

STUDI EKSPERIMENTAL UJI POTENSI ISOLAT BAKTERI PETROFILIK DALAM MENURUNKAN KADAR AMONIAK PADA AIR LIMBAH

E. Nurisman^{1*}, Syaiful¹, M.Faizal¹, dan S.P. Estuningsih²

¹Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya, Palembang

²MIPA Biologi, Universitas Sriwijaya, Palembang

Corresponding author: enggalnurisman@ft.unsri.a.id

ABSTRAK: Pemanfaatan aktivitas mikrobiologis bakteri telah dikembangkan secara luas untuk mengatasi pencemaran lingkungan seperti proses bioremediasi maupun pada pengolahan limbah lainnya. Amoniak merupakan salah satu unsur berbahaya dalam limbah cair proses industri petrokimia sehingga harus diproses sehingga tidak menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan. Pada penelitian ini, 3 isolat bakteri petrofilik yaitu *Pseudomonas fluorescens*, *Brevundimonas diminuta*, dan *Pseudomonas aeruginosa* diuji kemampuannya untuk mendegradasi kadar amoniak. Di tahap awal, ketiga isolat bakteri tersebut dapat tumbuh dengan baik pada limbah amoniak sintetik dengan konsentrasi 2600 hingga 3000 ppm. Namun, saat pengujian dilakukan terhadap limbah kilang dengan komposisi yang lebih kompleks dengan kandungan amoniak sebesar 69,86 – 92,51 mg/kg, fenol sebesar 3,85 – 4,75 mg/kg dan kadar COD sebesar 96 – 100 mg/kg menunjukkan hasil yang berbeda. Dari ketiga isolat bakteri tersebut, hanya *Brevundimonas diminuta* yang menunjukkan tingkat pertumbuhan yang baik dibandingkan dengan isolat lainnya. Pada tahap selanjutnya, *B. diminuta* diuji menggunakan sampel air limbah kilang dengan kadar amoniak yang lebih tinggi sebesar 750,48 mg/kg selama 8 hari. Bakteri tersebut menunjukkan kemampuan untuk mendegrasi amoniak secara signifikan sehingga kadar amoniak pada hari kedelapan turun menjadi 84,02 mg/kg atau berkurang sebesar 88,81%.

Kata Kunci: amoniak ; limbah cair ; *Brevundimonas diminuta*

ABSTRACT: *The use of microbiological activities of bacteria has been developed extensively to overcome environmental pollution such as bioremediation processes and other waste treatment. Ammonia is one of the dangerous elements in the liquid waste of the chemical industry process, so it must be processed so that it does not have a negative impact on the environment. In this study, 3 isolats of petrophilic bacteria namely Pseudomonas fluorescens, Brevundimonas diminuta, and Pseudomonas aeruginosa were tested for their ability to degrade ammonia levels. At the initial experiment, the three of bacterial isolats could grow well in synthetic ammonia waste with various concentrations from 2600 to 3000 ppm. However, when testing was carried out on refinery wastewater with a more complex composition with ammonia content of 69.86 - 92.51 mg / kg, phenol of 3.85 - 4.75 mg / kg and COD levels of 96 - 100 mg / kg shows different results. Of the three bacterial isolats, only Brevundimonas diminuta showed a good growth rate compared to other isolats. In the next stage, B. diminuta was tested using a refinery wastewater sample with a higher ammonia content of 750.48 mg / kg for 8 days. These bacteria showed the ability to significantly integrate ammonia so that the ammonia level on the eighth day decreased to 84.015 mg / kg or decreased by 88.81%.*

Keywords: Ammonia; Wastewater; *Brevundimonas diminuta*

PENDAHULUAN

Salah satu alternatif pengolahan limbah ialah menggunakan proses mikrobiologis yang

memungkinkan terwujudnya kondisi yang kondusif bagi interaksi mikroorganisme yang memiliki aktivitas enzimatis yang mampu menguraikan senyawa kompleks toksik seperti amonia menjadi senyawa lain yang lebih

sederhana dan nontoksik. Kandungan amoniak pada air limbah dapat menyebabkan efek toksik bagi kehidupan biota yang berada di perairan. Kadar amoniak bebas dalam air dapat meningkat sejalan dengan meningkatnya pH dan temperatur (N.I. Said et al, 2014). Pada konsentrasi amoniak 1 mg/L dapat menyebabkan biota perairan mati lemas karena dapat mengurangi kapasitas oksigen dalam air.

Pengolahan air limbah pada umumnya menggunakan lumpur aktif konvensional maupun proses pengolahan dengan biofilter melekat diam (N.I. Said et al, 2014). Proses dengan biofilter melekat diam didasarkan oleh penggunaan media penyangga sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya bakteri pendegradasi senyawa pencemar. Menurut N.I. Said, permasalahan yang banyak dihadapi dalam kedua proses pengolahan ini ialah waktu yang lama dan lahan yang luas untuk memisahkan lumpur dan cairan olahan. Oleh sebab itu, penghilangan amoniak di dalam air limbah domestik pada air baku air (intake water) dikembangkan dengan proses *Moving Bed Biofilm Reactor* yang mampu mengurangi kadar amoniak hingga 89 % selama 6 jam (NI Said et al. 2014). Pada penelitian lainnya, operasi pengolahan limbah amoniak menggunakan reaktor biofilter tercelup menggunakan media plastik tipe sarang tawon waktu tinggal 3 jam efisiensi sebesar 73,59 % (N.I Said et al. 2014). Proses penurunan kadar amonia juga telah dilakukan dengan lumpur aktif, *Ceratophyllum demersum* dan mikroalga jenis *Chloropyta* menunjukkan penurunan kadar amonia sebesar 90,5 % pada konsentrasi amoniak sintetik 500 ppm (Adrianto et al. 2014).

Mengingat proses penelitian sebelumnya dilakukan pada kondisi perairan sungai untuk keperluan air baku dengan kadar amoniak yang digunakan rata-rata tidak melebihi 2 mg/L maka untuk pengolahan air limbah dengan kadar yang tinggi pada industri migas dan petrokimia perlu digunakan isolat bakteri petrofilik yang memiliki ketahanan dan kemampuan tumbuh pada lingkungan yang lebih kompleks. Jenis-jenis bakteri petrofilik dapat secara maksimal melakukan degradasi jika faktor lingkungan yang ada sesuai dan nutrisi yang dibutuhkan dipenuhi (Mehrasbi et al., 2003; Munawar and Said, 2007; Munawar et al., 2007). Isolasi bakteri yang digunakan merupakan hasil isolasi bakteri indigen petrofilik dilakukan terhadap sampel berupa tanah, air, dan sedimen yang diambil dari tiga lokasi yang tercemar hidrokarbon petroleum dari wilayah Sumatera Selatan. Masing-masing jenis sampel dari setiap lokasi selanjutnya dilakukan isolasi terhadap bakteri indigen petrofilik. Setiap jenis sampel dikultur dalam medium Zobell cair, selanjutnya ditumbuhkan dalam medium selektif yang hanya mempunyai satu sumber karbon

berupa hidrokarbon petroleum (Munawar, 1999; Hary et al. 2006). Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter secara morfologi yang meliputi morfologi koloni dan sel, serta serangkaian uji-uji fisiologi yang biasa digunakan untuk identifikasi bakteri. Karakteristik setiap isolat yang diperoleh dicocokkan dengan buku Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan and Gibbons, 1974).

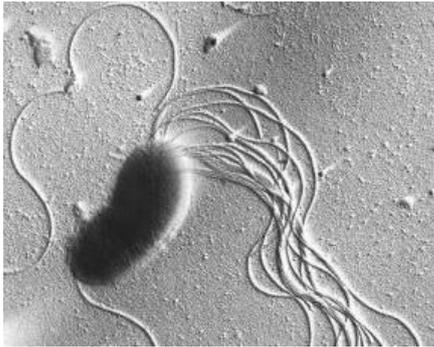
Pemilihan bakteri lokal petrofilik ini ialah karena kelebihan yang sudah teradaptasi dengan kondisi lingkungan dan karakteristik limbah sludge minyak yang akan diolah sehingga potensi kinerja biodegradasinya lebih efektif. Berbeda halnya, jika dibandingkan dengan agen biologis komersial yang belum tentu sesuai dengan lingkungan dan karakteristik limbah yang akan diolah (Thouand et al., 1999; Zhu et al., 2004). Bakteri petrofilik yang diisolasi dari limbah sludge minyak bumi ataupun dari areal terkontaminasi minyak bumi umumnya merupakan bakteri tanah yang didominasi oleh genus *Pseudomonas* (Munawar et al., 2012).

Bakteri dalam kompleks spesies *Pseudomonas fluorescens* merupakan bakteri gram-negatif, batang motil yang aerobik. Bakteri ini tidak dapat memfermentasi glukosa, dan bersifat kemoorganotrofik yang dapat tumbuh pada pH antara 4 dan 8 (Moore ERB, et al, 2006). Adapun karakteristik *P. fluorescens* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1 berikut

Tabel 1 Karakteristik *P. fluorescens* complex bacteria.

Karakteristik
Taxonomy
<i>Bacteria</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>Gammaproteobacteria</i> , <i>Pseudomonadales</i> , <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Pseudomonas</i>
Physical characteristics
Gram-negative, rod-shaped bacilli
Motile via motile polar flagella
Non-spore-forming organisms
Produce a fluorescent pigment (pyocyanin), from which the name <i>P. fluorescens</i> is derived
Produce exopolysaccharides and readily form biofilms
Growth characteristics
Obligate aerobes but capable of using nitrate instead of oxygen as a final electron acceptor during cellular respiration
Optimal temperatures for growth
25–30°C for environmental isolates
34–37°C for mammalian isolates
Oxidase positive
Catalase positive
Grow well on Trypticase soy agar (TSA) and Luria agar (LA)
Hemolytic activity on red blood cells
No for environmental isolates
Yes for certain mammalian isolates (e.g., strain MFN1032)
Form small, white, convex colonies

(Sumber : Clinical Microbiology Review. 2014 Oct; 27(4): 927–948)



Gambar 1 Scanning electron micrograph of *P. fluorescens* (Sumber : Clinical Microbiology Review. 2014 Oct; 27(4): 927–948).

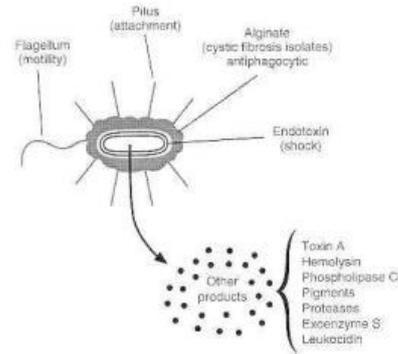
Hingga akhir tahun 2013, terdapat 16 strain yang berurutan penuh dari kompleks spesies *P. fluorescens*, dan semuanya kecuali satu berasal dari permukaan tanaman, akar, atau tanah di sekitarnya

Seperti halnya isolat bakteri sebelumnya, *Brevundimonas diminuta* juga termasuk genus bakteri gram-negatif non-fermentasi yang dianggap memiliki kepentingan klinis minor (Ryan, et al, 2018).

Brevundimonas diminuta adalah basil Gram-negatif lingkungan non-laktosa-fermentasi (Han, X., and Andrade, R. 2005). *B. diminuta* dan *B. vesicularis* sebelumnya dimasukkan ke dalam genus *Pseudomonas*. Namun, analisis numerik pola protein sel utuh, komposisi asam lemak, karakteristik fenotipik, rasio basa DNA, dan derajat keterkaitan DNA menunjukkan bahwa mereka harus dikategorikan dalam genus terpisah (Segers, P, et all, 1994). *B. diminuta* umumnya digunakan sebagai organisme uji untuk validasi filter membran tingkat sterilisasi karena ukuran bakteri yang kecil (Lee, S, et al, 2002).

Brevundimonas diminuta aktif bergerak dengan sebagian besar flagel kutub tunggal. Salah satu ciri morfologi yang tidak biasa adalah bahwa banyak individu memiliki flagel yang berasal dari pinggiran tiang daripada dari tengah tiang (Leifson, E., and Hugh, R. 1954).

Jenis isolat bakteri yang akan diuji lainnya ialah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini merupakan bakteri berbentuk batang gram-negatif berukuran 0,5 hingga 0,8 μm kali 1,5 hingga 3,0 μm . Hampir semua strain motil melalui satu flagel polar, dan beberapa strain memiliki dua atau tiga flagela sebagaimana dilustrasikan pada Gambar 2.



Gambar 2 Struktur dan mekanisme pathogenic *P. aeruginosa* (Baron S, 1996).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap (Gambar 3) yaitu proses preparasi, preparasi medium dan isolat bakteri, uji pertumbuhan kualitatif pada limbah amoniak sintetis dan limbah kilang serta pengujian kinerja bakteri dengan potensi terbaik dalam mendegradasi senyawa amoniak dalam air limbah.



Gambar 3 Tahap pelaksanaan penelitian.

Persiapan Bahan dan Peralatan

Sampel air limbah yang digunakan pada penelitian ini berupa sampel sintetis dan sampel limbah riil yang berasal dari kilang minyak di wilayah Sumatera Selatan. Sampel sintetis merupakan simulasi/ air limbah model Industri migas dan petrokimia yang mengandung amoniak dengan konsentrasi 2600 ppm hingga 3000 ppm. Air limbah sintetis dilakukan karakterisasi sebelum proses pengolahan limbah cair. Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari sampel air limbah dan bahan-bahan kimia berupa amoniak, bahan kimia penunjang lainnya, ekstrak kamir, agar-agar bakto dan glukosa.

Peralatan yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi botol sampel, bottle stopper, coolbox, sample container, oil and water separator, water bath, erlenmeyer, petri disk, paper disk, cooler, incubator, shaker, analytical balance, gas chromatography dan drying bed.

Preparasi Medium dan Isolat Bakteri

Persiapan pembuatan media

Cawan petri, pinset, kertas saring, larutan larutan ammonia disterilisasi bersama dengan media uji. Komponen bahan media Zobell ditimbang sesuai kebutuhan. Pada tahapan pembuatan medium ini langkah kerja yang dilakukan antara lain :

1. Timbang komposisi yang dibutuhkan untuk membuat medium zobel, yang terdiri atas 5 gram pepton, 1 gram *yeast extract*, 0,012 gram K_2HPO_4 , dan 0,01 gram $FeSO_4$.
2. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam elermeyer, lalu dilarutkan dengan aquadest sampai volumenya menjadi 1000 mL.
3. Campuran dari komponen tersebut dipanaskan menggunakan *hot plate* sambil dilakukan proses homogenisasi dengan *magnetic stirrer*.
4. Setelah mendidih campuran disterilisasi dengan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit.
5. Medium yang telah distelisisasi kemudian dipersiapkan untuk dicampurkan dengan media amoniak sintetik yang telah ditentukan konsentrasinya

Pembuatan Molase 10%

1. Molase 10% dibuat dengan menggunakan gula pasir sebanyak 150 gram dan dilarutkan dengan 1500 mL volume aquadest.
2. Campuran dari komponen tersebut dipanaskan menggunakan hot plate sambil dilakukan proses homogenisasi dengan magnetic stirrer.
3. Campuran disterilisasi dengan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit.
4. Molase yang telah di sterilisasi kemudian digunakan sebagai sumber energi untuk bakteri.

Pembuatan Larutan Bakteri (Inokulum Starter)

1. Sterilkan jarum osse yang akan digunakan untuk mengambil bakteri dengan api bunsen
2. Masukkan bakteri sebanyak 5 osse kedalam 100mL medium zobel,
3. Medium yang telah terisi oleh bakteri kemudian dihomogenkan dengan cara dimasukkan ke dalam *inkubator shaker* dengan kondisi operasi 120 rpm dan $34^\circ C$, selama 24 jam.
4. Hitung populasi bakteri dalam 100 mL medium zobel dengan menggunakan alat haemocytometer.
5. Larutan yang telah dihomogenkan kemudian dicampur dengan 900mL medium zobel.
6. Campuran tersebut lalu diaerasikan dengan menggunakan aerator selama waktu generasi terpendek dari bakteri (kurang lebih 12 jam).

7. Hitung populasi bakteri dalam 1000 mL medium zobel dengan menggunakan alat *haemocytometer*.

Pembuatan Medium Starter

1. Campurkan inokulum starter sebanyak 10% dari total volume medium starter, medium zobel sebanyak 75% dari total volume medium starter, dan molase sebanyak 10% dari total volume medium starter ke dalam wadah besar yang telah disterilkan.
2. Campuran kemudian dihomogenkan dengan cara diaerasi selama waktu generasi terpendek dari bakteri (kurang lebih 12 jam).
3. Hitung populasi bakteri dalam 10000mL medium zobel dengan menggunakan alat haemocytometer.
4. Larutan medium starter ini siap digunakan sebagai dalam proses degradasi amoniak

Uji Pertumbuhan dengan limbah sintetis dan limbah kilang

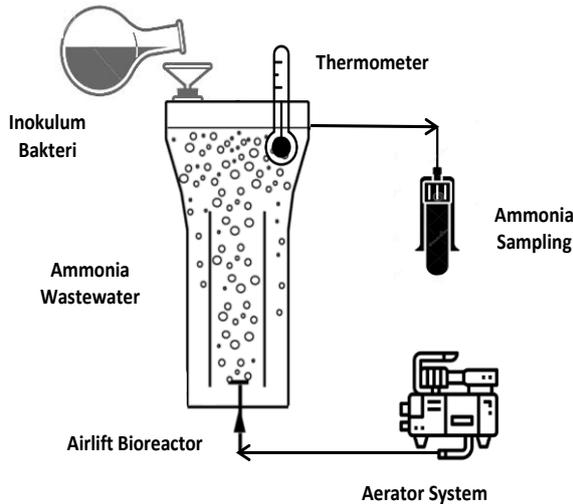
Air limbah sintetis diambil guna mengembangkan bakteri pendegradasi fenol dan amoniak. Air limbah sintetik akan digunakan memiliki konsentrasi 2700 hingga 3000 ppm. Untuk air limbah industri yang digunakan ialah sampel limbah pada unit Water Treatment plant (WTP) salah satu kilang minyak di wilayah Sumatera Selatan. Pada air limbah tersebut terdapat kandungan amoniak sebesar 69,86 – 92,51 mg/kg, fenol sebesar 3,85 – 4,75 mg/kg dan kadar COD sebesar 96 – 100 mg/kg.

Pada tahap awal uji pertumbuhan bakteri digunakan media Zobell padat, 8 bakteri uji, ammonia (NH_4Cl) (2600, 2700, 2800, 2900, 3000 ppm), kertas saring, aquades, alkohol, spritus, kapas, aluminium foil. Cawan petri, pinset, kertas saring, dan larutan ammonia disterilisasi bersama dengan media uji. Komponen bahan media Zobell ditimbang sesuai kebutuhan. Komponen media Zobell padat dibuat dengan komposisi (gram/liter) Bacto pepton 5, Yeast ekstrak 1, $FeSO_4$ 0,01, K_2HPO_4 0,012 dan Agar 18. Media selanjutnya dipanaskan sampai bahan-bahan larut dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 1 atm.

Kultur diinkubasi pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Kemudian dilakukan pengenceran mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-6} . Selanjutnya masing-masing pengenceran dikultur pada medium Plate Count Agar (PCA) pada cawan petri. Kultur pada cawan petri diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang. Masing-masing koloni yang tumbuh dimurnikan hingga diperoleh isolat bakteri indigen yang murni.

Pengujian kinerja bakteri pendegradasi amoniak

Susunan peralatan yang digunakan pada proses pengujian kinerja degradasi amoniak dapat dilihat pada Gambar 4 berikut. Komponen utama terdiri dari bioreactor yang berisi isolat bakteri dengan system aerasi dengan menggunakan aerator dengan daya 5 Watt, 2 lubang udara, dan laju alir 3.5 liter/menit. Pada pengujian ini, air limbah yang mengandung amoniak yang digunakan sebanyak 500 mL dengan rasio inoculum bakteri sebanyak 2,5 %. Proses terjadi secara batch selama 8 hari



Gambar 4 Diagram skematik *Bioreactor* yang digunakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pertumbuhan Bakteri pada Limbah Amoniak Sintetik

Pada tahap awal pengujian dilakukan uji pertumbuhan secara kualitatif terhadap bakteri isolat indigen yang diperoleh dari sampel limbah cair dari kilang minyak bumi, Pengamatan pertumbuhan tersebut kemudian dikategorikan menjadi 4 klasifikasi yaitu pertumbuhan koloni sedikit (+), pertumbuhan koloni sedang (++) , pertumbuhan koloni banyak (+++) dan pertumbuhan koloni sangat banyak (++++). Gambar 5, Gambar 6 dan Gambar 7 berikut merupakan dokumentasi sampel uji pertumbuhan dari tiga isolat bakteri pada konsentrasi amoniak sebanyak 2600, 2700, 2800, 2900 hingga 3000 ppm.



Gambar 5 Uji Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas fluorescens* pada amoniak sintetik 2600-3000 ppm.

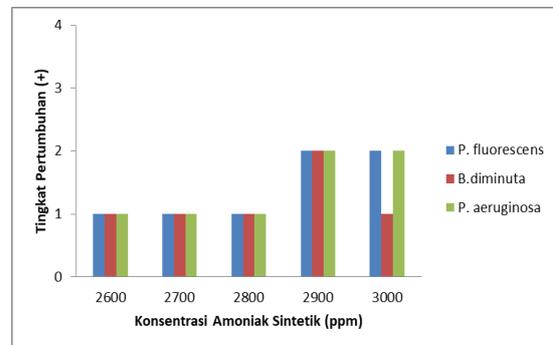


Gambar 6 Uji Pertumbuhan Bakteri *Brevundimonas diminuta* pada amoniak sintetik 2600-3000 ppm.



Gambar 7. Uji Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada amoniak sintetik 2600-3000 ppm

Berdasarkan 4 kategori pertumbuhan bakteri tersebut, maka hasil pengamatan tersebut disusun dalam bentuk grafik observasi hasil pengamatan kualitatif yang tertera pada Gambar 8.



Gambar 8 Hasil uji kualitatif pertumbuhan bakteri pada amoniak sintetik.

Pada grafik tersebut dapat diketahui perbandingan tingkat pertumbuhan bakteri pada berbagai konsentrasi amoniak dari 2600 ppm hingga 3000 ppm. Untuk bakteri *Pseudomonas fluorescens*, *Brevundimonas diminuta* dan *Pseudomonas aeruginosa* pertumbuhan koloni sedikit pada saat konsentrasi amoniak antara 2600 mg/L sampai 2800 mg/L sedangkan pertumbuhan sedang pada 2900 mg/L. Meskipun pertumbuhan ketiga jenis bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dengan banyak, namun hal ini mengindikasikan bahwa ketiga jenis bakteri tersebut masih dapat tumbuh pada konsentrasi amoniak yang cukup tinggi.

Hal ini kemungkinan disebabkan karena berdasarkan karakterisasi dan morfologi 3 jenis isolat bakteri yang digunakan merupakan golongan bakteri gram negatif yang yang mampu tumbuh pada kondisi medium yang mengandung amonia sesuai dengan media spesifik pertumbuhannya. Parameter faktor lingkungan menunjukkan bahwa suhu tertinggi pada saat dilakukan pengamatan yaitu 29°C dan suhu terendah pada suhu 24°C.. Kisaran suhu tersebut masih termasuk rentang

suhu yang diperlukan bakteri nitrifikasi dalam proses pertumbuhannya Suhu optimum yang diperlukan bakteri nitrifikasi adalah 28°C. Isolat *P. fluorescens* yang berasal dari sampel non-mamalia memiliki kisaran pertumbuhan permisif 4 hingga 32 ° C (Moore ERB, et al, 2006).

Parameter faktor lingkungan lainnya saat dilakukan pengamatan ialah kadar pH dengan kisaran 5,4 hingga 6,2. Kondisi ini berada di bawah kisaran pH yang dibutuhkan bakteri nitrifikasi, kadar pH yang rendah tersebut menyebabkan siklus pertumbuhan bakteri nitrifikasi menjadi terhambat. Bakteri nitrifikasi membutuhkan pH optimum 7,5-8,0 untuk mendukung pertumbuhannya. *B. diminuta* tumbuh sangat mudah dalam larutan pepton sederhana pada pH optimal sekitar 7 dan pada suhu optimal sekitar 35 ° C. 8 (Moore ERB, et al, 2006). Organisme ini tidak memfermentasi karbohidrat dan tidak menunjukkan aktivitas hemolisis, dan mengoksidasi etanol menjadi asam.

Uji Pertumbuhan Bakteri pada Sampel Air Limbah Industri

Setelah dilakukan pengamatan terhadap laju pertumbuhan isolat bakteri indigen terhadap limbah sintetik yang mengandung amoniak, tim peneliti selanjutnya melakukan pengamatan terhadap uji pertumbuhan bakteri hasil pengembangan lab Unsri serta isolat bakteri limbah pada medium limbah I yang berasal dari salah satu kilang minyak di wilayah Sumatera Selatan . Hasil analisa limbah kilang yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 2 berikut

Tabel 2 Hasil analisa limbah kilang.

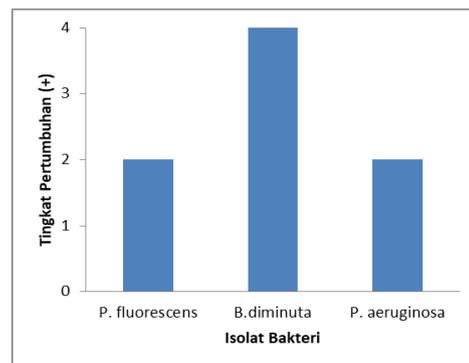
No	Parameter	Satuan	Hasil (3 sampel)	Metode
1	Phenol	mg/kg	3,85 – 4,75	Spektrofotometri
2	Ammonia	mg/kg	69,86 – 92,51	Spektrofotometri (Ion selective meter)
3	COD	mg/kg	96 - 100	COD meter

Tabel 3 berikut merupakan dokumentasi sampel uji pertumbuhan dari tiga isolat bakteri pada limbah kilang minyak mengandung unsur amoniak sebagai berikut.

Tabel 3 Hasil uji pertumbuhan di limbah kilang.

No	Isolat Bakteri	Uji Pertumbuhan pada medium limbah kilang	Keterangan
1	<i>P. fluorescens</i>		Koloni bakteri tumbuh cukup baik (sedang) meskipun agak tipis. (++)
2	<i>Brevundimonas diminuta</i>		Koloni bakteri tumbuh sangat baik dan tebal. (++++)
3	<i>P. aeruginosa</i>		Koloni bakteri tumbuh cukup baik (sedang) meskipun agak tipis. (++)

Seperti halnya pengamatan pada medium amoniak sintetik, pengamatan pada air limbah juga dikelompokkan dalam 4 kategori pertumbuhan. Hasil pengamatan tersebut disusun dalam bentuk grafik observasi hasil pengamatan kualitatif yang tertera pada Gambar 8.



Gambar 8 Hasil uji kualitatif pertumbuhan bakteri pada limbah kilang yang mengandung amoniak.

Hal ini dikarenakan ketersediaan senyawa organik yang banyak dalam limbah serta kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhannya. Tersedianya senyawa organik dan substrat yang cukup juga berperan dalam peningkatan jumlah bakteri dalam limbah (Mc Carty dan Haug, 1971). Dari hasil uji pertumbuhan awal tersebut, dari 3 jenis isolat bakteri petrofilik , ternyata *B.diminuta* menunjukkan tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan dengan 2 jenis bakteri lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa *B.diminuta* menunjukkan hasil yang lebih potensial dalam mendegradasi unsur amoniak dalam air limbah. Oleh sebab itu pada tahap lanjutan, proses pengamatan hanya dilanjutkan dengan menggunakan *B.diminuta* pada *airlift bioreactor* untuk mengamati kemampuan bakteri tersebut dalam mendegradasi amoniak dalam air limbah.

Pengujian Kinerja Pertumbuhan Bakteri dalam mendegradasi senyawa amoniak

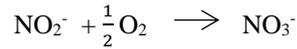
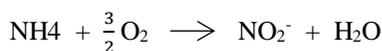
Pada tahap selanjutnya, *B. diminuta* diuji menggunakan sampel air limbah kilang dengan kadar amoniak yang lebih tinggi sebesar 750,48 mg/kg selama 8 hari. Hasil pengamatan dapat dilihat pada grafik penurunan kadar amoniak sebagaimana Gambar 9. Bakteri *Brevundimonas diminuta*, menunjukkan bahwa makin lama proses degradasi, maka konsentrasi amoniak dalam air limbah makin menurun. Penurunan yang signifikan terjadi dalam dua tahap. Pada tahap pertama penurunan yang signifikan terjadi pada hari ketiga setelah awalnya terjadi kenaikan kadar amoniak pada hari pertama. Kadar amoniak berkurang pada pada tahap pertama di hari ketiga menjadi 302,08 mg/L atau berkurang sebanyak 59,74%. Selanjutnya di hari keempat meningkat kembali hingga hari keenam dan berkurang kembali hingga hari kedelapan. Penurunan kadar amoniak yang tertinggi terjadi pada hari kedelapan hingga kadarnya menjadi 84,015 mg/L atau berkurang sebesar 88,81%.



Gambar 9 Uji degradasi amoniak pada limbah kilang minyak dengan Bakteri *Brevundimonas diminuta*.

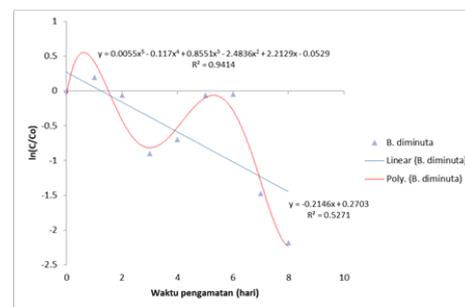
Pada umumnya proses degradasi amonia yang terjadi secara mikrobiologis melalui tahapan proses nitrifikasi dan denitrifikasi Namun demikian, bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik sangat sensitif terhadap faktor lingkungan dan tumbuh sangat lambat sehingga populasinya di dalam lumpur aktif seringkali terkompetisi oleh mikroorganisme heterotrofik. Mikroba nitrifikasi pada umumnya bersifat autotrofik atau miksotrofik (Laanbroek et al. 1994)

Dalam proses nitrifikasi terjadi dua tahapan reaksi, yaitu oksidasi amonium menjadi nitrit dan oksidasi nitrit menjadi nitrat. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut :



Dari studi yang dilakukan, diketahui bahwa aktivitas oksidasi amonia menjadi nitrit dari isolat bakteri *B. diminuta* menunjukkan bahwa isolat tersebut bersifat heterotrofik, karena mampu memanfaatkan senyawa organik sebagai sumber karbonnya. 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. Hal lainnya yang mendukung dugaan bahwa isolat bakteri tersebut adalah bakteri pengoksidasi amonia yang bersifat heterotrofik ialah rendahnya aktivitas oksidasi amonium menjadi nitrit. Seperti dikemukakan Ambarsari (1999) bahwa bakteri nitrifikasi heterotrofik mempunyai aktivitas yang jauh lebih rendah dibandingkan bakteri yang bersifat autotrofik. Berbeda dengan bakteri nitrifikasi yang bersifat autotrofik, sebagian besar bakteri heterotrofik akan mengeluarkan nitrit atau nitrat jika fase pertumbuhannya telah aktif (Doxtader dan Alexander, 1966; Obaton et al., 1968; Verstraete dan Alexander, 1972). Dilaporkan juga bahwa beberapa bakteri heterotrofik, seperti *P. pantotropha* dan *Alcaligenes faecalis* hanya mampu mengoksidasi ammonium menjadi hydroxylamine (Otte et al., 1999).

Jika hasil pengamatan tersebut disajikan dalam bentuk laju penurunan kadar amoniaknya, maka hal tersebut dapat terlihat pada Gambar 10 berikut. Pada grafik tersebut, dapat diketahui bahwa jika dilakukan proses linearisasi terhadap laju penurunan kadar amoniak yang dinotasikan sebagai $\ln\left(\frac{C}{C_0}\right)$ akan diperoleh persamaan $y = -0.2146x + 0.2703$ namun dengan hasil $R^2 = 0.5271$. Tentu saja, baik secara grafis maupun hasil analisis R^2 yang belum mendekati 1, menunjukkan bahwa persamaan prediksi laju penurunan kadar amoniaknya masih belum tepat jika dirumuskan dalam bentuk persamaan liner.



Gambar 10 Laju penurunan kadar amoniak.

Setelah dilakukan proses *trial and error*, maka diperoleh persamaan penurunan laju penurunan kadar

amoniak terhadap fungsi waktu berupa persamaan *polynomial* sebagai berikut :

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = 0.0055x^5 - 0.117x^4 + 0.8551x^3 - 2.4836x^2 + 2.2129x - 0.0529$$

Hasil uji terhadap nilai R² yang diperoleh sudah mendekati 1 yaitu R² = 0.9414 sehingga persamaan polinomial tersebut dapat digunakan sebagai prediksi laju penurunan kadar amoniaknya terhadap fungsi waktu.

KESIMPULAN

Berdasarkan studi yang telah dilakukan terhadap isolat bakteri petrofilik berupa *Pseudomonas fluorescens*, *Brevundimonas diminuta*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, hanya 1 jenis bakteri yaitu *Brevundimonas diminuta* yang menunjukkan tingkat pertumbuhan yang baik dibandingkan dengan isolat lainnya jika diuji dengan limbah amoniak sintetik maupun air limbah kilang. Pada tahap lanjutan dengan menggunakan sampel air limbah kilang yang mengandung kadar amoniak yang lebih tinggi sebesar 750,48 mg/kg, *Brevundimonas diminuta* menunjukkan kemampuan untuk mendegradasi amoniak secara signifikan. Penurunan kadar amoniak yang signifikan menjadi 84,015 mg/kg atau berkurang sebesar 88,81% terjadi pada hari kedelapan penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa *Brevundimonas diminuta* potensial dikembangkan sebagai isolat bakteri yang mampu menurunkan kadar amoniak pada limbah industri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianto, G. dkk (2014). Proses Penyisihan Ammonia dengan menggunakan lumpur aktif dan Ceratophylum Demersium serta Mikroalga Jenis Chloropyta. http://eprints.undip.ac.id/36737/1/39.PR_OSES_PENYISIHAN_AMMONIA.pdf
- Brittan S. Scales, et al (2014). Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* Species Complex, an Unappreciated Colonizer of Humans. *Clinical Microbiology Review*. 2014 Oct; 27(4): 927–948.
- Buchanan, R.E. & N.E. Gibbons (CoE) (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th. Ed. S.T. Cowan, J.G. Holt, J. Liston, R.G.E. Murray, C.F. Niven, A.W. Ravin & R.Y. Stanier (Eds.). Baltimore.
- Fardiaz, S (1992) *Mikrobiologi Pangan I*, Gramedia Pustaka, Jakarta.
- Han, X., and Andrade, R. (2005). *Brevundimonas diminuta* infections and its resistance to fluoroquinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55 (6): 853-859. <http://jac.oxfordjournals.org/content/55/6/853.full>
- Iglewski, BH (1996). *Medical Microbiology*. 4th edition : Chapter 27 *Pseudomonas*, Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston
- Lee, S., Lee, S., and Kim, C. (2002). "Changes in the Cell Size of *Brevundimonas diminuta* Using Different Growth Agitation Rates". "PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology". 56 (2): 99-108. <http://journal.pda.org/content/56/2/99.short>
- Leifson, E., and Hugh, R. (1954). A New Type of Polar Monotrichous Flagellation. *Microbiology*. 10: 68-70. <http://mic.sgmjournals.org/content/10/1/68.full.pdf+html>
- Mc Carty PL, Haug R, (1971). Nitrogen Removal from Wastewater by Biological Nitrification and Denitrification. Society for applied bacteriological symposium series no.1. microbial aspect of pollution. Academic Pr.London
- Moore ERB, Tindall BJ, Dos Santos VAPM, Pieper DH, Ramos JL, Palleron NJ. (2006). Nonmedical: *Pseudomonas*, p 646–703 In Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. (ed), *Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*, vol 6, 3rd ed. Springer, New York, NY
- Munawar and M. Said (2007). Role of Nutrient and Bacteria in Reduction of Oil in Bioremediation of Wastewater from Oil Refinery Industry. The 14th Regional Symposium Chemical Engineering. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Munawar, M. Said, B. Yudono, dan S.P. Estuningsih (2007). Penggunaan bakteri indigenous dalam proses bioremediasi ex situ pada tanah terkontaminasi minyak akibat semburan liar sumur betun 01. Seminar Penanganan Kontaminasi Lahan. Kementerian Lingkungan Hidup. Jakarta Convention Center.
- Munawar, Aditiawati P, & Astuti DI, (2012). Sequential Isolation of Saturated, Aromatic, Resinic And Asphaltic Fractions Degrading Bacteria From Oil Contaminated Soil In South Sumatra. *Makara Journal of Science*. 16(1): 58–64.
- Nainggolan, T.A, dkk (2015) Bakteri Pendegradasi Amonia Limbah Cair Karet Pontianak Kalimantan Barat, *Protobiont* (2015) Vol. 4 (2) : 69-76 <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jprb/article/download/11758/11043>

- Nusa Idaman, dkk (2014). Penghilangan Amoniak di dalam Air Limbah Domestik dengan Proses Moving Bed Biofilm Reaktor (MBBR), JAI Vol 7 No.1 from <https://media.neliti.com/media/publications/243873-penghilangan-amoniak-di-dalam-air-limbah-ddcaffc1.pdf>
- Ryan,MP, et al (2018) Brevundimonas spp: Emerging global opportunistic pathogens, Virulence. 2018; 9(1): 480–493.Published online 2018 Feb 27. doi: 10.1080/21505594.2017.1419116 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5955483/>
- Segers, P., Vancanneyt, M., Pot, B., Torck, U., Hoste, B., Dewettinck, D., Falsen, E., Kersters, K., and De Vos, P. (1994).Classification of Pseudomonas diminuta Leifson and Hugh 1954 and Pseudomonas vesicularis Busing, Doll, and Freytag 1953 in Brevundimonas gen. nov. as Brevundimonas diminuta comb. nov. and Brevundimonas vesicularis comb. nov., Respectively. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 44(3): 499-510. <http://ijs.sgmjournals.org/content/44/3/499.full.pdf+html>
- Thouand G, Bauda P, Oudot J, Kirsch G, Sutton C, & Vidalie JF (1999). Laboratory evaluation of crude oil biodegradation with commercial or natural microbial inocula. Can. J. Microbiol; 45: 106–115
- Zhu X, Venosa AD & Suidan MT (2004). Literature review on the use of commercial bioremediation agents for cleanup of oil-contaminated estuarine environments. Cincinnati: Environmental Protection Agency.