

PERKEMBANGAN BIOFILM NITRIFIKASI DI FIXED BED REACTOR PADA SALINITAS TINGGI

Sudarno

Program Studi Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik UNDIP, Jl. Prof. H. Sudarto SH Tembalang Semarang
Email: sudarno_utomo@undip.ac.id

ABSTRACT

Development of nitrification biomass that is growing attached on carried material was examined by measuring its ammonium or nitrite oxidation rates. Porous ceramic rings (36 pieces) were put into the fixed bed reactor (FBR). The fixed bed reactor that was operated continuously for more than 500 day was continued to be operated at a HRT of 1 day, a DO of above 5 mg L^{-1} and pH of 8. Ammonia concentration in the feeding was $50 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N L}^{-1}$. At days 1, 5, 12, 20, 33 and 50, six porous ceramic rings were taken out and then ammonia and nitrite removal rate by biofilm in the ceramic rings was separately measured. The measurement of rates was done in small cylindrical glass reactors with initial concentration of ammonia and nitrite was 10 mg N L^{-1} . Until 50 days of incubation AORs were always higher than NORs. Additionally, ammonia oxidizers attach or grow faster in the porous ceramic material than nitrite oxidizers.

Keywords: saline wastewater, Ammonium Oxidizing Bacteria, Nitrite Oxidizing Bacteria, biofilm

PENDAHULUAN

Eutrofikasi menggambarkan suatu kondisi badan air yang mempunyai kandungan nutrisi tinggi khususnya senyawa nitrogen dan fosfor. Kandungan nutrisi yang berlebih tersebut akan menstimulasi pembentukan biomassa melalui *algae blooms*, yang dapat menghasilkan senyawa beracun dan juga membawa kondisi *anaerob* dalam ekosistem air. Eutrofikasi tidak hanya terjadi dalam perairan air tawar melainkan juga di ekosistem air asin. Nutrisi dari air limbah yang dibuang ke badan air dapat menstimulasi proses eutrofikasi. Buangan air limbah, baik domestik maupun industri, harus diolah terlebih dahulu sampai memenuhi baku mutu, sebelum dialirkan ke badan air. Beberapa industri seperti industri kulit dan pengolahan hasil laut, menghasilkan limbah dengan karakteristik, yakni kandungan ammonium yang tinggi dan salinitas yang tinggi. Penyisihan ammonium melalui proses nitrifikasi untuk air limbah mengalami kendala bila dilakukan dengan proses nitrifikasi konvensional dimana bakteri yang digunakan adalah bakteri air tawar.

Bakteri nitrifikasi adalah bakteri *autotroph* yang tumbuh sangat lambat. Bakteri ini sering menjadi faktor pembatas dalam penyisihan nitrogen secara biologi. Kecepatan

pertumbuhan dari bakteri nitrifikasi ini hampir 10 kali lebih lambat dibanding dengan bakteri heterotrop. Pada kondisi lingkungan dengan kandungan garam tinggi, bakteri akan memerlukan energi tambahan untuk fiksasi karbon dan untuk mempertahankan tekanan osmotik. Konsekuensinya adalah semua bakteri yang tumbuh dalam lingkungan dengan kadar garam tinggi mempunyai sedikit energi untuk pertumbuhan.

Penyisihan polutan secara biologi selama pengolahan air limbah dapat dilakukan dengan pertumbuhan tersuspensi dan pertumbuhan melekat. Bagi proses biologi yang dilakukan oleh bakteri dengan laju pertumbuhan yang lambat seperti bakteri nitrifikasi, pertumbuhan melekat pada material pendukung-substratum, dapat membentuk biofilm yang cukup banyak untuk dapat menyisihkan ammonium.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pola pertumbuhan bakteri (biofilm bakteri) yang menyisihkan ammonium menjadi nitrit, dan bakteri yang menyisihkan nitrit ke nitrat ditinjau dari kemampuannya menyisihkan ammonium dan nitrit.

Studi Pustaka

Kelebihan pertumbuhan melekat dan pembentukan biofilm bagi pengolahan air limbah dapat dirangkum sebagai berikut:

- Kepadatan populasi bakteri yang tinggi dapat dipertahankan, karena bakteri menempel pada material dan tidak ikut melimpas ke effluen.
- Peningkatan kinerja sistem dapat dicapai karena konsentrasi biomass yang tinggi.
- Resisten terhadap shock loading dan recovery yang lebih bagus sebagai hasil dari fungsi proteksi dari extra polymeric substance (EPS) yang menempel pada biofilm.
- Pengembalian lumpur aktif untuk meningkatkan aktifitas bakteri pada sistem reaktor pertumbuhan tersuspensi tidak dibutuhkan dalam reaktor biofilm, sehingga dapat mengurangi biaya pengoperasian.

Kerugian dari pertumbuhan melekat diantaranya adalah:

- Terhambatnya transfer massa, contohnya adalah transfer oksigen atau substrat melalui lapisan EPS dapat menghambat pertumbuhan mikrobiologi di dasar biofilm
- Resiko dari penyumbatan ketika reaktor tidak didesain dan dioperasikan secara baik
- Sulitnya evaluasi kinetika proses karena interaksi yang kompleks antaran biofilm dan cairan
- Tidak seragamnya distribusi substrat dan populasi biomass karena sulitnya sistem pengadukan
- Perkembangan mikroorganisme yang menempel pada substratum dipengaruhi oleh beberapa faktor, meliputi pori pori dan karakteristik permukaan substratum. Material material yang dapat digunakan sebagai substratum dicirikan sebagai berikut:
- Sifat material : proses fisik dan biologi dalam reaktor tidak merusak sifat dari material pendukung tersebut, begitu juga sebaliknya.
- Kekasaran permukaan: kekasaran mewakili jumlah dan ukuran celah celah dimana mikroorganisme dapat mengawali pertumbuhan tanpa gangguan gaya geser aliran air.
- Posositas material: porositas material yang tinggi menghasilkan angka pori yang tinggi dan bisa mengurangi resiko penyumbatan
- Specific surface area: angka *specific surface area* yang tinggi menyediakan

tempat yang berlebih bagi pertumbuhan mikroorganisme

Kandungan garam yang tinggi dalam air limbah akan menghasilkan satu tekanan osmotik yang rendah di dalam sel dan satu peningkatan konsentrasi garam di cytoplasma. *Membrane* cytoplasma yang bersifat *permeable* dapat ditembus oleh air dari luar. Pada kondisi lingkungan air dengan kadar garam yang normal maka tekanan osmotik di luar dan di dalam sel sama, dan akan terwujud keseimbangan tekanan. Jika kandungan garam diluar sel sangat tinggi, maka tekanan osmotiknya juga tinggi, menghasilkan aliran air yang berlebih dari luar ke dalam sel. Akibatnya volume air dalam cytoplasma akan berlebih dan dinding selnya akan rusak, karena tidak mampu menampung jumlah air.

Sebaliknya, mikroorganisme yang hidup dalam lingkungan salinitas yang tinggi harus mempertahankan kandungan air intraselularnya cukup tinggi bagi aktifitas selnya jika ditempatkan dalam lingkungan air dengan salinitas normal (rendah), jika tidak tekanan osmosis akan mencegah aktifitas metaboliknya. Air dari dalam sel akan menembus membran sel dan mengalir keluar, sehingga dalam sel akan kering.

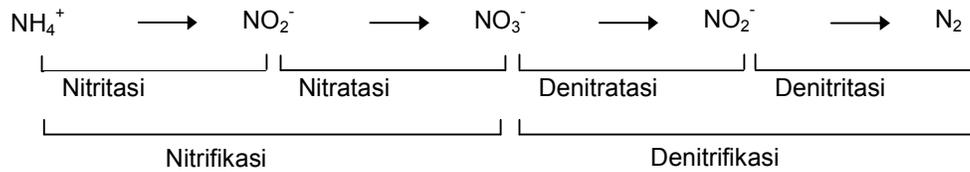
Bakteri yang ditemukan dalam air laut ataupun lumpur air laut mempunyai kandungan garam yang tinggi di dalam selnya. Jenis bakteri yang ditemukan dalam lingkungan tersebut mungkin dapat menyisihkan senyawa-senyawa nitrogen dalam air limbah yang kandungan garamnya tinggi.

Penyisihan nitrogen selama pengolahan air limbah perlu dilakukan untuk menghindari:

- Kondisi anaerobik dari badan air penerima
- Eutrofikasi dari air permukaan
- Efek dari ammonium, nitrit dan nitrat dalam badan air penerima mengacu pada toksisitas terhadap ikan dan biota
- Kebutuhan desinfektan – klorine bagi penerapan penggunaan kembali air limbah menjadi air bersih

Proses Penyisihan Nitrogen

Penyisihan nitrogen secara biologi biasanya dicapai dengan proses nitrifikasi dan denitrifikasi secara berurutan. Selama nitrifikasi ammonium dioksidasi menjadi nitrat melalui nitrit yang lalu direduksi menjadi gas nitrogen melalui proses denitrifikasi, sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Proses Nitrifikasi dan Denitrifikasi

Nitrifikasi berlangsung dalam dua tahap oksidasi yang berurutan: oksidasi ammonium menjadi nitrit (nitritasi) dan oksidasi nitrit menjadi nitrat (nitratasi) dengan oksigen. Setiap tahapan dilakukan oleh genus bakteri yang berbeda yakni contohnya Nitrosomonas, Nitrosococcus untuk nitritation dan Nitrobacter, Nitrospira untuk nitratasi. Bakteri tersebut memanfaatkan ammonium atau nitrit sebagai sumber energi, oksigen sebagai elektron acceptor dan karbon dioksida sebagai sumber karbon.

Faktor yang Mempengaruhi Nitrifikasi

Ada banyak faktor kimia dan biologi yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan lalu mempengaruhi kinerja dari bakteri nitrifikasi. Faktor yang paling utama dapat diklasifikasikan menjadi tiga katagori utama, sebagaimana dirangkum oleh Chen *et al.* (2006).

- Kategori pertama meliputi semua yang mempengaruhi proses biokimia dari mikroorganisme seperti pH, temperatur dan salinitas.
- Katagori kedua meliputi semua yang mempengaruhi suplai nutrisi ke biofilm seperti konsentrasi substrate, DO dan juga keseragaman pengadukan.
- Katagori ketiga meliputi semua yang punya dampak terhadap pertumbuhan dan suplai nutrisi seperti kompetisi terhadap nutrisi utama, kompetisi terhadap lokasi tumbuh.

Pertumbuhan Bakteri Tersuspensi dan Melekat

Prinsipnya, proses biologi yang diaplikasikan dalam pengolahan air limbah dapat dibagi menjadi dua katagori utama: pertumbuhan tersuspensi dan pertumbuhan melekat. Pada proses pertumbuhan tersuspensi, mikroorganisme yang bertanggung jawab bagi pengolahan air limbah dipertahankan dalam kondisi tersuspensi dalam cairan dengan metode pengadukan

yang merata, seperti pada proses lumpur aktif bagi penyisihan BOD dan nitrifikasi serta penyisihan fosfor.

Pada proses pertumbuhan melekat, mikroorganisme yang bertanggung jawab bagi konversi dari material organik atau nutrisi menempel pada satu substratum. Senyawa organik dan nutrisi disisihkan dari air limbah selama mengalir melewati mikroorganisme yang menempel pada substratum tersebut atau yang dikenal sebagai biofilm.

Nama nama yang sudah dikenal bagi proses tersebut yang menggunakan bakteri tersuspensi aerobik atau anaerobik adalah proses lumpur aktif, kolam aerasi, kolam stabilisasi dan *Continuously Stirred Tank Reactor* (CSTR) dan bagi proses pertumbuhan melekat adalah *Trickling Filter*, *Rotating Biological Contactor* (RBC), *Up flow Anaerobic Sludge Blanket* (UASB) dan lain lain.

Pertumbuhan Tersuspensi

Dalam reaktor jenis ini maka mikroorganisme dipertahankan dalam kondisi tersuspensi dengan menyediakan pengadukan yang layak. Mikroorganisme yang tersuspensi tersebut umumnya mengacu sebagai mixed liquor (volatile) suspended solids (Metcalf and Eddy, 2003).

Parameter penting dari proses lumpur aktif adalah pembentukan partikel flok yang berukuran dari 50 – 200 μm , yang bisa disisihkan dengan pengendapan gravitasi dalam bak sedimentasi. Flok lumpur aktif sering digambarkan mempunyai dua bagian, bagian yang terikat kuat dan lemah, keduanya sebagian besar terdiri dari sel bakteri dan extracellular polymeric substances (EPS) (Keiding and Nielsen 1997, Liao *et al.*, 2002, Sheng *et al.*, 2006).

Dalam proses lumpur aktif, dimana penyisihan senyawa organiknya (COD) dan nitrogen menjadi tujuan utama, bakteri nitrifikasi dikenal tumbuh dalam mikro koloni yang rapat dibagian dalam flok (Wagner *et al.* 1995, Mobarry *et al.* 1996, Daims *et al.* 2001),

yang terlihat membentuk bagian terkuat dari flok (Jorand *et al.* 1995, Biggs and Lant 2000).

Pertumbuhan Melekat

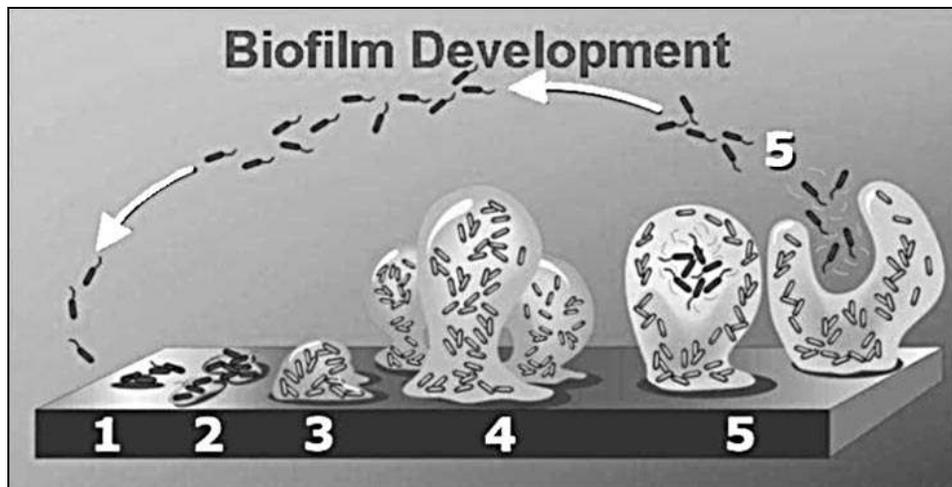
Proses biologi terjadi selama material organik dan nutrisi mengalir melewati biofilm. Biofilm terdeteksi di dalam dan di permukaan substratum, yang seharusnya tahan terhadap korosi akibat proses fisik maupun biologi. Substratum tersebut juga harus murah, ringan dan punya permukaan yang luas.

Pada Fixed-Bed Reactor (FBR) dengan pertumbuhan biofilm melekat, mikroorganisme tidak ikut mengalir keluar melalui effluen, jika pelekatan biofilm pada media cukup kuat. Mikroorganisme dapat berkonsentrasi dalam reaktor dan

meningkatkan kinerja dari reaktor. Disamping itu, biofilm yang tebal menghasilkan resistensi yang lebih baik dan recovery dari mikroorganisme terhadap shock loading atau pengaruh toksik. Keuntungan lain dari proses melekat pada skala lapangan adalah kebutuhan energi yang lebih sedikit, pengoperasian yang lebih sederhana dan tanpa problem dengan bulking sludge.

Pembentukan dan Pertumbuhan Biofilm

Perkembangan biofilm, minimal, dibagi empat tahapan, sebagaimana dirangkum oleh Stoodley *et al.* (2002):



Gambar 2. Perkembangan biofilm : 1. Non-permanen 2. Permanen, 3. Maturasi, 4. Detachment, 5. Penutupan siklus

Reversible attachment, yaitu penempelan sel tunggal dan pergerakan bebas menginisiasi pembentukan biofilm pada permukaan. Sejumlah kecil dari *exopolymeric material* terlibat dalam tahapan ini. Pelekatan sel ini tidak permanen dan sel dengan mudahnya dapat meninggalkan permukaan material. Selama tahap reversibel ini bakteri memperlihatkan perilaku khusus yang meliputi menggelandang, meloncat, bergabung membentuk koloni dan lepas dari koloni, sebelum mereka menghasilkan *exopolysaccharides* dan menempel secara permanen.

Irreversible attachment, yaitu setelah pelekatan non-permanen pada permukaan berubah menjadi pelekatan permanen, bakteri harus mempertahankan kontak dengan substratum. Perubahan sifat penempelan dari non-permanen ke permanen dicirikan sebagai

transisi yang paling lemah. Bakteri mulai menghasilkan banyak *exopolysaccharides* untuk melewati transisi ini. Setelah itu interaksi antar bakteri untuk membentuk grup sel dan membantu untuk saling menguatkan dalam menempelan di permukaan. Sel tunggal memproduksi *polysaccharide* yang mengikat sel bersama dan memfasilitasi pembentukan mikro koloni dan ini membawa tahapan berikutnya yakni tahapan pematangan biofilm.

Maturasi – pematangan yaitu selama maturasi, biofilm menghasilkan saluran, pori-pori dan penempatan kembali dari bakteri yang sempat lepas dari material. Dalam tahap ini, banyak protein yang dideteksi dalam sampel biofilm yang mencerminkan keragaman bakteri. Aktifitas yang bervariasi juga diidentifikasi seperti perubahan metabolisme, transpor melalui membran, adaptasi dan aktifitas proteksi.

Detachment atau pelepasan, yaitu umumnya digambarkan sebagai pelepasan sel baik itu sel tunggal ataupun grup dari biofilm. Sel yang lepas dipercaya menjadi penutup bagi siklus pertumbuhan biofilm. Skema pendek dari siklus ini yang diambil dari Stoodley *et al.* (2002) ditunjukkan dalam gambar berikut:

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Biofilm

Struktur biofilm secara umum merupakan hasil interaksi dari mikroorganisme dengan medium dan pengaruh proses biologi-fisik-kimia di dalamnya. Semua faktor di atas seharusnya dipertimbangkan selama pembentukan biofilm. Stoodley *et al.* (2002) menyatakan bahwa minimal ada empat hal mempengaruhi struktur biofilm

- Karakteristik geometrikal dari substratum.
- Karakteristik mikroorganisme yang menyusun biofilm
- Kondisi hidrodinamik disekitar biofilm
- Nutrisi yang tersedia dalam cairan dan dalam biofilm
- Karakteristik dari substratum (*hydrophilic*, *hydrophobic*)

Pada tahapan awal, sifat dari substratum memainkan peran terpenting. Kekasaran substratum mempromosikan kolonisasi bakteri. Hasil yang mirip diperoleh dengan mengobservasi pembentukan biofilm selama periode *start-up* dari *expanded-bed reactor*. Hipotesisnya adalah rekahan dalam permukaan kasar dapat memproteksi pertumbuhan biofilm selama periode awal dari gaya geser akibat hidrodinamik cairan. Hal ini memungkinkan perkembangan biofilm tahap berikutnya.

Bakteri dalam Air Limbah dengan Kandungan Garam Tinggi

Mikroorganisme dapat ditemukan di lingkungan air dengan kandungan garam rendah (air tawar) maupun tinggi (air laut). Mengacu pada kandungan garam, bakteri dapat dibagi menjadi beberapa jenis. Imhoff (1986) mengelompokkan bakteri sesuai dengan konsentrasi garam yang dibutuhkan bagi pertumbuhan optimunnya, yakni non-halophilic (tumbuh dibawan 0.2 M NaCl), rendah halophilic (tumbuh pada 0.2 sampai dengan sekitar 1.0–1.2 M NaCl), moderat halophilic (tumbuh pada sekitar 1.0–1.2 sampai 2.0–2.5 M NaCl) dan ekstrim halophilic bakteri (tumbuh pada 2.0–2.5 M NaCl atau lebih).

Nitrifikasi pada Air Limbah dengan Kandungan Garam Tinggi

Penyisihan nitrogen dari air limbah, termasuk air limbah dengan kandungan garam tinggi adalah perlu untuk memenuhi kriteria baku mutu air limbah sebelum air limbah dialirkan ke badan air penerima.

Proses penyisihan nitrogen secara konvensional air limbah garam tinggi dilakukan melalui nitrifikasi diikuti oleh denitrifikasi dengan penambahan sumber karbon dari luar, seperti yang dilakukan pada reaktor *batch* oleh Fontenot *et al.* 2007.

Proses nitrifikasi Chemolitho autotrophic dalam dua tahap dilakukan oleh jenis bakteri yang berbeda. Ammonium dioksidasi menjadi nitrit (nitritasi) oleh bakteri pengoksidasi ammonium (AOB – *Ammonium Oxidizing Bacteria*) dan nitrit dioksidasi lebih lanjut ke nitrat (nitratasi) oleh bakteri pengoksidasi nitrit (NOB – *Nitrit Oxidizing Bacteria*).

METODOLOGI PENELITIAN

Ammonium

Dua reagen bagi analisis ammonium digunakan, yakni:

Reagen A; 13 g Natriumsalicylate, 13 g Tri-Natriumcitrate-Dihidrat dan 0.097 g 2-Nitroprussidnatrium-Dihidrat dilarutkan dalam 500 ml distilasi H₂O. Reagen B; 1.6 g NaOH dan 0.1 g Dichlorocyanuric acid-Na-Dihidrat dilarutkan dalam 50 ml distilasi H₂O.

Untuk analisis, 0.125 ml reagen A dan 0.125 ml reagen B ditambahkan kedalam 1 ml sampel, dan lalu diukur dengan spektrofotometer pada 655 nm setelah 1-3 jam inkubasi pada temperatur ruangan.

Nitrit

Nitrit juga diukur dengan metode kolorimetri. Reagen yang digunakan dapat dibuat dengan melarutkan 20 g Sulfanilamide, 1 g N-(1-Naphthyl)-ethylendiamine-dihydrochloride dan 50 ml O-Phosphoric acid (1.71 g mL⁻¹) dalam 500 ml distilasi H₂O.

Untuk analisis, 0.020 ml reagen ditambahkan ke dalam 1 ml sample dan lalu diukur pada spektrofotometer 540 nm setelah 20-30 menit inkubasi pada temperatur ruangan.

Nitrat

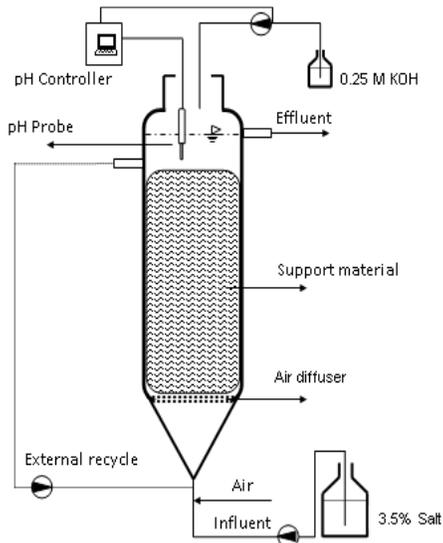
Nitrat ditentukan secara kolorimetri sesuai dengan *standard methods* APHA (1995). Tidak diperlukan reagen dalam metode ini. Ion NO₃⁻ dalam sampel mengabsorb cahaya pada 220

nm. Keberadaan nitrit dalam sampel akan mengganggu dalam metode ini, jika konsentrasi nitrit dalam sampel lebih besar dari $0.65 \text{ mg NO}_2\text{-N L}^{-1}$, Amido-sulfonic acid harus ditambahkan dalam sampel.

Reaktor

Tabung kaca ber diameter 8 cm dan tinggi 45 cm dengan volume 2 liter digunakan dalam percobaan ini (Gambar 3). Limbah buatan dengan kandungan NaCl 35 gram per liter air, dipompakan kedalam reaktor melalui dasar reaktor dengan pompa Gilson Minipus 3 dan

efluent mengalir keluar lewat bagian atas dari reaktor. Keramik berpori berdimensi 1.5 cm (Gambar 4) dengan luas area spesifik $934 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$ dimasukkan ke dalam reaktor sehingga total luas permukaan tumbuh bakteri (fixed-bed areanya) 0.60 m^2 dan prosostas 38%. Selama lebih dari 500 hari reaktor dioperasikan secara kontinyu dengan mengalirkan air limbah yang mengandung salinitas 3.5% dan ammonium sekitar $100 \text{ mg NH}_4\text{+N}$. Debit aliran dipertahankan dengan waktu detensi 1 hari, DO diatas 5 mg L^{-1} dan pH 8.



Gambar 3. (a) Skema Fixed-Bed Reactors (FBR), (b) Foto dari Fixed-Bed Reactors (FBR)



Gambar 4. Keramik Berpori

Pertumbuhan Biofilm dalam Keramik Berpori

Untuk percobaan ini pada hari ke 540 dari pengoperasionalan reaktor, 36 keramik berpori dimasukkan kedalam reaktor diatas dimana biofilm sudah terbentuk.

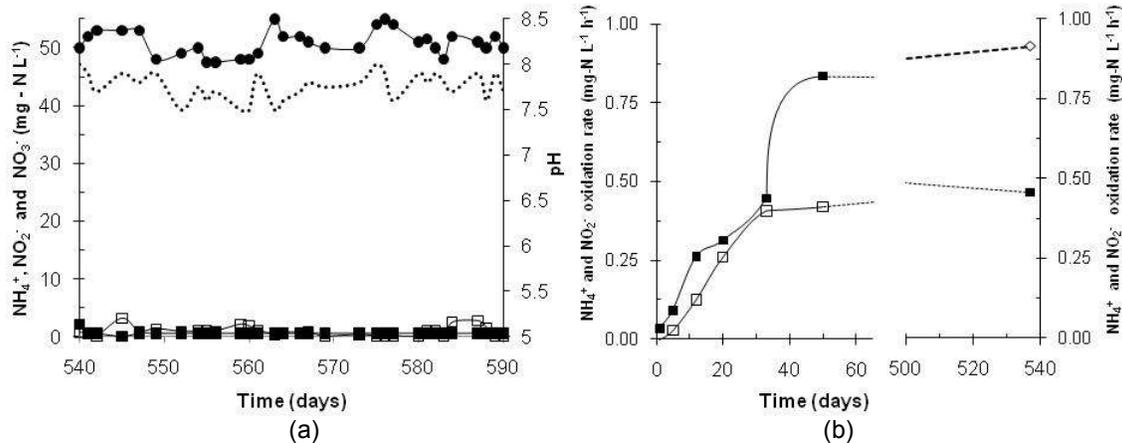
Pada hari ke 1, 5, 12, 20, 33 dan 50, enam keramik berpori tersebut diambil keluar kemudian kecepatan penyisihan ammonium (Ammonium Oxidizing Rate – AOR) dan kecepatan penyisihan nitrit (Nitrit oxidizing rate

– NOR) oleh biofilm yang ada dalam keramik tersebut secara terpisah diukur.

Masing masing keramik ditaruh dalam gelas silinder kecil, diberi air limbah buatan dengan kandungan ammonium dan nitrite adalah 10 mg N L^{-1} dan diaerasi. Berkurangnya konsentrasi ammonium dan nitrit dimonitor selama beberapa jam dan kemudian akan dihitung AOR dan NOR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah 1, 4, 12, 20, 33, 50 hari biofilm yang menempel pada keramik tersebut diukur kemampuannya dalam menysisihkan ammonium dan nitrit dan hasilnya tampak pada gambar 5.



Gambar 5. (a) Konsentrasi Ammonium, nitrit, dan nitrat selama reaktor dioperasikan secara kontinu hari 540 – 590. (b) Kecepatan penysisihan ammonium dan nitrit oleh biofilm yang tumbuh dalam keramik berpori setelah ditempatkan dalam reaktor beberapa hari. Simbol: (a) Kotak tertutup (■), ammonia; Kotak terbuka (□), nitrite; Lingkaran tertutup (●), nitrate; garis putus putus, pH. (b) Kotak tertutup (■), Kecepatan penysisihan ammonium; Kotak Terbuka (□), Kecepatan penysisihan nitrit

Itu dapat dilihat bahwa setelah 50 hari dari waktu inkubasi, kecepatan penysisihan ammonium (AOR) selalu lebih tinggi dibanding kecepatan penysisihan nitrit (NOR). Selain itu, penysisihan ammonium dapat dideteksi pada keramik setelah inkubasi satu hari, sedangkan pada waktu inkubasi yang sama penysisihan nitrit belum dapat di deteksi. Itu memperlihatkan bahwa bakteri nitratasi (AOB) lebih mudah tumbuh dan atau menempel dibanding bakteri nitratasi (NOB).

Peningkatan AOR tidak konstan sampai hari ke 50, sementara peningkatan NOR konstan sampai hari ke 30 dan kemudian nilainya tetap. Pada hari ke 50 AOR hampir dua kali lipat dibanding NOR. Pada gambar

Selama 50 hari (hari 540 sampai dengan 590) dari waktu operasi reaktor, DO dapat dipertahankan diatas 5 mg L^{-1} dan pH berkisar antara 7-8 (Gambar 5). Kinerja penysisihan ammonium dan nitrit dapat dipertahankan steady state selama jangka waktu tersebut. Kondisi steady state ini memungkinkan pengukuran pertumbuhan biofilm dan keaktifan biomass di keramik selama 50 hari itu dapat dibandingkan.

Ammonium di influent yang diatur berkisar 50 mg N L^{-1} , dapat disisihkan hampir 100%. Nitrit dan ammonium hampir tidak terdeteksi di effluent. Sekitar 50 mg N L^{-1} nitrat terukur di effluent menunjukkan keseimbangan massa dari proses nitrifikasi. Dimana 50 mg N L^{-1} ammonium dikonversi menjadi 50 mg N L^{-1} nitrat.

tersebut, juga ditunjukkan juga kecepatan AOR dan NOR pada hari ke 540. AOR dan NOR tersebut diambil dari keramik yang sudah ada sejak awal dari pengoperasionalan reaktor kontinu. Berkebalikan dengan kondisi setelah 50 hari inkubasi, nilai NOR setelah 540 hari, lebih besar dari nilai AOR dan nilainya hampir dua kali lipat. Itu perlu dicatat bahwa, tidak seperti waktu inkubasi yang hanya 50 hari, selama pengoperasionalan lebih dari 500 hari tersebut, kondisi steady state tidak selalu dapat dipertahankan.

Bakteri yang terlibat dalam nitrifikasi adalah mikroorganisme autotroph dengan karbon dioksida berfungsi sebagai sumber karbon dan mempunyai kecepatan

pertumbuhan yang lambat. Kecepatan pertumbuhan yang lebih lambat teramati pada bakteri nitrifikasi yang tumbuh dalam lingkungan yang ekstrim, termasuk lingkungan dengan konsentrasi garam yang tinggi.

Perkiraan kuantitatif dan kualitatif konsentrasi biofilm bakteri nitrifikasi adalah tugas yang sangat sulit (Lazavora dan Manem, 1995) dan membutuhkan metode biologi molekular.

Perkembangan pertumbuhan bakteri dapat diamati dengan menghitung berat massa dari bakteri, aktifitas metabolisme dari bakteri dan dengan cara menghitung selnya. Pengamatan ini akan mudah dalam kulture bakteri tersuspensi tetapi akan jauh lebih sulit bagi bakteri yang membentuk biofilm. Pengambilan bakteri yang melekat akan sulit dan kompleks, khususnya saat phase pertama dari pelekatan tersebut. Biofilm sangat tipis dan tidak terdistribusi merata serta berada dalam pori-pori substratum. Selain itu perkembangan biofilm tidak hanya proses perkembangbiakan dan kematian, melainkan ada proses detachment yang juga berperan signifikan dalam perkembangan biofilm

Karena ketidakakuratan perhitungan kepadatan populasi, dan perkiraan kuantitatif dan kualitatif dari biofilm, maka parameter spesifik dari biofilm seperti nilai AOR atau NOR, perlu diukur untuk mengetahui pola perkembangan bakteri.

AOB menempel lebih cepat dari pada NOB sebagaimana ditunjukkan sampai hari ke 50. Selain itu, recovery AOB lebih cepat dibanding NOB, hal itu dapat diamati saat terjadi detachment (pelepasan biofilm) dari substratumnya. Penempelan yang lebih cepat oleh AOB ini mengindikasikan bahwa AOB punya kapasitas lebih bagus untuk menempel pada substratum dengan bahan dari mineral atau plastik. Keterlambatan NOB untuk aktif dapat dimungkinkan karena NOB akan aktif setelah adanya nitrit yang diproduksi oleh AOB, sebagaimana diterangkan secara jelas oleh Peng dan Zhu (2006). Eksistensi dari NOB akan muncul setelah AOB aktif dan berlanjut selama proses nitrifikasi. AOB dan NOB akan bekerja sama dan bersinergi serta mengambil keuntungan dari kedekatan tempat tumbuh.

Dominasi AOB terhadap NOB juga dilaporkan oleh Chae *et al.* 2008, yang menggunakan BioCube sponge media sebagai substratumnya.

Disatu sisi, kedekatan secara fisik akan berguna bagi alasan kebutuhan energi. NOB bisa segera dan langsung dapat

memanfaatkan nitrit yang diproduksi oleh AOB, sehingga tidak perlu mengeluarkan energi berlebih dalam memperoleh nitrit. Ini sangat vital, mengingat energi yang dihasilkan dari oksidasi nitrit sangat terbatas.

Disisi lain, AOB sangat tergantung akan keberadaan NOB, sebagai penerima atau penyisih nitrit, yang sangat toksik terhadap AOB. Itu membantu AOB dalam mencegah adanya akumulasi dari hasil produksi yang bersifat toksik seperti nitrit tersebut.

Selama periode dari 0 – 50 hari, pertumbuhan AOB tidak tetap yang bisa dilihat dari kecepatan penyisihan ammoniumnya, sementara pertumbuhan NOB tidak terlalu cepat.

Perubahan dominasi populasi dari AOB ke NOB jelas terlihat setelah waktu inkubasi lebih dari 50 hari. Itu sesuai dengan hasil awal dari reaktor dimana pada awalnya kecepatan AOR lebih tinggi dibanding NOR (Sudarno *et al.* 2010).

Pertumbuhan biofilm dan tahapan maturasi dicirikan oleh terbentuknya mikrokoloni yang kuat yang resisten terhadap gaya geser yang tinggi dan perubahan karakteri fisik / kimia dari lingkungan tumbuh.

Biofilm tumbuh selama masa perkembangan dan selanjutnya biomass meningkat konsentrasinya. Sementara itu setelah biofilm mencapai keseimbangan saat tahapan maturasi, proses decay mikroorganisme dalam lapisan dalam biofilm mulai berlangsung. Ketidakaktifan biomass ini dikarenakan oksigen dan substrate tidak tersedia dilapisan tersebut, sehingga tidak ada sumber energi, tidak ada proses oksidasi dan selanjutnya akan tidak aktif dan mati.

KESIMPULAN

- Ammonium oxidizing bacteria* (AOB) dan *Nitrite oxidizing bacteria* (NOB) dapat tumbuh pada substratum yang terbuat dari keramik berpori.
- Perkembangan bakteri nitrifikasi dapat diamati dari kecepatan penyisihan ammonium (*Ammonium Oxidizing Rate* – AOR) dan kecepatan penyisihan nitrit (*Nitrit Oxidizing Rate* – NOR).
- AOB menempel lebih cepat pada substratum dibanding dengan NOB
- Nilai AOR lebih besar dibanding NOR berdasar lama inkubasi di bawah 50 hari yang mengindikasikan dominasi AOB terhadap NOB.

- e. Pergeseran dominasi populasi bakteri nitrifikasi, dari AOB ke NOB, diamati pada lama inkubasi 540 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Biggs, C.A., Lant, P.A., 2000. Activated sludge flocculation: on-line determination of floc size and the effect of shear. *Water Res.* 34(9), 2542–2550.
- Chen, S., Ling, J., Blancheton, J.P., 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquac. Eng.* 34, 179–197.
- Daims, H., Nielsen, J.L., Nielsen, P.H., Schleifer, K.H., Wagner, M., 2001. In situ characterization of Nitrospira-like nitrite-oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. *Appl. Environ Microbiol.* 67, 5273–5284.
- Fontenot, Q., Bonvillain, C., Kilgen, M., Boopathy, R., 2007. Effects of temperature, salinity, and carbon: nitrogen ratio on sequencing batch reactor treating shrimp aquaculture wastewater. *Bioresour. Technol.* 98, 1700–1703.
- Imhoff, J.F., Thiemann, B., 1991. Influence of salt concentration and temperature on the fatty acid composition of *Ectothiorhodospira* and other halophilic phototrophic purple bacteria. *Arch. Microbiol.* 156, 370–375.
- Jorand, M.F., Zartarian, F., Thomas, M.F., Block, J.C., Bottero, M.J.Y., Villemin, G., Urbain, V., Manem, J., 1995. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs. *Water Res.* 29, 1639–1647.
- Keiding, K., Nielsen, P.H., 1997. Desorption of organic macromolecule from activated sludge: effect of ionic composition. *Water Res.* 31(7), 1665–1672.
- Lazavora, V., Manem, J., 1995. Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Res.* 29(10), 2227–2245.
- Liao, B.Q., Allen, D.G., Leppard, G.G., Droppo, I.G., Liss, S.N., 2002. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs. *J. Colloid Interface Sci.* 249(2), 372–380.
- Metcalf & Eddy, Inc., 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and reuse 4th ed.* New York: McGraw-Hill.
- Mobarry, B.K., Wagner, M., Urbain, V., Rittmann, B.E., Stahl, D.A., 1996. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2156–2162.
- Peng, Y.Z., Zhu, G.B., 2006. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73, 15–26.
- Sheng, G.P., Yu, H.Q., Li, X.Y., 2006. Stability of sludge flocs under shear conditions: roles of extracellular polymeric substances (EPS). *Biotechnol. Bioeng.* 93(6), 1095–1102.
- Stoodley, P., Saure, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., 2002. Biofilms as complex differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56, 187–209.
- Sudarno, U., Bathe, S., Winter, J., Gallert, C., 2010. Nitrification in fixed-bed reactors treating saline wastewater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 2017–2030.
- Wagner, M., Loy, A., 2002. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Curr. Opin Biotechnol.* 13(3), 218–227.