

Karakter Pertumbuhan dan Aktivitas Nitrifikasi Kultur Mikroba N-Sw

Dwi Agustiyani¹, Hartati Imamuddin¹, Tanto Haryanto².

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

²Jurusan Kimia, Fak. MIPA-IPB.

ABSTRACT

The growth character and nitrification activity of nitrifying cultures (N-Sw). The culture of nitrifiers (N-Sw) was obtained from acclimated sludge of sawit palm oil industry wastewater. The growth and nitrification activity of those cultures were investigated. The result shows that the growth and nitrification activity attained optimum at pH 7-8, and temperature of 30 °C. The culture of nitrifiers was still growing at pH 5, but the nitrification activity was not detected. The growth of nitrifiers and the nitrification activity was inhibited at 40 °C. The ammonium conversion rate reached 0,088-0,090 mg N-NH₄⁺/L/hour/g biomass. The rate of ammonium conversion in the bioreactor increased to 0.630 mg N-NH₄⁺/L/hour/g biomass as the pH maintained at 7.5-8 and dissolved oxygen at 3-4 mg/l O₂.

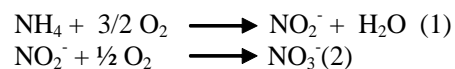
Key words: nitrifying culture, ammonium, ammonium conversion rate

PENDAHULUAN

Amonia merupakan senyawa yang banyak terdapat di *sewage* (pembuangan kotoran), limbah domestik dan limbah cair dari berbagai industri. Konsentrasi amonia yang tinggi dapat menyebabkan eutrophikasi di perairan umum, seperti sungai dan danau. Disamping itu, proses oksidasi amonia yang memerlukan oksigen dalam jumlah besar dapat menyebabkan konsentrasi oksigen terlarut di dalam perairan menjadi rendah, dan kondisi seperti ini sangat berbahaya bagi organisme akuatik. Oleh karena itu proses degradasi senyawa nitrogen, utamanya amonia menjadi sangat penting dalam sistem pengolahan limbah cair.

Secara umum diyakini bahwa degradasi amonia secara biologi, melalui

proses nitrifikasi dan denitrifikasi dilihat dari efisiensi degradasinya dianggap paling ekonomis. Namun demikian, bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik sangat sensitif terhadap faktor lingkungan dan tumbuh sangat lambat sehingga populasinya di dalam lumpur aktif seringkali terkompresi oleh mikroorganisme heterotrofik. Mikroba nitrifikasi pada umumnya bersifat autotrofik atau miksotrofik (Laanbroek *et al.* 1994). Dalam proses nitrifikasi terjadi dua tahapan reaksi, yaitu oksidasi amonium menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Karakter Pertumbuhan dan Aktivitas Nitrifikasi Kultur Mikroba N-Sw

Dwi Agustiyani¹, Hartati Imamuddin¹, Tanto Haryanto².

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

²Jurusan Kimia, Fak. MIPA-IPB.

ABSTRACT

The growth character and nitrification activity of nitrifying cultures (N-Sw). The culture of nitrifiers (N-Sw) was obtained from acclimated sludge of sawit palm oil industry wastewater. The growth and nitrification activity of those cultures were investigated. The result shows that the growth and nitrification activity attained optimum at pH 7-8, and temperature of 30 °C. The culture of nitrifiers was still growing at pH 5, but the nitrification activity was not detected. The growth of nitrifiers and the nitrification activity was inhibited at 40 °C. The ammonium conversion rate reached 0,088-0,090 mg N-NH₄⁺/L/hour/g biomass. The rate of ammonium conversion in the bioreactor increased to 0.630 mg N-NH₄⁺/L/hour/g biomass as the pH maintained at 7.5-8 and dissolved oxygen at 3-4 mg/l O₂.

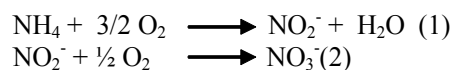
Key words: nitrifying culture, ammonium, ammonium conversion rate

PENDAHULUAN

Amonia merupakan senyawa yang banyak terdapat di *sewage* (pembuangan kotoran), limbah domestik dan limbah cair dari berbagai industri. Konsentrasi amonia yang tinggi dapat menyebabkan eutrophikasi di perairan umum, seperti sungai dan danau. Disamping itu, proses oksidasi amonia yang memerlukan oksigen dalam jumlah besar dapat menyebabkan konsentrasi oksigen terlarut di dalam perairan menjadi rendah, dan kondisi seperti ini sangat berbahaya bagi organisme akuatik. Oleh karena itu proses degradasi senyawa nitrogen, utamanya amonia menjadi sangat penting dalam sistem pengolahan limbah cair.

Secara umum diyakini bahwa degradasi amonia secara biologi, melalui

proses nitrifikasi dan denitrifikasi dilihat dari efisiensi degradasinya dianggap paling ekonomis. Namun demikian, bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik sangat sensitif terhadap faktor lingkungan dan tumbuh sangat lambat sehingga populasinya di dalam lumpur aktif seringkali terkompetisi oleh mikroorganisme heterotrofik. Mikroba nitrifikasi pada umumnya bersifat autotrofik atau miksotrofik (Laanbroek *et al.* 1994). Dalam proses nitrifikasi terjadi dua tahapan reaksi, yaitu oksidasi amonium menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Kelompok bakteri autotrofik yang berperan dalam proses nitrifikasi adalah Nitrobacteriaceae, diantaranya adalah *Nitrosomonas* (bakteri pengoksidasi amonium) dan *Nitrobacter* (bakteri pengoksidasi nitrit). Beberapa mikroorganisme yang bersifat heterotrofik juga dilaporkan mampu mengoksidasi amonia atau nitrogen organik menjadi nitrit atau nitrat (Sylvia *et al.* 1990). Bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik memperoleh energi untuk penyusunan, pengaturan sel, pertumbuhan dan aktivitasnya dari oksidasi senyawa nitrogen, terutama amonium. Untuk sintesis selnya, bakteri ini lebih banyak menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon (Met Calf & Eddy 1991). Bakteri nitrifikasi sangat sensitif terhadap substansi toksik, pH, suhu, oksigen, dan konsentrasi substrat. Adanya material organik juga berpengaruh negatif terhadap proses nitrifikasi (Wiesmann 1994).

Isolasi dan pemurnian mikroba nitrifikasi dari alam sangat sulit dan memerlukan waktu yang cukup lama. Dalam upaya memperoleh kultur mikroba nitrifikasi, telah dilakukan aklimatisasi terhadap *sludge* pengolahan limbah minyak kelapa sawit pada media cair yang mengandung amonium sulfat selama lebih kurang 1 tahun. Kultur mikroba nitrifikasi hasil aklimatisasi tersebut kemudian diberi nama kultur mikroba N-Sw. Pada penelitian ini, karakter pertumbuhan dan aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba nitrifikasi N-Sw dipelajari.

BAHAN DAN CARA KERJA

Kultur mikroba nitrifikasi dan media pertumbuhan

Kultur mikroba nitrifikasi (N-Sw) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari lumpur (*sludge*) kolam aerasi, unit pengolahan limbah cair industri minyak kelapa sawit yang telah di aklimatisasi dengan amonium sulfat selama 1 tahun. Komposisi media untuk pertumbuhan nitrifikasi dan pengujian aktivitas degradasi amonium (nitrifikasi) adalah sebagai berikut: KH₂PO₄ (725 mg), Na₂HPO₄ · 12 H₂O (1136 mg), MgSO₄ · 7H₂O (50 mg), CaCl₂ · 2H₂O (20 mg), dan Na₂EDTA · 2H₂O (1,0 mg), dilarutkan ke dalam aquades dan ditambah elemen mikro sebanyak 1 ml sampai volume larutan menjadi 1000 ml. Komposisi elemen mikro adalah sebagai berikut: Na₂MoP₄ · 2H₂O (10,0 mg), MnCl₂ · 4H₂O (20,0 mg), ZnSO₄ · 7H₂O (10,0 mg), CoCl₂ · 6H₂O (0,20 mg), dan CuSO₄ · 5H₂O (2,0 mg), dilarutkan ke dalam aquades sampai volume larutan menjadi 1000 ml.

Produksi biomasa mikroba nitrifikasi

Biomasa mikroba nitrifikasi diproduksi dengan cara menumbuhkan kultur mikroba nitrifikasi N-Sw dalam Erlenmeyer (1L), yang berisi 300 ml basal media yang mengandung 200 mg/L (NH₄)₂SO₄, sebagai satu-satunya sumber nitrogen dan energi. Kultur mikroba tersebut kemudian diinkubasi di atas mesin pengocok (*shaker*). Setiap 24 jam sekali kultur diambil dari mesin pengocok, kemudian didiamkan sekitar 30-60 menit, separo media (150 ml) dikeluarkan dan

kedalam kultur tersebut ditambahkan kembali 150 ml media segar. Kultur mikroba nitrifikasi dipanen dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit, kemudian dipisahkan antara supernatant dengan filtratnya.

Penentuan pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi

Kultur mikroba nitrifikasi (N-Sw) sebanyak 3 g/L (biomasa basah) ditumbuhkan dalam 100 ml Erlenmeyer yang berisi 50 ml basal media. Sebagai sumber nitrogen dan energi diberikan 200 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Kultur diinkubasi di atas mesin pengocok (*shaker*) pada suhu kamar selama 2 hari. Pertumbuhan ditentukan dengan cara mengukur penurunan konsentrasi substrat amonium serta pembentukan produk nitrit dan nitrat.

Penentuan aktivitas nitrifikasi

Aktivitas nitrifikasi ditentukan dengan cara menambahkan 3 g/L (biomasa basah) kultur mikroba nitrifikasi N-Sw ke dalam 50 ml bufer pospat (50 mM KH_2PO_4 -NaOH, pH 8,5) yang mengandung 200 mg/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebagai substrat. Kultur mikroba diinkubasi dalam labu Erlenmeyer 250 ml pada suhu kamar, diatas mesin pengocok (*shaker*) selama 3 hari. Selanjutnya, sampel diambil setiap 12 jam sekali untuk penentuan aktivitas nitrifikasi. Aktivitas nitrifikasi ditentukan dengan cara mengukur konsentrasi amonium, nitrit dan nitrat.

Penentuan pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi

Pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi ditentukan dengan cara mengukur aktivitas nitrifikasi pada pH 5, 6, 7, 8, dan 9. Nilai pH substrat diatur dengan menambahkan larutan NaOH 1 N atau HCl 1N. Penentuan kondisi reaksi, pengambilan sampel, dan pengukuran aktivitas nitrifikasi dilakukan seperti metoda penentuan aktivitas nitrifikasi yang telah diuraikan diatas.

Penentuan pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi

Pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi ditentukan dengan cara mengukur aktivitas nitrifikasi pada suhu 10, 20, 30, 40 °C. Penentuan kondisi reaksi, pengambilan sampel, dan pengukuran aktivitas nitrifikasi dilakukan seperti metoda penentuan aktivitas nitrifikasi yang telah diuraikan diatas.

Pengujian aktivitas nitrifikasi kultur mikroba N-Sw dalam Bioreaktor/ Tangki aerasi

Bioreaktor yang digunakan dalam penelitian ini berbentuk silinder terbuat dari gelas, diameter 15 cm, tinggi 30 cm, volume 3 L. Bioreaktor dioperasikan secara *fill and draw*, yaitu mengeluarkan 1,5 L media cair yang telah diperlakukan sebelum menambahkan media baru. Oksigen dialirkan ke dalam bioreaktor dengan menggunakan aerator, sehingga konsentrasi oksigen terlarut mencapai kisaran 3-4 mg/L. Komposisi media cair adalah sebagai berikut: NH_4Cl (100 mg/L), NaHCO_3 (600 mg/L)

K₂HPO₄ (70 mg/L), MgSO₄.7H₂O (100 mg/L) dan NaCl (71 mg/L). Siklus pemberian umpan 1 kali dalam 48 jam. Bioreaktor dioperasikan lebih kurang 1 minggu hingga perubahan kimia dalam bioreaktor menjadi stabil. Setelah stabil, dalam selang waktu tertentu konsentrasi amonium, nitrit, dan nitrat diukur dengan cara yang sama seperti pengujian sebelumnya. Biomasa dalam bioreaktor diukur dengan cara pengeringan pada suhu 105 °C selama 24 jam.

Parameter penelitian

Parameter yang diukur adalah amonium (NH₄-N), nitrit (NO₂-N) dan nitrat (NO₃-N). Konsentrasi amonium dan nitrit ditentukan dengan menggunakan metoda yang tercantum dalam Standard Method (APHA 1992) dengan sedikit modifikasi. Konsentrasi nitrat ditentukan dengan menggunakan metoda yang tercantum dalam SNI, (Departemen Pekerjaan Umum 1990) yang telah dimodifikasi (Agustiyani & Imamuddin 2000).

Metoda perhitungan Efisiensi Nitrifikasi

Metoda I (Djajadiningrat *et al.* 1990):

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{(\text{NH}_4\text{-N})_{\text{in}} - (\text{NH}_4\text{-N})_{\text{ef}}}{(\text{NH}_4\text{-N})_{\text{in}}} \times 100\%$$

Metoda II (Hamoda & Granczarczyk 1980):

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{[(\text{NO}_2\text{-N}) + (\text{NO}_3\text{-N})]_{\text{ef}}}{[(\text{NO}_2\text{-N}) + (\text{NO}_3\text{-N})]_{\text{ef}} + (\text{NH}_4\text{-N})_{\text{ef}}} \times 100\%$$

Keterangan:

in = influen (awal inkubasi/0 jam)

ef = effluen (akhir inkubasi/t jam)

HASIL

Pertumbuhan kultur mikroba N-Sw

Kultur mikroba nitrifikasi N-Sw ditumbuhkan dalam media yang mengandung amonium. Pertumbuhan nitrifikasi ditentukan berdasarkan penurunan konsentrasi substrat amonium (N-NH₄⁺) dan pembentukan produk nitrit (N-NO₂⁻) dan nitrat (N-NO₃⁻). Hasil pengujian pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi N-Sw pada media amonium ditampilkan pada Tabel 1.

Konsentrasi amonium dalam media pertumbuhan kultur mikroba N-Sw mengalami penurunan, dari 43,90 mg/L N-NH₄⁺ menjadi 4,10 mg/L N-NH₄⁺

Tabel 1. Pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi N-Sw

Perlakuan	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)
Kontrol	0	43,90	-	-
	12	42,82	-	-
	24	42,78	-	-
Kultur mikroba N-Sw	0	43,90	-	-
	12	4,10	4,68	17,57
	24	-	6,32	24,30

(90,66%) setelah 12 jam inkubasi, dan tidak terdeteksi lagi setelah 24 jam inkubasi. Penurunan konsentrasi amonium diikuti dengan terbentuknya nitrit (6,32 mg/L N-NO₂⁻) dan nitrat (24,30 mg/L N-NO₃⁻). Hasil ini berbeda nyata dengan kontrol (tanpa kultur nitrifikasi) yang hanya mengalami penurunan amonium dari 43,90 mg/L N-NH₄⁺ menjadi 42,78 mg/L N-NH₄⁺ (2,50%) setelah 24 jam inkubasi, sedangkan nitrit maupun nitrat tidak terdeteksi. Terjadinya perubahan konsentrasi amonium menjadi nitrit dan nitrat mencerminkan adanya pertumbuhan bakteri pengoksidasi amonium dan bakteri pengoksidasi nitrit.

Aktivitas nitrifikasi kultur mikroba N-Sw

Konsentrasi amonium dalam media pertumbuhan kultur mikroba N-Sw mengalami penurunan dari 42,97 mg/L N-NH₄⁺ menjadi 14,46 mg/L N-NH₄⁺ selama 12 jam inkubasi (Tabel 2). Penurunan

konsentrasi amonium terus berlangsung hingga tidak terdeteksi lagi setelah 24 jam inkubasi. Penurunan konsentrasi amonium diikuti dengan terbentuknya senyawa nitrit dan nitrat. Terbentuknya senyawa nitrit dan nitrat mengindikasikan adanya aktivitas nitrifikasi.

Berdasarkan perubahan konsentrasi amonium, nitrit dan nitrat dalam reaksi nitrifikasi dapat dihitung efisiensi nitrifikasi yang terjadi. Efisiensi nitrifikasi dihitung berdasarkan dua metode yaitu efisiensi nitrifikasi yang dihitung berdasarkan pada perubahan konsentrasi amonium yang terjadi (metode I) dan efisiensi nitrifikasi yang dihitung berdasarkan pada terbentuknya nitrit dan nitrat (metoda II). Efisiensi nitrifikasi mencapai 53,67% selama 12 jam reaksi (metode II). Nilai ini sedikit lebih rendah dari nilai efisiensi yang dicapai dengan perhitungan metode I yang mencapai 66,35 %. Setelah 24 jam reaksi, efisiensi

Tabel 2. Aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba nitrifikasi N-Sw

Perlakuan	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	Efisiensi Nitrifikasi (%)	
					Metoda I	Metoda II
Kontrol	0	42,97	-	-		
	12	40,35	-	-		
	24	40,29	-	-		
Kultur mikroba N-Sw	0	42,97	-	-	-	-
	12	14,46	4,91	18,15	66,35	53,67
	24	-	5,16	22,23	100,00	63,74

nitrifikasi meningkat menjadi 63,74% (metode II) dan 100% (metode I).

Pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi

Pada pH 5, konsentrasi amonium dalam media mengalami penurunan sebesar 10,31%, setelah 24 jam inkubasi, namun tidak diikuti dengan pembentukan nitrit maupun nitrat. Pada pH 6, aktivitas nitrifikasi mulai nampak dengan adanya penurunan konsentrasi amonium yang diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat. Pada perlakuan pH 7 dan 8 terjadi peningkatan pembentukan nitrit dan nitrat, sedangkan pada pH 9, pembentukan nitrit dan nitrat mengalami penurunan. Aktivitas nitrifikasi mengalami penghambatan pada perlakuan pH 5, diindikasikan dengan tidak terbentuknya nitrit dan nitrat. Ini berarti bahwa pada

pH 5 aktivitas bakteri pengoksidasi amonium maupun bakteri pengoksidasi nitrit terhambat.

Pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi

Pada suhu 10°C sudah terdeteksi adanya aktivitas nitrifikasi yang diindikasikan dengan terjadinya penurunan konsentrasi ammonium yang diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat, namun sampai 24 jam reaksi masih tersisa amonium. Ini menunjukkan bahwa aktivitas nitrifikasi tidak optimal. Pada suhu 30°C, konsentrasi amonium menjadi hilang atau tidak terdeteksi lagi setelah 24 jam reaksi. Hilangnya amonium diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat. Sedangkan pada suhu 40°C, aktivitas nitrifikasi tidak terjadi, diindikasikan dengan tidak terbentuknya

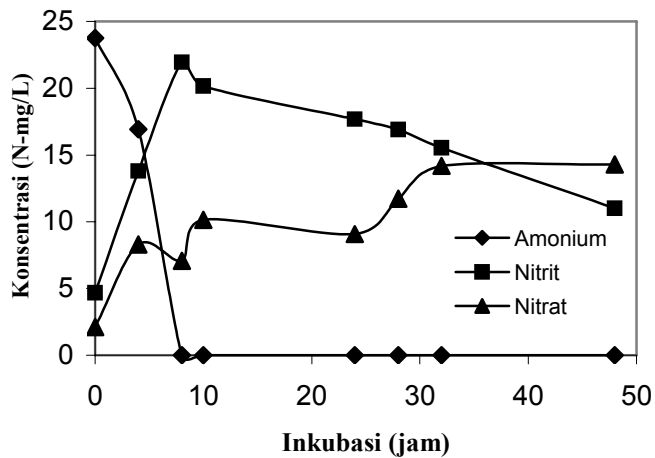
Tabel 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi.

Nilai PH	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	Efisiensi Nitrifikasi (%)		Laju Nitrifikasi (N-mg/jam/g biomasa)
					Metoda I	Metoda II	
5	0	43,44	-	-	-	-	0,008
	12	42,37	-	-	7,07	-	
	24	38,96	-	-	10,31	-	
6	0	43,96	-	-	-	-	0,082
	12	20,85	8,93	11,74	52,57	47,02	
	24	2,56	12,38	19,68	94,17	72,93	
7	0	43,16	-	-	-	-	0,085
	12	2,82	10,54	17,43	92,54	64,76	
	24	-	15,50	21,03	100	84,64	
8	0	45,56	-	-	-	-	0,090
	12	2,34	10,15	16,17	94,86	57,77	
	24	-	17,40	22,60	100	87,80	
9	0	44,38	-	-	-	-	0,078
	12	30,62	6,67	5,22	32,36	25,54	
	24	5,16	11,04	13,52	88,37	55,34	

Karakter Pertumbuhan dan Aktivitas Nitrifikasi Kultur Mikroba N-Sw

Tabel 4. Pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi.

Suhu (°C)	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	Efisiensi Nitrifikasi (%)		Laju Nitrifikasi (N-mg/jam/g biomasa)
					Metoda I	Metoda II	
10	0	43,64	-	-	-	-	0,065
	12	14,40	0,05	1,06	67,00	2,54	
	24	10,73	0,07	9,36	75,41	21,61	
30	0	44,14	-	-	-	-	0,088
	12	15,53	6,85	15,28	64,82	50,13	
	24	-	10,70	25,41	100	81,81	
40	0	43,68	-	-	-	-	-
	12	41,62	-	-	4,72	-	
	24	41,51	-	-	4,97	-	



Gambar 1. Pola degradasi amonium oleh kultur mikroba nitrifikasi N-Sw pada bioreaktor (Tangki aerasi)

Tabel 5. Efisiensi dan laju nitrifikasi dalam Bioreaktor/Tangki aerasi

Inkubasi (jam)	Efisiensi nitrifikasi (%)		Laju nitrifikasi (mg N/jam/g biomasa)
	Metode		
	I	II	
8	100	95.00	-
24	100	77.40	
48	100	82.80	

nitrit dan nitrat sebagai produk dari proses nitrifikasi.

Proses nitrifikasi dalam bioreaktor

Pada Gambar 1 ditampilkan pola degradasi amonium yang terjadi di dalam bioreaktor/tangki aerasi. Konsentrasi N-NH_4^+ turun sebesar 28,74% setelah 4 jam reaksi dan amonium tidak terdeteksi lagi pada jam ke 8. Penurunan amonium diikuti langsung dengan kenaikan konsentrasi nitrit dan nitrat, ini menunjukkan bahwa sebagian besar penurunan amonium disebabkan oleh reaksi nitrifikasi. Pada tahapan selanjutnya konsentrasi N-NO_2^- turun secara bertahap hingga mencapai 11,00 mg/L N-NO_2^- setelah 48 jam reaksi, sedangkan konsentrasi NO_3^- mengalami kenaikan hingga mencapai 14,29 mg/L.

PEMBAHASAN

Pada media pertumbuhan kultur mikroba N-Sw terjadi penurunan konsentrasi amonium yang disertai pembentukan nitrit dan nitrat (Tabel 1). Terbentuknya nitrit dan nitrat dalam media pertumbuhan menunjukkan adanya aktivitas bakteri pengoksidasi amonium dan bakteri pengoksidasi nitrit (bakteri nitrifikasi) dalam kultur mikroba N-Sw. Dari data ini ditunjukkan bahwa dalam kultur mikroba N-Sw yang berasal dari sludge limbah industri minyak kelapa sawit yang diaklimatisasi dengan amonium sulfat selama lebih kurang 1 tahun telah terbentuk populasi mikroba nitrifikasi yaitu mikroba pengoksidasi amonium dan mikroba pengoksidasi nitrit.

Efisiensi nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw yang dihitung dengan metoda I (perhitungan didasarkan pada penurunan konsentrasi amonium) lebih tinggi dibandingkan dengan metode II (perhitungan didasarkan pada pembentukan konsentrasi nitrit dan nitrat) (Tabel 2). Tingginya nilai efisiensi nitrifikasi pada metoda I menunjukkan bahwa penurunan amonium di dalam media disebabkan juga oleh aktivitas lain selain aktivitas nitrifikasi. Dilaporkan bahwa konversi amonium dapat terjadi akibat dari *physical air stripping* dan proses *physicochemical* (Lei Yang, 1997). Dari hasil pengukuran efisiensi nitrifikasi menunjukkan bahwa faktor fisika dan kimia hanya berperan sedikit dalam penurunan amonium, sebagian besar konversi amonium yang terjadi disebabkan oleh aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw. Fakta tersebut dapat dilihat dari hasil penurunan amonium pada perlakuan kontrol yang hanya mencapai 6,2%.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw mengalami penghambatan pada perlakuan pH 5, diindikasikan dengan tidak terbentuknya nitrit dan nitrat. Ini berarti bahwa pada pH 5 aktivitas bakteri pengoksidasi amonium maupun bakteri pengoksidasi nitrit terhambat. Hasil ini memperkuat pernyataan Wheaton *et al.*, (1994) bahwa bakteri nitrifikasi menjadi nonaktif pada kondisi $\text{pH} < 6$ dan $\text{pH} > 10$. Namun demikian nampak bahwa masih ada aktivitas pertumbuhan mikroba nitrifikasi yang diindikasikan dengan adanya penurunan konsentrasi amonium.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pH rendah lebih berpengaruh pada aktivitas nitrifikasinya dari pada terhadap pertumbuhannya. Hasil perhitungan efisiensi dan laju nitrifikasi pada berbagai kondisi pH (Tabel 3) memperkuat kesimpulan adanya pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi. Aktivitas nitrifikasi meningkat dari pH 6, 7 dan 8, dan mengalami penurunan kembali pada pH 9. Hasil yang sama ditunjukkan pada nilai laju nitrifikasi/konversi amonium yang meningkat selaras dengan meningkatnya pH (pH 6 ke pH 8), dan mengalami penurunan pada pH 9. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa pada kondisi pH 7 dan 8 aktivitas nitrifikasi mencapai tingkat optimal. Kenyataan ini memperkuat pernyataan Boyd (1995) bahwa proses nitrifikasi paling optimal terjadi pada pH 7-8.

Hasil perhitungan efisiensi dan laju nitrifikasi yang ditampilkan pada Tabel 4 lebih memperjelas kesimpulan adanya pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi. Pada Tabel 4 ditunjukkan bahwa efisiensi dan laju nitrifikasi tertinggi dicapai pada perlakuan suhu 30 °C. Fenomena ini memperkuat pendapat Jones & Morita, 1985 (*dalam* Wheaton *et al.* 1994) bahwa suhu optimum bagi pertumbuhan dan aktivitas bakteri nitrifikasi adalah suhu 30°C. Pada perlakuan suhu 40°C nampak bahwa konsentrasi amonium hanya mengalami sedikit penurunan, yaitu 4,72% selama 12 jam inkubasi dan 4,97% selama 24 jam inkubasi. Penurunan amonium tersebut kemungkinan besar akibat dari pengaruh faktor fisika, hal yang sama juga terjadi pada perlakuan kontrol. Dari data ini dapat

disimpulkan bahwa pertumbuhan nitrifikasi mengalami penghambatan pada suhu 40 °C. Hasil ini memperkuat temuan sebelumnya yang menyatakan bahwa suhu *lethal* bagi bakteri nitrifikasi adalah 38 °C.

Dengan menggunakan bioreaktor (Tangki aerasi) sederhana, aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw meningkat. Efisiensi nitrifikasi mencapai 100% (metode I), dan 95% (metode II) setelah 8 jam reaksi (Tabel 5). Sedangkan efisiensi nitrifikasi yang dicapai dalam Erlenmeyer mencapai 100% setelah 24 jam reaksi (Tabel 2). Dari data ini ditunjukkan bahwa pada tangki aerasi yang diatur kondisinya pada pH 8-8,5 dan konsentrasi oksigen terlarut sekitar 3-4 mg/L O₂ menghasilkan aktivitas nitrifikasi yang jauh lebih tinggi. Laju penurunan amonium mencapai 0,630 mg N-NH₄⁺/L/jam/g biomasa, jauh lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas dalam Erlenmeyer dengan perlakuan pH 8 yang hanya mencapai 0,090 mg N-NH₄⁺/L/jam/g biomasa (Tabel 3) dan pada perlakuan suhu 30^o C yang mencapai 0,088 mg N-NH₄⁺/L/jam/g biomasa (Tabel 4).

KESIMPULAN

Dari penelitian ii ditunjukkan bahwa aklimatisasi terhadap kultur campuran (*sludge*) yang berasal dari limbah cair industri minyak kelapa sawit pada media cair yang mengandung amonium sulfat selama lebih kurang 1 tahun, dapat terbentuk populasi mikroba nitrifikasi. Populasi mikroba nitrifikasi dalam kultur campuran (*sludge*) tersebut mampu

melakukan aktivitas nitrifikasi. Kultur mikroba nitrifikasi N-Sw yang terbentuk memiliki karakter pertumbuhan yang hampir sama dengan kultur murni bakteri nitrifikasi. Pertumbuhan dan aktivitas nitrifikasi mencapai optimal pada kisaran pH 7-8, dan pada pH 5 aktivitas nitrifikasi tidak terdeteksi. Suhu optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw adalah 30°C. Pertumbuhan maupun aktivitas nitrifikasi mengalami penghambatan pada suhu 40°C. Laju penurunan amonium di dalam Erlenmeyer mencapai kisaran 0,088-0,090 mg N/L/jam/g biomasa. Laju penurunan amonium di dalam bioreaktor pada kondisi pH 8-8,5 dan oksigen terlarut 3-4 mg/L O₂, meningkat menjadi 0,630 mg N/L/jam/g biomasa.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Nanik Mulyani & Mulyadi Bidang Mikrobiologi-LIPI yang membantu penelitian ini hingga selesai. Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Puslit Biologi-LIPI.

DAFTAR PUSTAKA

Agustiyani, D. & H. Imamuddin. 2000. Pertumbuhan Kultur Nitrifikasi Campuran Pada Senyawa Amonium. Proseding Seminar Nasional Biologi XVI dan Kongres Nasional Perhimpunan Biologi Indonesia (PBI) XII, Bandung.
American Public Health Association. 192. *Standars Methods for the*

Examination of Wastewater. 18th Ed. APHA. Washington. DC. USA.
Anthonisen, AC., RC. Loehr, TBS. Prakasam, & EG. Srinath. 1976. Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *J. Water Pollu. Control Fed.* 48: 835-852.
Boyd, CE. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University Alabama. Alabama.
Departemen Pekerjaan Umum. 1990. *Kumpulan SNI Bidang Pekerjaan Umum Mengenai Kualitas Air*. Departemen Pekerjaan Umum. Jakarta.
Djajadiningrat, H. Asis & Wisjnuprpto. 1990. *Bioreaktor Pengolah Limbah Cair*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
Hamoda, MF. & J. Granczarczyk. 1980. Control of Aerobic Digestion by Substrate Concentration. *Civ. Eng.* 7: 456-465
Lei Yang. 1997. Invesgation of Nitrification by CO-Immobilized Nitrifying Bacteria and Zeolite in A Batchwise Fluidized Bed. *Wat. Sci. Tech.*. Elsevier Science Ltd. Great Britain. Department of Marine Environment. National Sun Yet-Sen University. Kaohsiung. Taiwan 804. Republic of China. 35:169-175
Metcalf & Eddy. 1991. *Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse*. Third Eddition. McGraw-Hill, Inc. New York.
Suwa, Y., Y. Imamura, T. Suzuki, T. Tashiro & Y. Urushigawa. 1994.

- Ammonia-Oxidizing Bacteria with different Sensitivities to $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ in Activated Sludge. *Wat. Res.* 28. (7): 1523-1532.
- Sylvia, DM., JJ. Furbrmann, PG. Hartel & DA. Zuberer. 1990. *Principles and Application of Soil Microbiology*. Prentice Hall, Inc. New Jersey.
- Wheaton, FW., JN. Hocheimer, GF. Kaiser, MJ. Kronnes & CC. Easter. 1994. Nitrifications dan filter principle. In. MB. Timmons & TM. Losardo (eds). *Aquaculture Water Revse System: Engineering & Management*. Elsevier Science, Tokyo.
- Wiesmann, FM. 1994. Biological Nitrogen Removal from Wastewater. *Advance Biochem. Eng. Biotech.* 51:113-153.
- William, EH., N. Kazuhiko, S. Tatsuo & Yuichi. 1998. Molecular Analysis of Bacterial Communities in a Three Compartment Granular Activated Sludge System Indicates Community Level Control by Incompatile Nitrification Processes. *Appl. And Envir. Microbial.* 64(7):2528-2532.

K₂HPO₄ (70 mg/L), MgSO₄·7H₂O (100 mg/L) dan NaCl (71 mg/L). Siklus pemberian umpan 1 kali dalam 48 jam. Bioreaktor dioperasikan lebih kurang 1 minggu hingga perubahan kimia dalam bioreaktor menjadi stabil. Setelah stabil, dalam selang waktu tertentu konsentrasi amonium, nitrit, dan nitrat diukur dengan cara yang sama seperti pengujian sebelumnya. Biomasa dalam bioreaktor diukur dengan cara pengeringan pada suhu 105 °C selama 24 jam.

Parameter penelitian

Parameter yang diukur adalah amonium (NH₄-N), nitrit (NO₂-N) dan nitrat (NO₃-N). Konsentrasi amonium dan nitrit ditentukan dengan menggunakan metoda yang tercantum dalam Standard Method (APHA 1992) dengan sedikit modifikasi. Konsentrasi nitrat ditentukan dengan menggunakan metoda yang tercantum dalam SNI, (Departemen Pekerjaan Umum 1990) yang telah dimodifikasi (Agustiyani & Imamuddin 2000).

Metoda perhitungan Efisiensi Nitrifikasi

Metoda I (Djajadiningrat *et al.* 1990):

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{(\text{NH}_4\text{-N})_{\text{in}} - (\text{NH}_4\text{-N})_{\text{ef}}}{(\text{NH}_4\text{-N})_{\text{in}}} \times 100\%$$

Metoda II (Hamoda & Granczarzyk 1980):

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{[(\text{NO}_2\text{-N}) + (\text{NO}_3\text{-N})]_{\text{ef}}}{[(\text{NO}_2\text{-N}) + (\text{NO}_3\text{-N})]_{\text{ef}} + (\text{NH}_4\text{-N})_{\text{ef}}} \times 100\%$$

Keterangan:

in = influen (awal inkubasi/0 jam)

ef = effluen (akhir inkubasi/t jam)

HASIL

Pertumbuhan kultur mikroba N-Sw

Kultur mikroba nitrifikasi N-Sw ditumbuhkan dalam media yang mengandung amonium. Pertumbuhan nitrifikasi ditentukan berdasarkan penurunan konsentrasi substrat amonium (N-NH₄⁺) dan pembentukan produk nitrit (N-NO₂⁻) dan nitrat (N-NO₃⁻). Hasil pengujian pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi N-Sw pada media amonium ditampilkan pada Tabel 1.

Konsentrasi amonium dalam media pertumbuhan kultur mikroba N-Sw mengalami penurunan, dari 43,90 mg/L N-NH₄⁺ menjadi 4,10 mg/L N-NH₄⁺

Tabel 1. Pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi N-Sw

Perlakuan	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)
Kontrol	0	43,90	-	-
	12	42,82	-	-
	24	42,78	-	-
Kultur mikroba N-Sw	0	43,90	-	-
	12	4,10	4,68	17,57
	24	-	6,32	24,30

nitrifikasi meningkat menjadi 63,74% (metode II) dan 100% (metode I).

Pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi

Pada pH 5, konsentrasi amonium dalam media mengalami penurunan sebesar 10,31%, setelah 24 jam inkubasi, namun tidak diikuti dengan pembentukan nitrit maupun nitrat. Pada pH 6, aktivitas nitrifikasi mulai nampak dengan adanya penurunan konsentrasi amonium yang diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat. Pada perlakuan pH 7 dan 8 terjadi peningkatan pembentukan nitrit dan nitrat, sedangkan pada pH 9, pembentukan nitrit dan nitrat mengalami penurunan. Aktivitas nitrifikasi mengalami penghambatan pada perlakuan pH 5, diindikasikan dengan tidak terbentuknya nitrit dan nitrat. Ini berarti bahwa pada

pH 5 aktivitas bakteri pengoksidasi amonium maupun bakteri pengoksidasi nitrit terhambat.

Pengaruh suhu terhadap aktivitas nitrifikasi

Pada suhu 10°C sudah terdeteksi adanya aktivitas nitrifikasi yang diindikasikan dengan terjadinya penurunan konsentrasi amonium yang diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat, namun sampai 24 jam reaksi masih tersisa amonium. Ini menunjukkan bahwa aktivitas nitrifikasi tidak optimal. Pada suhu 30°C, konsentrasi amonium menjadi hilang atau tidak terdeteksi lagi setelah 24 jam reaksi. Hilangnya amonium diikuti dengan terbentuknya nitrit dan nitrat. Sedangkan pada suhu 40°C, aktivitas nitrifikasi tidak terjadi, diindikasikan dengan tidak terbentuknya

Tabel 3. Pengaruh pH terhadap aktivitas nitrifikasi.

Nilai PH	Inkubasi (jam)	N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	Efisiensi Nitrifikasi (%)		Laju Nitrifikasi (N-mg/jam/g biomasa)
					Metoda I	Metoda II	
5	0	43,44	-	-	-	-	0,008
	12	42,37	-	-	7,07	-	
	24	38,96	-	-	10,31	-	
6	0	43,96	-	-	-	-	0,082
	12	20,85	8,93	11,74	52,57	47,02	
	24	2,56	12,38	19,68	94,17	72,93	
7	0	43,16	-	-	-	-	0,085
	12	2,82	10,54	17,43	92,54	64,76	
	24	-	15,50	21,03	100	84,64	
8	0	45,56	-	-	-	-	0,090
	12	2,34	10,15	16,17	94,86	57,77	
	24	-	17,40	22,60	100	87,80	
9	0	44,38	-	-	-	-	0,078
	12	30,62	6,67	5,22	32,36	25,54	
	24	5,16	11,04	13,52	88,37	55,34	

nitrit dan nitrat sebagai produk dari proses nitrifikasi.

Proses nitrifikasi dalam bioreaktor

Pada Gambar 1 ditampilkan pola degradasi amonium yang terjadi di dalam bioreaktor/tangki aerasi. Konsentrasi N-NH₄⁺ turun sebesar 28,74% setelah 4 jam reaksi dan amonium tidak terdeteksi lagi pada jam ke 8. Penurunan amonium diikuti langsung dengan kenaikan konsentrasi nitrit dan nitrat, ini menunjukkan bahwa sebagian besar penurunan amonium disebabkan oleh reaksi nitrifikasi. Pada tahapan selanjutnya konsentrasi N-NO₂⁻ turun secara bertahap hingga mencapai 11,00 mg/L N-NO₂⁻ setelah 48 jam reaksi, sedangkan konsentrasi NO₃⁻ mengalami kenaikan hingga mencapai 14,29 mg/L.

PEMBAHASAN

Pada media pertumbuhan kultur mikroba N-Sw terjadi penurunan konsentrasi amonium yang disertai pembentukan nitrit dan nitrat (Tabel 1). Terbentuknya nitrit dan nitrat dalam media pertumbuhan menunjukkan adanya aktivitas bakteri pengoksidasi ammonium dan bakteri pengoksidasi nitrit (bakteri nitrifikasi) dalam kultur mikroba N-Sw. Dari data ini ditunjukkan bahwa dalam kultur mikroba N-Sw yang berasal dari sludge limbah industri minyak kelapa sawit yang diaklimatisasi dengan amonium sulfat selama lebih kurang 1 tahun telah terbentuk populasi mikroba nitrifikasi yaitu mikroba pengoksidasi amonium dan mikroba pengoksidasi nitrit.

Efisiensi nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw yang dihitung dengan metoda I (perhitungan didasarkan pada penurunan konsentrasi amonium) lebih tinggi dibandingkan dengan metode II (perhitungan didasarkan pada pembentukan konsentrasi nitrit dan nitrat) (Tabel 2). Tingginya nilai efisiensi nitrifikasi pada metoda I menunjukkan bahwa penurunan amonium di dalam media disebabkan juga oleh aktivitas lain selain aktivitas nitrifikasi. Dilaporkan bahwa konversi amonium dapat terjadi akibat dari *physical air stripping* dan proses *physicochemical* (Lei Yang, 1997). Dari hasil pengukuran efisiensi nitrifikasi menunjukkan bahwa faktor fisika dan kimia hanya berperan sedikit dalam penurunan amonium, sebagian besar konversi amonium yang terjadi disebabkan oleh aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw. Fakta tersebut dapat dilihat dari hasil penurunan amonium pada perlakuan kontrol yang hanya mencapai 6,2%.

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw mengalami penghambatan pada perlakuan pH 5, diindikasikan dengan tidak terbentuknya nitrit dan nitrat. Ini berarti bahwa pada pH 5 aktivitas bakteri pengoksidasi amonium maupun bakteri pengoksidasi nitrit terhambat. Hasil ini memperkuat pernyataan Wheaton *et al.*, (1994) bahwa bakteri nitrifikasi menjadi nonaktif pada kondisi pH < 6 dan pH > 10. Namun demikian nampak bahwa masih ada aktivitas pertumbuhan mikroba nitrifikasi yang diindikasikan dengan adanya penurunan konsentrasi amonium.

melakukan aktivitas nitrifikasi. Kultur mikroba nitrifikasi N-Sw yang terbentuk memiliki karakter pertumbuhan yang hampir sama dengan kultur murni bakteri nitrifikasi. Pertumbuhan dan aktivitas nitrifikasi mencapai optimal pada kisaran pH 7-8, dan pada pH 5 aktivitas nitrifikasi tidak terdeteksi. Suhu optimal untuk pertumbuhan dan aktivitas nitrifikasi dari kultur mikroba N-Sw adalah 30°C. Pertumbuhan maupun aktivitas nitrifikasi mengalami penghambatan pada suhu 40°C. Laju penurunan amonium di dalam Erlenmeyer mencapai kisaran 0,088-0,090 mg N/L/jam/g biomasa. Laju penurunan amonium di dalam bioreaktor pada kondisi pH 8-8,5 dan oksigen terlarut 3-4 mg/L O₂, meningkat menjadi 0,630 mg N/L/jam/g biomasa.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Nanik Mulyani & Mulyadi Bidang Mikrobiologi-LIPI yang membantu penelitian ini hingga selesai. Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Puslit Biologi-LIPI.

DAFTAR PUSTAKA

Agustiyani, D. & H. Imamuddin. 2000. Pertumbuhan Kultur Nitrifikasi Campuran Pada Senyawa Amonium. Proseding Seminar Nasional Biologi XVI dan Kongres Nasional Perhimpunan Biologi Indonesia (PBI) XII, Bandung.
American Public Health Association. 192. *Standars Methods for the*

Examination of Wastewater. 18th Ed. APHA. Washington. DC. USA.
Anthonisen, AC., RC. Loehr, TBS. Prakasam, & EG. Srinath. 1976. Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *J. Water Pollu. Control Fed.* 48: 835-852.
Boyd, CE. 1990. *Water Quality in Ponds for Aquaculture*. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University Alabama. Alabama.
Departemen Pekerjaan Umum. 1990. *Kumpulan SNI Bidang Pekerjaan Umum Mengenai Kualitas Air*. Departemen Pekerjaan Umum. Jakarta.
Djajadiningrat, H. Asis & Wisjnuprpto. 1990. *Bioreaktor Pengolah Limbah Cair*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
Hamoda, MF. & J. Granczarzyck. 1980. Control of Aerobic Digestion by Substrate Concentration. *Civ. Eng.* 7: 456-465
Lei Yang. 1997. Invesgation of Nitrification by CO-Immobilized Nitrifying Bacteria and Zeolite in A Batchwise Fluidized Bed. *Wat. Sci. Tech.*. Elsevier Science Ltd. Great Britain. Department of Marine Environment. National Sun Yet-Sen University. Kaohsiung. Taiwan 804. Republic of China. 35:169-175
Metcalf & Eddy. 1991. *Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse*. Third Eddition. McGraw-Hill, Inc. New York.
Suwa, Y., Y. Imamura, T. Suzuki, T. Tashiro & Y. Urushigawa. 1994.