

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Peningkatan pemakaian bahan bakar fosil dan tingginya penggunaan nitrogen di bidang pertanian dan industri menunjukkan bahwa umat manusia terus mengubah siklus N global menjadi tinggi. Bahkan, menurut Vitousek et al., (1997) pada tahun 2030, diperkirakan jumlah nitrogen akan melebihi kemampuan proses mikroba dalam mempertahankan keseimbangan siklus nitrogen global. Perubahan tersebut akibat dari masuknya sejumlah besar nitrogen antropogenik ke lingkungan. Sejumlah besar nitrogen antropogenik hilang ke lingkungan dan menyebabkan berbagai masalah, misalnya peningkatan kadar nitrat dalam air tawar dan peningkatan produksi oksida nitrat, yang dapat meningkatkan perubahan iklim global (Duce et al., 2008). Oleh karena itu, informasi tentang mikroba yang terlibat dalam transformasi nitrogen perlu diketahui dan dipahami untuk menangkal efek negatif dari polusi nitrogen. Salah satu mekanisme terbaru pada siklus nitrogen yaitu oksidasi amonium secara anaerob (*anaerobic ammonium oxidation/anammox*).

Anammox adalah proses konversi amonium menjadi gas nitrogen dengan nitrit sebagai penerima elektron pada keadaan anoksik oleh bakteri anammox yang merupakan golongan Filum *Planctomycetes* (Jetten et al., 2005). Sejak penemuannya pada tahun 1995, proses anammox dalam siklus nitrogen biologis belum sepenuhnya dieksplorasi. Seiring berkembangnya teknologi *sequencing* dan penyempurnaan metoda molekuler dalam identifikasi mikroorganisme, semakin banyak keberadaan mikroorganisme di lingkungan yang berperan dalam proses anammox terungkap. Hal ini menunjukkan bahwa masih banyak mikroorganisme di lingkungan yang berperan dalam proses anammox yang masih tersembunyi dan belum sepenuhnya tereksplorasi. Beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi distribusi dan komposisi komunitas anammox, adalah kandungan amonium, salinitas, suhu, dan rasio karbon/nitrogen organik (C/N). Saat ini, terdapat 7 genus anammox yang diakui secara global, yaitu *Candidatus Brocadia* (Kartal et al., 2008), *Candidatus Kuenenia* (Schmid et al., 2000), *Candidatus Scalindua* (Van De Vossenberg et al., 2008), *Candidatus Anammoxoglobus* (Kartal et al., 2007),

Candidatus Jettenia (Quan et al., 2008), *Candidatus Brasilis* (Viancelli et al., 2011), dan *Candidatus Anammoximicrobium* (Khramenkov et al., 2013) dengan jumlah total dari setiap genus adalah 24 spesies (Miao et al., 2019). Anammox dapat ditemukan pada habitat alami maupun habitat buatan seperti, sungai, danau, muara, akuifer air tanah, lahan basah, sawah, *everglades*, tanah dan perairan asin (Qian et al., 2018).

Nitrogen anorganik adalah salah satu nutrisi utama di perairan asin yang dapat membatasi produktivitas produsen. Amonium dapat berasimilasi, tetapi dapat juga digunakan sebagai sumber energi ketika dioksidasi pertama kali menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat dalam proses nitrifikasi. Nitrit dan nitrat selanjutnya dapat direduksi menjadi gas nitrogen di zona suboksik dengan oksidasi amonium anaerob (anammox) atau denitrifikasi. Saat ini sedikit informasi tentang bagaimana dan sejauh mana berbagai kelompok bakteri siklus nitrogen berkontribusi pada siklus biogeokimia nitrogen di ekosistem perairan asin. Pada tahun 2003, bukti langsung penemuan pertama bakteri anammox di cekungan anoksik terbesar di dunia yaitu Laut Hitam. Sejak itu penelitian lanjutan telah menunjukkan bahwa bakteri anammox memainkan peran dominan dalam penyisihan nitrogen dalam sistem *upwelling* di Benguela dan Peru.

Indonesia memiliki potensi ditemukannya bakteri anammox spesies baru karena memiliki iklim tropis yang terkenal dengan keanekaragaman hayati dan kaya akan keanekaragaman mikroba. Penelitian tentang anammox masih sangat terbatas di Indonesia dibandingkan dengan perkembangan penelitian yang sangat pesat di dunia (Zulkarnaini, 2020). Sampai tahun 2018 belum ada informasi tentang kelompok penelitian khusus anammox yang berkelanjutan dan menghasilkan publikasi di skala nasional maupun internasional. Terdapat satu penelitian yang dipublikasikan oleh Agustina, et al. (2017) tentang aplikasi proses anammox untuk penyisihan nitrogen pada suhu rendah di Indonesia menggunakan bakteri anammox *strain* KSU-1 yang berasal dari *Osaka University*, Jepang. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa proses anammox mampu berlangsung pada suhu tropis dengan tingkat penyisihan nitrogen maksimum 1,05 kg-N/m³.h, akan tetapi penelitian ini tidak berlanjut (Zulkarnaini, 2020). Putra et al., (2020)

pertama kalinya di Indonesia melakukan kultivasi bakteri anammox dengan sumber inokulum dari lumpur Telaga Kotobaru menggunakan reaktor FtBR dimana kondisi operasional proses inkubasinya dilakukan pada suhu ambien dan suhu 35°C dengan HRT 24 jam. Kinerja penyisihan nitrogen maksimal pada kedua reaktor tersebut secara berturut-turut adalah 92,03% dan 91,92% (Putra *et al.*,2020). Percobaan ini berhasil mengidentifikasi 4 spesies bakteri anammox yakni *Ca. Brocadia fulgida*, *Ca. Brocadia caroliniensis*, *Ca. Brocadia sinica* dan *Ca. Anammoxoglobus propionicus* (Putra *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya tersebut, memperlihatkan keanekaragaman bakteri anammox di Indonesia, sehingga ada potensi untuk mendapatkan spesies baru bakteri anammox di lingkungan Indonesia. Maka penelitian ini melakukan eksplorasi, kultivasi dan identifikasi bakteri anammox di daerah muara. Sampel yang menjadi inokulum adalah lumpur Muaro Penjalinan Kota Padang, Sumatera Barat yang berada pada perairan asin. Mengacu kepada penelitian terdahulu dimana Zhang *et al.*, (2015) menyatakan bahwa reaktor anammox biofilm sebagai reaktor *start-up* yang *powerfull* bagi sampel yang berupa *activated sludge*. Selain itu, proses anammox dengan *non-granular sludge* lebih cocok digunakan untuk investigasi lebih dalam terhadap mikroorganisme (Tikilili, 2016). Dalam penelitian ini, kultivasi dilakukan pada FtBR pada suhu ambien dengan rentang salinitas substrat 29,7-32,4 ppt sampai fase eksponensial penyisihan nitrogen. Setelah terjadinya fase eksponensial penyisihan nitrogen salinitas substrat diturunkan menjadi 10 ppt untuk melihat pengaruh salinitas terhadap efisiensi penyisihan nitrogen. Penelitian ini diharapkan menjadi langkah awal bagi peneliti lain di Indonesia dalam mengembangkan bakteri anammox dari ekosistem perairan asin.

I.2 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menyelidiki potensi dari keberadaan bakteri yang terlibat dalam proses anammox pada ekosistem air asin untuk mencapai penyisihan nitrogen yang tinggi yang dapat dengan mudah beradaptasi sesuai dengan kondisi iklim di Indonesia. Untuk mencapai maksud tersebut maka beberapa tujuan dalam penelitian yang ingin dicapai adalah :

- 1) Kultivasi kultur bakteri yang diperkaya dengan kondisi sesuai metoda pengayaan anammox dengan lumpur Muaro Penjalinan Kota Padang sebagai inokulum menggunakan FtBR.
- 2) Menganalisis kinerja penyisihan nitrogen dalam FtBR yang menggunakan Lumpur Muaro Penjalinan Kota Padang sebagai inokulum.
- 3) Menganalisis pengaruh perbedaan salinitas terhadap kinerja penyisihan nitrogen dalam FtBR.
- 4) Mengidentifikasi komunitas mikroba dengan metoda *Next Generation Sequencing* (NGS) menggunakan *Illumina Miseq Sequencing*.

I.3 Manfaat Penelitian

Adapun dari penelitian yang dilakukan diharapkan adanya manfaat baik bagi menambah ilmu pengetahuan, ataupun dapat menjadi langkah awal bagi penelitian selanjutnya. Manfaat Penelitian yang diharapkan antara lain:

- 1) Menjadi acuan awal bagi penelitian pencarian jenis bakteri anammox baru yang berasal dari lingkungan tropis pada ekosistem air asin.
- 2) Mendapatkan spesies anammox yang mampu beradaptasi di lingkungan tropis sehingga dapat menjadi alternatif baru untuk pengolahan limbah nitrogen/amonium pada ekosistem perairan asin.

I.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada Tesis ini adalah:

- 1) Percobaan menggunakan inokulum dari lumpur dari Muaro Penjalinan Kota Padang;
- 2) Percobaan menggunakan *string wound filter cartridge* $0,5 \mu\text{m}$ sebagai media lekat dalam *filter bio-reactor* (FtBR) secara kontinu;
- 3) Percobaan ini dilakukan dengan 2 tahapan, tahapan pertama menggunakan substrat dari air laut dengan rentang salinitas 29,7-32,4 ppt sampai fase eksponensial penyisihan nitrogen dan tahapan kedua setelah fase eksponensial menggunakan substrat dengan salinitas 10 ppt.
- 4) Konsentrasi amonium dan nitrit 70 mg-N/L pada tahapan pertama dan tahapan kedua.

- 5) Kondisi operasional reaktor terjadi pada suhu ambien pada tahap 1 dan tahap 2.
- 6) Metoda analisis parameter uji $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, dan $\text{NO}_3^-\text{-N}$ menggunakan Spektrofotometri.
- 7) Analisis kinerja penyisihan nitrogen dengan parameter *ammonium conversion efficiency* (ACE), *nitrogen removal efficiency* (NRE), *nitrogen loading rate* (NLR) dan *nitrogen removal rate* (NRR).
- 8) Analisis mikrobiologi menggunakan *Illumina MiSeq Sequencing*, pengukuran dilakukan di *Kanazawa University*.

I.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan tesis ini adalah:

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini terdiri dari latar belakang, maksud dan tujuan penelitian, manfaat penelitian, batasan masalah penelitian dan sistematika penulisan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini membahas tentang siklus biologi nitrogen, dampak lingkungan terhadap pencemaran nitrogen, penyisihan nitrogen pada instalasi pengolahan air limbah (IPAL), nitrifikasi-denitrifikasi konvensional, teknologi inovatif dan keberlanjutan pada penyisihan nitrogen secara biologis, proses anammox, deteksi dan identifikasi bakteri anammox, eutrofikasi, reaktor kultivasi anammox, parameter kinerja dalam proses anammox, penelitian terdahulu tentang kultivasi proses anammox, aplikasi proses anammox, dan teori-teori pendukung lainnya yang berkaitan dengan penelitian.

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menjelaskan lokasi dan waktu penelitian, tahapan penelitian yang dilakukan seperti persiapan bakteri, media lekat, substrat, pemasangan instalasi penelitian, percobaan dan pengoperasian reaktor serta metoda analisis di laboratorium.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini berisikan hasil penelitian disertai dengan pembahasan seperti *start-up*, stoikiometri, konsentrasi nitrogen selama pengoperasian, faktor penghambat, kinerja penyisihan nitrogen, salinitas, dan pengujian komunitas mikroba dan lain-lain.

BAB V PENUTUP

Bab ini terdiri dari kesimpulan dan saran berdasarkan pembahasan yang telah diuraikan pada bab IV.

