

# NITRIFIKASI DALAM BIODEGRADASI LIMBAH TAMBAK

(Nitrification in Biodegradation of Shrimp Culture Effluent)

**Hasan Sitorus<sup>1</sup>, Bambang Widigdo<sup>2</sup>, Bibiana W. Lay<sup>3</sup> dan Kadarwan Soewardi<sup>2</sup>**

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui laju nitrifikasi dan bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam biodegradasi limbah tambak udang. Percobaan dilakukan dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan dengan media percobaan limbah tambak biasa dan limbah tambak steril. Hasil percobaan memperlihatkan bahwa semakin tinggi kadar OSS dalam media percobaan, laju nitrifikasi semakin rendah, tetapi populasi mikroba nitrifikasi semakin tinggi. Laju nitrifikasi berkisar antara  $0.0059 - 0.0089 \text{ ppm/hari}$ , dengan laju tertinggi diperoleh pada perlakuan  $T_2$  (kadar TSS 200 ppm, OSS 147.30 ppm, amonia 0.22 ppm) dan terendah pada perlakuan  $T_0$  (kadar TSS 100 ppm, OSS 58.20 ppm, amonia 0.19 ppm). Bakteri nitrifikasi yang paling efektif membentuk nitrat dalam media percobaan adalah *Nitrococcus sp.* untuk perlakuan  $T_0$  dan  $T_1$ , *Nitrospira sp.* untuk perlakuan  $T_2$  dan  $T_3$ , dan *Nitrobacter sp.* untuk perlakuan  $T_4$  dan  $T_5$ . Dalam media limbah tambak steril, laju nitrifikasi setiap jenis bakteri berkisar antara  $0.0039 - 0.0069 \text{ ppm/hari}$  dengan tingkat efektivitas rata-rata 72.02%. Bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam biodegradasi limbah tambak udang adalah *Nitrospira marina*.

Kata Kunci: biodegradasi, limbah tambak udang, nitrifikasi.

## ABSTRACT

The research aims at measuring the nitrification rate, and to identify the most effective nitrifying bacteria in biodegradation of shrimp culture effluent. The experiment was carried out in 6 treatments with 3 replications in each. It is indicated that the level of organic suspended solid (OSS) in media had significant effect on the nitrification rate and nitrifiers population in media. Nitrification rate is between of 0.0059 to 0.0089 ppm/day, and the highest nitrification rate occur in  $T_2$  treatment (TSS 200 ppm, OSS 147.30 ppm, ammonia 0.22 ppm) and the lowest nitrification rate in  $T_0$  treatment (TSS 100 ppm, OSS 58.20 ppm, ammonia 0.19 ppm). The most effective bacteria in nitrification are *Nitrococcus sp.* for  $T_0$  and  $T_1$  treatment, *Nitrospira sp.* for  $T_2$  and  $T_3$  treatment, and *Nitrobacter sp.* for  $T_4$  and  $T_5$  treatment. The nitrification rate of each bacteria is between of 0.0039 to 0.0069 ppm/day which average efficiency is 72.02%. The most effective nitrifying bacteria in biodegradation of shrimp culture effluent is *Nitrospira marina*.

**Keywords:** biodegradation, shrimp culture effluent, nitrification.

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Sejak tahun 1995, volume ekspor udang budidaya telah mendominasi total volume ekspor udang Indonesia, karena produksi udang dari perikanan tangkap semakin menurun (DKP, 2002). Peningkatan volume ekspor ini sejalan dengan peningkatan luas tambak udang di Indonesia, baik itu tambak udang intensif, semi intensif maupun tambak tradisional. Namun di sisi lain, peningkatan luas tambak ini khususnya di daerah pantai utara Jawa telah menimbulkan masalah terhadap penurunan kualitas air pesisir

akibat beban limbah tambak yang cukup tinggi. Perairan pesisir dimana terdapat kegiatan budidaya tambak secara visual telah memperlihatkan kekeruhan yang tinggi dan dikhawatirkan akan berdampak negatif terhadap kelangsungan perikanan pesisir dan kegiatan budidaya itu sendiri. Kekeruhan ini umumnya disebabkan tingginya kadar padatan total tersuspensi (TSS) dalam air. Kadar TSS yang tinggi di perairan pesisir akan menimbulkan kekeruhan air yang dapat menimbulkan dampak negatif berupa penurunan produktivitas perairan akibat gangguan fotosintesis dalam air, mengganggu pernafasan ikan akibat penutupan insang, dan gangguan visual ikan yang menyebabkan ikan beruaya (Koesebiono, 1996).

Berdasarkan kajian Widigdo (2002), setiap hektar tambak intensif menghasilkan limbah TSS sebesar 2.46 ton per musim tanam. Se-

<sup>1</sup> Universitas Bommensen, Medan.

<sup>2</sup> Departemen Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

<sup>3</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

dangkan Menurut Boyd (2003), TSS yang berasal dari buangan tambak intensif, sekitar 92% merupakan bahan organik. Berarti, komponen terbesar TSS limbah tambak intensif tersebut adalah padatan organik tersuspensi (*organic suspended solid*). Oleh sebab itu, limbah tambak ini dipastikan akan terurai secara biologis (*biodegradable matter*) di perairan pesisir penerima limbah tersebut. Penguraian limbah organik tambak tersebut melalui aktivitas mikroba pada akhirnya akan menghasilkan nutrien seperti nitrat (Fukuda, 2000; Nagata *et al.*, 2003). Senyawa nitrat yang terlarut dalam air dapat menyeburkan perairan, sehingga meningkatkan populasi fitoplankton yang menjadi makanan alami udang budidaya (Hopkins *et al.*, 1995). Namun dalam proses penguraian bahan organik tersebut, sering terbentuk senyawa amonia dan nitrit yang berbahaya bagi kelangsungan hidup udang budidaya dan ikan di perairan pesisir. Oleh sebab itu, kadar amonia yang diperbolehkan dalam air untuk kehidupan biota laut adalah 0.3 mg/l (Kep. Men. Neg. LH, 2004). Proses oksidasi amonia menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat, atau oksidasi bahan organik secara langsung menjadi nitrat umumnya dilakukan oleh bakteri nitrifikasi, baik yang sifatnya autotrof maupun heterotrof (Sohier dan Bianchi, 1995; Nagata *et al.*, 2003). Bakteri pengoksidasi ini ada yang bersifat litotrofik obligat dan litotrofik fakultatif (Koops dan Moller, 1992; Steinmuller dan Bock, 1996).

Berdasarkan hal ini, proses oksidasi bahan organik membentuk senyawa nitrat sangat tergantung kepada kemampuan mikroba nitrifikasi yang ada di perairan pesisir. Oleh sebab itu, informasi tentang jenis bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam biodegradasi limbah tambak menjadi penting, karena dapat dikembangkan menjadi alternatif probiotik dalam perbaikan kualitas air tambak dan sekaligus sebagai upaya pengendalian pencemaran perairan pesisir.

### Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah: *pertama*, Untuk mengetahui laju nitrifikasi dalam biodegradasi limbah organik tambak; dan *kedua*, Untuk mengetahui jenis bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam biodegradasi limbah organik tambak. Sedangkan kegunaan penelitian adalah sebagai alternatif teknologi dalam perbaikan kualitas air tambak dan pengendalian pencemaran perairan pesisir.

ikan kualitas air tambak dan pengendalian pencemaran perairan pesisir.

### METODE PENELITIAN

Penelitian nitrifikasi dalam limbah tambak dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA, IPB, mulai bulan September - Oktober 2004. Bahan yang digunakan dalam percobaan nitrifikasi adalah: limbah tambak udang intensif 30 liter, air laut sebagai pengencer 30 liter, reagen untuk analisis kualitas air laut dan limbah tambak, reagen untuk pengujian mikroba, tephung agar dan nutrient untuk media pertumbuhan mikroba. Sedangkan alat yang digunakan adalah: wadah percobaan 21 buah (kapasitas 5 liter), aerator 10 unit, botol contoh 21 buah (250 ml), autoklaf, filter membran, pompa vakum, furnacer, gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes dan volumetrik, tabung ulir, cawan petri, neraca sartorius, spektrofotometer, mikroskop, inkubator, mikrogen GN-ID dan buku identifikasi bakteri.

Limbah tambak yang digunakan dalam percobaan nitrifikasi ini diambil dari 3 lokasi budidaya udang intensif di Kabupaten Serang, masing-masing 15 liter, yakni: desa Suka Jaya (Kecamatan Pontang) dengan kepadatan udang 95 000 ekor/0.5 hektar, desa Lontar (Kecamatan Tirtayasa) dengan kepadatan udang 100 000 ekor/0.5 hektar, dan desa Margagiri (Kecamatan Bojonegarra) dengan kepadatan udang 90 000 ekor/0.5 hektar. Sedangkan air laut pengencer diambil dari perairan pesisir Kabupaten Serang.

### Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan adalah sebagai berikut: *pertama*, Limbah tambak dan air laut pengencer segera diukur kadar TSS, OSS, amonia dan nitrat di laboratorium; *kedua*, Air laut pengencer sebanyak 3 liter disterilisasi dengan autoklaf untuk media perlakuan kontrol dan diukur kadar amonia dan nitrat; *ketiga*, Pengenceran limbah tambak dilakukan untuk membuat perlakuan  $T_0$  (limbah tambak diencerkan dengan air laut steril mikroba dengan kadar TSS 100 ppm), dan perlakuan  $T_1$  -  $T_5$  dengan kadar TSS dalam media percobaan: 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm; *keempat*, Kemudian ditempatkan dalam 21 wadah terbuka dengan volume total 3 liter dan diberikan aerasi dengan 10 unit aerator; *kelima*, Pengambilan contoh dimulai setelah 3 hari percobaan dilakukan untuk melihat apakah sudah terjadi proses nitrifikasi atau belum. Pengu-

kuran kadar amonia dan nitrat dilakukan sebanyak 6 kali dalam waktu 18 hari untuk mengetahui laju nitrifikasi; *keenam*, Setelah positif terjadi nitrifikasi, bakteri tersebut diisolasi dan diremajakan pada media padat MAN untuk identifikasi secara lebih detail dan untuk pengujian bakteri nitrifikasi yang paling efektif. Setelah diketahui jenis bakteri nitrifikasi yang paling efektif untuk setiap perlakuan, kemudian dilakukan kembali percobaan untuk melihat efektivitasnya membentuk senyawa nitrat dalam media steril limbah tambak yang diencerkan dengan air laut steril.

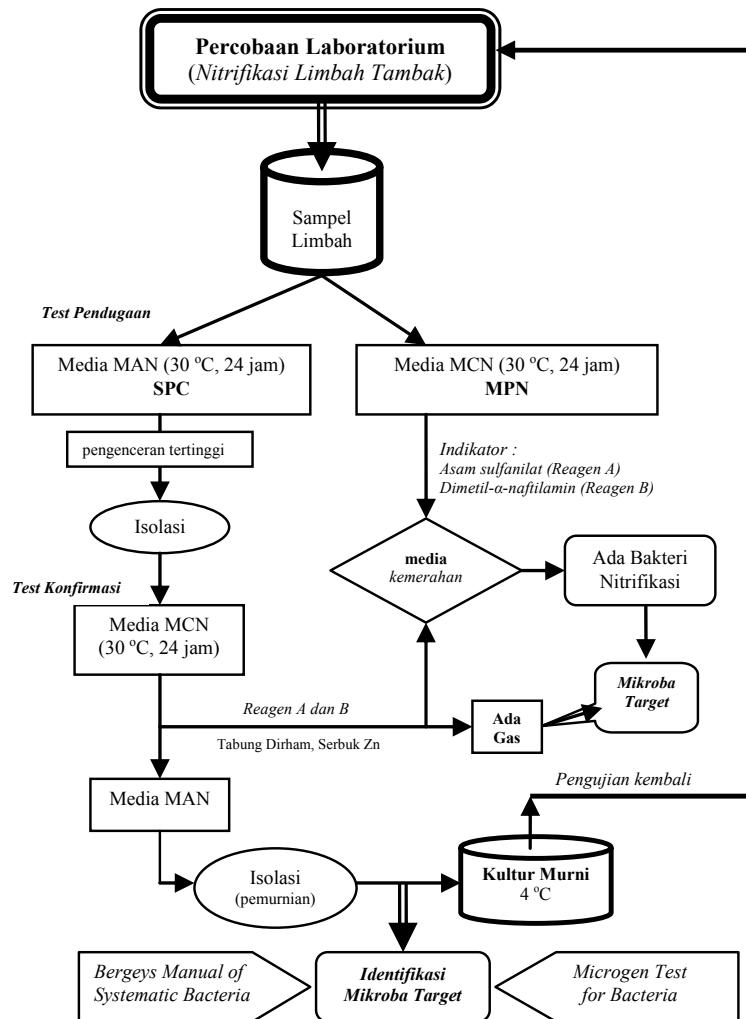
### Prosedur Identifikasi Mikroba Nitrifikasi

Perhitungan populasi mikroba nitrifikasi dilakukan dengan metoda SPC (*Standard Plate Count*) dan MPN (*Most Probability Number*) dengan prosedur sebagai berikut: *pertama*, Setelah 3 hari perlakuan, 6 buah contoh masing-masing 30 ml yang berasal dari komposit 3 ulangan perlakuan T<sub>0</sub> - T<sub>5</sub> segera diperiksa di laboratorium mikrobiologi; *kedua*, Contoh diencerkan sampai 10<sup>4</sup> kali (Alaerts, 1990), kemudian diambil masing-masing 1 ml dan ditempatkan dalam media agar Nitrifikasi (MAN) pada cawan petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 - 48 jam; *ketiga*, Media agar Nitrifikasi (MAN) dibuat dengan bahan: tepung agar 15 gram, air laut steril 750 ml, air destilata 250 ml, ammonium klorida (NH<sub>4</sub>Cl) 5 gram, dan ekstrak ragi (*yeast extract*) 0.5 gram untuk 1 liter media (Atlas, 1997); *keempat*, Media MCN dibuat dengan komposisi: 750 ml air laut steril mikroba (sterilisasi dengan autoklaf), 250 ml air destilata, 0.5 gram ekstrak khamir (*yeast extract*), dan 5 gram ammonium klorida dengan pH media sekitar 7.4 (Modifikasi dari Koops dan Moller, 1992; Iliana *et al.*, 2000); *kelima*, Koloni mikroba pada media MAN dengan sistem SPC dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran sehingga diketahui jumlah mikroba per 100 ml contoh. SPC akan lebih akurat jika jumlah koloni berkisar antara 30 - 300 pada setiap cawan petri (Alaerts, 1990); *keenam*, Populasi mikroba pada media MCN dihitung dengan metoda MPN dengan sistem 3-3-3 dan menggunakan indikator Reagen A (asam sulfanilat) dan Reagen B (dimetil- $\alpha$ -naftilamin). Bila positif terdapat mikroba nitrifikasi, maka akan terjadi *perubahan warna media menjadi kemerahan* setelah diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam (Koops dan Moller, 1998; Iliana *et al.*, 2000). Dengan menggunakan

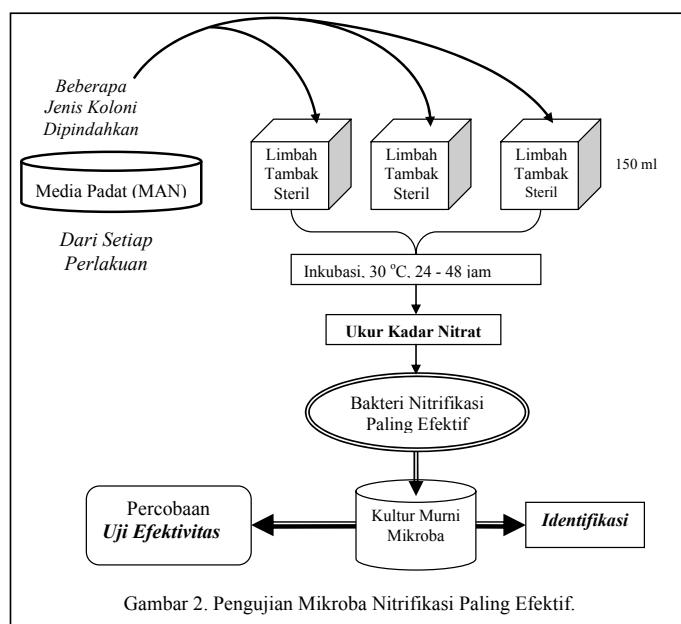
kan tabel MPN (tabung yang positif dikali faktor pengenceran), maka jumlah mikroba nitrifikasi per 100 ml media percobaan dapat diketahui; *ketujuh*, Untuk konfirmasi, dari pengenceran tertinggi MAN, koloni diisolasi dan ditumbuhkan kembali pada media MCN dengan menggunakan tabung dirham + reagen A dan B, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 - 48 jam. Bila belum terjadi perubahan warna media, tambahkan serbuk seng yang berfungsi sebagai reduktor; *kedelapan*, Bila terjadi perubahan warna media MCN menjadi kemerahan dan timbul gas pada tabung dirham (gas nitrogen), menunjukkan adanya mikroba pengoksidasi bahan organik dan amonia menjadi nitrit dan nitrat (proses nitrifikasi). Dalam hal ini serbuk seng berfungsi mereduksi senyawa nitrat yang terbentuk dalam media percobaan menjadi senyawa nitrit dan gas nitrogen (Parsons *et al.*, 1984). Kemudian dari media MCN yang sudah positif terjadi nitrifikasi untuk setiap perlakuan diremajakan pada media padat MAN dan diidentifikasi lebih rinci berdasarkan Bergey's Manual (Holt *et al.*, 1994). Dari media padat tersebut, bakteri diisolasi dan dibuat kultur murni dalam media cair yang diperkaya nutrien dan kembali dihitung konsentrasi bakteri (*sel/ml*) dalam media. Inokulan ini kemudian digunakan untuk pengujian efektivitas bakteri membentuk senyawa nitrat pada media limbah tambak steril (Gambar 1).

### Uji Efektivitas Mikroba Pembentuk Nitrat

Untuk mengetahui jenis bakteri yang paling efektif mengoksidasi senyawa organik menjadi nitrat pada setiap perlakuan, maka dilakukan pengujian dengan langkah sebagai berikut: *pertama*, Media limbah tambak steril mikroba (menggunakan autoklaf) sebanyak 3 liter dipersiapkan terlebih dahulu dan segera diukur kadar TSS, OSS, amonia dan nitrat. Kemudian diencerkan dengan air laut steril untuk membuat 6 perlakuan seperti percobaan semula dan dimasukkan ke dalam 18 gelas piala masing-masing 150 ml; *kedua*, Beberapa koloni mikroba (3 koloni) yang berbeda diisolasi dari media MAN dan dimasukkan ke dalam media percobaan tersebut. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 dan 48 jam, sehingga terdapat 2 kali pengukuran kadar nitrat. Setelah diperoleh jenis bakteri yang paling efektif dalam proses nitrifikasi tersebut, selanjutnya diremajakan pada media MAN dan media MCN (kultur murni), kemudian diidentifikasi secara lebih detail (lihat Gambar 2);



**Gambar 1. Proses Identifikasi Mikroba Nitrifikasi dalam Penelitian**



**Gambar 2. Pengujian Mikroba Nitrifikasi Paling Efektif**

ketiga, Kultur murni bakteri tersebut dihitung konsentrasiannya (*sel/ml*) dan kembali dilakukan percobaan dengan memasukkan inokulan ke dalam media percobaan steril mikroba (limbah tambak steril yang diencerkan dengan air laut steril melalui pemanasan sampai mendidih) dengan 6 perlakuan seperti percobaan semula, yakni T<sub>0</sub> (kontrol), T<sub>1</sub> (TSS 100 ppm), T<sub>2</sub> (TSS 200 ppm), T<sub>3</sub> (TSS 300 ppm), T<sub>4</sub> (400 ppm) dan T<sub>5</sub> (TSS 500 ppm). Jumlah populasi setiap inokulan dibuat sama seperti pada percobaan semula (berdasarkan MPN), sehingga volume inokulan yang dimasukkan berbeda untuk setiap perlakuan; *keempat*, Pengukuran kadar nitrat dilakukan 3 hari sekali, sebanyak 6 kali dalam periode waktu 18 hari. Kemampuan nitrifikasi ini akan dibandingkan dengan hasil percobaan terdahulu, sehingga dapat diketahui tingkat efektivitas setiap jenis bakteri tersebut membentuk senyawa nitrat.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Laju Nitrifikasi

Berdasarkan hasil percobaan di laboratorium, proses nitrifikasi pada seluruh perlakuan terjadi setelah waktu 15 hari dengan laju nitrifikasi berkisar antara 0.006 – 0.009 ppm/hari (Tabel 1). Laju nitrifikasi tertinggi terjadi pada perlakuan T<sub>2</sub> (kadar TSS 200 ppm) yakni 0.0089 ppm/

hari dan terendah pada perlakuan T<sub>0</sub> (kontrol) yakni 0.0059 ppm/hari.

**Tabel 1. Laju Nitrifikasi dalam Limbah Tambak untuk Setiap Perlakuan (ppm/hari).**

| Ulangan   | Perlakuan      |                |                |                |                |                |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|           | T <sub>0</sub> | T <sub>1</sub> | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| 1         | 0.0067         | 0.0067         | 0.0089         | 0.0083         | 0.0067         | 0.0072         |
| 2         | 0.0050         | 0.0072         | 0.0100         | 0.0072         | 0.0078         | 0.0084         |
| 3         | 0.0061         | 0.0056         | 0.0078         | 0.0094         | 0.0089         | 0.0061         |
| Rata-rata | 0.0059         | 0.0065         | 0.0089         | 0.0083         | 0.0078         | 0.0072         |

Untuk seluruh perlakuan, sampai hari ke 4 kadar nitrat belum berubah, mulai meningkat setelah hari ke 7 dengan laju yang rendah dan meningkat cepat antara hari ke 13 dan 16, serta kembali menurun antara hari ke 16 dan 19 (Tabel 2 dan Gambar 3). Oleh sebab itu, pengujian pada media MCN yang memperlihatkan hasil yang positif setelah periode waktu 15 hari tersebut dapat dinyatakan sebagai proses nitrifikasi maksimum, dan bukan berarti tidak terjadi sama sekali oksidasi senyawa organik atau amonia menjadi senyawa nitrat dalam media percobaan sebelum periode waktu tersebut. Hal ini juga memberikan gambaran bahwa pada periode waktu 1 - 13 hari, bakteri nitrifikasi masih kalah bersaing dibanding bakteri heterotof pengurai OSS, sehingga dalam pengujian nitrifikasi memberikan hasil negatif selama periode waktu tersebut.

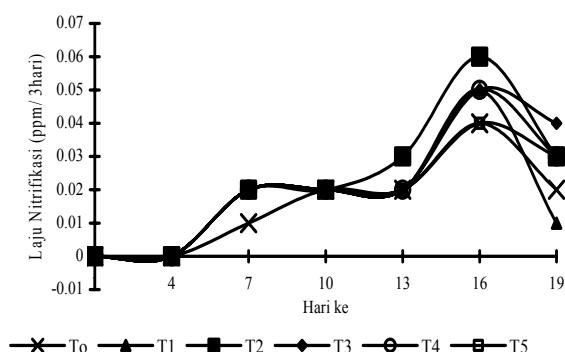
**Tabel 2. Rata-rata Kadar Nitrat dan Laju Nitrifikasi dalam Limbah Tambak untuk Setiap Perlakuan.**

| Hari ke | Perlakuan          |                 |                    |                 |                    |                 |                    |                 |                    |                 |                    |                 |
|---------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
|         | T <sub>0</sub>     |                 | T <sub>1</sub>     |                 | T <sub>2</sub>     |                 | T <sub>3</sub>     |                 | T <sub>4</sub>     |                 | T <sub>5</sub>     |                 |
|         | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr | Kadar Nitrat (ppm) | Laju (ppm) 3 hr |
| 1       | 0.16               | -               | 0.16               | -               | 0.18               | -               | 0.21               | -               | 0.24               | -               | 0.26               | -               |
| 4       | 0.16               | 0.00            | 0.16               | 0.00            | 0.18               | 0.00            | 0.21               | 0.00            | 0.24               | 0.00            | 0.26               | 0.00            |
| 7       | 0.17               | 0.01            | 0.18               | 0.02            | 0.20               | 0.02            | 0.23               | 0.02            | 0.26               | 0.02            | 0.28               | 0.02            |
| 10      | 0.19               | 0.02            | 0.20               | 0.02            | 0.22               | 0.02            | 0.25               | 0.02            | 0.28               | 0.02            | 0.30               | 0.02            |
| 13      | 0.21               | 0.02            | 0.22               | 0.02            | 0.25               | 0.03            | 0.27               | 0.02            | 0.30               | 0.02            | 0.32               | 0.02            |
| 16      | 0.25               | 0.04            | 0.27               | 0.05            | 0.31               | 0.06            | 0.32               | 0.05            | 0.35               | 0.05            | 0.36               | 0.04            |
| 19      | 0.27               | 0.02            | 0.28               | 0.01            | 0.34               | 0.03            | 0.36               | 0.04            | 0.38               | 0.03            | 0.39               | 0.03            |

Berdasarkan hasil perhitungan populasi bakteri nitrifikasi dengan metode MPN, diperoleh bahwa semakin tinggi kadar bahan organik OSS dan amonia dalam media percobaan, populasi bakteri nitrifikasi juga semakin tinggi (Tabel 3). Kondisi ini memberikan gambaran bahwa bakteri nitrifikasi yang ada dalam media perco-

baan juga mampu memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber karbon atau energi disamping senyawa amonia dan nitrit. Artinya, pertumbuhan bakteri ini bersifat **mixotrofik** ataupun litotrofik fakultatif (Steinmuller dan Bock, 1996). Hal ini diperkuat dengan data pengukuran kadar amonia dalam media percobaan yang menga-

lami penurunan setelah periode waktu tertentu yang selaras dengan penurunan kadar OSS dalam media percobaan seperti percobaan terdahulu. Selain itu, hasil pengujian dengan *microgen* juga memperlihatkan bahwa bakteri ini dapat memanfaatkan berbagai jenis gula, asam amino dan urea (senyawa organik) dalam memproduksi senyawa nitrat.



Gambar 3. Kurva Laju Pembentukan Nitrat oleh Mikroba Nitrifikasi.

Tabel 3. Populasi Mikroba Nitrifikasi dalam Media Percobaan (MPN).

| Perlakuan                                     | Jumlah Bakteri Nitrifikasi (sel/ml) |
|---|-------------------------------------|
| T <sub>0</sub> (Kontrol, Amonia 0.18 ppm)     | 0.7 x 10 <sup>5</sup>               |
| T <sub>1</sub> (TSS 100 ppm, Amonia 0.21 ppm) | 0.8 x 10 <sup>5</sup>               |
| T <sub>2</sub> (TSS 200 ppm, Amonia 0.26 ppm) | 1.1 x 10 <sup>5</sup>               |
| T <sub>3</sub> (TSS 300 ppm, Amonia 0.32 ppm) | 1.5 x 10 <sup>5</sup>               |
| T <sub>4</sub> (TSS 400 ppm, Amonia 0.37 ppm) | 2.0 x 10 <sup>5</sup>               |
| T <sub>5</sub> (TSS 500 ppm, Amonia 0.43 ppm) | 2.8 x 10 <sup>5</sup>               |

### Bakteri Nitrifikasi Paling Efektif

Dari hasil pengujian dan identifikasi mikroba, diperoleh 3 kelompok genus bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam media percobaan (Tabel 4) yakni *Nitrococcus sp.* untuk perlakuan T<sub>0</sub> dan T<sub>1</sub>, *Nitrospira sp.* untuk perlakuan T<sub>2</sub> dan T<sub>3</sub> dan *Nitrobacter sp.* untuk perlakuan T<sub>4</sub> dan T<sub>5</sub>. Seluruh bakteri ini bersifat gram negatif dan berkembang baik di perairan asin (Baumann *et al.*, 1992). Adanya perbedaan jenis bakteri ini tidak terlepas dari perbedaan media tumbuh bakteri, seperti perbedaan kadar bahan organik OSS dalam media percobaan (Nagata *et al.*, 2003) dan kadar amonia yang berbeda antar perlakuan (Jones *et al.*, 1990).

Tabel 4. Hasil Identifikasi Bakteri Nitrifikasi dalam Limbah Tambak.

| Pengujian       | Asal Bakteri             |                                 |                |                |                |                |
|-----------------|--------------------------|---------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                 | T <sub>0</sub>           | T <sub>1</sub>                  | T <sub>2</sub> | T <sub>3</sub> | T <sub>4</sub> | T <sub>5</sub> |
| Gram            | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Bentuk Sel      | bulat                    | bulat                           | koma           | koma           | batang         | batang         |
| Katalase        | +                        | +                               | +              | +              | +              | +              |
| Motilitas       | +                        | +                               | -              | -              | +              | +              |
| Oksidasi Amonia | +                        | +                               | +              | +              | +              | +              |
| Reduksi Nitrat  | -                        | -                               | -              | -              | +              | +              |
| Glukosa         | -                        | -                               | +              | +              | +              | +              |
| Mannitol        | -                        | +                               | -              | -              | -              | -              |
| Indol           | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Urease          | +                        | +                               | +              | +              | +              | +              |
| Sitrat          | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| TDA             | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Gelatin         | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Malonat         | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Inositol        | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Sorbitol        | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Rhamnosa        | -                        | -                               | +              | +              | -              | -              |
| Sukrosa         | +                        | -                               | -              | -              | +              | +              |
| Laksota         | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Arabinosa       | +                        | -                               | +              | +              | -              | -              |
| Adonitol        | -                        | -                               | -              | -              | -              | -              |
| Raffinosa       | +                        | +                               | -              | -              | -              | -              |
| Lisin           | -                        | -                               | +              | +              | +              | -              |
| Arginin         | -                        | -                               | +              | +              | -              | +              |
| Jenis Bakteri   | Perlakuan T <sub>0</sub> | <i>Nitrococcus oceanus</i>      |                |                |                |                |
|                 | Perlakuan T <sub>1</sub> | <i>Nitrococcus mobilis</i>      |                |                |                |                |
|                 | Perlakuan T <sub>2</sub> | <i>Nitrospira marina</i>        |                |                |                |                |
|                 | Perlakuan T <sub>3</sub> | <i>Nitrospira marina</i>        |                |                |                |                |
|                 | Perlakuan T <sub>4</sub> | <i>Nitrobacter winogradskyi</i> |                |                |                |                |
|                 | Perlakuan T <sub>5</sub> | <i>Nitrobacter vulgaris</i>     |                |                |                |                |

Berdasarkan laju nitrifikasi pada Tabel 1 dapat dinyatakan bakteri *Nitrospira marina* memiliki kemampuan paling tinggi mengoksidasi senyawa organik membentuk senyawa nitrat (0.009 ppm/hari) dalam limbah tambak, sedangkan kemampuan terendah (0.006 ppm/hari) terdapat pada bakteri *Nitrococcus oceanus*.

### Efektivitas Bakteri Nitrifikasi.

Untuk mengetahui efektivitas setiap jenis bakteri tersebut membentuk nitrat, dilakukan kembali percobaan dengan menggunakan media steril yakni limbah tambak steril diencerkan dengan air laut steril (pemanasan sampai mendidih). Untuk kontrol kemungkinan terjadinya kontaminasi pada media percobaan, digunakan media steril tanpa inokulasi mikroba. Pengukuran kadar amonia dan nitrat pada kontrol tambahan ini dilakukan 6 kali.

Populasi bakteri dalam kultur murni adalah  $1.16 \times 10^8$  sel/ml untuk bakteri *Nitrococcus oceanus* yang berasal dari perlakuan T<sub>0</sub>;  $1.25 \times 10^8$  sel/ml untuk *Nitrococcus mobilis* yang berasal dari perlakuan T<sub>1</sub>;  $1.46 \times 10^8$  sel/ml untuk *Nitrospira marina* yang berasal dari perlakuan T<sub>2</sub>;  $1.62 \times 10^8$  sel/ml untuk *Nitrospira marina* yang berasal dari perlakuan T<sub>3</sub>;  $1.96 \times 10^8$  sel/ml untuk *Nitrobacter winogradskyi* yang berasal dari perlakuan T<sub>4</sub> dan  $2.18 \times 10^8$  sel/ml untuk bakteri *Nitrobacter vulgaris* yang berasal dari perlakuan T<sub>5</sub>. Jumlah populasi bakteri yang dimasukkan ke dalam media percobaan untuk setiap perlakuan disamakan seperti pada percobaan pertama. Oleh sebab itu volume inokulan yang dimasukkan ke dalam media percobaan berbeda untuk setiap perlakuan, yaitu 1.2 ml untuk T<sub>0</sub>, 1.3 ml untuk T<sub>1</sub>, 1.5 ml untuk T<sub>2</sub>, 1.9 ml untuk T<sub>3</sub>, 2.1 ml untuk T<sub>4</sub>, dan 2.6 ml untuk T<sub>5</sub>.

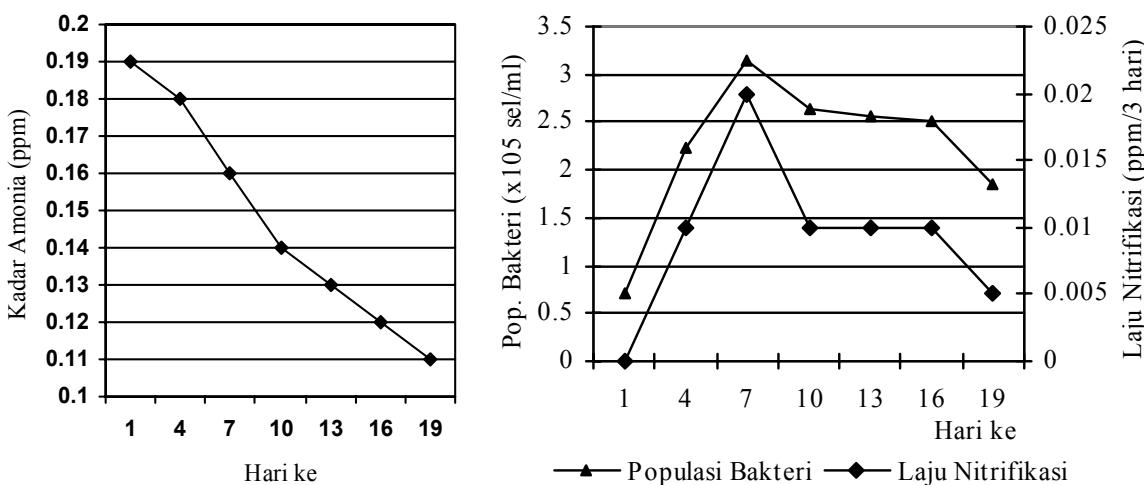
Pada percobaan efektivitas nitrifikasi ini, populasi bakteri meningkat cepat antara 3 - 6 hari (hari ke-4 sampai hari ke-7) dan hampir konstan antara 9 - 15 hari (hari ke-10 sampai hari ke-16) serta menurun setelah 18 hari percobaan berlangsung (Tabel 5). Keadaan ini hampir sama dengan yang dikemukakan Steinmuller dan Bock (1996) dan Manahan (2002) bahwa dalam oksidasi bahan organik, fase cepat perkembangan populasi mikroba berada antara 3 - 5 hari, fase statis antara 5 - 20 hari, dan fase

menurun setelah 20 hari. Pada seluruh perlakuan juga terlihat bahwa kadar amonia dan OSS menurun dengan meningkatnya kadar nitrat dalam media percobaan.

**Tabel 5. Kadar OSS, Amonia, Laju Nitrifikasi dan Populasi Mikroba Nitrifikasi pada Perlakuan T<sub>0</sub>.**

| Hari ke | Kadar OSS (ppm) | Kadar Amonia (ppm) | Laju Nitrifikasi (ppm/3 hari) | Populasi Bakteri (sel/ml) |
|---------|-----------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------|
| 1       | 58.20           | 0.19               | 0.00                          | $7.01 \times 10^4$        |
| 4       | 56.75           | 0.18               | 0.01                          | $2.24 \times 10^5$        |
| 7       | 55.33           | 0.16               | 0.02                          | $3.15 \times 10^5$        |
| 10      | 53.95           | 0.14               | 0.01                          | $2.64 \times 10^5$        |
| 13      | 52.60           | 0.13               | 0.01                          | $2.57 \times 10^5$        |
| 16      | 51.28           | 0.12               | 0.01                          | $2.52 \times 10^5$        |
| 19      | 48.95           | 0.11               | 0.005                         | $1.86 \times 10^5$        |

Pada perlakuan T<sub>0</sub> (laju nitrifikasi terendah), peningkatan populasi bakteri *Nitrococcus oceanus* yang cepat terjadi pada hari ke 4 - 7 diikuti dengan laju pembentukan nitrat yang lebih tinggi dalam media percobaan, yakni 0.007 ppm/hari, sedangkan pada fase konstan (hari ke-10 – hari ke-16) laju pembentukan nitrat hanya 0.003 ppm/hari. Populasi bakteri pada hari ke-4 meningkat 3 kali lipat dibandingkan populasi awal dan pada hari ke 7 meningkat sekitar 4 kali (Tabel 5 dan Gambar 4).



**Gambar 4. Kurva Kadar Amonia, Laju Nitrifikasi dan Populasi Bakteri *Nitrococcus oceanus* pada Perlakuan T<sub>0</sub> (Kontrol).**

Pada perlakuan T<sub>2</sub> (laju nitrifikasi tertinggi), populasi bakteri *Nitrospira marina* pada hari ke-4 meningkat sekitar 3 kali lipat, dan pada

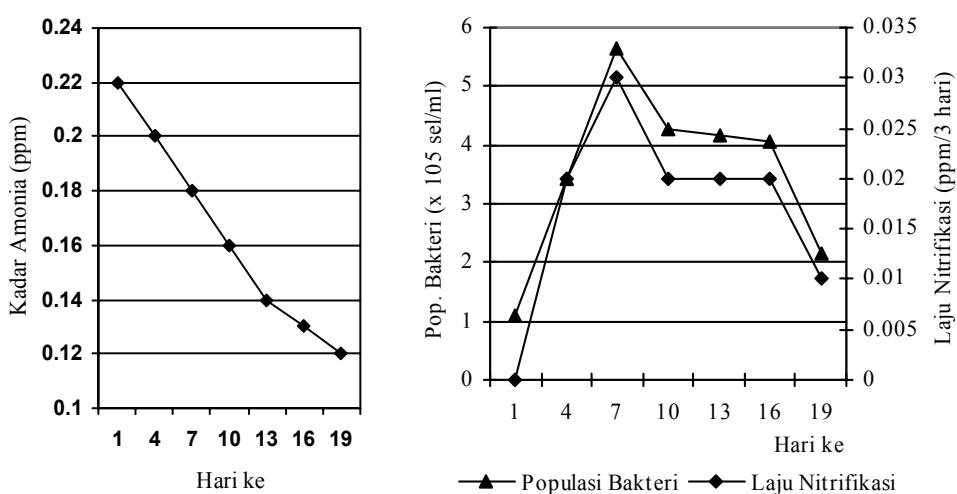
hari ke-7 meningkat sekitar 5 kali dari populasi awal (Tabel 6). Demikian juga kadar nitrat dalam media percobaan meningkat dengan laju yang

lebih tinggi dibandingkan dengan periode waktu sesudah 6 hari. Hal ini memberi gambaran bahwa pertumbuhan optimum bakteri nitrifikasi dalam limbah tambak untuk mengoksidasi senyawa organik berada pada waktu 6 hari atau di antara selang waktu 3 - 9 hari (Gambar 5).

Berdasarkan hasil percobaan, diperoleh laju nitrifikasi antara 0,004 - 0,007 ppm/hari. Bila dibandingkan dengan percobaan pertama, maka efektivitas nitrifikasi antara 66.67 - 77.78% atau rata-rata 72%. Dengan demikian, proses nitrifikasi dalam limbah tambak sekitar 28% merupakan kontribusi jenis mikroba lain (Tabel 7).

**Tabel 6. Kadar OSS, Amonia, Laju Nitrifikasi dan Populasi Mikroba Nitrifikasi pada Perlakuan T<sub>2</sub>.**

| Hari ke | Kadar OSS (ppm) | Kadar Amonia (ppm) | Laju Nitrifikasi (ppm/3 hr) | Populasi Bakteri (sel/ml) |
|---------|-----------------|--------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 1       | 147.30          | 0.22               | 0.00                        | $1.10 \times 10^5$        |
| 4       | 140.67          | 0.20               | 0.02                        | $3.42 \times 10^5$        |
| 7       | 134.34          | 0.18               | 0.03                        | $5.64 \times 10^5$        |
| 10      | 128.30          | 0.16               | 0.02                        | $4.26 \times 10^5$        |
| 13      | 122.53          | 0.14               | 0.02                        | $4.18 \times 10^5$        |
| 16      | 117.02          | 0.13               | 0.02                        | $4.06 \times 10^5$        |
| 19      | 111.75          | 0.12               | 0.01                        | $2.15 \times 10^5$        |



**Gambar 5. Kurva Kadar Amonia, Laju Pembentukan Nitrat dan Populasi Bakteri *Nitrospira marina* pada Perlakuan T<sub>2</sub>.**

**Tabel 7. Perbandingan Efektivitas Setiap Jenis Bakteri Nitrifikasi.**

| Perlakuan                | Laju Nitrifikasi (ppm/hari) |   | Efektivitas (%) |
|--------------------------|-----------------------------|---|-----------------|
|                          | Perco-baan I                | Perco-baan II                                 |                 |
| T <sub>0</sub>           | 0.0059                      | 0.0039<br>( <i>Nitrococcus oseanus</i> )      | 66.67           |
| T <sub>1</sub>           | 0.0065                      | 0.0046<br>( <i>Nitrococcus mobilis</i> )      | 71.43           |
| T <sub>2</sub>           | 0.0089                      | 0.0069<br>( <i>Nitrospira marina</i> )        | 77.78           |
| T <sub>3</sub>           | 0.0083                      | 0.0062<br>( <i>Nitrospira marina</i> )        | 75.00           |
| T <sub>4</sub>           | 0.0078                      | 0.0056<br>( <i>Nitrobacter winogradskyi</i> ) | 71.80           |
| T <sub>5</sub>           | 0.0072                      | 0.0050<br>( <i>Nitrobacter vulgaris</i> )     | 69.44           |
| <b>Rata-rata:</b> 72.02% |                             |   |                 |

Efisiensi tertinggi terdapat pada bakteri *Nitrospira marina* (perlakuan T<sub>2</sub>), sedangkan terendah pada bakteri *Nitrococcus oseanus* (perlakuan T<sub>0</sub>). Perbedaan efektivitas ini tidak terlepas dari perbedaan kemampuan metabolisme (oksidasi biologis) setiap jenis bakteri dalam memanfaatkan bahan organik sebagai sumber karbon, kadar ammonia dalam media percobaan dan beban bahan organik dalam setiap perlakuan yang menjadi media hidup perkembangan bakteri tersebut.

Dengan tingkat efektivitas rata-rata sekitar 72%, dapat dinyatakan setiap jenis bakteri nitrifikasi tersebut mempunyai kemampuan yang cukup baik dalam proses nitrifikasi limbah tambak di perairan pesisir. Oleh sebab itu, jenis bakteri tersebut potensial untuk dikembangkan sebagai probiotik dalam pengendalian limbah organik tambak di perairan pesisir.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Laju nitrifikasi dalam limbah tambak berkisar antara  $0.0059 - 0.0089 \text{ ppm/hari}$ . Laju tertinggi terjadi pada perlakuan  $T_2$  (TSS 200 ppm, OSS 147.30 ppm, amonia 0.22 ppm) dan terendah pada perlakuan  $T_0$  (TSS 100 ppm, OSS 58.20, amonia 0.19 ppm).

Laju nitrifikasi oleh setiap jenis bakteri dalam media limbah tambak steril berkisar antara  $0.004 - 0.007 \text{ ppm/hari}$ , dengan efektivitas nitrifikasi rata-rata 72.02%, atau kontribusi jenis bakteri lain sebesar 27.98%.

Jenis bakteri yang paling efektif membentuk nitrat dalam media percobaan adalah *Nitrococcus sp.* untuk perlakuan  $T_0$  (kontrol) dan  $T_1$ , *Nitrospira sp.* untuk perlakuan  $T_2$  dan  $T_3$  dan *Nitrobacter sp.* untuk perlakuan  $T_4$  dan  $T_5$ . Efektivitas tertinggi terdapat pada bakteri *Nitrospira marina*.

### Saran

Disarankan kepada pengusaha tambak untuk mengembangkan bakteri *Nitrospira marina* sebagai alternatif probiotik dalam perbaikan kualitas air tambak sekaligus sebagai teknologi bioremediasi limbah tambak di perairan pesisir.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang jenis bakteri lain yang turut serta dalam proses nitrifikasi dalam limbah tambak.

## PUSTAKA

- Alaerts, G. 1990. **Metoda Penelitian Air**. Penerbit Usaha Nasional, Surabaya.
- Atlas, R. M. 1997. **Hand Book of Microbiological Media**. Second Edition. CRC Press, Inc., New York.
- Baumann, L., M. Mandel., and R. D. Allen. 1992. **Taxonomy of Aerobic Marine Eubacteria**, Journal of Applied Bacteriology, 110: 402-429.
- Boyd, C. E. 2003. **Applying Effluent Standard to Small-Scale Shrimp Farms**. Aquaculture Certification Council: <http://ceboyd@acesag.auburn.edu>. [12 Oktober 2003].
- Departemen Kelautan dan Perikanan, RI. 2002. **Rencana Strategi Pembangunan Kelautan dan Perikanan 2001-2004**. Jakarta.
- Fukuda, R. 2000. **Microbial Degradation of Proteinaceous Organic Matter in Marine Environments**. Dissertation in University of Tokyo, Tokyo.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley dan S. T. Williams. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Ninth Edition, Lippincott Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- Hopkins, J. S., M. R. DeVoe, dan A. F. Holland. 1995. **Environmental Impacts of Shrimp Farming Effluent in The Continental United State**, Estuaries, 18: 25-42.
- Iliana, I., A. Stephen, C. Yun Juan, B. Julia, L. Philip, C. David, and J. Sarah. 2000. **A Survey of Autotrophic Ammonia Oxidizing Bacteria of the Beta-subdivision of the Class Proteobacteria in Water**. Canadian Journal of Microbiology, 46: 1012-1020.
- Jones, R. D., R. Y. Morita, H. P. Koops and S. W. Watson. 1990. **Marine Ammonium Oxidizing Bacterium**. Canadian Journal of Microbiology, 34: 1122-1128.
- Kantor Menteri Negara Lingkungan Hidup. 2004. **Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No. 51 Tahun 2004 Tentang Baku Mutu Air Laut**, Sekretariat Meneg LH, Jakarta.
- Koesoebiono. 1996. **Ekologi Wilayah Pesisir**. PPLH-IPB, Bogor.
- Koops, H. P., dan U. C. Moller. 1992. **The Lithotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria**. In Balows, A., H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, dan K. H. Schleifer (eds.), **A Handbook on the Biology of Bacteria : Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications**. Second Edition, Springer-Verlag, New York, pp. 2625 - 2636.
- Manahan, S. E. 2002. **Environmental Chemistry**, Seventh Edition, Lewis Publisher, Inc., New York.
- Nagata, T., B. Meon, and D. L. Kirchman. 2003. **Microbial Degradation of Organic Matter in Sea Water**, Journal of Limnology and Oceanography, 48: 745 – 754.
- Parsons, T. R., Y. Maita, dan C. M. Lalli. 1984. **A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis**. Pergamon Press, Oxford.
- Sohier, L. P., dan M. A. G. Bianchi. 1995. **Development of Heterotrophic Bacterial Community within Prawn Aquaculture System**, Journal of Microbial Ecology, 11: 353 - 369.
- Steinmuller, W., dan E. Bock. 1996. **Growth of Nitrobacter in the Presence of Organic Matter (Mixotrophic growth)**, Canadian Journal of Microbiology, 108: 299-304.
- Widigdo, B. 2002. **Perkembangan dan Peranan Perikanan Budidaya Dalam Pembangunan**. Makalah dalam Seminar Penetapan Standar Kualitas Air Buangan Tambak, Ditjen Perikanan Budidaya, Puncak, 7-9 Agustus 2002.