



TUGAS AKHIR - RE184804

EFEK PERBEDAAN ZAT ORGANIK TERHADAP EFISIENSI NITRIFIKASI

WIDYANTI NUR ROCHMAH
0321154000097

Dosen Pembimbing
Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MScES

Departemen Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019



TUGAS AKHIR - RE184804

**EFEK PERBEDAAN ZAT ORGANIK TERHADAP
EFISIENSI NITRIFIKASI**

**WIDYANTI NUR ROCHMAH
0321154000097**

**Dosen Pembimbing
Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MScES**

**Departemen Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



FINAL PROJECT - RE184804

**THE EFFECT OF DIFFERENT ORGANIC
SUBSTANCES ON THE EFFICIENCY OF
NITRIFICATION**

**WIDYANTI NUR ROCHMAH
0321154000097**

**Supervisor
Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo M.ScES**

**DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING
Faculty of Civil, Environmental, and Geo Engineering
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Surabaya 2019**

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEK PERBEDAAN ZAT ORGANIK TERHADAP EFISIENSI
NITRIFIKASI**

TUGAS AKHIR

Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Sarjana Teknik
Pada
Program Studi S-1 Departemen Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:
WIDYANTI NUR ROCHMAH
NRP. 0321154000097

Disetujui Oleh Pembimbing Tugas Akhir


Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MscES
NIP. 19540824 198403 1 001



“Halaman ini sengaja dikosongkan”

EFEK PERBEDAAN ZAT ORGANIK TERHADAP EFISIENSI NITRIFIKASI

Nama Mahasiswa : Widyanti Nur Rochmah
NRP : 03211540000097
Departemen : Teknik Lingkungan
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo
M.ScES

ABSTRAK

Amonia merupakan senyawa yang terkandung dalam air limbah dan polutan yang dapat mengganggu kesehatan manusia dan lingkungan. Oleh karena itu perlu dilakukan pengolahan air limbah mengandung amonia untuk meminimalisir jumlah amonia yang berada pada badan air. Salah satu pengolahan biologis yakni dengan nitrifikasi. Nitrifikasi merupakan reaksi penting dalam siklus nitrogen, yaitu oksidasi amonium menjadi nitrit oleh bantuan bakteri *Nitrosomonas* dan oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter*. Kedua bakteri ini dikenal sebagai bakteri autotrofik. Pada proses nitrifikasi sebenarnya tidak hanya dilakukan oleh bakteri autotrof, tetapi berbagai mikroorganisme lainnya, seperti bakteri heterotropik yang mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi berbagai komponen nitrogen.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah *artificial* (buatan) yang berasal dari Amonium Klorida (NH_4Cl), Dextrose Monohydrate ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$), dan Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) dengan perbandingan C:N:P adalah 100:5:1. Sedangkan untuk variasi kandungan amonium tiap reaktornya adalah 20 mg/L, 40 mg/L, 60 mg/L, 80 mg/L dan 100 mg/L. Penelitian ini membutuhkan reaktor nitrifikasi dengan keadaan aerob. Parameter yang diuji yaitu kandungan Amonium, Nitrit, Nitrat, *Dissolve Oxygen* (DO), pH dan

Karbonat. Pada penelitian ini menggunakan katalis aktif Iron(III) nitrate nonahydrate $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich).

Hasil penelitian ini menunjukkan nilai efisiensi nitrifikasi dicapai oleh sumber karbon heterotrof dengan penambahan katalis yakni H1 dengan konsentrasi 60 mg/L sebesar 30,49%. Disusul oleh H1 dengan konsentrasi 80 mg/L sebesar 27,32% dan ketiga terbesar adalah 26,12% pada H3 di konsentrasi 20 mg/L. Namun perlu diketahui, bahwa bakteri nitrifikasi heterotrofik mempunyai aktivitas yang jauh lebih rendah dibandingkan bakteri yang bersifat autotrofik. Hal ini menunjukkan bahwa sumber karbon heterotrof tanpa katalis memiliki efisiensi paling kecil efisiensinya yakni 0,85% pada H3 konsentrasi 80 mg/L dibanding dengan sumber karbon autotrof yang efisiensinya terkecil yakni 3,32% pada H2 konsentrasi 20 mg/L.

Kata kunci : Amonium, Autotrof, Heterotrof, Katalis, Nitrifikasi

THE EFFECT OF DIFFERENT ORGANIC SUBSTANCES ON THE EFFICIENCY OF NITRIFICATION

Student Name : Widyanti Nur Rochmah
NRP : 03211540000097
Department : Environmental Engineering
Supervisor : Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo
M.ScES

ABSTRACT

Ammonia is a compound contained in wastewater and pollutants that can interfere with human health and the environment. Therefore it is necessary to treat ammonia wastewater to minimize the amount of ammonia in the water body. One of the biological treatments is nitrification. Nitrification is an important reaction in the nitrogen cycle, namely the oxidation of ammonium to nitrite by the help of *Nitrosomonas* bacteria and the oxidation of nitrite to nitrate by the *Nitrobacter* bacteria. Both of these bacteria are known as autotrophic bacteria. In the process of nitrification it is actually not only carried out by autotrophic bacteria but various other microorganisms, such as heterotrophic bacteria that have the ability to oxidize various components of nitrogen.

The sample used in this study is artificial (artificial) waste derived from Ammonium Chloride (NH_4Cl), Dextrose Monohydrate ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$), and Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) with a ratio of C: N: P is 100: 5: 1. While for the variation of ammonium content each reactor is 20 mg / L, 40 mg / L, 60 mg / L, 80 mg / L and 100 mg / L. This research requires nitrification reactors with aerobic conditions. The parameters tested were Ammonium, Nitrite, Nitrate, Dissolve Oxygen (DO), pH and Carbonate content. In this study using the active catalyst Iron(III) nitrate nonahydrate $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich).

The results of this study indicate that the value of nitrification efficiency was achieved by heterotrophic carbon

sources with the addition of a catalyst namely H1 with a concentration of 60 mg / L of 30.49%. Followed by H1 with a concentration of 80 mg / L of 27.32% and the third largest was 26.12% in H3 at a concentration of 20 mg / L. But keep in mind, that heterotrophic nitrifying bacteria have a much lower activity than autotrophic bacteria. This shows that heterotroph without catalyst carbon sources has the least efficiency of 0.85% in H3 concentrations of 80 mg / L compared to carbon sources of autotrophs with the smallest efficiency of 3.32% in H2 concentrations of 20 mg / L.

Keywords: Ammonium, Autotrophs, Catalysts, Heterotrophs, Nitrification

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT dan Rasulnya, Nabi Muhammad SAW karena atas berkat, rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini. Penulis juga menghaturkan terima kasih kepada kedua orang tua dan sanak saudara yang telah membantu penulis dalam memberikan dukungan moril dan materiil dalam pengerjaan tugas akhir ini. Tugas akhir ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada program studi Strata-1 (S-1) Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MScES. selaku dosen pembimbing tugas akhir yang telah membimbing hingga selesainya penulisan tugas akhir.
2. Ibu Bieby Voijant Tangahu, ST., MT., PhD, Ibu IDAA Warmadewanthi, ST., MT., PhD, dan Ibu Harmin Sulistyoning Titah, ST., MT., PhD selaku dosen pengarah tugas akhir yang telah memberikan banyak masukan dalam tugas akhir ini.
3. Bapak dan Ibu Laboran di Laboratorium Remediasi Lingkungan dan Laboratorium Teknologi Pengolahan Air, Departemen Teknik Lingkungan, FTSLK ITS.
4. Laudza, Saili, Ajeng, Ria, Eca, Tya dan teman-teman angkatan 2015 yang selalu memberikan doa dan semangat.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan tugas akhir ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga laporan tugas akhir ini dapat memberikan ilmu yang bermanfaat bagi para pembaca.

Surabaya, 28 Juni 2019

Penulis

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xii
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xix
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Ruang Lingkup	3
1.5 Manfaat	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Siklus Nitrogen	5
2.2 Senyawa Amoniak.....	7
2.3 Nitrit (NO_2^-)	9
2.4 Nitrat (NO_3^-).....	9
2.5 Proses Penyisihan Amonium Secara Biologis.....	9
2.6 Proses Nitrifikasi.....	11
2.7 Faktor Pengontrol Proses Nitrifikasi.....	12
2.8 Proses Penyisihan Nitrogen Secara Biologis.....	13
2.9 Karakteristik Nitrosomonas Sp.....	13
2.10 Karakteristik Nirtobacter Sp.	15
2.11 Sistem Bakteri Autotrof dan Heterotrof.....	16
2.12 Penggunaan Katalis.....	17
2.13 Penelitian Terdahulu.....	19
BAB III	21
METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Kerangka Penelitian.....	21

3.2 Waktu Dan Tempat Penelitian	23
3.3 Ide Penelitian.....	23
3.4 Studi Literatur	24
3.5 Persiapan Penelitian.....	24
3.5.1 Pembuatan Media Nutrient Broth (Nb).....	25
3.5.2 Sterilisasi Alat Uji Dan Substrat Untuk Penelitian	25
3.5.3 Pembuatan Air Salin	26
3.5.4 Laju Pertumbuhan Bakteri	26
3.5.5 Pembuatan Limbah Artifisial	28
3.5.6 Perakitan Reaktor.....	28
3.6 Pelaksanaan Penelitian	31
3.7 Metoda Perhitungan Efisiensi Nitrifikasi	36
3.8 Kesimpulan Dan Saran	36
BAB IV	39
HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Laju Pertumbuhan Bakteri	39
4.3 Hasil Efisiensi Removal Amonium	40
BAB V.....	67
PENUTUP.....	67
5.1 Kesimpulan.....	67
5.2 Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN	77
BIOGRAFI PENULIS	87

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian Terdahulu	19
Tabel 3.1 Variasi Penelitian.....	31
Tabel 4.1 Hasil <i>Optical Density</i> Untuk Bakteri Nitrifikasi.....	39
Tabel 4.2 Hasil Analisis Anova Untuk Autotrof.....	63
Tabel 4.3 Hasil Analisis Anova Untuk Heterotrof	64
Tabel 4.4 Hasil Analisis Anova Untuk Autotrof dengan Katalis	64
Tabel 4.5 Hasil Analisis Anova Untuk Heterotrof dengan Katalis	64

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Ilustrasi Siklus Nitrogen Yang Terjadi Di Lingkungan Perairan (Gabriel, 1994).....	6
Gambar 2.2 Siklus Biokimia Unsur Nitrogen Di Alam Pada Kondisi Aerobik Dan Anaerobik	8
Gambar 2.3 Nitrosomonas Sp.	14
Gambar 2.4 Nitrobacter Sp.	15
Gambar 3.1 Kerangka Penelitian	23
Gambar 3.2 Centrifuge	27
Gambar 3.3 (a) Dimensi Reaktor Yang Digunakan.....	29
(b) Rangkaian Reaktor Dalam Proses Nitrifikasi	30
(c) Reaktor Autotrof.....	29
(d) Reaktor Heterotrof	29
(e) Reaktor Autotrof Katalis	30
(f) Reaktor Heterotrof Katalis	30
(g) Reaktor Kontrol Autotrof	30
(h) Reaktor Kontrol Heterotrof	30
Gambar 3.4 Spektrofotometer	33
Gambar 3.5 pH Meter	34
Gambar 3.6 DO Meter	35
Gambar 3.6 Spektrofotometer	35
Gambar 4.2 Efisiensi Proses Nitrifikasi Autotrof	41
Gambar 4.3 Efisiensi Proses Nitrifikasi Heterotrof	41
Gambar 4.4 Efisiensi Proses Nitrifikasi Autotrof dengan Penambahan Katalis	42
Gambar 4.5 Efisiensi Proses Nitrifikasi Heterotrof dengan Penambahan Katalis.....	42
Gambar 4.6 Hasil Uji Parameter Autotrof.....	44
Gambar 4.7 Hasil Uji Parameter pH Heterotrof.....	45
Gambar 4.8 Hasil Uji Parameter pH Autotrof dengan Katalis	45
Gambar 4.9 Hasil Uji Parameter pH Heterotrof dengan Katalis	46
Gambar 4.10 Hasil Uji Parameter DO Autotrof	48
Gambar 4.11 Hasil Uji Parameter DO Heterotrof.....	48
Gambar 4.12 Hasil Uji Parameter DO Autotrof Katalis	49

Gambar 4.13 Hasil Uji Parameter DO Heterotrof Katalis	49
Gambar 4.14 Hasil Uji Parameter Amonium Autotrof	51
Gambar 4.15 Hasil Uji Parameter Amonium Heterotrof	51
Gambar 4.16 Hasil Uji Parameter Amonium Autotrof Dengan Katalis	52
Gambar 4.17 Hasil Uji Parameter Amonium Heterotrof Dengan Katalis	52
Gambar 4.18 Hasil Uji Parameter Nitrit Autotrof	54
Gambar 4.19 Hasil Uji Parameter Nitrit Heterotrof	55
Gambar 4.20 Hasil Uji Parameter Nitrit Autotrof Katalis	55
Gambar 4.21 Hasil Uji Parameter Nitrit Heterotrof Katalis	56
Gambar 4.22 Hasil Uji Parameter Nitrat Autotrof	58
Gambar 4.23 Hasil Uji Parameter Nitrat Heterotrof	58
Gambar 4.24 Hasil Uji Parameter Nitrat Autotrof Katalis	59
Gambar 4.25 Hasil Uji Parameter Nitrat Heterotrof Katalis ...	59
Gambar 4.26 Hasil Uji Parameter Karbonat Autotrof	61
Gambar 4.27 Hasil Uji Parameter Karbonat Autotrof Katalis	62

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Amonia merupakan senyawa yang banyak terdapat di *sewage* (pembuangan kotoran), limbah domestik dan limbah cair industri. Walaupun telah diperlakukan dengan perlakuan sekunder, sisa amonia dalam buangan masih menyebabkan eutrofikasi pada badan air. Proses oksidasi senyawa amonium memerlukan oksigen dalam jumlah besar, padahal konsentrasi oksigen terlarut di dalam perairan rendah.

Secara umum diyakini bahwa degradasi amonia secara biologis yaitu melalui proses nitrifikasi yang mana memiliki dua tahapan reaksi, yaitu oksidasi amonium (NH_4^+) menjadi nitrit (NO_2^-) oleh bakteri *Nitrosomonas* dan oksidasi nitrit menjadi nitrat (NO_3^-) oleh bakteri *Nitrobacter*. Kedua bakteri ini dikenal sebagai bakteri kemoautotrof yang menggunakan senyawa nitrogen organik sebagai sumber energi dan hidup pada lingkungan perairan dan tanah yang memiliki nitrogen organik yang cukup (Bernacka *et al.*, 1995 dalam Wielgosz *et al.*, 2010). Pada proses nitrifikasi sebenarnya tidak hanya dilakukan oleh bakteri kemoautotrof, tetapi berbagai mikroorganisme lainnya, seperti bakteri heterotrofik yang mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi berbagai komponen nitrogen. (Agustiyani, 2010). 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 (Hibban, 2016). Oleh karena itu proses degradasi senyawa nitrogen, utamanya amonia menjadi sangat penting dalam sistem pengolahan limbah cair.

Pada air permukaan, kadar amonium kurang dari 10 mg/L sedangkan pada air buangan kadar amonium mencapai 30 mg/L atau lebih (Titiresmi dan Sopiah 2006).

Akumulasi amonium pada air akan memberikan dampak negatif bagi lingkungan sehingga menyebabkan masalah ekologi dan kesehatan makhluk hidup disekitar seperti terjadinya eutrofikasi. Menurut PP No. 82 tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, baku mutu amonium untuk air kelas satu adalah sebesar 0.5 mg NH₃-N/L. Menurut Widayat (2010), pada konsentrasi 1 mg NH₃/L beberapa jenis ikan akan mati lemas karena amonium dapat mengurangi konsentrasi oksigen dalam air. Upaya untuk mengurangi konsentrasi amonium dalam air dapat dilakukan dengan beberapa cara pengolahan, yaitu secara fisik/kimiawi, biologis, atau gabungan keduanya (Sedlak 1991).

Secara umum diyakini bahwa degradasi amonia secara biologi yaitu dengan melalui proses nitrifikasi. 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 biasanya memiliki sifat autotrofik (Laanbroek *et al.*, 1994). Bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik memperoleh energi dari oksidasi senyawa nitrogen, terutama amonium untuk penyusunan, pengaturan sel, pertumbuhan dan aktivitasnya. Untuk sintesis selnya, bakteri ini lebih banyak menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon (Met Calf dan Eddy 1991). Bakteri nitrifikasi akan berpengaruh negatif terhadap proses nitrifikasi dan menjadi sensitif jika terhadap substansi toksik, pH, suhu, oksigen, konsentrasi substrat serta adanya kandungan material organik (Wiesmann, 1994).

Dalam ekotoksikologi diketahui bahan toksik yang berupa senyawa kimia organik dapat bersifat toksik atau menimbulkan pengaruh merugikan atau efek negatif pada lingkungan perairan. Pengaruh negatif senyawa kimia organik terhadap organisme perairan dipengaruhi oleh banyak faktor, seperti konsentrasi senyawa kimia, kualitas fisika-kimia air, jenis, dan kondisi organisme air serta lama organisme terpapar senyawa kimia tersebut (Aryani *et al.*, 2004). Perlu adanya penentuan pengolahan didasarkan

pada jenis limbah dan karakteristiknya untuk mendapatkan zat organik yang aman bagi lingkungan.

Penelitian ini juga menguji pengaruh penambahan amonium yang memiliki variasi konsentrasi dan variasi sumber karbon yang akan menunjukkan efektifitas proses nitrifikasi dalam reaktor. Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat ditentukan penilaian efisiensi nitrifikasi dan sumber karbon yang efektif dalam proses nitrifikasi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah efisiensi amonium dan konsentrasi maksimal dalam proses nitrifikasi?
2. Manakah proses nitrifikasi yang paling efisien antara autotrof dan heterotrof berdasarkan sumber karbonnya?

1.3 Tujuan

1. Menentukan efisiensi amonium dan konsentrasi maksimal dalam proses nitrifikasi.
2. Menentukan proses nitrifikasi yang paling efisien antara autotrof dan heterotrof berdasarkan sumber karbonnya.

1.4 Ruang Lingkup

Ruang lingkup memiliki tujuan untuk membatasi masalah yang akan dibahas pada penelitian. Penelitian ini dilakukan pada skala laboratorium dengan menggunakan reaktor nitrifikasi secara batch dalam kondisi aerob.

1. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA UNAIR.
2. Sampel limbah yang diuji bersumber dari air limbah buatan (*artificial*) dalam bentuk amonium klorida (NH_4Cl), glukosa dan Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4)

3. Parameter yang diuji adalah amonium, nitrit, nitrat, karbonat, *dissolve oxygen* (DO) dan pH.
4. Variasi konsentrasi Amonium yang digunakan pada tiap reaktor dalam mg/L adalah 20, 40, 60, 80, dan 100.
5. Variasi sumber karbon yang digunakan tiap reaktor adalah autotrof dan heterotrof.
6. Jenis katalis aktif untuk proses nitrifikasi adalah $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich).
7. Penelitian ini dilakukan 3 (tiga) kali pengulangan.
8. Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium yang akan dilakukan di Laboratorium Remediasi Lingkungan Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS selama 1 (satu) bulan.

1.5 Manfaat

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai referensi untuk penelitian lain yang berkaitan dengan proses nitrifikasi, konsentrasi maksimal dalam mendegradasi amonium yang membuat proses nitrifikasi menjadi efektif, sumber karbon yang digunakan, bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

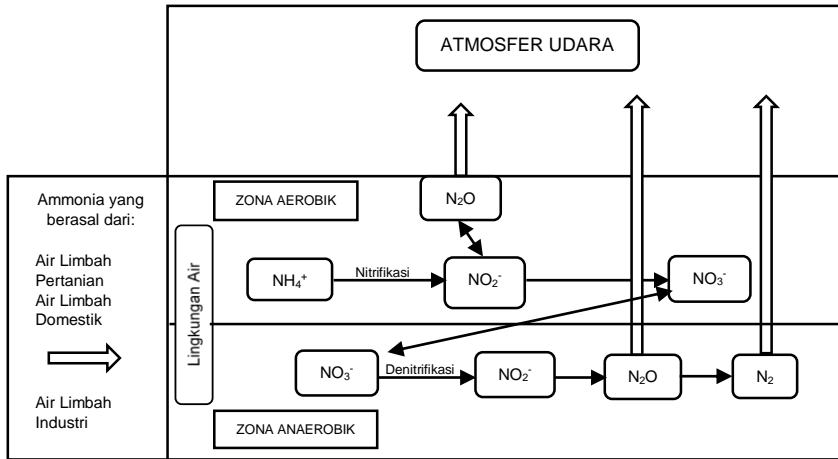
2.1 Siklus Nitrogen

Senyawa nitrogen merupakan senyawa yang sangat penting dalam kehidupan, karena nitrogen merupakan salah satu nutrisi utama yang berperan dalam pertumbuhan organisme yang hidup. Senyawa kimia nitrogen sangat kompleks, karena nitrogen memiliki beberapa tahapan oksidasi yang dapat merubah senyawa kimia nitrogen. Proses oksidasi tersebut dipengaruhi oleh organisme hidup (Metcalf dan Eddy, 1991).

Menurut Metcalf dan Eddy (1991) menyebutkan nitrogen dalam perairan terdapat dalam bentuk gas nitrogen (N_2), amonia (NH_3), amonium (NH_4^+), ion nitrit (NO_2^-), ion nitrat (NO_3^-), dan nitrogen organik. Nitrogen organik merupakan campuran kompleks berbagai bahan seperti asam amino, gula amino, dan protein (polimer). Nitrogen dalam bentuk ini siap untuk diubah menjadi amonium oleh mikroorganisme yang berada di air atau tanah. Sedangkan Menurut Goldman dan Horne (1983) nitrogen dalam perairan juga dapat terbentuk karena senyawa lain yang berasal dari masuknya nutrisi akibat aktivitas pertanian, buangan domestik, limbah industri, limbah perikanan, peternakan, feses, serta urin dari ikan dan hewan lainnya.

Pemberian pakan buatan pada lingkungan budidaya akan meningkatkan jumlah nitrogen yang masuk ke dalam perairan. Hal ini mengakibatkan kandungan nutrisi dalam perairan meningkat, termasuk amonia yang berbahaya bagi organisme akuatik. Amonia tersebut akan digunakan sebagai sumber nitrogen oleh fitoplankton, alga, tumbuhan, dan bakteri. Tetapi jumlah nutrisi yang berlebih akan mendorong pertumbuhan alga yang pesat (*blooming*) yang pada akhirnya berakibat pada kematian massal alga. Proses dekomposisi alga mati, sisa pakan, tanaman air dan organisme akuatik yang mati akan membebaskan amonia. Selain alga, bakteri juga memanfaatkan amonia melalui proses nitrifikasi yang akan

mengubah amonia menjadi nitrit kemudian nitrat yang tidak berbahaya. Nitrat ini akan digunakan kembali oleh alga dan tumbuhan air. Nitrat juga dapat diubah menjadi gas N_2 oleh mikroorganismel melalui proses denitrifikasi (Duborrow *et al.*, 1997). Semua proses tersebut membentuk siklus nitrogen seperti pada Gambar 2.1 berikut.



Gambar 2.1. Ilustrasi Siklus Nitrogen yang Terjadi di Lingkungan Perairan (Gabriel, 1994)

Bakteri dan alga yang hidup di dalam air sebagian besar mengambil nitrogen anorganik dalam bentuk nitrat (NO_3^-) dan amonium (NH_4^+) (Boyd, 1990) sebagai bahan untuk membentuk protein. Beberapa jenis alga dari *blue green algae* (BGA) dapat mengikat N_2 dari udara. Nitrogen anorganik tersebut akan diubah menjadi nitrogen organik dalam tanaman (*algae*). Hewan herbivora dan omnivora selanjutnya akan memanfaatkan tanaman sebagai makanannya, dengan demikian terjadi perpindahan nitrogen dari tanaman ke dalam hewan pemangsanya. Sebagian tanaman dan hewan yang mati termasuk ikan dan mikroorganismel akan mengalami dekomposisi oleh bakteri menghasilkan amoniak. Bakteri proteolitik akan menguraikan protein menjadi nitrogen

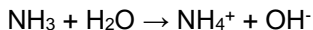
anorganik (amonia) melalui proses amonifikasi atau mineralisasi. Hasil ekskresi hewan perairan sebagian juga dalam bentuk amonia (Durborow *et al.*, 1997).

2.2 Senyawa Amoniak

Amoniak (NH_3) merupakan senyawa nitrogen yang menjadi (NH_4^+) pada pH rendah yang disebut dengan ammonium. Amoniak dalam air permukaan berasal dari air seni, tinja serta penguraian zat organik secara mikrobiologis yang berasal dari air alam atau air buangan industri ataupun limbah domestik.

Konsentrasi amoniak dapat berubah-ubah sepanjang tahun. Pada musin panas konsentrasi senyawa ini dapat sangat rendah, hal ini disebabkan amoniak diserap oleh tumbuhan, selain itu dapat dipengaruhi oleh temperatur air yang tinggi yang dapat mempengaruhi proses nitrifikasi. Sedangkan pada suhu yang rendah yaitu musim dingin sewaktu pertumbuhan bakteri berkurang dan proses nitrifikasi berjalan lambat menyebabkan konsentrasi amoniak pada sungai tinggi (Bitton, 1994).

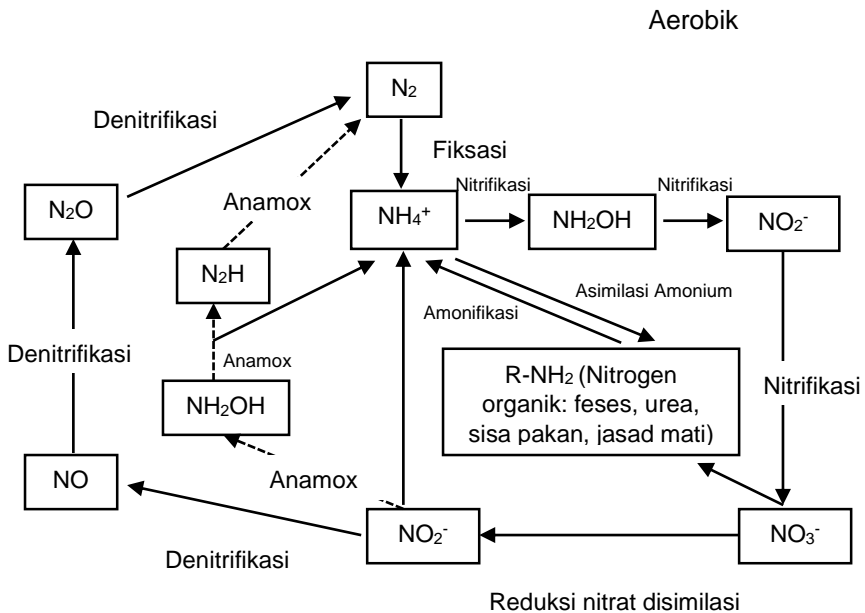
Terdapat 2 bentuk amonia di air, yaitu yang terionisasi (amonium, NH_4^+) dan yang tidak terionisasi (amonia, NH_3). Amonia yang tidak terionisasi berbahaya bagi organisme akuatik, karena bersifat toksik (Masser *et al.*, 1999). Nilai NH_3 tergantung pada nilai pH dan suhu perairan (Van Wyk dan Scarpa, 1999; Masser *et al.*, 1999; Boyd, 1982). Semakin tinggi suhu dan pH air, persentase NH_3 semakin tinggi (Boyd, 1990). Perbandingan antara NH_3 dan NH_4^+ dapat dilihat pada persamaan berikut:



Konsentrasi amonia yang tinggi di dalam air akan mempengaruhi permeabilitas ikan oleh air dan mengurangi konsentrasi ion di dalam tubuh. Amonia juga meningkatkan konsumsi oksigen di jaringan, merusak insang, dan mengurangi kemampuan darah untuk mengangkut oksigen (Boyd, 1982). Kadar amoniak bebas dalam air meningkat sejalan dengan meningkatnya pH dan temperatur. Kehidupan air terpengaruh oleh amoniak pada konsentrasi 1 mg/L dan dapat menyebabkan ikan mati lemas karena dapat mengurangi

kapasitas oksigen dalam air. (Sedlak, 1991). Toksisitas amoniak akan menurun jika kadar CO₂ dalam air meningkat, karena peningkatan CO₂ akan menurunkan pH air sehingga menurunkan kadar amoniak (NH₃).

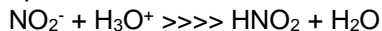
Menurut Richardson *et al.*, (2001), secara alamiah amonia akan diasimilasi membentuk gugus amin yang menyusun senyawa organik dalam biomassa sel oleh kelompok alga, fungi dan bakteri. Sedangkan dalam proses mineralisasi (nitrifikasi) amonia akan dioksidasi menjadi nitrit atau nitrat oleh kelompok bakteri nitrifikasi. Proses selanjutnya senyawa nitrat atau nitrit ini akan direduksi menjadi gas nitrogen oleh kelompok bakteri denitrifikasi.



Gambar 2.2. Siklus biokimia unsur nitrogen di alam pada kondisi aerobik dan anaerobik (Atlas dan Bartha, 1998)

2.3 Nitrit (NO₂⁻)

Nitrit merupakan bentuk nitrogen yang relatif tidak stabil dan mudah teroksidasi, dan biasanya merupakan indikator tingkat polusi. Walaupun dalam konsentrasi rendah, nitrit bersifat toksik bagi ikan dan organisme akuatik lainnya (Metcalf dan Eddy, 1991). Nitrit merupakan senyawa antara hasil oksidasi amonia. Senyawa nitrit oleh beberapa bakteri tertentu digunakan sebagai penerima elektron terakhir dalam proses metabolismenya. Hal ini terjadi pada kondisi lingkungan yang anaerobik, mekanismenya dikenal dengan respirasi nitrit. Enzim yang berperan adalah nitrit reduktase (Madigan, *et al.*, 1997) Kondisi nitrit yang tinggi dapat mereduksi aktivitas bakteri nitrifikasi pada kondisi asam. Daya racun nitrit yang tinggi dipengaruhi oleh bentuk persenyawaan nitritnya, yaitu bila terdapat dalam bentuk asam (HNO₂) maka akan lebih toksik dari pada bentuk ion nitrit. Dalam larutan nitrit akan terdisosiasi sehingga tercapai bentuk kesetimbangannya, seperti ditunjukkan oleh persamaan berikut:



2.4 Nitrat (NO₃⁻)

Nitrat merupakan produk akhir dari proses nitrifikasi, dimana dengan bantuan bakteri *Nitrobacter* nitrit akan diubah menjadi nitrat yang relatif tidak toksik (Van Wyk dan Scarpa, 1999; Masser *et al.*, 1999). Nitrat akan bersifat toksik pada konsentrasi di atas 300 ppm (Masser *et al.*, 1999). Senyawa nitrat adalah bentuk senyawa nitrogen yang merupakan senyawa yang stabil. Senyawa ini dapat berasal dari buangan industri bahan peledak, pupuk dan cat. Secara alamiah kadar nitrat relatif rendah, tetapi kadar ini dapat menjadi tinggi sekali pada air tanah di daerah-daerah yang diberi pupuk yang mengandung nitrat. Di Indonesia konsentrasi nitrat dalam air minum tidak boleh melebihi 10 mg/l (Alaerts dan Santika, 1987).

2.5 Proses Penyisihan Amonium Secara Biologis

Ammonia merupakan salah satu senyawa yang keberadaannya di alam diperlukan oleh makhluk hidup, dalam

jumlah yang besar senyawa kimia ini mempunyai sifat yang toksik dan dapat mengganggu estetika karena dapat menghasilkan bau yang menusuk dan terjadinya eutrofikasi di daerah sekitarnya. Usaha-usaha yang dilakukan untuk menyingkirkan ammonia adalah dilakukan proses pengolahan ammonia menjadi senyawa lain yang lebih aman bagi lingkungan perairan. Pengolahan limbah secara biologis merupakan salah satu alternatif pengolahan limbah saat ini dengan melibatkan aktivitas mikroorganisma sehingga mengakibatkan terjadinya transformasi senyawa-senyawa kimia menjadi senyawa lain yang mempunyai sifat dan karakter yang berbeda dengan senyawa asalnya. Dalam pengolahan limbah secara biologis, ada dua kategori proses, yaitu :

- a) *Suspended-growth process*, adalah proses pengolahan secara biologi yang melibatkan aktivitas mikroorganisma untuk mengurai bahan organik atau unsur-unsur lainnya di dalam air limbah menjadi gas. Dan mikroorganisma tumbuh dalam keadaan tersuspensi di dalam aliran.
- b) *Attached-growth process*, proses pengolahan secara biologi yang melibatkan aktivitas mikroorganisma untuk mengurai bahan organik atau unsur-unsur lainnya di dalam air limbah menjadi gas. Dan mikroorganisma tumbuh terlekat pada media tumbuh, seperti batu, keramik, plastik. Proses ini disebut juga sebagai *fixed film processes*.

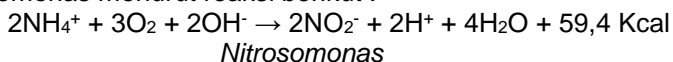
Proses pengolahan limbah ammonia secara biologis melibatkan rangkaian proses pengolahan aerob dan dilanjutkan dengan proses anaerob. Proses aerob merupakan proses oksidasi senyawa ammonia menjadi senyawa transisi nitrit selanjutnya diikuti proses oksidasi nitrit menjadi senyawa nitrat yang stabil. Proses aerob ini lebih dikenal dengan istilah nitrifikasi. Setelah proses nitrifikasi berjalan secara sempurna perlu dilakukan tahapan kedua yaitu proses anaerob, proses ini dikenal dengan istilah denitrifikasi. Pada tahap ini senyawa nitrat, yang terbentuk dari proses oksidasi ammonia, diolah lebih lanjut menjadi nitrogen.

2.6 Proses Nitrifikasi

Proses nitrifikasi didefinisikan sebagai konversi nitrogen ammonium (N-NH₄) menjadi nitrit (N-NO₂) yang kemudian menjadi nitrat (N-NO₃) yang dilakukan oleh bakteri autotropik dan heterotropik (Gardy dan Lim, 1980). Nitrifikasi merupakan proses mikrobial yang mereduksi komponen nitrogen (amonia) menjadi nitrit dan nitrat (EPA, 2002). Proses nitrifikasi melalui beberapa tahap, tahapan reaksi nitrifikasi menurut Spotte (1979) dalam Pranoto (2007) yaitu:

1. Tahap Nitritasi

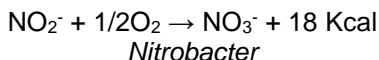
Tahap ini merupakan tahap oksidasi ion amonium (NH₄⁺) menjadi ion nitrit (NO₂⁻) yang dilaksanakan oleh bakteri nitrosomonas menurut reaksi berikut :



Reaksi tersebut memerlukan 3,43 gram O₂ untuk mengoksidasi 1 gram nitrogen menjadi nitrit.

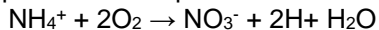
2. Tahap Nitrasi

Tahap ini merupakan tahap oksidasi ion nitrit menjadi ion nitrat (NO₃⁻) yang dilaksanakan oleh bakteri nitrobacter menurut reaksi berikut :



Reaksi tersebut memerlukan 1,14 gr O₂ untuk mengoksidasi 1 gram nitrogen menjadi nitrat.

Menurut Grady dan Lim (1980), secara keseluruhan proses nitrifikasi dapat dilihat dari persamaan berikut:



Kedua reaksi di atas berlangsung secara reaksi eksotermik (reaksi yang menghasilkan energi). Jika kedua jenis bakteri tersebut ada, baik di tanah maupun di perairan, maka konsentrasi nitrit akan menjadi berkurang karena nitrit yang dibentuk oleh bakteri *Nitrosomonas* akan dioksidasi oleh bakteri *Nitrobacter* menjadi nitrat. Kedua bakteri ini dikenal sebagai

bakteri autotropik, yaitu bakteri yang dapat mensuplai karbon dan nitrogen dari bahan-bahan anorganik dengan sendirinya. Bakteri ini menggunakan energi dari proses nitrifikasi untuk membentuk sel sintesa yang baru. Sedangkan bakteri heterotropik merupakan bakteri yang membutuhkan bahan-bahan organik untuk membangun protoplasma. Walaupun bakteri nitrifikasi autotropik keberadaannya di alam lebih banyak, proses nitrifikasi dapat juga dilakukan oleh bakteri jenis heterotropik (*Arthobacter*) dan jamur (*Aspergillus*). (Barnes dan Blisse, 1980).

Di dalam proses pengolahan secara aerobik senyawa $N-NH_4$ yang ada di perairan dioksidasi menjadi nitrat. Mengingat kebutuhan O_2 yang cukup besar, maka terjadi penurunan oksigen di dalam perairan tersebut sehingga terjadi kondisi septik. Upaya memenuhi kebutuhan O_2 tersebut, dapat dipenuhi dengan cara memperbesar transfer O_2 ke dalam instalasi pengolahan. Transfer O_2 dapat dilakukan dengan cara menginjeksikan udara ke dalam reaktor dan memperluas kontak antara gelembung udara dengan air dengan cara memasang difuser yang lebih halus dan merata. (Metcalf dan Eddy, 2003)

2.7 Faktor Pengontrol Proses Nitrifikasi

Menurut EPA (2002) pertumbuhan bakteri nitrifikasi dipengaruhi oleh konsentrasi amonia, suhu, pH, cahaya, konsentrasi oksigen, dan komposisi bakteri. Sedangkan menurut Ripple (2003) faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses nitrifikasi yaitu sebagai berikut.

1. Dissolved Oxygen (DO)

Dalam proses nitrifikasi akan membutuhkan kondisi aerob atau akan mengkonsumsi oksigen dalam jumlah yang besar. Bakteri nitrifikasi membutuhkan 4,6 mg. O_2 untuk dapat mengoksidasi 1 mg amonia. Bakteri nitrifikasi membutuhkan DO minimal 2 mg/L untuk dapat bekerja dengan baik.

2. Kandungan BOD

Bakteri nitrifikasi akan kalah berkompetisi heterotrof dalam perebutan DO dan nutrient. Agar proses nitrifikasi mengambil alih maka BOD terlarut harus dikurangi hingga nilainya turun menjadi 20-30 mg/L untuk mengurangi kompetisi tersebut.

3. pH

pH optimum untuk pertumbuhan bakteri nitrifikasi adalah 7,5-8,5 sehingga pada pH dibawah 6 pertumbuhan akan terhambat.

4. Suhu

Suhu ideal untuk pertumbuhan bakteri nitrifikasi adalah 20-35°C serta pada suhu 5°C proses nitrifikasi akan terhambat.

5. Rentan terhadap toksin

Bakteri nitrifikasi rentan terhadap pencemar seperti logam berat. Bakteri nitrifikasi menjadi yang pertama mati jika ada pencemaran.

2.8 Proses Penyisihan Nitrogen Secara Biologis

Prinsip-prinsip dalam proses penyisihan nitrogen secara biologis digunakan untuk mengolah limbah cair yang mengandung nitrogen berlebih. Pada proses ini memanfaatkan aktifitas metabolisme dari organisme, khususnya mikroorganisme yang menggunakan unsur nitrogen. Aktifitas yang terjadi selama proses berlangsung, mempunyai mekanisme tersendiri, meskipun terjadi dalam waktu yang sama.

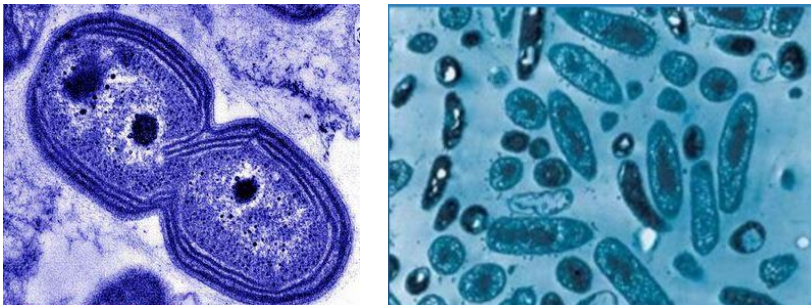
Proses penyisihan nitrogen dapat dilakukan baik secara kimiawi maupun biologis. Secara kimiawi dapat dilakukan dengan proses yang disebut *ammonia stripping*, yaitu dengan cara peningkatan pH atau penambahan kalsium karbonat. Sedangkan secara biologis, proses penyisihan nitrogen dilakuan melalui proses nitrifikasi dan denitrifikasi (Davis dan Cornwell, 1991).

2.9 Karakteristik *Nitrosomonas sp.*

Secara umum, Nitrosomonas diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Prokariotae
Divisi : Bacteria
Kelas : Betaproteobacteria
Ordo : Nitrosomonadales
Famili : Nitrobacteraceae
Genus : Nitrosomonas

Genus *Nitrosomonas* termasuk golongan bakteri gram negatif dan bentuk sel bulat. Memiliki morfologi bentuk bulat, tepian licin, elevasi cembung dan warna putih. Bersifat motil, katalase, urea, gelatin, dan indol memiliki reaksi positif (Kiding *et al.*, 2015). Menurut Holt *et al.*, (1994) dan Cowan *et al.*, (1993) genus *Nitrosomonas* termasuk bakteri gram negatif, berbentuk bulat, kadang-kadang bentuk sel elips, bersifat motil dan non motil, katalase, dan indol memiliki reaksi positif, sifat hidupnya aerob. Metabolisme bakteri ini menghasilkan enzim katalase. Mikrob *chemolithotrophic* obligat mengoksidasi NH_3 menjadi nitrit, kemudian menjadi nitrat, fiksasi CO_2 dan tidak membutuhkan senyawa organik untuk pertumbuhan. Bakteri *Nitrosomonas* berperan dalam proses nitrifikasi menghasilkan ion nitrat yang dibutuhkan tanaman. Bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 5-30° C dan pH optimum 5,8 - 8,5, serta hidup pada habitat air laut, air tawar, dan tanah. Visualisasi bakteri *Nitrosomonas* terdapat pada Gambar 2.2 sebagai berikut.



Gambar 2.3 *Nitrosomonas* sp.

Sumber:

<http://ecologyfoodchains.pbworks.com/w/page/54437657/reducer%20in%20the%20river> (diakses pada 26/04/2019 pukul 17.07)

2.10 Karakteristik *Nitrobacter* sp.

Secara umum, Nitrosomonas diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Prokariotae
Divisi	: Bacteria
Kelas	: Alphaproteobacteria
Ordo	: Rhizobiales
Famili	: Bradyrhizobiaceae
Genus	: Nitrobacteraceae

Genus *Nitrobacter* memiliki morfologi koloni bentuk bulat, tepian licin dan berombak, elevasi datar dan cembung, warna kuning dan putih bening. Bentuk morfologi selnya bulat dan termasuk kedalam golongan gram negatif (Kiding *et al.*, 2015). Uji biokimia pada katalase, motilitas, urea, gelatin dan indol memiliki reaksi positif. Menurut Holt *et al.*, (1994). *Nitrobacter* memiliki bentuk sel batang, bulat, dan oval. Bakteri ini termasuk ke dalam golongan bakteri gram negatif. Mikrob *chemolithotrophic* obligat, nitrit menjadi nitrat, serta mendapatkan energi dari CO₂. Ada organisme yang tumbuh secara heterotrofik, tetapi pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan dengan *chemolithotrophic*. Bakteri ini bersifat aerob dan mempunyai warna koloni krem dengan diameter 1,29 mm, dan bersifat motil. *Nitrobacter* termasuk bakteri nitrifikasi karena merupakan bakteri yang mengubah nitrit menjadi nitrat. Habitat genus ini tersebar pada air laut, air tawar dan tanah. Visualisasi bakteri *Nitrobacter* terdapat pada Gambar 2.3 sebagai berikut.

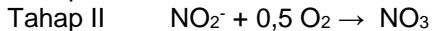


Gambar 2.4 *Nitrobacter* sp.

Sumber: Loyola, 2013

2.11 Sistem Bakteri Autotrof dan Heterotrof

Sistem autotrof dalam perairan adalah bakteri nitrifikasi (Ebeling et al., 2006). Nitrifikasi berlangsung dalam dua tahapan, yaitu oksidasi amonia menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat. sesuai dengan persamaan (Ritmann dan McCarty, 2001) :



Proses tahap pertama dibantu oleh *ammonia oxidizing bacteria* seperti *Nitrosomonas* dan *Nitrosococcus*. Tahap kedua dibantu oleh *nitrite oxidizing bacteria* seperti *Nitrobacter* dan *Nitrospira*. Bakteri nitrifikasi termasuk *obligate autotroph* yang menggunakan karbon oksida sebagai sumber karbonnya dan termasuk *obligate aerob* yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. sumber energinya berasal dari oksidasi NH_4 dan NO_2 dan memproduksi sel dengan menggunakan CO_2 .

Pertumbuhan bakteri nitrifikasi lebih lambat jika dibandingkan bakteri heterotrof. Bakteri nitrifikasi membutuhkan waktu 12 jam untuk melakukan regenerasi, sedang bakteri heterotrof hanya memerlukan waktu 30 menit (Davies, 2005).

Sistem heterotrof (*biofloc*) didominasi oleh organisme heterotrof terutama bakteri dalam perairan. Bakteri menggunakan bahan organik sebagai sumber energi dan karbon. Sinar matahari tidak memiliki peran yang dominan dalam budidaya dengan sistem heterotrof dibandingkan dengan sistem autotrof sehingga aktivitas bakteri dapat berlangsung dengan baik selama 24 jam. Perkembangan bakteri tergantung pada sumber karbon organik yang tersedia serta suplai oksigen (Avnimelech, 2009). Pertumbuhan bakteri heterotrof dirangsang melalui penambahan karbon organik untuk meningkatkan rasio C:N media. Penanganan amonia dalam kolam budidaya dengan bakteri heterotrof merupakan metode yang paling cepat dan efektif (Ebeling et al., 2006).

Beberapa faktor kunci pengembangan sistem heterotrof ini menurut McIntosh (2000) yaitu : (1) kepadatan yang tinggi; (2) aerasi yang cukup bagi pergerakan air untuk menjaga padatan tetap terlarut dan tingkat oksigen mencukupi bagi kesehatan udang; (3) input bahan organik yang tinggi,

sebagai sumber makanan baik bagi udang maupun bakteri. Selain itu perlu diperhatikan juga mengenai keseimbangan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri, seperti karbon dan nitrogen.

Isolat-isolat yang telah murni ditumbuhkan pada media nitrifikasi autotrof dengan sumber karbon berupa karbonat dan media nitrifikasi heterotrof dengan sumber karbon berupa glukosa. Berdasarkan pengamatan, pertumbuhan sel bakteri pada media nitrifikasi heterotrof menunjukkan pertumbuhan sel lebih tinggi dibandingkan dengan pertumbuhan sel pada media nitrifikasi autotrof (Tabel 2). William *et al.* (1998) menyatakan bahwa media karbonat merupakan media nitrifikasi autotrof yang membuat pertumbuhan bakteri lambat dan perbanyakannya rendah. Menurut Tresnawati (2006), media nitrifikasi heterotrof menghasilkan pertumbuhan sel yang lebih tinggi daripada pertumbuhan sel pada media nitrifikasi autotrof. Berdasarkan penelitiannya, pertumbuhan sel pada media heterotrof yang paling tinggi terjadi pada media glukosa sebagai sumber karbon dengan aktivitas mengoksidasi amonium cukup tinggi.

Perbedaan pertumbuhan sel pada kedua media diduga karena perbedaan senyawa yang digunakan untuk pembentukan energi, yaitu glukosa dan amonium. Menurut Widiyanto (2006), isolat pada media heterotrof memanfaatkan sumber karbon dari glukosa. Isolat tersebut mengoksidasi glukosa melalui siklus asam sitrat sehingga didapatkan 38 ATP per molekul glukosa. Sedangkan isolat pada media nitrifikasi autotrof memanfaatkan amonium sebagai sumber energi. Proses oksidasi amonium menghasilkan 2 ATP per molekulnya sehingga mendapatkan energi lebih sedikit daripada glukosa. Hal ini menyebabkan pertumbuhan isolat pada media heterotrof lebih tinggi dibandingkan pada media autotrof.

2.12 Penggunaan Katalis

Pengaruh katalis pada sistem kesetimbangan adalah dapat mempercepat terjadinya reaksi kekanan atau kekiri, keadaan kesetimbangan akan tercapai lebih cepat tetapi katalis

tidak mengubah jumlah kesetimbangan dari spesies-spesies yang bereaksi atau dengan kata lain katalis tidak mengubah nilai numeris dalam tetapan kesetimbangan. Peranan katalis adalah mengubah mekanisme reaksi kimia agar cepat tercapai suatu produk.

Katalis yang dipergunakan untuk mempercepat reaksi memberikan mekanisme suatu reaksi yang lebih rendah dibandingkan reaksi yang tanpa katalis. Dengan energi aktivasi lebih rendah menyebabkan maka lebih banyak partikel yang memiliki energi kinetik yang cukup untuk mengatasi halangan energi aktivasi sehingga jumlah tumbukan efektif akan bertambah sehingga lalu meningkat.

Katalis yang paling banyak digunakan sebagai inti aktif berasal dari Pt, Ni, Fe, HgSO_4 , V_2O_5 dan MnO_2 . Dari penelitiannya disimpulkan bahwa Fe merupakan inti aktif katalis yang bisa membentuk atom karbon menjadi CNT, tetapi ukuran kristal Fe juga sangat penting. Semakin besar ukuran partikel Fe maka semakin banyak nanofiber yang bisa tumbuh, sehingga diperlukan pengontrolan konsentrasi Fe dalam persiapan katalis.

Besi terlibat dalam banyak proses biologis (Dlouhy *et al.*, 2013) Ini adalah logam transisi terpenting di semua organisme hidup. Protein besi dijumpai dalam seluruh organisme hidup: arkea, bakteri dan eukariota, termasuk manusia. Misalnya, warna darah disebabkan oleh hemoglobin, suatu protein yang mengandung besi. Seperti yang diilustrasikan oleh hemoglobin, besi seringkali terikat pada kofaktor, seperti heme, yang bukan senyawa protein dan sering melibatkan ion logam, yang diperlukan agar aktivitas biologi protein dapat berlangsung. Klaster besi-belerang bersifat pervasif dan termasuk nitrogenase, enzim yang bertanggung jawab untuk fiksasi nitrogen biologis. Peran utama protein yang mengandung besi adalah transportasi dan penyimpanan oksigen, selain transfer elektron.

2.13 Penelitian Terdahulu

Telah banyak dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan Bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* pada biodegradasi amonium dalam proses Nitrifikasi. Penelitian terdahulu ini nantinya akan dijadikan sebagai acuan dan pembelajaran dalam melakukan penelitian kali ini. Data lengkap mengenai penelitian terdahulu dapat dilihat pada Tabel 2.1 sebagai berikut.

Tabel 2.1 Penelitian Terdahulu

No.	Senyawa	Konsentrasi Penurunan/ Efisiensi Biodegradasi	Rujukan
1.	Amonium-Nitrit	43,90 mg menjadi 4,10 mg	Haryanto, 2001
	Nitrit-Nitrat	6,32 mg menjadi 24,30 mg	
2.	Amonium-Nitrit	46,20%	D. Djokosetiyanto, A. Sunarna dan Widanarni, 2006
	Nitrit-Nitrat	30,68%	
4.	Nitrit-Nitrat	6,37%	Agustiyani, 2010
3.	Amonium-Nitrit	46,36-97,70%	Umam, 2017

D. Djokosetiyanto, *et al.*,(2006), telah melakukan penelitian untuk efektivitas pengubahan ammonia (NH₃-N) pada filter biologis unit air dalam budidaya ikan tanpa perlakuan aerasi hanya sebesar 39,31% dengan efektivitas pengubahan nitrit (NO₂-N) sebesar 8,53%. Sedangkan pada unit yang menggunakan proses aerasi sebelum filter biologis, efektivitas pengubahan ammonia dan nitrit masing-masing mencapai 46,20% dan 30,68%. Lima tahun berikutnya Haryanto (2001) telah melakukan penelitian tentang pertumbuhan kultur mikroba nitrifikasi ditentukan berdasarkan pada penurunan konsentrasi amonium atau nitrit. Dari hasil konsentrasi amonium dalam media pertumbuhan mengalami penurunan dari 43,90 mg menjadi 4,10 mg (90,66%) selama inkubasi 12 jam. Penurunan

konsentrasi amonium diikuti dengan terbentuknya nitrit (6,32 mg) dan nitrat (24,30 mg) sebagai produk dari proses nitrifikasi. Agustiyani (2010) 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.

Kemudian Umam (2017) telah melakukan aklimatisasi serta uji pembebanan dengan penambahan *ammonium chloride* (NH₄Cl) pada bakteri Nitrifikasi. Proses aklimatisasi pada hari ke 30 sampai ke 53 menunjukkan kondisi tunak. Uji pembebanan amonium dilakukan pada kisaran konsentrasi amonium 1.10-10.57 mg/L dengan efisiensi penyisihan 46.36-97.70%.

BAB III

METODE PENELITIAN

Bab metode penelitian ini disusun sebagai acuan dalam melakukan penelitian. Penelitian yang dilakukan adalah Efek Perbedaan Zat Organik Terhadap Efisiensi Nitrifikasi. Penelitian ini untuk menentukan efisiensi proses nitrifikasi, tingginya konsentrasi maksimal biodegradasi amonium berdasarkan sumber karbonnya. Variasi yang digunakan yaitu dengan pengaturan yang dijelaskan pada Tabel 3.1. Pada penelitian ini digunakan tiga kali pengulangan pada masing-masing variasi penambahan bakteri sumber karbon dan konsentrasi amonium dengan tujuan sebagai cadangan apabila terdapat sesuatu hal yang tidak dikehendaki dan sebagai pembandingan hasil analisa.

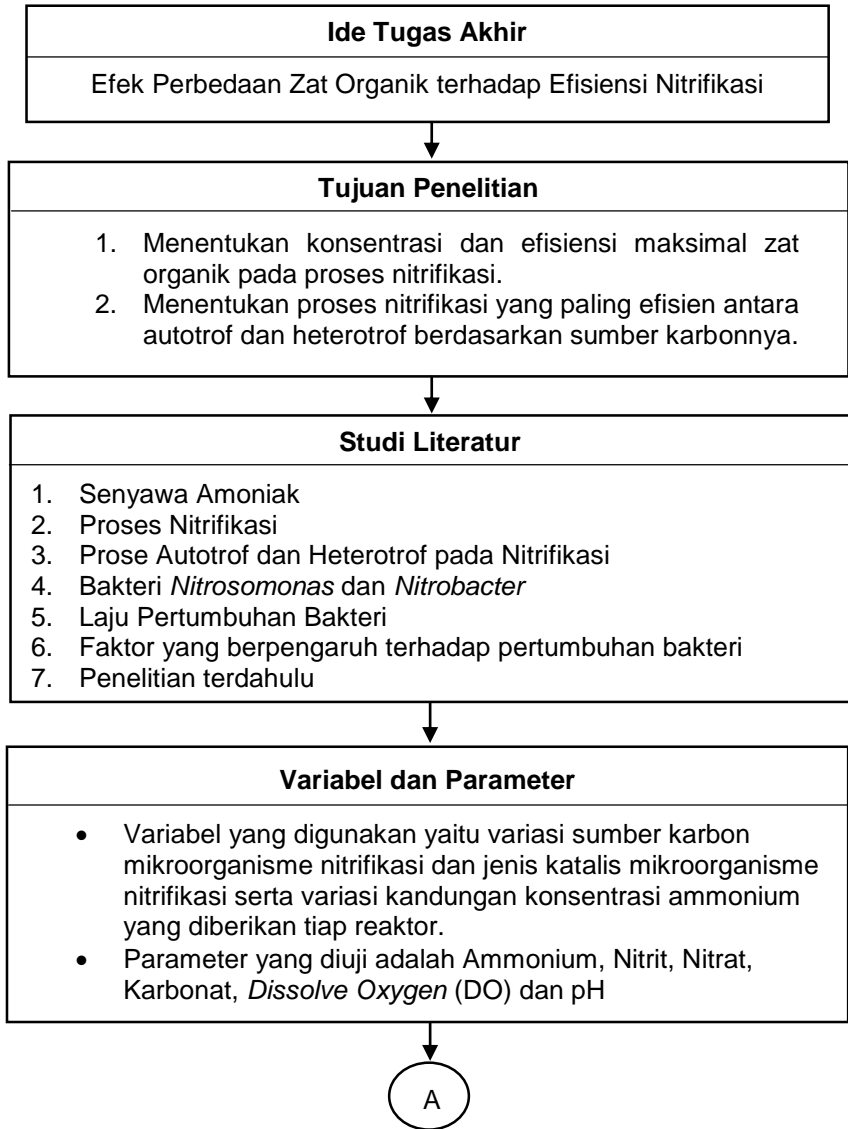
Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA UNAIR. Parameter yang diuji adalah Ammonium, Nitrit, Nitrat, Karbonat, pH dan *Dissolve Oxygen* (DO) pada masing-masing reaktor. Variabel yang digunakan: jenis sumber karbon yaitu autotrof dan heterotrof, dan penambahan katalis aktif $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich) pada masing-masing reaktor.

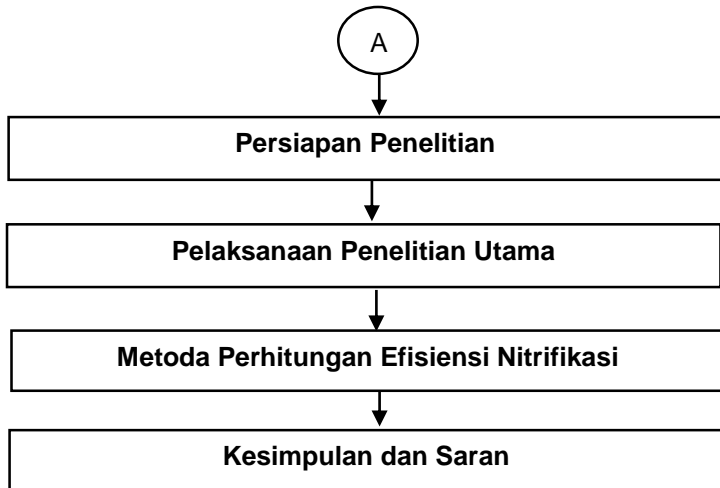
Metode uji yang digunakan adalah menggunakan Spektrofotometer untuk parameter Amonium, Nitrit dan Nitrat yang prinsip kerjanya dengan mengukur transmitans atau absorbans suatu sampel yang dinyatakan dalam fungsi panjang gelombang, alat pH meter untuk mengetahui keasaman atau basa pada suatu sampel agar pertumbuhan bakteri tidak terhambat dan alat DO Meter untuk mengukur kadar oksigen terlarut (*Dissolve Oxygen*) di dalam air atau larutan.

3.1 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian merupakan alur jalannya proses penelitian yang berupa langkah-langkah yang akan dilakukan pada saat penelitian. Pembuatan kerangka penelitian memiliki tujuan agar penelitian berjalan sesuai dengan rencana dan dapat memenuhi tujuan yang telah

ditetapkan. Kerangka penelitian tugas akhir ini dapat dilihat pada Gambar 3.1 sebagai berikut.





Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Remediasi Lingkungan Departemen Teknik Lingkungan FTSLK ITS Surabaya. Serta waktu yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah sekitar 4 minggu.

3.3 Ide Penelitian

Bermula dari banyaknya kandungan nitrogen organik berasal dari beberapa sumber antara lain limbah domestik yang termasuk didalamnya sampah, kotoran manusia dan binatang, kemudian berasal dari limbah industri dan dapat pula berasal dari air alam yang terpapar oleh sisa-sisa tumbuhan. Limbah tersebut mengandung senyawa amonia yang mana terdapat kelompok bakteri yang terutama berperan dalam proses oksidasi amonia menjadi nitrit pada siklus nitrogen, sehingga membuat kandungan air limbah dari beracun menjadi tidak beracun.

Kandungan amonium dan fosfat pada polutan yang tinggi akan sangat berbahaya jika dibuang pada air permukaan,

karena dapat menyebabkan eutrofikasi (Ibad, 2013; Masduqi, 2004). Untuk mengurangi konsentrasi amonia yang terkandung dalam buangan air limbah domestik baik segar maupun telah terolah, perlu adanya suatu pengolahan terlebih dahulu atau lebih lanjut sebelum dibuang ke perairan/badan air. Penurunan konsentrasi amonia dalam air limbah dapat dilakukan dengan beberapa cara pengolahan salah satunya pengolahan biologis (Sedlak, 1991).

Proses Nitrifikasi merupakan salah satu proses biologis yang dapat mendegradasi konsentrasi amonia di lingkungan. Maka dari itu perlu kita ketahui efisiensi proses nitrifikasi serta konsentrasi maksimal dan sumber karbon yang digunakan yang akan berpengaruh pada proses nitrifikasi.

3.4 Studi Literatur

Studi literatur bertujuan untuk menambah pemahaman terkait penelitian yang dilakukan dan menentukan variabel tetap yang akan digunakan pada penelitian ini. Studi literatur yang akan digunakan berupa jurnal penelitian, peraturan, *textbook*, disertai, *website*, laporan tugas akhir, laporan kerja praktek serta makalah dan seminar yang berkaitan dengan penelitian ini. Literatur yang diperlukan ialah faktor-faktor yang mempengaruhi proses nitrifikasi, pengolahan air limbah yang mengandung amonium atau proses nitrifikasi, proses pertumbuhan bakteri, proses degradasi amonium pada bakteri nitrifikasi dan penelitian terdahulu.

3.5 Persiapan Penelitian

Tahap persiapan dilakukan untuk melakukan persiapan sebelum penelitian dilaksanakan. Persiapan yang dilakukan terkait persiapan alat dan bahan yang dibutuhkan untuk penelitian. Dilakukan juga persiapan untuk meremajakan isolat bakteri yaitu tahap pemindahan bakteri dari media indukan. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA UNAIR.

Kemudian isolat bakteri perlu dikembangbiakkan yang berfungsi untuk memperbanyak jumlah bakteri pada proses penelitian dan menjaga agar bakteri tidak mati. Bakteri yang

digunakan ialah bakteri Nitrifikasi, yakni *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter*. Menurut Novotny dan Olem (1994), Bakteri nitrifikasi merupakan bakteri aerobik, sehingga dalam prosesnya selalu membutuhkan oksigen. Bakteri nitrifikasi membutuhkan oksigen untuk dapat mengubah NH_4^+ menjadi NO_3^- . Ripple (2003) menyatakan bakteri nitrifikasi membutuhkan 4.6 mg/l oksigen untuk dapat mengoksidasi 1 mg amonia dan untuk dapat bekerja bakteri nitrifikasi membutuhkan DO minimal 2 mg/l. Maka dari itu diperlukan beberapa persiapan yang harus dilakukan, yaitu sebagai berikut.

3.5.1 Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Pembuatan *Nutrient Broth* (NB) (Merck, Jerman) dilakukan sesuai dengan kebutuhan. Pada pembuatan satu liter media NB, dibutuhkan 8 gram NB bubuk. NB yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhan. NB yang telah ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan aquadest (OneMed, Indonesia) dengan cara diaduk menggunakan spatula *stainless steel*. Pengadukan bertujuan untuk mempercepat larutan supaya homogen. Setelah larut, dilakukan proses penuangan pada Erlenmeyer (Duran, Jerman) sesuai dengan kebutuhan kemudian mulut tabung dibungkus dengan aluminium foil. Setelah selesai, dilanjutkan dengan proses sterilisasi pada media NB menggunakan *autoclave* (ASC, Jerman) selama ± 60 menit dengan suhu 121°C . Dalam penelitian ini, media NB dibutuhkan sebagai media tumbuhnya bakteri saat tahap uji pertumbuhan bakteri dan uji degradasi amonium.

3.5.2 Sterilisasi Alat Uji dan Substrat untuk Penelitian

Metode yang digunakan pada sterilisasi alat uji dan substrat merujuk pada Kubyshkina *et al.*, (2011) yang telah disesuaikan. Setiap alat yang akan digunakan dalam proses penelitian harus dicuci terlebih dahulu. Alat itu kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, untuk mempercepat proses pengeringan dapat dilakukan pengusapan semua alat menggunakan tisu. Setelah alat kering dapat dilakukan pembungkusan semua alat uji yang

akan disterilkan. Pembungkusan dilakukan dengan menggunakan kertas coklat dan karet sebagai perekat. Hal tersebut dilakukan untuk menghindari masuknya uap air pada alat yang akan disterilisasi di autoclave (ASC, Jerman). Kemudian, alat-alat yang telah terbungkus kertas coklat dimasukkan kedalam autoclave (ASC, Jerman).

Substrat atau media yang digunakan sebagai bahan penelitian juga harus dilakukan proses sterilisasi. Bahan seperti larutan aquadest sebagai pelarut media serta larutan NB yang telah dibuat harus disterilisasi. Hal tersebut dilakukan untuk membebaskan semua alat dan substrat dari kehidupan mikroorganisme yang dapat mengakibatkan kontaminasi. *Autoclave* yang digunakan di *setting* pada suhu 121°C selama ± 60 menit. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan semua kontaminan pada alat dan substrat, kontaminan yang dimaksud bisa berupa sel dan spora mikroba yang tidak diinginkan. Dalam proses sterilisasi akan tercipta keadaan yang steril pada semua alat dan substrat sebelum digunakan.

3.5.3 Pembuatan Air Salin

Air salin dibuat dengan cara melarutkan 8,5 gram NaCl (merck, Jerman) dalam 1000 ml aquadest (OneMed, Indonesia). Larutan tersebut akan digunakan saat penelitian utama sebagai pencucian mikroorganisme dan pengencer saat *trial and error* absorbansi. Setelah dilakukan pelarutan, air slain diaduk hingga homogen dan dilakukan sterilisasi dengan menggunakan *autoclave* (ASC, Jerman) pada suhu 121°C selama ± 60 menit.

3.5.4 Laju Pertumbuhan Bakteri

Laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui adanya tahap perkembangbiakkan selama dikultur. Kultur tersebut diinkubasi pada temperatur 28°C diatas penggoyang (*shaker*) selama 48 jam atau 2 hari dengan kecepatan 115 rpm. Menurut Agustiyani (2008) Kultur mikroba untuk pertumbuhan bakteri Nitrifikasi harus diinkubasi di atas mesin pengocok (*shaker*) pada suhu kamar

selama 2 hari. Hal ini sejalan dengan Pranoto (2007) yang menyatakan bahwa kemampuan isolat bakteri nitrifikasi dalam mengoksidasi amonia membentuk nitrit dan nitrat dalam media selama 2 hari inkubasi.

Nitrosomonas dan *nitrobacter* adalah terminologi bakteri Lithotrophic. Mereka membutuhkan oksigen dan makanan untuk hidup dan membangun koloni dimedia dengan permukaan yang keras dan bersih. Kedua jenis bakteri tersebut termasuk lama dalam replikasi dibanding bakteri lain yang ada. Pada kolam air tawar, bakteri membutuhkan waktu setiap 8 jam untuk bereplika, sedangkan untuk air laut lebih lama lagi, sekitar 24 jam. (Budyanto, 2011).

Sebelum dilakukan uji kekeruhan dengan *Optical Density*, larutan mikroba perlu dipisahkan terlebih dahulu larutan media dengan bakterinya dengan dilakukan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit. Proses sentrifugasi dilakukan dengan menggunakan alat centrifuge seperti pada Gambar 3.2 berikut.



Gambar 3.2 Centrifuge

Filtrat yang diperoleh merupakan bakteri yang akan ditentukan pertumbuhannya dengan cara mengukur kekeruhan (*Optical density/OD*) kultur bakteri tersebut dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Setelah pengembangbiakan selesai dan pertumbuhan berlangsung kemudian dilakukan pengamatan *Optical Density* (OD).

3.5.5 Pembuatan Limbah Artifisial

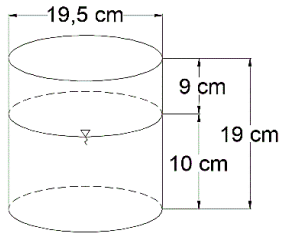
Pemilihan variasi ini berdasarkan literatur yang menyebutkan bahwa rasio C:N:P harus berada dalam kisaran antara 100: 10: 1 dan 100: 5: 1 (Alexander, 1994). Oleh karena itu, variasi yang digunakan adalah rasio 100: 5: 1 untuk penelitian ini. Sumber nutrisi C berasal dari Glukosa ($C_6H_{12}O_6$ H₂O), sumber nutrisi N berasal dari NH_4Cl karena senyawa ini memiliki energi asimilasi yang cukup, dan sumber nutrisi P berasal dari KH_2PO_4 .

Limbah yang digunakan merupakan limbah buatan yang berasal dari bahan kimia murni atau pro analisis (pa). Penelitian ini tidak menggunakan studi kasus limbah domestik ataupun limbah industri karena menggunakan limbah buatan didapatkan konsentrasi yang diinginkan dan pencapaiannya dapat mendekati dengan yang kita inginkan daripada limbah asli. Setelah hasil tersebut mendekati konsentrasi yang kita inginkan, maka dihitung keperluan pembuatan untuk 22 reaktor.

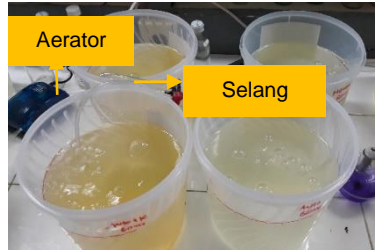
3.5.6 Perakitan Reaktor

Reaktor nitrifikasi yang digunakan merupakan reaktor *batch* secara aerob. Reaktor tersebut terbuat dari wadah plastik dengan ukuran 5L sebanyak 22 buah dengan dimensi reaktor 19,5 cm dan tinggi reaktor 19 cm.

Reaktor nitrifikasi dibuat terbuka dengan adanya aerator untuk suplai oksigen pada mikroba nitrifikasi secara kontinyu. Aerator yang digunakan pada reaktor aerob memiliki spesifikasi *Air pump* AT410 dengan *voltage: 220 V, Frequency: 50 Hz, Power: 5W dan capacity: 2X4 L/menit*. Suplai oksigen akan dialirkan dengan selang plastik berukuran $\frac{1}{4}$ inch. Berikut ini adalah reaktor yang akan digunakan pada penelitian ini.

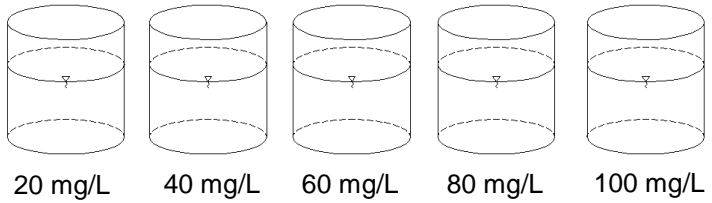


(a)



(b)

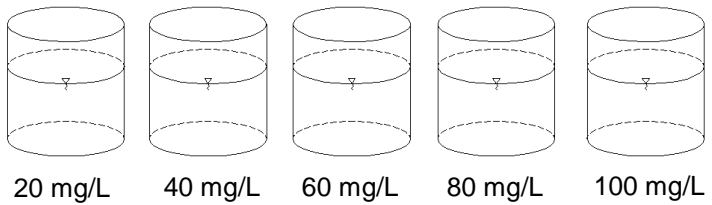
Autotrof



Komposisi: N:P dan Bakteri 4%

(c)

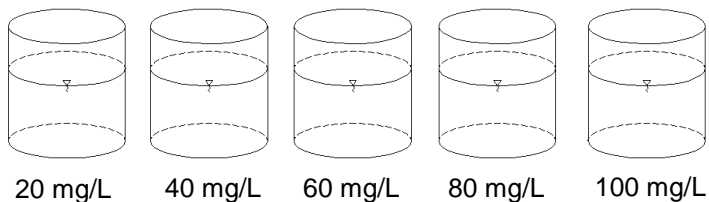
Heterotrof



Komposisi: C:N:P dan Bakteri 4%

(d)

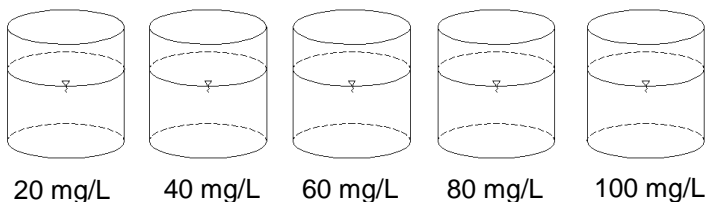
Autotrof Katalis



Komposisi: N:P ; Bakteri 4% dan Katalis 1%

(e)

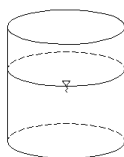
Heterotrof Katalis



Komposisi: C:N:P ; Bakteri 4% dan Katalis 1%

(f)

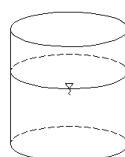
Kontrol Autotrof



Komposisi: P dan Bakteri 4%

(g)

Kontrol Heterotrof



Komposisi: C:P dan Bakteri 4%

(h)

Gambar 3.3 (a) Dimensi Reaktor yang digunakan (b) Rangkaian Reaktor dalam Proses Nitrifikasi (c) Reaktor Autotrof (d) Reaktor Heterotrof (e) Reaktor Autotrof Katalis (f) Reaktor Heterotrof Katalis (g) Reaktor Kontrol Autotrof (h) Reaktor Kontrol Heterotrof

3.6 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan awal dilakukan pencampuran antara bakteri nitrifikasi, nutrient, konsentrasi zat amonium dan penambahan katalis. Komposisi dari nutrient untuk reaktor yang bersifat Heterotrof adalah campuran *Glucose Monohydrate* (pro-analisis) 18 gram dengan NH_4Cl 0,2675 gram dan KH_2PO_4 0,136 gram. Sedangkan campuran untuk Autotrof adalah NH_4Cl 0,2675 gram dan KH_2PO_4 0,136 gram. Campuran tersebut dilarutkan dan diencerkan dengan air kran.

Penambahan bakteri nitrifikasi yang diperlukan adalah 4% dari reaktor yang terisi yakni 3 L, sehingga bakteri yang diperlukan yaitu 120 mL per reaktornya. Dimana terkandung 60 mL bakteri *Nitrosomonas* dan 60 mL *Nitrobacter* per reaktor. Selain itu terdapat beberapa reaktor yang diberi penambahan katalis larutan besi. Kandungan katalis yang ditambahkan ialah 1% dari reaktor, yaitu 30 mL per reaktor.

Penelitian dilakukan dengan menganalisis efisiensi proses nitrifikasi dengan kandungan konsentrasi amonium yang bervariasi dan sumber karbon yang berbeda seperti autotrof, heterotrof dan adanya penambahan katalis besi. Penjelasan mengenai variabel yang akan digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.1 sebagai berikut.

Tabel 3.1 Variasi Penelitian

Variasi Reaktor	Konsentrasi Amonium (mg/L)					
	0	20	40	60	80	100
Autotrof	-	A1	A2	A3	A4	A5
Heterotrof	-	H1	H2	H3	H4	H5
Autotrof dengan Katalis	-	AK1	AK2	AK3	AK4	AK5
Heterotrof dengan Katalis	-	HK1	HK2	HK3	HK4	HK5
Kontrol Autotrof (tanpa NH_4Cl)	KA1	-	-	-	-	-

Variasi Reaktor	Konsentrasi Amonium (mg/L)					
	0	20	40	60	80	100
Kontrol Heterotrof (tanpa NH₄Cl)	KH1	-	-	-	-	-

Dilakukan pengukuran parameter Amonium, Nitrit, Nitrat, Karbonat, Dissolve Oxygen (DO) dan pengukuran pH. Pada parameter karbonat hanya dilakukan untuk sampel dengan sumber karbon autotrof, karena untuk menguji adanya karbonat yang dihasilkan pada bakteri didalam reaktor tersebut. Penelitian ini dilakukan selama 6 hari dan parameter yang diuji juga dianalisis setiap hari berturut-turut. Adapun alat parameter yang akan diuji sebagai berikut:

a. Optical Density (OD)

Setiap bakteri memiliki kurva standar pertumbuhan bakteri. Metode perhitungan jumlah sel yang digunakan dalam penelitian ini yakni dengan menggunakan spektrofotometer untuk melihat tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Pada penelitian ini, panjang gelombang yang digunakan adalah 600 nm. Berdasarkan hasil uji pendahuluan membuktikan bahwa, pada panjang gelombang ini merupakan panjang gelombang yang optimal dalam membaca densitas dari suspensi bakteri nitrifikasi. Menurut Febriyansari (2008), panjang gelombang 600-625 digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan untuk larutan yang berwarna kuning sampai coklat.

Semakin tinggi nilai absorbansi limbah cair maka jumlah bakteri juga semakin banyak, artinya semakin tinggi jumlah bakteri maka semakin banyak cahaya yang akan diserap oleh bakteri tersebut, sehingga cahaya yang dilewatkan sangat sedikit. Begitupun sebaliknya, semakin rendah jumlah bakteri maka jumlah cahaya yang diserap juga akan sedikit, sehingga cahaya yang dilewatkan akan berjumlah banyak. Uji OD akan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Genesys 20, USA) di Laboratorium



Gambar 3.4 Spektrofotometer

b. pH

Bakteri memerlukan suatu pH optimum (6,5-7,5) untuk tumbuh optimal. Nilai pH minimum dan maksimum untuk pertumbuhan kebanyakan spesies bakteri adalah 4 dan 9. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Suriani. (2013:60), laju pertumbuhan setiap isolat bakteri berbeda-beda pada tiap perlakuan pH. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan aktivitas enzim.

Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri.

Parameter pH akan dianalisis setiap hari selama penelitian berlangsung. Uji pH akan dilakukan dengan menggunakan pH meter (Trans Instruments BP3001) di Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Air, Departemen Teknik Lingkungan, ITS.



Gambar 3.5 pH Meter

c. *Dissolve Oxygen (DO)*

Penentuan oksigen terlarut dengan cara DO meter, harus diperhatikan suhu dan salinitas sampel yang akan diperiksa. Peranan suhu dan salinitas ini sangat vital terhadap akurasi penentuan oksigen terlarut dengan cara DO meter. Penentuan oksigen terlarut harus dilakukan berkali – kali di berbagai lokasi, pada tingkat kedalaman yang berbeda pada waktu yang tidak sama (Sastrawijaya, 2009). Disamping itu, sebagaimana lazimnya alat yang digital, peranan kalibrasi alat sangat menentukan akurasinya hasil penentuan.

Parameter DO akan dianalisis setiap hari selama penelitian berlangsung. Uji DO akan dilakukan dengan menggunakan DO meter (Dissolve Oxygen Meter Lutron YK-2005WA) di Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Air, Departemen Teknik Lingkungan, ITS.



Gambar 3.6 DO Meter

d. Amonium, Nitrit dan Nitrat

Unsur-unsur nitrogen seperti amonium, nitrit dan nitrat dapat menyebabkan eutrofikasi dan dapat mengganggu proses kehidupan disekitar perairan. Nitrogen – nitrogen tersebut mengalami transformasi yang mana diantaranya melibatkan mikrobiologi. Salah satu contohnya adalah proses nitrifikasi.

Pada penelitian dilakukan uji amonium, nitrit dan nitrat guna melihat adanya indikasi bakteri yang masih bekerja. Parameter akan dianalisis setiap hari selama penelitian berlangsung. Tahap ini dilakukan dengan menggunakan Alat Spektrofotometer (*721G Visible Spectrophotometer*) di Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Air, Departemen Teknik Lingkungan, ITS.



Gambar 3.7 Spektrofotometer

e. Karbonat

Dalam perairan, senyawa karbon dioksida terdapat dalam bentuk ion dan bentuk molekul. Dalam bentuk ion adalah ion bikarbonat (HCO_3) dan karbonat (CO_3) sedangkan dalam bentuk molekul adalah molekul karbon dioksida bebas (CO_2) dan asam karbonat (H_2CO_3). Dalam perairan yang pHnya lebih rendah dari 7, senyawa CO_2 bebas lebih banyak terdapat dalam air dibandingkan senyawa bikarbonat (HCO_3) dan karbonat (CO_3). Sedangkan perairan yang pHnya lebih tinggi dari 7, senyawa karbon dioksida umumnya tidak terdapat dalam bentuk bebas, tetapi terikat dalam bentuk bikarbonat dan karbonat. Oleh karena itu jika suatu perairan memiliki pH lebih besar dari 7, maka senyawa karbon dioksida yang terdapat di perairan tersebut sebagian besar dalam bentuk bikarbonat dan karbonat. (Susana, 1988).

Parameter Karbonat merupakan analisis utama dalam proses nitrifikasi. Parameter tersebut akan dianalisis setiap hari selama penelitian berlangsung. Parameter ini digunakan untuk mengetahui nilai ion karbonat yang dihasilkan oleh bakteri autotrof. Tahap ini dilakukan dengan dititrasi menggunakan larutan HCl 0,1 N hingga berubah menjadi warna menjadi merah, penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Pengolahan Air, Departemen Teknik Lingkungan, ITS.

3.7 Metoda Perhitungan Efisiensi Nitrifikasi

Pengolahan data dilakukan dengan menghitung presentase efisiensi penyisihan amonium. Presentase efisiensi penyisihan senyawa tersebut dilakukan dengan rumus berikut:

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

Keterangan: in = influen (awal inkubasi/0 jam)

ef = effluen (akhir inkubasi/t jam)

3.8 Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan dan saran didasarkan dari hasil analisis data dan pembahasan yang telah dilakukan selama

penelitian. Kesimpulan bertujuan untuk menjawab tujuan dari penelitian dan untuk mempermudah pembaca memperoleh gambaran ringkasan hasil dari penelitian yang telah dilakukan. Saran yang berisi evaluasi dan rekomendasi dapat berguna bagi penelitian selanjutnya agar tidak terjadi kesalahan yang sama dan dapat tercapainya penyempurnaan penelitian sehingga diperoleh informasi yang dapat dipertanggungjawabkan dalam penelitian-penelitian selanjutnya.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Laju Pertumbuhan Bakteri

Laju pertumbuhan bakteri merupakan kemampuan bakteri tertentu untuk tumbuh dalam sebuah reaktor. Waktu generasi bakteri merupakan waktu yang diperlukan oleh suatu jenis bakteri untuk meningkatkan jumlah sel menjadi dua kali lipat dari jumlah semula. Spektrometer ini merupakan peralatan yang mengaplikasikan teori spektroskopi atau proses interaksi gelombang Elektromagnetik (EM), dalam hal ini adalah cahaya, terhadap materi. Dalam spektrometer, cahaya dari sumber terlebih dahulu ditentukan panjang gelombangnya yang sesuai

Pada tahap ini, dilakukan analisis *Optical Density* (OD) menggunakan alat Spektrometer untuk menentukan OD kultur bakteri yang telah ditanam pada media cair NB dan di *shaker* selama 48 jam. Panjang gelombang yang digunakan adalah 600 λ . Hasil dari *Optical Density* untuk bakteri Nitrifikasi terdapat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil *Optical Density* untuk Bakteri Nitrifikasi

No.	Nama Bakteri	Hasil <i>Optical Density</i> (OD)
1	<i>Nitrosomonas</i>	1.848
2	<i>Nitrobacter</i>	1.559

Berdasarkan Tabel 4.1 diatas, nilai absorbansi yang diperoleh pada saat OD untuk bakteri *Nitrosomonas* ialah 1.848 sedangkan bakteri *Nitrobacter* ialah 1.559. Hasil pengujian menunjukkan bahwa Bakteri *Nitrosomonas* mempunyai pertumbuhan paling baik, ditunjukkan dengan kekeruhan yang tinggi dan kemampuannya mereduksi amonia juga cukup tinggi Hal ini sesuai menurut Respati (2017), bahwa hasil yang diperoleh pada saat *Optical Density* (OD) tahap awal jika nilai absorbansi yang optimal sudah menunjukkan nilai 1.

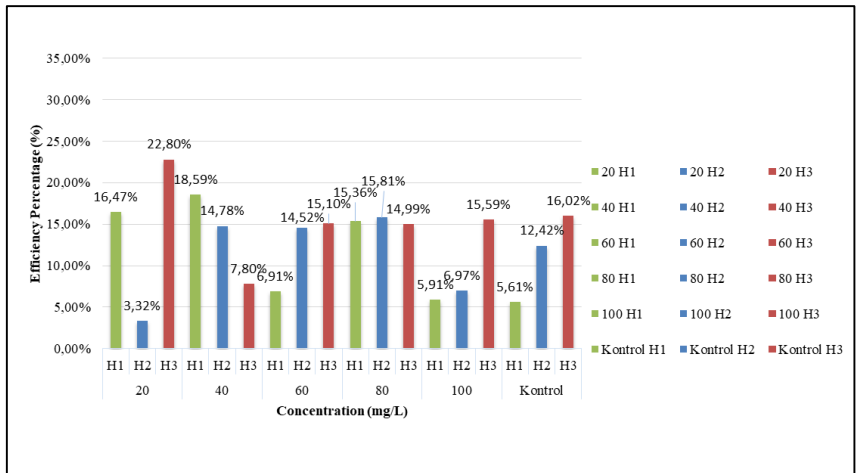
4.3 Hasil Efisiensi Removal Amonium

Hasil dari perhitungan presentase efisiensi dilakukan pada zat amonium yang memiliki variasi konsentrasi yang berbeda. Perhitungan efisiensi tersebut dihitung tiap dua hari sekali selama enam hari berturut-turut sehingga didapatkan tiga hasil efisiensi, yakni H1 untuk efisiensi hari pertama dan kedua, H2 untuk efisiensi hari ketiga dan keempat serta H3 untuk efisiensi hari kelima dan keenam. Contoh perhitungan efisiensi H1 untuk Autotrof dengan konsentrasi 20 mg/L sebagai berikut.

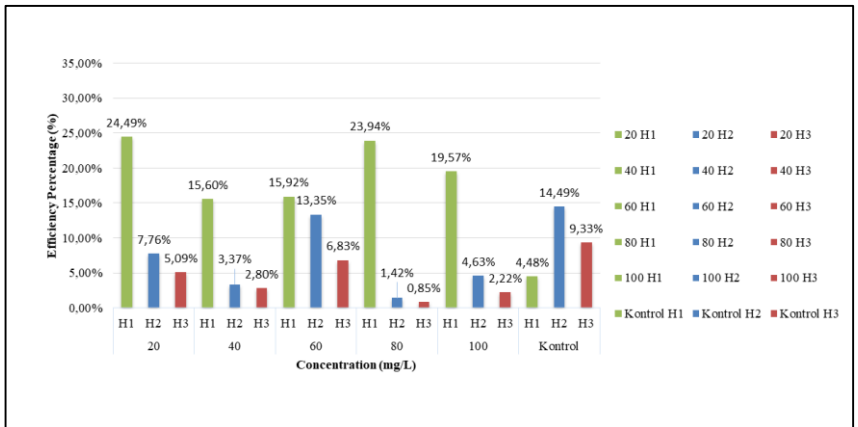
$$\text{Efisiensi} = \frac{\text{NH}_4 \text{ hari pertama (in)} - \text{NH}_4 \text{ hari kedua (out)}}{\text{NH}_4 \text{ hari pertama (in)}} \times 100\%$$

$$= \frac{6,35 - 5,31}{6,35} \times 100\% = 16,47\%$$

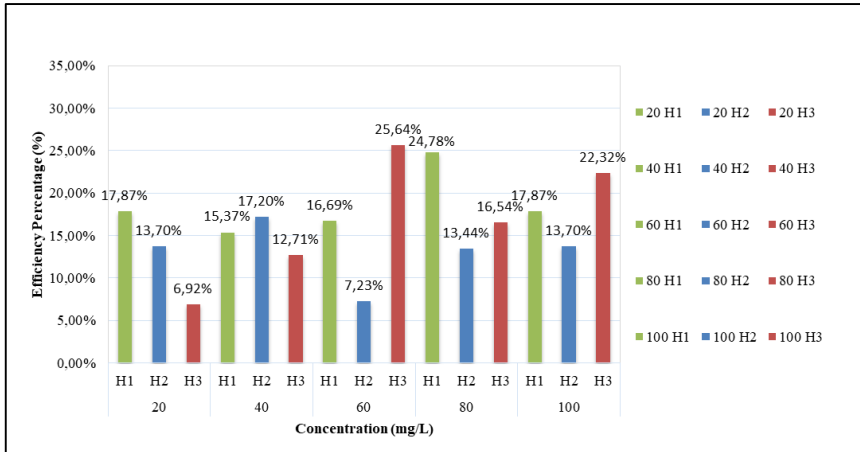
Berdasarkan perhitungan tersebut, maka dapat diketahui hasil efisiensi autotrof pada H1 sebesar 16,47%. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel Perhitungan Efisiensi Penyisihan Amonium pada Lampiran 4. Pada tabel tersebut dapat diketahui bahwa efisiensi yang tertinggi yakni pada sumber karbon Heterotrof dengan penambahan Katalis di H1 dengan konsentrasi 60 mg/L sebesar 30,49%. Disusul oleh H1 dengan konsentrasi 80 mg/L sebesar 27,32% dan ketiga terbesar adalah 26,12% pada H3 di konsentrasi 20 mg/L. Visualisasi Tabel Perhitungan Efisiensi Penyisihan Amonium dapat dilihat pada Gambar 4.2 hingga 4.5 sebagai berikut.



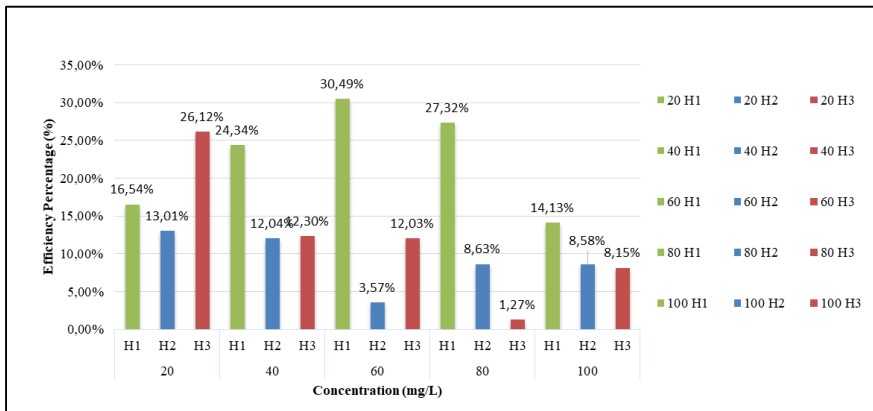
Gambar 4.2 Efisiensi Proses Nitrifikasi Autotrof



Gambar 4.3 Efisiensi Proses Nitrifikasi Heterotrof



Gambar 4.4 Efisiensi Proses Nitrifikasi Autotrof dengan Penambahan Katalis



Gambar 4.5 Efisiensi Proses Nitrifikasi Heterotrof dengan Penambahan Katalis

Berdasarkan hasil efisiensi proses nitrifikasi diatas dapat diketahui bahwa nilai terbesar didapatkan oleh sumber karbon heterotrof dengan penambahan katalis. Hal ini sesuai dengan penelitian Agustiyani (2004) bahwa aktivitas oksidasi

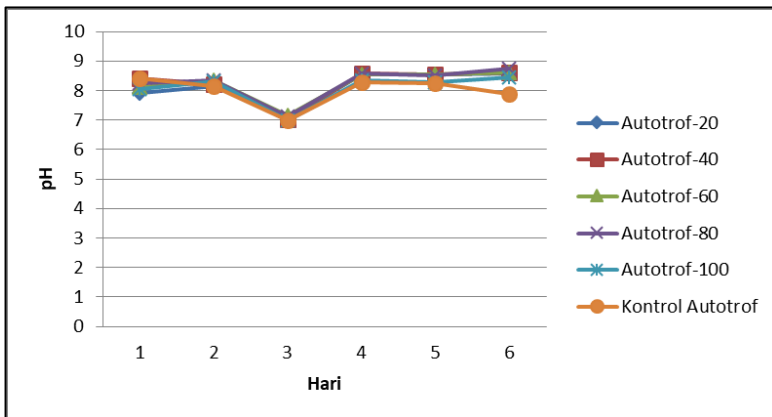
amoniam menjadi nitrit lebih tinggi di media yang mengandung karbon organik asetat atau bersifat heterotrofik karena bakteri mampu memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber karbonnya. Sejalan dengan pendapat Agustiyani (2004), Jenie dan Rahayu (1993) menyatakan bahwa selain bakteri nitrifikasi autotrof, juga terdapat bakteri heterotrof yang selain mampu menggunakan senyawa organik, juga mampu memanfaatkan nitrogen anorganik, misalnya amonia, sebagai donor elektron dan sumber energi. Namun perlu diketahui, bahwa bakteri nitrifikasi heterotrofik mempunyai aktivitas yang jauh lebih rendah dibandingkan bakteri yang bersifat autotrofik (Ambarsari, 1999).

Hal ini menunjukkan bahwa sumber karbon heterotrof tanpa katalis memiliki efisiensi paling kecil efisiensinya yakni 0,85% pada H3 konsentrasi 80 mg/L dibanding dengan sumber karbon autotrof yang efisiensinya terkecil yakni 3,32% pada H2 konsentrasi 20 mg/L. Namun hasil penelitian ini memiliki nilai presentase yang relatif kecil. Hal ini diakibatkan oleh konsentrasi amonium yang terlalu besar, maka dari itu untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk memakai konsentrasi amonium yang lebih kecil. Hasil penelitian ini juga sesuai dengan Titiresmi dan Sopiah (2006) dimana besar beban organik perlu diperhitungkan dalam pengolahan dalam proses nitrifikasi karena akan berpengaruh terhadap keasaman lingkungan yang akan memberikan kontribusi terhadap kinerja bakteri nitrifikasi.

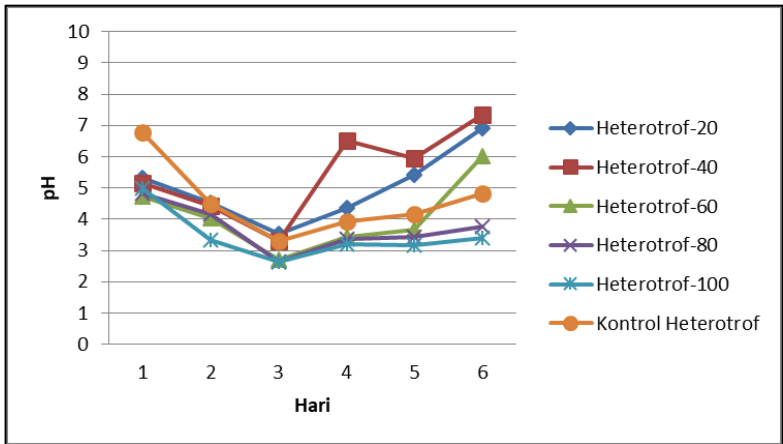
Berdasarkan hasil efisiensi proses nitrifikasi di atas, dapat diketahui bahwa pada efisiensi H1 hingga H3 memiliki hasil yang fluktuatif. Hal ini sesuai dengan penelitian Agustiyani (2010) yang menyatakan bahwa secara umum terjadi penurunan konsentrasi nitrit yang diikuti dengan kenaikan konsentrasi nitrat dan amonium. Namun kondisi tersebut diakibatkan adanya pola reaksi perubahan nitrit. Penurunan nitrit pada fase ini disebabkan oleh reaksi reduksi nitrit menjadi amonium. Reaksi reduksi nitrit menjadi amonium terjadi pada masa pertumbuhan sel bakteri. Pada masa pertumbuhan, bakteri nitrifikasi mereduksi nitrit menjadi amonium untuk digunakan dalam sintesis biomasa.

Menurut Gottschalk (1986), mikroorganismen 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).

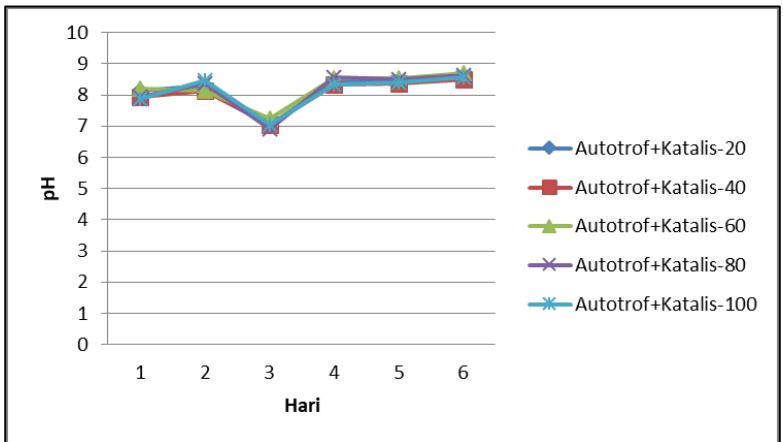
Pada Gambar 4.2 hingga 4.5 dapat dilihat bahwa sumber karbon autotrof tanpa katalis menunjukkan hasil efisiensi sebesar 12,72%. Sedangkan untuk heterotrof tanpa katalis menunjukkan hasil efisiensi sebesar 9,79%. Hal ini menunjukkan perkembangan bakteri autotrof lebih baik daripada bakteri heterotrof. Sejalan dengan Ambar Sari (1999) yang menyatakan bahwa bakteri nitrifikasi heterotrofik mempunyai aktivitas yang jauh lebih rendah dibandingkan bakteri yang bersifat autotrofik. Namun jika kondisi seperti ini dapat dihubungkan dengan derajat keasaman (pH) yang merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan aktivitas bakteri pengoksidasi amonia (Esoy *et al.*, 1998). Hasil uji parameter pH dapat dilihat pada Gambar 4.6-4.9 berikut.



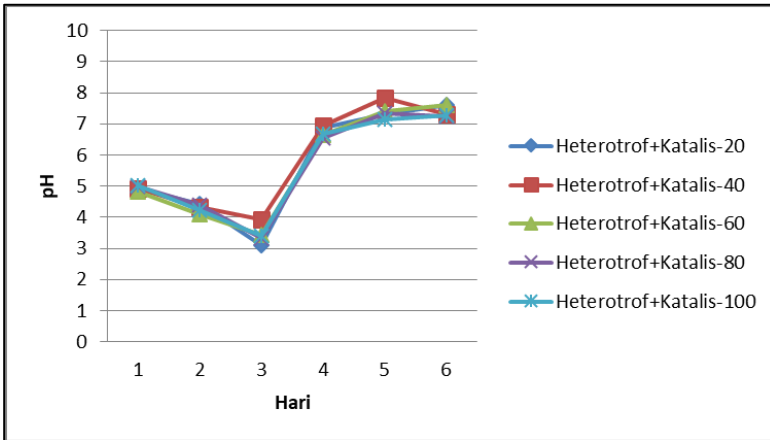
Gambar 4.6 Hasil Uji Parameter pH Autotrof



Gambar 4.7 Hasil Uji Parameter pH Heterotrof



Gambar 4.8 Hasil Uji Parameter pH Autotrof dengan Katalis



Gambar 4.9 Hasil Uji Parameter pH Heterotrof dengan Katalis

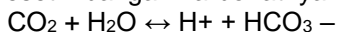
Berdasarkan hasil dari uji parameter pH diatas dapat diketahui bahwa cenderung terjadi penurunan pH pada hari ke-1 hingga hari ke-3. Pada penurunan ini terlihat signifikan untuk sumber karbon heterotrof hingga mencapai pH 2,65. Hal ini disebabkan karena pada tahap hidrolisis terjadi kondisi pembentukan metana atau asidifikasi yang menyebabkan bakteri mengkasikan asam. Setelah hari ke-3 terjadi kenaikan untuk autotrof dan heterotrof, namun terlihat lebih konstan untuk sumber karbon autotrof karena sumber karbon autotrof memiliki pH yang berkisar antara 7,0 – 8,5.

Hal serupa berhubungan dengan Ratledge (1994) yang menyatakan bahwa derajat keasaman (pH) optimum untuk pertumbuhan bakteri pengoksidasi amonia yang bersifat autotrofik berkisar dari 7,5 sampai 8,5. Sedangkan pada sumber karbon heterotrof memiliki pH yang berkisar antara 3,0 – 7,5. Bakteri yang bersifat heterotrofik lebih toleran pada lingkungan asam, dan tumbuh lebih cepat dengan hasil yang lebih tinggi pada kondisi dengan konsentrasi DO rendah (Zhao *et al.*, 1999).

Hal ini dapat ditunjukkan bahwa jumlah sel bakteri meningkat sejalan dengan meningkatnya pH pada H2 dan H3 atau dimulai pada hari ke 4 penelitian berlangsung. Menurut Agustiyani (2004) Hal tersebut dapat dikarenakan bahwa jumlah sel bakteri telah mencapai nilai optimal pada pH 7-8. Pada pH 8, pertumbuhan sel bakteri untuk heterotrof sangat baik. Seperti pada umumnya bakteri nitrifikasi, bakteri pengoksidasi amonia lebih menyukai lingkungan yang basa dengan tingkat pH optimal untuk pertumbuhan berkisar antara 7,5 sampai 8,5 (Imas *et al.*, 1989 dan Ambarsari, 1999).

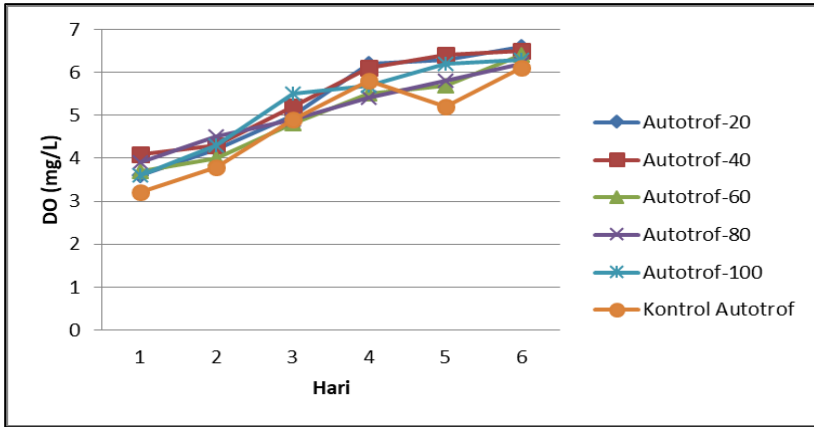
Sedangkan pada pH 5 kebawah, pertumbuhan maupun aktivitas oksidasi amonium oleh bakteri heterotrof menurun, hal ini menunjukkan terjadinya penghambatan. Hal ini terjadi pada pH di H2 atau di Hari ke 3 dan 4. Pada pH yang rendah, membran sel menjadi jenuh oleh ion hidrogen sehingga membatasi transport membran. Keracunan yang terjadi pada pH rendah adalah karena sebagian substansi asam yang tidak terurai meresap ke dalam sel, sehingga terjadi ionisasi dan pH sel berubah. Perubahan ini menyebabkan proses pengiriman asam-asam amino dari RNA terhambat sehingga menghambat pertumbuhan dan bahkan dapat membunuh mikroba. (Agustiyani, 2004).

Secara umum nilai pH cenderung menurun seiring dengan bertambahnya waktu pemeliharaan. Nilai pH selama masa pemeliharaan dipengaruhi oleh 3 hal, yaitu CO₂ dalam media pemeliharaan, penambahan molase serta keberadaan bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi. Penurunan tersebut salah satu penyebabnya adalah adanya proses respirasi yang dilakukan oleh udang yang menghasilkan CO₂. Adanya CO₂ dalam air akan menggeser kesetimbangan karbonat ke arah kanan sehingga akan menurunkan nilai pH. Berikut merupakan reaksi kesetimbangan karbonatnya:

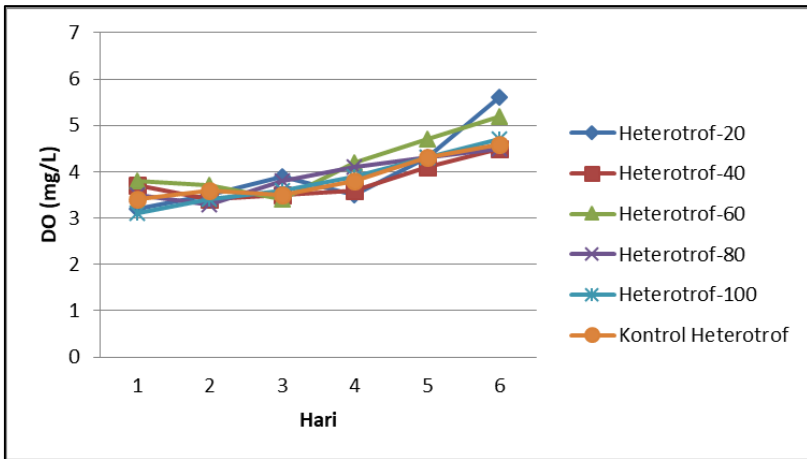


Ketika terdapat CO₂ maka reaksi kesetimbangan akan bergeser ke kanan sehingga terbentuk ion H⁺ yang akan menyebabkan pH perairan menurun.

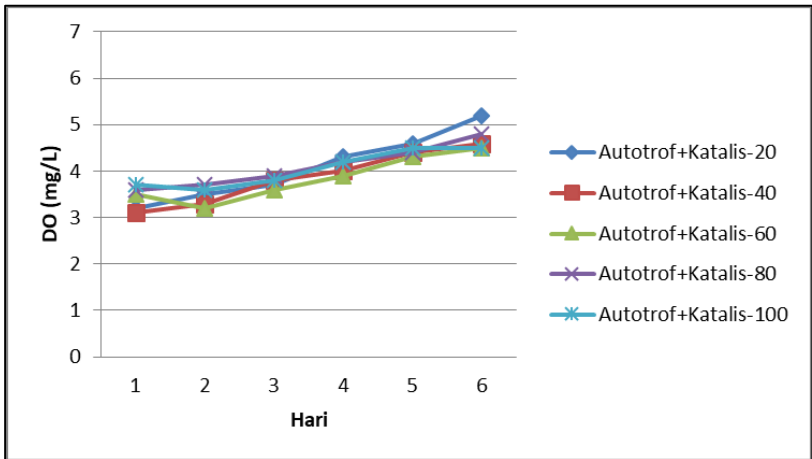
Pada penelitian ini dilakukan uji parameter *Dissolve Oxygen* (DO). Hasil uji DO dapat dilihat pada Gambar 4.10 – 4.13 sebagai berikut.



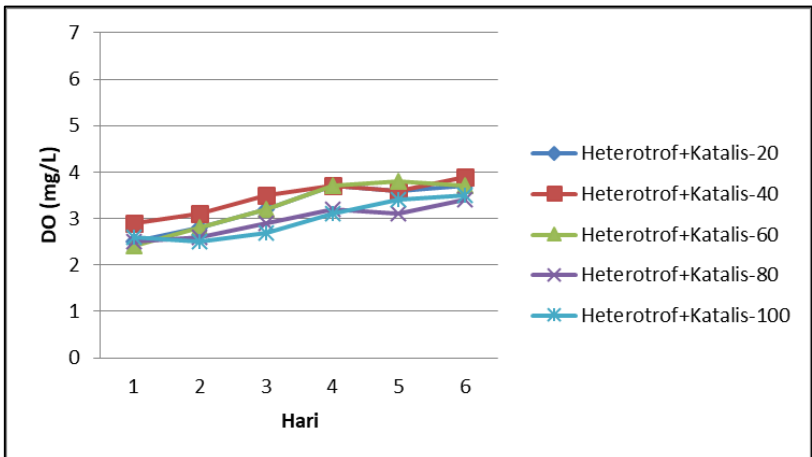
Gambar 4.10 Hasil Uji Parameter DO Autotrof



Gambar 4.11 Hasil Uji Parameter DO Heterotrof



Gambar 4.12 Hasil Uji Parameter DO Autotrof Katalis

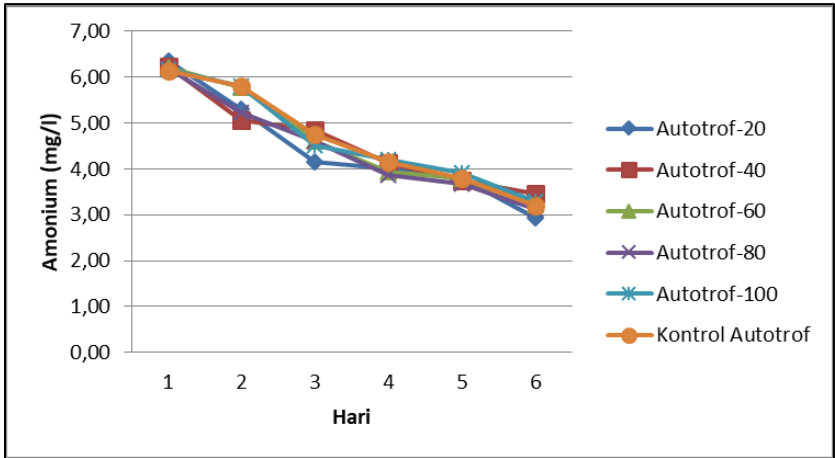


Gambar 4.13 Hasil Uji Parameter DO Heterotrof Katalis

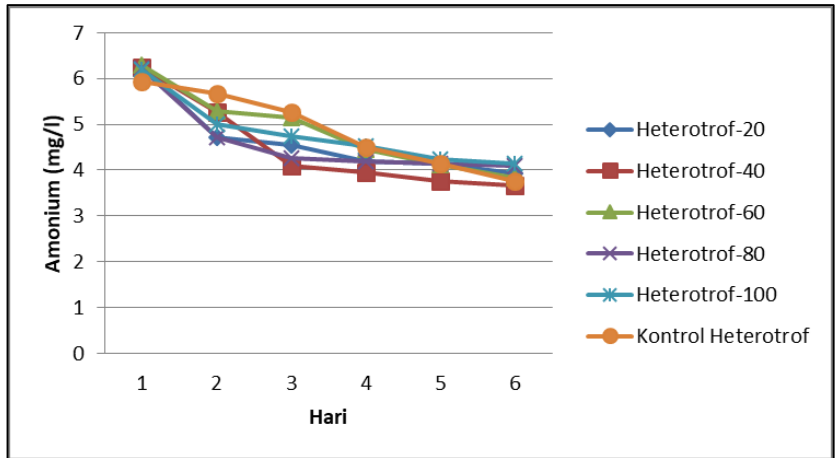
Berdasarkan Gambar 4.10-4.13 menunjukkan bahwa nilai oksigen terlarut semakin naik semakin harinya. Hasil pengukuran total DO diatas juga menunjukkan nilai kisaran DO 3,1 – 6,6 mg/L. Hasil uji DO dari penelitian ini, sesuai dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa total DO dijaga agar selalu lebih dari 1 mg/L agar proses nitrifikasi berjalan dengan baik (Wahyu 2010). Sejalan dengan penelitian Wahyu (2010), Ripple (2003) juga menyatakan bahwa bakteri nitrifikasi membutuhkan 4.6 mg/l oksigen untuk dapat mengoksidasi 1 mg amonia dan untuk dapat bekerja bakteri nitrifikasi membutuhkan DO minimal 2 mg/l.

Kekurangan oksigen dapat membahayakan hewan air karena bisa menyebabkan stress, mudah tertular penyakit, menghambat pertumbuhan bahkan dapat menyebabkan kematian sehingga dapat menurunkan produktifitasnya (Kordi dan Tacung, 2007). Atas dasar itulah perlu dilakukan usaha penyegaran kembali air atau aerasi dengan menggunakan aerator.

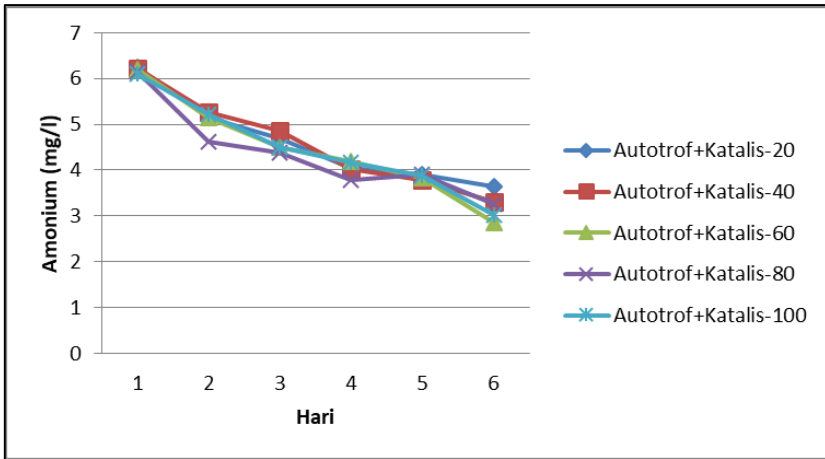
Kandungan oksigen terlarut (DO) di dalam perairan sangat dibutuhkan untuk proses respirasi, baik oleh tanaman air, ikan, maupun organisme lain yang hidup di dalam air (Supratno dan Kasnadi, 2003). Bakteri autotrof dan heterotrof menggunakan oksigen dalam proses pemanfaatan amonia. Bakteri heterotrof adalah bakteri yang mengkonsumsi oksigen dalam proses perubahan amonia dengan produk akhir biomassa sel. Sedangkan bakteri autotrof nitrifikasi mengkonsumsi oksigen dan karbondioksida pada saat oksidasi amonia dengan produk akhirnya nitrat. (Moriarty, 1996). Selain itu terdapat hasil uji parameter amonium pada Gambar 4.14-4.17 sebagai berikut.



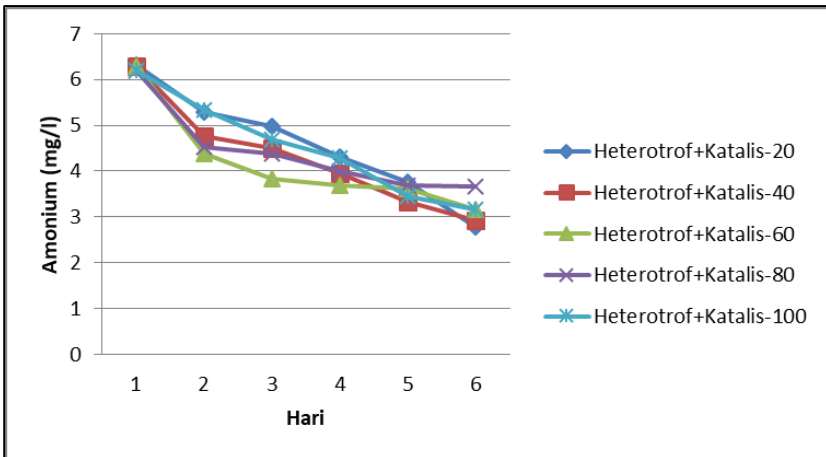
Gambar 4.14 Hasil Uji Parameter Amonium Autotrof



Gambar 4.15 Hasil Uji Parameter Amonium Heterotrof



Gambar 4.16 Hasil Uji Parameter Amonium Autotrof dengan Katalis



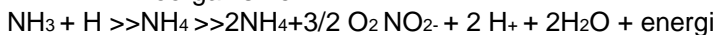
Gambar 4.17 Hasil Uji Parameter Amonium Heterotrof dengan Katalis

Berdasarkan hasil uji parameter amonium diatas menunjukkan bahwa pada konsentrasi amonium 20 – 100 mg/L secara keseluruhan cenderung mengalami penurunan. Pada Gambar 4.14-4.17 menunjukkan bahwa pada sumber karbon autotrof dan autotrof dengan penambahan katalis memiliki nilai penurunan yang hampir seragam, namun untuk sumber karbon heterotrof dan heterotrof dengan penambahan katalis memiliki nilai penurunan yang lebih beragam terutama pada hari pengujian ke-2 hingga ke-4.

Hasil konsentrasi yang didapatkan yakni 2,94-6,35 mg/L untuk autotrof, sedangkan 3,66-6,29 mg/L untuk autotrof dengan penambahan katalis. Sedangkan hasil konsentrasi amonium untuk heterotrof yaitu 2,86-6,25 mg/L dan 2,79-6,33 mg/L untuk heterotrof dengan penambahan katalis. Penurunan konsentrasi amonium menunjukkan kemampuan bakteri nitrifikasi dalam menguraikan amonium masih tinggi dan kemungkinan masih dapat ditingkatkan. Penurunan tersebut diikuti dengan terbentuknya senyawa nitrit dan nitrat. Adanya kedua senyawa itu di dalam reaktor menunjukkan adanya aktivitas mikrob nitrifikasi.

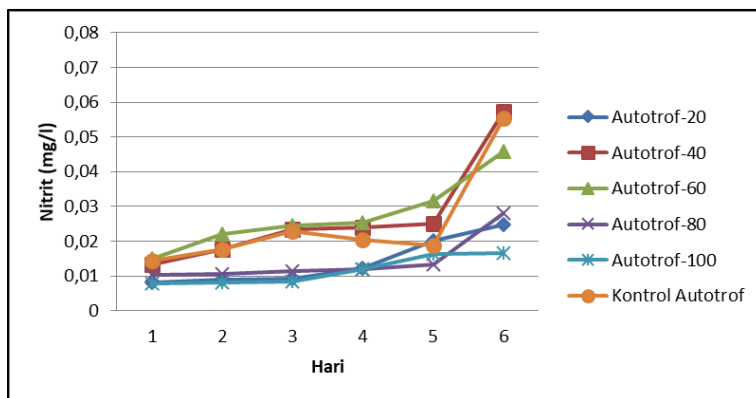
Hubungan yang terbentuk antara beban pencemar dengan efisiensi penurunan disebabkan terkait dari hasil proses amonifikasi dan asimilasi. Menurut Hibban *et al.* (2016), senyawa N-organik dapat berubah bentuk menjadi senyawa amonium, sehingga dengan bertambahnya konsentrasi N-organik yang menjadi amonium maka konsentrasi beban amonium akan semakin tinggi dan hal ini meyebabkan efisiensi penurunan amonium semakin turun. Menurut Brune *et al.* (2003), penurunan kadar amoniak terjadi karena adanya pemanfaatan amonia oleh proses heterotrofik biosintesis bakteri yang menghasilkan biomassa bakteri dan proses kemoautotrofik nitrifikasi yang menghasilkan senyawa nitrit yang selanjutnya diubah menjadi nitrat. Selain itu menurut Higa dan Parr (1994) dalam Trisna *et al.* (2013), bakteri fotosintetik juga menggunakan amoniak untuk proses dekomposisi bahan organik dan pertumbuhannya. Reaksi yang terjadi yaitu (Fikri, 2013):

Mikroorganisme

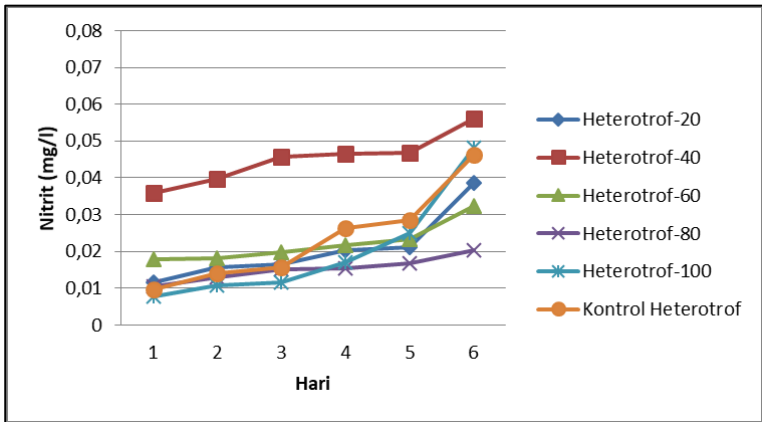


Penambahan karbon dalam media budidaya merupakan cara yang paling efektif menurunkan nitrogen anorganik (Avnimelech, 2009). Penambahan karbon organik pada kolam akan merangsang pertumbuhan bakteri heterotrof. Bakteri heterotrof membutuhkan sumber nitrogen anorganik untuk pertumbuhan dan pembelahan sel. Nitrogen anorganik yang dibutuhkan oleh bakteri terutama dalam bentuk amonium (NH_4^+). Penambahan sumber karbon terbukti mampu menurunkan Total Amonium Nitrogen (TAN) dalam beberapa jam (Avnimelech, 2009) serta mampu menekan TAN dalam media kultur meskipun tanpa melakukan ganti air Supono *et al.*, 2014). Avnimelech (2009) membuktikan bahwa penambahan sumber karbon dapat menurunkan kandungan TAN dari 7 mg/l menjadi 1 mg/l dalam waktu 30 menit. Bakteri heterotrof mengalami pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan bakteri autotrof (nitrifier). Bakteri heterotrof membutuhkan waktu 30 menit untuk tumbuh, sedangkan bakteri nitrifikasi membutuhkan waktu 12 jam (Davies, 2005).

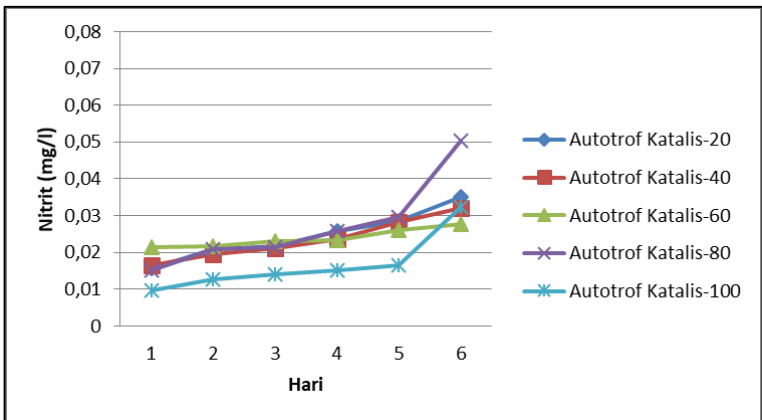
Berdasarkan hasil uji amonium diatas, efisiensi penurunan konsentrasi amonium sejalan dengan peningkatan konsentrasi nitrit dan nitrat. Berikut adalah hasil uji parameter Nitrit pada Gambar 4.18 - 4.21 sebagai berikut.



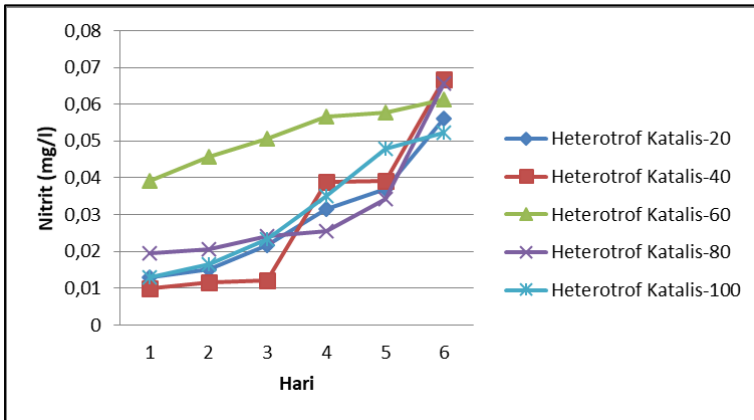
Gambar 4.18 Hasil Uji Parameter Nitrit Autotrof



Gambar 4.19 Hasil Uji Parameter Nitrit Heterotrof



Gambar 4.20 Hasil Uji Parameter Nitrit Autotrof Katalis



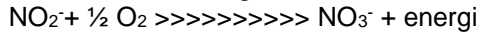
Gambar 4.21 Hasil Uji Parameter Nitrit Heterotrof Katalis

Berdasarkan hasil uji parameter nitrit pada Gambar 4.18-4.21 menunjukkan nilai yang secara keseluruhan terjadi kenaikan. Hasil penelitian kadar nitrit yang didapat yaitu sebesar 0,022 – 0,057 mg/L untuk autotrof, 0,010 – 0,050 mg/L untuk heterotrof, 0,008 – 0,056 mg/L untuk autotrof dengan katalis, dan 0,010 – 0,066 mg/L untuk heterotrof dengan katalis. Rendahnya kadar nitrit yang dihasilkan diduga karena jumlah kadar amonium yang dapat diubah menjadi nitrit juga sangat sedikit.

Berdasarkan konsentrasi nitrit menunjukkan nilai lebih kecil dibandingkan dengan nitrat dan amoniak. Hal ini dikarenakan oleh senyawa nitrit bersifat tidak stabil, sehingga belum teroksidasi secara sempurna. Oleh sebab itu, kandungan oksigen terlarut sangat penting untuk menghilangkan senyawa nitrit, dimana dengan adanya oksigen yang cukup maka nitrit akan tereduksi menjadi nitrat melalui proses nitrifikasi. Proses reduksi nitrit akan menghasilkan nitrogen bebas (N_2) di udara.

Menurut Effendi (2003), nitrit biasanya ditemukan dalam jumlah yang sedikit, kadarnya lebih kecil daripada nitrat karena nitrit tidak stabil jika tidak terdapat oksigen. Reaksi proses nitrifikasi nitrit ke nitrat sebagai berikut.

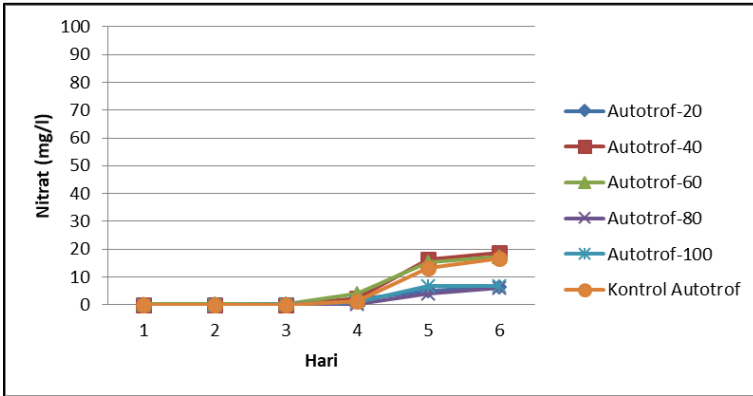
Mikroorganisme



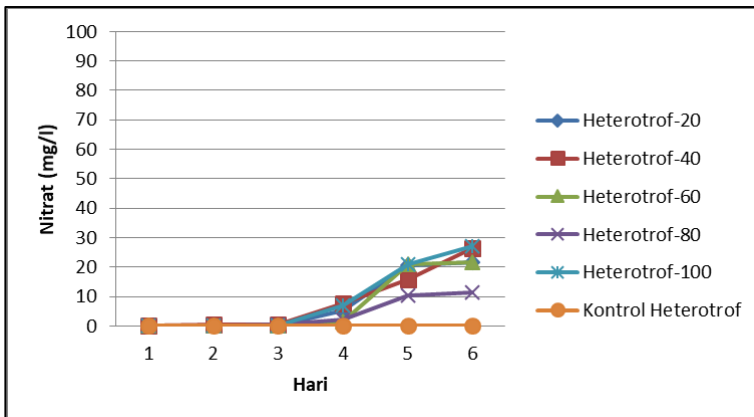
Nitrit merupakan senyawaan intermediet antara amonia dan nitrat yang pembentukannya sangatlah dipengaruhi oleh kandungan DO di perairan. Pada konsentrasi DO yang tinggi pembentukan nitrit akan berlangsung lebih cepat, sebagaimana disajikan pada Gambar 4.18-4.21. Konsentrasi nitrit pada perlakuan yang mengandung DO lebih besar cenderung menghasilkan puncak grafik yang lebih tinggi. Dengan demikian, sifat toksik yang timbul dari penguraian bahan N-organik tersebut terutama berasal dari tingginya konsentrasi ammonium yang terakumulasi.

Pada Gambar 4.18-4.21 juga menunjukkan bahwa terjadi adanya penurunan nitrit pada setiap kondisi autotrof dan heterotrof, walaupun penurunan tersebut tidak terlalu besar, namun penurunan tersebut mengindikasikan terjadinya proses oksidasi dalam pembentukan nitrat. Apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan bakteri, perubahan nitrit menjadi nitrat sudah memasuki fase stasioner sampai kematian (Agustiyani, 2010). Pada sumber karbon autotrof dan autotrof dengan penambahan katalis terlihat memiliki nilai konsentrasi yang hampir seragam, sedangkan heterotrof dan heterotrof dengan penambahan katalis memiliki nilai yang tidak seragam. Menurut Verstraete dan 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 terjadi pada fase stasioner hingga kematian.

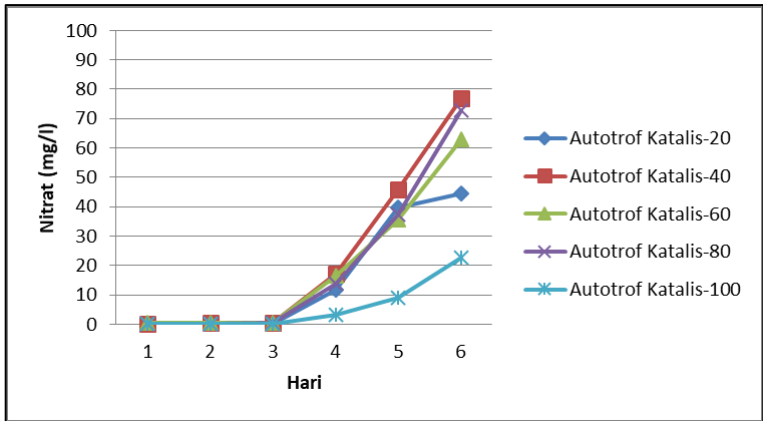
Hasil akhir proses nitrifikasi adalah terbentuknya nitrat. Senyawa N-anorganik ini relatif tidak bersifat racun dibanding dengan amonia dan nitrit. Sebagai hasil akhir dari proses nitrifikasi seharusnya konsentrasi nitrat menjadi bertambah, sebagaimana disajikan pada Gambar 4.22-4.25 sebagai berikut.



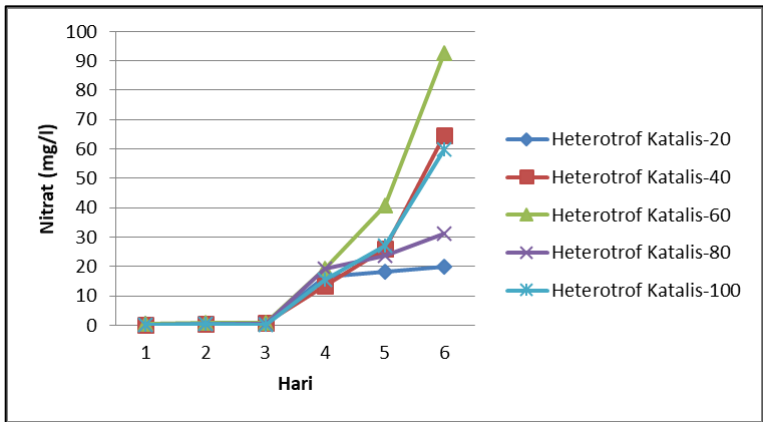
Gambar 4.22 Hasil Uji Parameter Nitrat Autotrof



Gambar 4.23 Hasil Uji Parameter Nitrat Heterotrof



Gambar 4.24 Hasil Uji Parameter Nitrat Autotrof Katalis



Gambar 4.25 Hasil Uji Parameter Nitrat Heterotrof Katalis

Berdasarkan hasil uji parameter nitrat diatas menunjukkan bahwa konsentrasi pada autotrof berkisar antara 0,01-18,83 mg/L sedangkan untuk heterotrof sebesar 0,08-76,83 mg/L. Kemudian konsentrasi nitrat untuk autotrof dengan katalis sebesar 0,01-40,17 mg/L dan untuk heterotrof dengan

katalis sebesar 0,14-92,50 mg/L. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa semakin hari atau semakin meningkatnya konsentrasi amonium yang ditambahkan, maka akan meningkatkan konsentrasi nitrat pada reaktor nitrifikasi. Hasil uji tersebut juga menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi nitrat pada proses nitrifikasi untuk sumber karbon autotrof dan heterotrof tanpa katalis cenderung lebih lama dan lebih kecil dibandingkan dengan adanya penambahan katalis. Hal ini diakibatkan karena katalis tersebut berpengaruh untuk mempercepat reaksi dari oksidasi nitrit menjadi nitrat.

Pada Gambar 4.22-4.25 diatas juga menunjukkan bahwa nilai konsentrasi nitrat pada autotrof dan heterotrof tanpa penambahan katalis relatif lebih kecil dibanding dengan adanya penambahan katalis. Pada penelitian hari ke-1 sampai ke-3 menunjukkan bahwa kandungan nitrat cenderung rendah dan stabil hal ini dikarenakan bakteri *Nitrosomonas* masih melakukan aktivitas pengoksidasian amonium menjadi nitrit dan bakteri *Nitrobacter* belum mengoksidasi nitrit menjadi nitrat, sehingga kandungan nitrat masih tidak terdeteksi.

Namun setelah hari ke-3 sudah terlihat kenaikan konsentrasi nitrat dengan secara signifikan. Sesuai dengan penelitian Agustiyani (2010) yang menunjukkan bahwa apabila dihubungkan dengan kurva pertumbuhan bakteri, reaksi oksidasi nitrit menjadi nitrat terjadi ketika bakteri berada pada fase stasioner. Proses nitrifikasi mengoksidasi amonium menjadi nitrit kemudian menjadi nitrat, sehingga semakin tinggi konsentrasi amonium yang ditambahkan akan meningkatkan konsentrasi nitrat yang terbentuk. (Widayat, 2010).

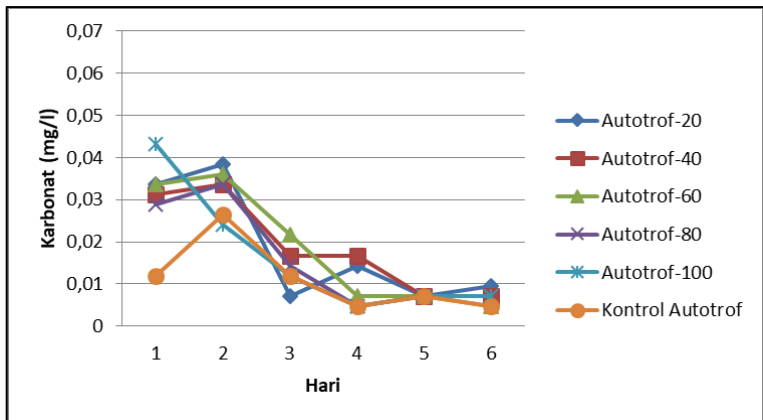
Menurut Wckenfelder and Musterman (1995) dalam Setiyawan dan Hari (2010), denitrifikasi sebagai penggunaan ion nitrat atau nitrit oleh mikroorganisme anaerob fakultatif untuk mendegradasi BOD. Meskipun denitrifikasi sering dikombinasikan dengan aerob untuk menyisihkan variasi komponen nitrogen termasuk nitrat dari limbah, namun denitrifikasi berlangsung ketika kondisi anoksik.

Mikroorganisme

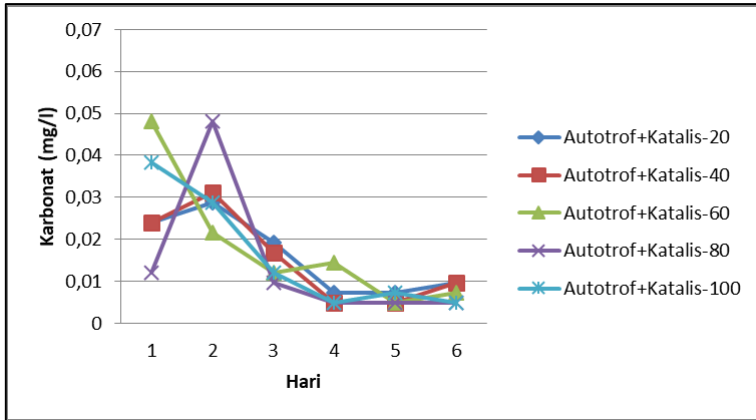


Proses tersebut adalah proses pernafasan anaerobik yang dalam hal ini NO_3^- berlaku sebagai penerima elektron. Nitrat direduksi menjadi Nitrous Oxide (N_2O) dan gas nitrogen (N_2) yang menguap di udara. Mikroorganisme yang terlibat dalam denitrifikasi adalah aerobik autotroph atau heterotrofik yang dapat berubah menjadi anaerobik pada saat nitrat dipergunakan sebagai penerima elektron (Herlambang dan Marsidi, 2003). Senyawa amoniak diubah menjadi nitrit dan nitrat oleh mikroorganisme melalui proses nitrifikasi. Kemudian senyawa nitrat tersebut diserap langsung oleh tumbuhan air untuk pertumbuhannya. Senyawa nitrat yang dihasilkan dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk proses denitrifikasi menjadi Nitrogen dan dilepas ke udara.

Penelitian ini juga menguji parameter karbonat untuk mengetahui kandungan karbon dioksida yang dihasilkan oleh bakteri nitrifikasi selama proses nitrifikasi di dalam reaktor. Hasil uji parameter karbonat dapat dilihat pada Gambar 4.26 dan 4.27 sebagai berikut.



Gambar 4.26 Hasil Uji Parameter Karbonat Autotrof



Gambar 4.27 Hasil Uji Parameter Karbonat Autotrof Katalis

Berdasarkan Gambar 4.26 dan 4.27 diatas, dapat dilihat bahwa kandungan karbon dioksida dalam bentuk ion karbonat terbentuk oleh bakteri nitrifikasi. Hasil konsentrasi yang terkandung pada penelitian hari ke-1 hingga hari ke-2 mengalami kenaikan yang signifikan. Hal ini disebabkan karena bakteri *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* dalam kondisi autotrof mengalami aktivitas dan perkembangan yang baik dalam mendegradasi amonium sehingga bakteri nitrifikasi tersebut juga melakukan respirasi dan menghasilkan karbon dioksida dalam reaktor.

Namun pada hari ke-3 hingga akhir penelitian yaitu hari ke-6 mengalami penurunan terus menerus. Hal ini diduga karena semakin hari sirkulasi air berjalan dengan baik akibat proses aerasi yang terdapat dalam reaktor. Kondisi ini yang membuat kandungan karbon dioksida terutama ion karbonat menjadi sedikit. Pada hasil uji parameter karbonat dapat dilihat bahwa autotrof dengan autotrof dengan penambahan katalis memiliki konsentrasi paling rendah yaitu 0,005 mg/L sedangkan untuk nilai konsentrasi tertinggi autotrof adalah 0,043 mg/L dan autotrof dengan penambahan katalis yaitu 0,055 mg/L.

Perbedaan kandungan karbonat tersebut dikarenakan adanya penambahan katalis yang berpengaruh terhadap perkembangan bakteri yang lebih cepat sehingga aktivitas bakteri termasuk respirasi dan membuat kandungan ion karbonat menjadi semakin banyak. Kadar karbondioksida (CO₂) yang baik bagi organisme perairan yaitu kurang lebih 15 mg/l. Jika lebih dari itu sangat membahayakan karena menghambat pengikatan oksigen (O₂). Lebih lanjut dikatakan kadar karbondioksida yang berlebih dapat diatasi dengan melakukan penggantian air secara rutin, mengurangi pertumbuhan ganggang yang terlalu lebat dan peningkatan peranan kincir air atau aerator. (Octasari *et al.*, 2018)

4.3 Analisis Data dengan *analysis of variance* (ANOVA)

Hasil pengukuran setiap parameter ditampilkan secara grafis untuk melihat dinamika dari setiap parameter. Nilai pengukuran parameter pada akhir penelitian diuji dengan *analysis of variance* (ANOVA) satu arah untuk melihat perbedaan antara autotrof dan heterotrof dengan dan tanpa katalis Fe. Hasil analisis data dengan ANOVA terdapat pada Tabel 4.2 – 4.5 sebagai berikut.

Tabel 4.2 Hasil Analisis ANOVA untuk Autotrof

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	4	0,23	0,06	0,04	0,996
Error	25	31,83	1,27		
Total	29	32,06			

S= 1,128 R-Sq= 0,71% R-Sq(adj)= 0,00%

Keterangan: F table = 0,229

Kesimpulan: F hitung < F table = tidak berbeda nyata pada taraf 5% tidak terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada nilai autotrof

Tabel 4.3 Hasil Analisis ANOVA untuk Heterotrof

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	4	0,529	0,132	0,17	0,951
Error	25	19,245	0,770		
Total	29	19,775			

S= 0,8774 R-Sq= 2,68% R-Sq(adj)= 0,00%

Keterangan: F table = 0,229

Kesimpulan: F hitung < F table = tidak berbeda nyata pada taraf 5% tidak terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada nilai heterotrof

Tabel 4.4 Hasil Analisis ANOVA untuk Autotrof dengan Katalis

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	4	0,26	0,06	0,06	0,993
Error	25	27,83	1,11		
Total	29	28,09			

S= 1,128 R-Sq= 0,71% R-Sq(adj)= 0,00%

Keterangan: F table = 0,229

Kesimpulan: F hitung < F table = tidak berbeda nyata pada taraf 5% tidak terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada nilai autotrof dengan katalis

Tabel 4.3 Hasil Analisis ANOVA untuk Heterotrof dengan Katalis

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	4	0,68	0,17	0,13	0,969
Error	25	32,02	1,28		
Total	29	32,69			

S= 1,132 R-Sq= 2,07% R-Sq(adj)= 0,00%

Keterangan: F table = 0,229

Kesimpulan: F hitung < F table = tidak berbeda nyata pada taraf 5% tidak terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada nilai heterotrof dengan katalis

Berdasarkan Tabel 4.2-4.5, dapat diketahuui bahwa nilai koefisien determinasi atau R Square untuk autotrof adalah

sebesar 0,71%, untuk heterotrof adalah 2,68%, untuk autotrof dengan katalis adalah 0,71% dan untuk heterotrof dengan katalis adalah 2,07%. Angka tersebut mengandung arti bahwa variabel heterotrof berpengaruh dan memiliki nilai tertinggi yakni 2,68%. Kemudian nilai tertinggi kedua dimiliki oleh heterotrof dengan katalis sebanyak 2,07%.

Dari penelitian ini diketahui bahwa dalam mengoksidasi amonia memperlihatkan pertumbuhan dan aktivitas yang jauh lebih baik pada media yang mengandung asetat. Fakta ini menunjukkan bahwa bakteri nitrifikasi adalah pengoksidasi amonia yang akan lebih efisien jika bersifat heterotrofik dan dengan penambahan katalis yang memperoleh nilai efisiensi tertinggi. Proses nitrifikasi juga dapat berjalan dengan baik apabila kondisi lingkungan yang diperlukan bakteri dapat dipenuhi dengan baik.

Dalam penelitian ini juga terdapat efek toksisitas dari kandungan amonium yang terlalu besar dan dapat mempengaruhi tumbuh kembang bakteri nitrifikasi, yang mana semakin besar konsentrasi polutan yang terkandung, maka semakin toksik pula kondisi perairan tersebut. Hal ini dikarenakan akibat mikroorganisme pengoksidasi amonium tidak dapat bekerja dengan baik, bahkan terjadi kematian pada bakteri tersebut sehingga kadar polutan tidak berkurang, karena mikroorganisme mempunyai peranan penting dalam proses dekomposisi senyawa-senyawa metabolit toksik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dihasilkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Konsentrasi maksimum larutan amonium dimana proses nitrifikasi dapat memiliki efisiensi tertinggi yakni sebesar 30,49% adalah dengan konsentrasi 60 mg/L. Disusul oleh konsentrasi 80 mg/L sebesar 27,32% dan ketiga terbesar adalah 26,12% di konsentrasi 20 mg/L. Serta efisiensi paling kecil efisiensinya yakni 0,85% pada konsentrasi 80 mg/L
2. Sumber karbon yang mendapatkan hasil penilaian efisiensi tertinggi yaitu pada sumber karbon heterotrof dengan adanya penambahan katalisator pada efisiensi hari pertama (H1) dan hari ke tiga (H3). Sedangkan pada sumber karbon heterotrof tanpa katalis juga memiliki efisiensi terkecil pada hari ke tiga (H3). Dari penelitian ini diketahui bahwa dalam mengoksidasi amonia memperlihatkan pertumbuhan dan aktivitas yang jauh lebih baik pada media yang mengandung asetat. Fakta ini menunjukkan bahwa bakteri nitrifikasi adalah pengoksidasi amonia yang akan lebih efisien jika bersifat heterotrofik dan dengan penambahan katalis.

5.2 Saran

Beberapa saran yang dapat diberikan oleh penulis setelah melakukan penelitian ini adalah dikarenakan hasil efisiensi nitrifikasi pada penelitian ini memiliki nilai yang relatif kecil. Hal ini diakibatkan oleh konsentrasi amonium yang terlalu besar, maka dari itu untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk memakai konsentrasi amonium yang lebih kecil.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiyani, D., Imamuddin, H., Faridah, E.N., Oedjijono, 2004. **Pengaruh pH dan substrat organik terhadap pertumbuhan dan aktivitas bakteri pengoksidasi amonia**. LIPI-Bogor. Biodiversitas 5 (2), 43–47.
- Agustiyani, D., Kayadoe, RM., Imamudin, Hartati. 2010. **Oksidasi Nitrit Oleh Bakteri Heterotrofik Pada Kondisi Aerobik**. Dep. Biologi, Fak. MIPA-UI. Bogor.
- Alaerts, G. Dan Santika, S.S. 1987. **Metode Penelitian Air. Usaha Nasional**. Surabaya.
- Alexander, M., 1977. **Introduction to Soil Microbiology**. 2nd edition. Toronto: John Wiley and Sons.
- Anonim. 1990. **Kumpulan SNI Bidang Pekerjaan Umum Mengenai Kualitas Air**. Jakarta: Departemen Pekerjaan Umum.
- Ambarsari, H. 1999. Karakteristik dan peran bakteri penitrifikasi dalam usaha minimisasi amonia yang terakumulasi di dalam sistem akuakultur. **Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia** 1 (2): 43-52.
- American Public Health Association (APHA). 1992. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 18th edition. Washington DC.: APHA.
- Aryani, Yanu, Sunarto dan Tertri. 2004. "Toksisitas Akut Limbah Cair Pabrik Batik CV. Giyant Santoso Surakarta dan Efek Sublethalnya terhadap Struktur Mikroanatomi Branchia dan Hepar Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* T.)". **Jurnal Bio Smart** Vol.6 No.2. ISSN: 1412-033X
- Barnes, D., and P.J. Blisse. 1980. **Biological Control of Nitrogen In Wastewater Treatment**. London. New York.

- Bitton, G. 1994. **Wastewater Microbiology**. Willey-Liss. New York.
- Boyd, C. E. 1982. **Water Quality Management for Pond fish Culture**. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. Netherlands.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., Wootton M. 1987. **Ilmu Pangan Edisi kedua**. Purnomo, H dan Adiono (penerjemah). Jakarta: UI Press. Terjemahan dari: Food Science.
- Budiyanto, Muhammad Agus Krisno. 2011. **PEMANFAATAN BAKTERI NITROBACTER SP SEBAGAI UPAYA BIODEGRADASI PENGOLAHAN AIR LIMBAH**. Program Studi Pendidikan Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Cheremisinoff, N.P., 1996. **Biotechnology for Waste and Wastewater Treatment**. Noyes Publications. Westwood. New Jersey 07675. ISBN. 0-8155-1409-3.
- D. Djokosetiyanto, A. Sunarma dan Widanarni. 2006. **PERUBAHAN AMMONIA (NH₃-N), NITRIT (NO₂-N) DAN NITRAT (NO₃-N) PADA MEDIA PEMELIHARAAN IKAN NILA MERAH (*Oreochromis sp.*) DI DALAM SISTEM RESIRKULASI**. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Bogor.
- Dlouhy, Adrienne C.; Outten, Caryn E. (2013). Banci, Lucia, ed. **Metalomics and the Cell**. Metal Ions in Life Sciences. 12. Springer. doi:10.1007/978-94-007-5561-1_8
- Doxtader, K.G., and M. Alexander. 1966. Nitrification by growing and replacement cultures of *Aspergillus*. **Canadian Journal of Microbiology** 12: 807-815.

- Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan**. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- El-Gawad, Abdul dan Aly, AM *et. al.*,(2011). "Assessment of Aquatic Environmental for Wastewater Management Quality in the Hospitals: a Case Study". **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 5(7): 474-782.
- Esoy, A., H. Odegaard and G. Bentzen. 1998. The Effect of Sulphide and Organic Matter on The Nitrification Activity In Biofilm Procces. **Water Science Technology** 37 (1): 115-122.
- Fikri, Z. 2013. **Aquatic Plant Treatment Tanaman Paku Air *Azolla pinnata* Terhadap Penurunan Kadar Amoniak pada Air Limbah Industri Tahu di Kelurahan Kekalik, Nusa Tenggara Barat**. Media Bina Ilmiah, 7 (4): 1-5.
- Gabriel, B. 1994. **Wastewater Microbiology**. New York: A John Wiley & Sons, INC.
- Gerhardt, P., R.G.E. Murray, W. A. Wood and N. R. Krieg. 1994. **Methods for General Molecular Bacteriology**. Washington DC.: American Society for Microbiology
- Gottschalk, G. 1986. **Bacterial metabolism**. 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
- Grady, C.P.L., and H.C. Lim. 1980. **Biological Wastewater Treatment: Theory& Application**. Marcell Dekker. Inc. New York.
- Haryanto, Tanto. 2001. **Biodegradasi Amonium Menjadi Nitrit dan Nitrat (Nitrifikasi) oleh Kultur Mikrob Campuran N-Sw**. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hibban, Muhammad., Rezagama, Arya., Purwono. 2016. "Studi Penurunan Konsentrasi Amonia Dalam Limbah Cair Domestik Dengan Teknologi Biofilter Aerobmedia

Tubular Plastik Pada Awal Pengolahan”. **Jurnal Teknik Lingkungan**, Vol 5, No.2

- Ibad, M M. 2013. **Bioremediasi Limbah Cair PT Petrokimia Gresik dengan Bakteri Inigenus**. Paper. ITS. Surabaya
- Imas, T., R.S. Hadioetomo, A.G. Gunawan, dan Y. Setiadi. 1989. **Mikrobiologi Tanah II**. Bogor: PAU IPB.
- Jenie, B.S.L. dan W.P. Rahayu. 1993. **Penanganan Limbah Cair Industri Pangan**. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Joklik, WK., HP. Willet, DB. Amos & CM. Wilfert. 1992. **Zinsser microbiology**. 20th ed. Appleton & Lange, Norwalk.
- Kiding, Agustina., Khotimah, Siti., Linda, Riza. 2015. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Nitrifikasi pada Tingkat Kematangan Tanah Gambut yang Berbeda Di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kabupaten Kubu Raya. **Protobiont (2015) Vol. 4 (1) : 17-21**
- Laanbroek, H. J., Bodelier, P. L. E. & Gerards, S. 1994. “Oxygen Consumption Kinetics of Nitrosomonas europaea and Nitrobacter hamburgensis Grown Owygen Concentrations”. **Arch. Microbiol.** 161:156-162.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 1997. **Brockbiology of microorganisms**. Ed. Ke 8. Printice-Hall. New Jersey.
- Masduqi, A. 2004. **Penurunan Senyawa Fosfat dalam Air Limbah Buatan dengan Proses Asorpsi Menggunakan Tanah Haloisit**. Majalah IPTEK. Vol 15 No 1.
- Metcalf & Eddy. 1991. **Wastewater Engineering Treatment Disposal Reuse. Third Eddition. McGraw- Hill, Inc.** New York.
- Metcalf and Eddy. 2003. **Wastewater Engineering: Treatment and Reuse**. 4th. Mc Graw Hill.Singapore.

- Moriarty, D. J. W. 1996. **Microbial Biotechnology: A Key Ingredient For Sustainable Aaquaculture**. Infofish International,
- Octasari, Z., Hasnunidah, N., & Marpaung, R. R. T. (2018). Pengembangan Buku Penuntun Praktikum Pencemaran Lingkungan dengan Model ArgumentDriven Inquiry (ADI). **Jurnal Bioterdidik: Wahana Ekspresi Ilmiah**, 6(1).
- Pranoto, SH. 2007. **Isolasi dan seleksi bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi sebagai agen bioremediasi pada media pemeliharaan udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Skripsi**. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Purwoko, T. 2007. **Fisiologi Mikroba**. Bumi Aksara. Jakarta. Hal 162.
- Ratledge, C. 1994. **Biochemistry of Microbial Degradation**. Amsterdam: Kluwer Academic Publisher.
- Respati, Ningtyas Yuniar, Yulianti, Evy dan Rakhmawati, Anna, 2017. **Optimasi Suhu dan pH Media Pertumbuhan Bakteri Pelarut Fosfat dari Isolat Bakteri Termofilik**. Jurnal Prodi Biologi, FMIPA, UNY.
- Sastrawijaya,. T. A. 2009. **Pencemaran Lingkungan**. Rineka Cipta. Jakarta
- Sedlak, R. 1991. **Phosphorus and Nitrogen Removal from Municipal Wastewater: Principles and Practice (2nd ed.)**. Boca Raton: Lewis.
- Soeripto, M. 2008. **Higiene Industri**. FKUI, Jakarta
- Spotte, S. 1979. Fish and Invertebrate Culture. **Water management in closed system**. 2nd Edition. A Willey Int. Pub. John Willey and sons, New York. 179 Hal.

- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie. 1981. **Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik**. Jakarta: PT. Gramedia
- Supratno, K. P. T. dan Kasnadi. 2003. **Peluang Usaha Budidaya Alternatif dengan Pembesaran Kerapu di Tambak Melalui Sistem Modular**. Pelatihan Budidaya Udang Windu Sistem Tertutup bagi Petani Kab.Tegal dan Jepara-Jateng 19 Mei – 8 Juni 2003, di BBPBAP. Jepara
- Suriani, Sanita. Soemarno dan Soeharjono. 2013. **Pengaruh Suhu dan Ph terhadap Laju pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Anggota Genus *Pseudomonas* yang diisolasi dari Ekosistem Sungai Tercemar Deterjen di sekitar Kampus Universitas Brawijaya**. J-PAL, Vol. 3, No. 2
- Sylvia, D.M., Furbrmann, J.J., Hartel, P.G., Zuberer, D.A., 1990. **Principles and Application of Soil Microbiology**. New Jersey: Prentice Hall, Inc.
- Titiresmi. dan Sopiah, N. 2006. **Teknologi Biofilter untuk Pengolahan Limbah Amonia**, Balai Teknologi Lingkungan- BBPT Gedung 412 Kawasan Puspiptek Serpong, 15314 7(2): 173-179.
- Trisna, D.E., A. D. Sasanti, dan Muslim. 2013. Populasi Bakteri, Kualitas Air Media Pemeliharaan dan Histologi Benih Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Diberi Pakan Berprobiotik. **Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia, 1 (1): 90-102.**
- Umam, Khoirul. 2017. **PENGARUH PENINGKATAN KONSENTRASI AMONIUM TERHADAP EFEKTIFITAS BIOFILTRASI PASIR KUARSA DALAM MENDEGRADASI POLUTAN**. Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Bogor.
- Verstraete, W. & M. Alexander. 1972. Heterotrophic nitrification by *Arthrobacter* sp. **J. Bacteriol.** 110 (3): 955-961.

- Wahyu Andriyanto, Eka, 2010 “ Uji Model Fisik Water Treatment Sederhana dengan Gravit Filtering dengan filtrasi pasir”
- Weismann, F. M. 1994. “Biological Nitrogen Removal from Wastewater” . **Adv. Biochem. Eng. Biotech.** 51:113-153
- Wielgosz, E. Jozwiakowski, K. and Bielinska, E.J. 2010. **Numbers Of Ammonifying, Nitrifying and Denitrifying Bacteria In Sewage Treated In A System Of Biological Stabilisation Ponds.** Department of Agricultural Microbiology. University of Life Sciences. Lublin. 456 Hal.
- Wirasuta, I Made Agus Gelgel dan Niruri Rasmaya. 2006. **TOKSIKOLOGI UMUM.** Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.
- Zhao, H.W., D.S. Mavinic, W.K. Oldham, and F.A. Koch. 1999. Controlling factors for simultaneous nitrification and denitrification in a two-stage intermittent aeration process treating domestic sewage. **Water Resources** 33 (4): 961-970.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN 1

TAHAPAN PERSIAPAN BAKTERI UNTUK PENELITIAN UTAMA

Larutan stock bakteri yang telah dibeli akan dikembangbiakkan terlebih dahulu sesuai dengan kebutuhan penelitian. Penelitian ini membutuhkan 3 L bakteri atau sekitar 5% kandungan bakteri yang ada di tiap reaktor.

1. Tahap pembuatan media NB dilakukan dengan menimbang bubuk NB sebanyak 24 gram.
2. Bubuk NB dilakukan dengan aquadest hingga larut dan dipindahkan ke Erlenmeyer berukuran 2 L dan 1 L.
3. Larutan NB ditutup dengan aluminium foil hingga rapat dan di autoclave dengan suhu 121°C selama 1,5 jam.
4. Setelah itu tabung erlenmeyer didinginkan hingga bersuhu ruang.
5. Kemudian larutan NB dipindahkan ke erlenmeyer berukuran 250 ml sebanyak 12 erlenmeyer. Hal ini dikarenakan 6 erlenmeyer akan digunakan untuk mengembangbiakkan bakteri *Nitrosomonas* dan sisanya untuk bakteri *Nitrobacter*.
6. Setelah semua larutan NB dipindahkan, selanjutnya larutan stock bakteri yang dibeli dipindahkan ke setiap erlenmeyer sebanyak 4 ml dengan micropipettes (Vitalab, Jerman) yang sebelumnya sudah di autoclave.
7. Kemudian larutan NB yang telah tercampur dengan bakteri di *shaker* selama 48 jam. (Agustiyani, 2008)
8. Bakteri dicampur jadi satu ke erlenmeyer berukuran 2 L dan 2 L dengan steril.
9. Diambil beberapa ml untuk dimasukkan ke tabung centrifuge setiap jenis bakteri.
10. Larutan bakteri tersebut dicentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
11. Supernatant dibuang dan Natan di bilas dengan air salin dengan micropipettes dengan perlahan.

12. Selanjutnya natan dicampur dengan air salin (NaCl 0,1N) secukupnya dan dikocok hingga homogen.
13. Dituang kedalam kuvet spektrofotometer untuk uji *optical density* (DO) yang sebelumnya telah di absorbansi dengan aquadest.
14. Diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. (Balamurugan, *et al.*, 2014)

LAMPIRAN 2

PROSEDUR ANALISIS PARAMETER

1. Analisis Amonium (Metode Spektrofotometer)

A. Pembuatan Reagen:

a. Nessler

Campur dan haluskan 50 gram serbuk HgI_2 dan 35 gram KI kemudian dilarutkan dengan 80 gram NaOH yang sudah dilarutkan dengan aquadest hingga 500 ml. Biarkan mengendap dan ambil supernatannya.

b. Garam Signet

Larutkan 50 gram K.Na.Tatrat ke dalam 500 ml aquadest, kemudian ditambahkan 5 ml larutan nessler sebagai pengawet.

c. Larutan Standar Amonium (100 ppm atau 100 mg/L)

Timbang dengan teliti 382,14 mg NH_4Cl kemudian larutkan ke dalam aquadest sebanyak 1 L di dalam labu pengencer 1 L. Ditambahkan 3 tetes toluen sebagai pengawet.

B. Kalibrasi:

Sebelum melakukan kalibrasi maka terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis amonium-nitrogen.

C. Prosedur kerja analisis:

- Disiapkan sampel yang akan dianalisis kadar amoniumnya. Diambil sampel 10 ml
- Sampel diencerkan sampai 50 ml dengan aquadest menggunakan erlenmeyer 100 ml
- Tambahkan 1 ml larutan nessler, kocok, lalu diamkan sebentar.
- Tambahkan 1,25 larutan garam signet, diamkan selama ± 10 menit.

- Baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang sesuai kalibrasi yaitu 380 nm.

2. Analisis Nitrit (Metode Spektrofotometer)

A. Pembuatan Reagen:

a. Sulfanic Acid

1 gram sulfanic acid ditambah 5 ml HCl pekat kemudian dilarutkan dalam aquadest sampai 100 ml.

b. NED dihydrochloride

100 NED dihydrochloride kemudian larutkan dalam aquadest sampai 100 ml.

B. Kalibrasi:

Sebelum melakukan kalibrasi maka terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis nitrit-nitrogen.

C. Prosedur Analisis:

- Disiapkan sampel yang akan dianalisis kadar nitritnya. Diambil sampel 10 ml
- Sampel diencerkan sampai 50 ml dengan aquadest menggunakan erlenmeyer 100 ml
- Tambahkan 0,5 ml sulfanic acid, kocok, lalu diamkan selama 2 menit.
- Tambahkan 0,5 larutan NED, diamkan selama 10 menit.
- Baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang sesuai kalibrasi yaitu 480 nm.

3. Analisis Nitrat (Metode Spektrofotometer)

A. Pembuatan Reagen:

a. Brucin Asetat 0,5%

Larutkan 0,5 gram brucine dengan 100 ml acetis acid glacial (CH_3COOH) di dalam labu pengencer 100 ml, kocok hingga larut sempurna.

b. H_2SO_4 pekat

c. Larutan Standar Nitrat (100 ppm atau 100 mg/L)

Timbang dengan teliti 721,8 mg KNO_3 kemudian larutkan ke dalam aquadest sebanyak 1 L di dalam labu pengencer 1 L.

B. Kalibrasi:

Sebelum melakukan kalibrasi maka terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk analisis nitrat-nitrogen.

C. Prosedur Analisis:

- Disiapkan sampel yang akan dianalisis kadar nitratnya. Diambil sampel 2 ml.
- Sampel diencerkan sampai 50 ml dengan aquadest menggunakan erlenmeyer 100 ml.
- Tambahkan 2 ml larutan Brucin Asetat.
- Tambahkan 4 ml larutan H_2SO_4 pekat.
- Diaduk dan didiamkan selama ± 10 menit.
- Baca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang sesuai kalibrasi yaitu 390 nm.

4. pH

Analisis pH menggunakan pH meter dengan bacaan digital. Prosedur analisis menggunakan modifikasi dari Greenberg *et al.*,(2005) sebagai berikut:

- pH meter distandarisasi menggunakan larutan buffer pH pada pH 4,7, dan 10. Standarisasi dilakukan dengan mencelupkan probe pH meter bergantian ke dalam larutan buffer dengan urutan buffer pH 4, buffer pH 7, buffer pH 10, buffer pH 7.
- Diambil sejumlah sampel dan diletakkan kedalam gelas beker.
- Dicelupkan probe pH meter ke dalam sampel yang diukur nilai pHnya
- Dibaca nilai pH sampai pada monitor pembaca.

5. DO

Analisis DO menggunakan DO meter dengan bacaan digital. Prosedur analisis sebagai berikut:

- Diambil sejumlah sampel dan diletakkan kedalam gelas beker.
- Dichelupkan probe DO meter ke dalam sampel yang diukur nilai DOnya
- Dibaca nilai DO sampai pada monitor pembaca.

6. Karbonat

Analisis Karbonat menggunakan Metode Titrasi. Prosedur analisis sebagai berikut:

- Disiapkan sampel yang akan dianalisis kadar karbonatnya. Diambil sampel 25 ml.
- Sampel diencerkan sampai 50 ml dengan aquadest menggunakan erlenmeyer 100 ml.
- Tambahkan 3 tetes Indikator Phnolphtalein (PP)
- Tambahkan 1 tetes Indikator Methyl Orange (MO) dan diamati perubahan warnanya.
- Titrasi sampel dengan larutan HCl 0,1 N hingga warna berubah pertama kali dari warna kuning ke merah muda.
- Volume dicatat dan dihitung dengan perhitungan kadar karbonat, dapat menggunakan rumus:










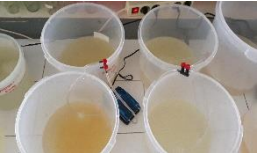
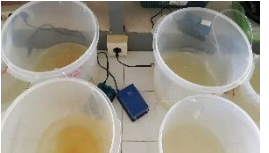

$$\text{Kadar Karbonat} = \frac{(V_1 \times N \text{ HCl} \times 6)}{V \text{ sampel}}$$


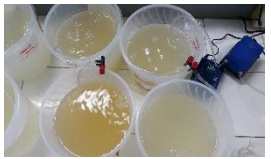

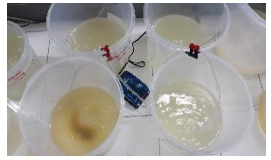
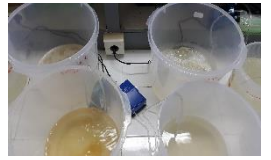
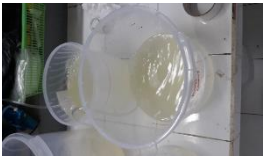
LAMPIRAN 3






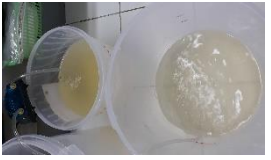
EFISIENSI BIODEGRADASI AMONIUM TERHADAP PROSES NITRIFIKASI







Konsentrasi Amonium	Hari	Auto-trof	Autotrof + Katalis	Hetero-trof	Heterotrof + Katalis
20 mg/L	H1	16,47%	17,87%	24,49%	16,54%
	H2	3,32%	13,70%	7,76%	13,01%
	H3	22,80%	6,92%	5,09%	26,12%
40 mg/L	H1	18,59%	15,37%	15,60%	24,34%
	H2	14,78%	17,20%	3,37%	12,04%
	H3	7,80%	12,71%	2,80%	12,30%
60 mg/L	H1	6,91%	16,69%	15,92%	30,49%
	H2	14,52%	7,23%	13,35%	3,57%
	H3	15,10%	25,64%	6,83%	12,03%
80 mg/L	H1	15,36%	24,78%	23,94%	27,32%
	H2	15,81%	13,44%	1,42%	8,63%
	H3	14,99%	16,54%	0,85%	1,27%
100 mg/L	H1	5,91%	17,87%	19,57%	14,13%
	H2	6,97%	13,70%	4,63%	8,58%
	H3	15,59%	22,32%	2,22%	8,15%
Kontrol	H1	5,61%	-	4,48%	-
	H2	12,42%	-	14,49%	-
	H3	16,02%	-	9,33%	-







LAMPIRAN 4
DOKUMENTASI PENELITIAN

HARI 1		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof
HARI 2		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof

HARI 3		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof

HARI 4		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof

HARI 5		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof

HARI 6		
		
20 mg/L	40 mg/L	60 mg/L
		
80 mg/L	100 mg/L	Kontrol Autotrof dan Heterotrof

BIOGRAFI PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Widyanti Nur Rochmah, lahir di Gresik pada tanggal 23 Agustus 1997. Penulis mengenyam pendidikan dasarnya pada tahun 2003-2009 di SDN Kutorejo 1 Tuban. Kemudian dilanjutkan di SMPN 3 Tuban pada tahun 2009-2012. Adapun pendidikan tingkat atas dilalui di SMA Darul 'Ulum 2 Jombang pada tahun 2012-2015. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan tinggi di Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya pada tahun 2015 dan terdaftar dengan NRP 03211540000097.

Selama masa perkuliahan, penulis berkontribusi sebagai Sekretaris dan Bendahara, Divisi Komunikasi dan Informasi, Himpunan Mahasiswa Teknik Lingkungan FTSLK ITS serta aktif dalam Ikatan Mahasiswa Teknik Lingkungan Indonesia. Selain itu penulis aktif sebagai panitia di berbagai kegiatan HMTL, BEM ITS dan IMTLI serta berpartisipasi dalam berbagai pelatihan serta seminar di bidang teknik lingkungan juga telah diikuti dalam rangka pengembangan diri. Penulis dapat dihubungi via email widyantinr@gmail.com

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



FORMULIR TUGAS AKHIR PTA-03
Formulir Ringkasan dan Saran Dosen Pembimbing
Seminar Proposal Tugas Akhir

Hari, tanggal Rabu 23-Jan-19

Nilai TOEFL 450

Pukul : 14.30-16.00 WIB

Ruang : TL 101

Judul Efek Toksisitas Zat Organik Terhadap Efisiensi Nitrifikasi

Nama Widyanti Nur Rochmah

Tanda Tangan

NRP. : 0321154000097

Topik Penelitian

No./Hal.	Ringkasan dan Saran Dosen Pembimbing Seminar Proposal Tugas Akhir
	<p>- <i>kont. pengujian pengontrol</i></p> <p>- <i>hasil BOD ref hetero trofik</i></p>

Dosen Pembimbing menyerahkan formulir PTA-03 ke Sekretariat Program Sarjana
Formulir ini harus mahasiswa dibawa saat asistensi kepada Dosen Pembimbing
Formulir dikumpulkan bersama revisi buku setelah mendapat persetujuan Dosen Pembimbing

Berdasarkan hasil evaluasi Dosen Pengarah dan Dosen Pembimbing, dinyatakan :

1. Proposal Tugas Akhir diterima
2. Seminar Tugas Akhir harus diulang
3. Proposal Tugas Akhir ditolak/ganti judul

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, M.ScES

“Halaman ini sengaja dikosongkan”



UTA-S1-TL-02 TUGAS AKHIR
Periode: Genap 2018-2019

Kode/SKS : RE141581 (0/6/0)
No. Revisi: 01

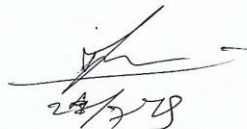
FORMULIR TUGAS AKHIR UTA-02
Formulir Ringkasan dan Saran Dosen Pembimbing
Ujian Tugas Akhir

Hari, tanggal : Rabu, 3 Juli 2019
Pukul : 09.30-11.30
Lokasi : TL 105
Judul : Efek Toksisitas Zat Organik Terhadap Efisiensi Nitrifikasi

Nilai TOEFL 450

Nama : Widyanti Nur Rochmah
NRP. : 0321154000097
Topik : Penelitian

Tanda Tangan

No./Hal.	Ringkasan dan Saran Dosen Pembimbing Ujian Tugas Akhir
	<p>- Untuk petunjuk bimbingan: - Garis Judul ↓ kolom kata x → perbedaan</p> <p> 24/7/19</p>

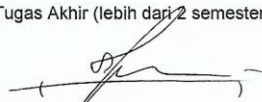
Dosen Pembimbing akan menyerahkan formulir UTA-02 ke Sekretariat Program Sarjana
Formulir ini harus dibawa mahasiswa saat asistensi kepada Dosen Pembimbing
Formulir dikumpulkan bersama revisi buku setelah mendapat persetujuan Dosen Pembimbing

Berdasarkan hasil evaluasi Dosen Penguji dan Dosen Pembimbing, dinyatakan mahasiswa tersebut:

1. Lulus Ujian Tugas Akhir
2. harus mengulang Ujian Tugas Akhir semester berikutnya
3. Tugas Akhir dinyatakan gagal atau harus mengganti Tugas Akhir (lebih dari 2 semester)

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Sarwoko Manekoedihario, MScES



“Halaman ini sengaja dikosongkan”



FORMULIR PERBAIKAN LAPORAN TUGAS AKHIR

Nama : Widyan Nur Rachman
NRP : 02111540000097
Judul Tugas Akhir : Dapt Perbedaan Zat Organik Terhadap Efisiensi Nitifikasi

No	Saran Perbaikan (sesuai Form UTA-02)	Tanggapan / Perbaikan (bila perlu, sebutkan halaman)
1.	Metabolisme senyawa anorganik apakah ada probabilitas lain? bagaimana cara mengatasinya?	Sudah ditambahkan dengan teori yang menjelaskan senyawa anorganik
2.	Bagian pemecahan ditambahkan metabolisme NH ₃ , CO ₂ , NO ₃ → NO ₂ untuk Autotrof dan Heterotrof	Sudah ditambahkan
3.	Bakteri → autotrof dan heterotrof memiliki bagian kerja dayadok parameter?	Sudah ditambahkan
4.	Konkrit → metabolisme	Sudah ditambahkan
5.	Line pada grafik	sudah diperbaiki pada hal 34 ds
6.	Desain / Rancangan Reaktor	sudah diperbaiki dengan Aschad
7.	Dj Statistik	sudah ditambahkan
8.	Gambar 4.10 - 4.13 Bantu y di per keterangan parameter dan satuan parameter.	Sudah ditambahkan

Dosen Pembimbing

Prof. Dr. h. Suman Mangestika, M.Sc.

Mahasiswa Ybs.

Widyan Nur Rachman