kutzner, Autotrophic Denitrification by Thiobacillus denitrificans in a Packed Bed Reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1985, Vol.22 pp 289-296.
3. Driscoll, C. T., J. J. Bisogni, The Use of Belerang and Sulfide in Packed Bed Reactors for Autotrophic Denitrification, *J. WPCF.*, 1978, Vol.50 pp 569-576.
4. Dahab, M. F., and Lee, Y. W. (1988) Nitrat removal from water supplies using biological denitrification, *Journal WPCF.*, **60**, 9, 1670-1674.
5. Hano, T., H. Takanashi, M. Hirata and S. Ohara, Nitrogen Removal from Landfill Leachate with Autotrophic Bacteria, *Proceeding of Reg. Symp. on Chem. Eng*, Jakarta, 1996.
6. Harremous, P., The Significance of Pore Diffusion to Filter Denitrification, *J. WPCF.*, 1976, Vol. 48 No.2 pp 377-387.
7. Koenig, A. and L. H. Liu, Autotrophic Denitrification of Landfill Leachate using Elemental Sulphur, *Water Science and Technology*, 1996, Vol. 34 No. 5-6 pp 469-476.
8. Koenig, A. and L. H. Liu, Kinetic Model of Autotrophic Denitrification in Sulphur Packed-Bed Reactors, *Water Research*, 2001, Vol. 15 No. 8 pp 1968-1978.
9. Matsui, S. and R. Yamamoto, A New Method of Sulphur Denitrification for Sewage Treatment by a Fluidized Bed Reactor, *Wat. Sci. Tech.*, 1986, Vol.18 pp 355-362.
10. Rudi Nugroho, Kwon Taeok, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano (2002) Effect of nitrit on denitrification of wastewater by autotrophic bacteria, *Proc. of the Regional Symposium on Chemical Engineering*.
11. Schippers, J. C., J.C. Kruithof, F. G. Mulder and J. W. van Lieshout, Removal of Nitrat by Slow Sulphur/Limestone Filtration, *Aqua*, 1987, No.5 pp 274-280.
12. Zayed , G. and J. Winter, Removal of Organic Pollutants and of Nitrate from the Dairy Industry by Denitrification, *Appl. Microbiol Biotechnol* 1998, No. 49, pp 469-474.

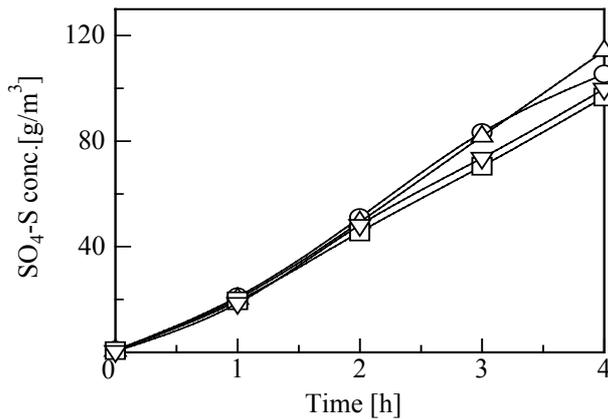
## LAMPIRAN :



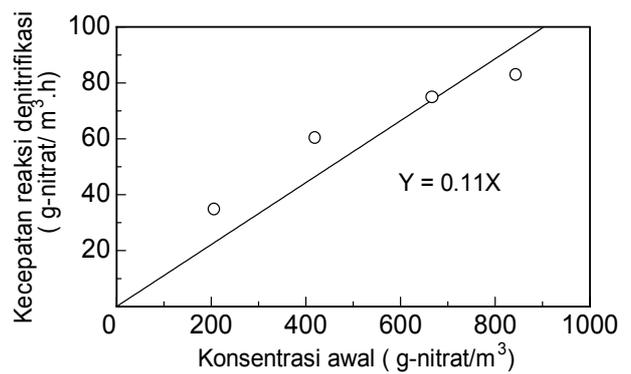
Gambar 1. Foto Scanning Electro Microscopy mikroba autotroph hasil aklimatisasi



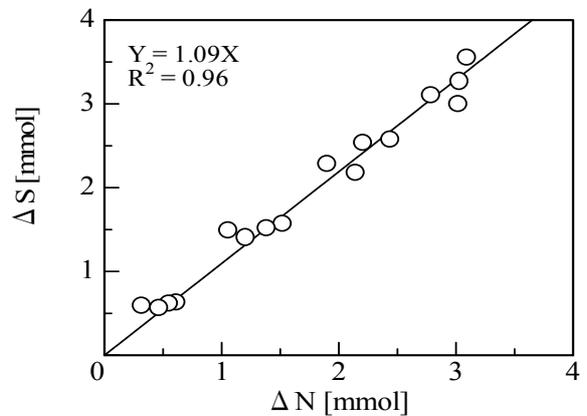
Grafik-1. Penurunan konsentrasi nitrat terhadap waktu untuk masing-masing konsentrasi awal nitrat pada reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph



Grafik-3. Kenaikan konsentrasi sulfat terhadap waktu untuk masing-masing konsentrasi awal nitrat pada reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph. (Keterangan simbol grafik sama dengan yang tertera pada grafik 1)



Grafik-2. Hubungan antara kecepatan reaksi denitrifikasi dengan konsentrasi awal nitrat



Grafik-4. Hubungan antara kenaikan konsentrasi sulfat ( $\Delta S$ ) dengan penurunan konsentrasi nitrat ( $\Delta N$ ) pada reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph.