DENITRIFIKASI LIMBAH NITRAT PADA BERBAGAI TINGKAT KEASAMAN DENGAN MEMANFAATKAN MIKROBA AUTOTROPH

Oleh :

Rudi Nugroho

Peneliti pada Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan, BPPT

Abstract

A biological denitrification using autotrophic bacteria in batch suspension runs was investigated to clarify the effect of pH on denitrification rate. Elemental sulfur was employed as an electron donor. The culture of autotrophic bacteria was obtained from activated sludge by acclimatization. The effect of pH on denitrification rate could be expressed by bell-shape equation with optimum pH of 7,07. However at a pH range of 5,5 to 8,0, the denitrification rate significantly fast. Therefore, the application of the denitrification of wastewater using autotrophic bacteria is suggested running well although without controlling pH.

Kata kunci : Denitrification, nitrate, autotrophic bacteria, elemental sulfur, pH.

1. PENDAHULUAN

Penghilangan senyawa nitrogen dalam air limbah dapat dilakukan dengan dua proses berurutan yaitu pertama dengan nitrifikasi kemudian dilanjutkan dengan denitrifikasi. Nitrifikasi adalah proses oksidasi amonium menjadi nitrat melalui produk antara berupa nitrit. Sedangkan denitrifikasi adalah proses reduksi nitrat menjadi gas nitrogen dengan produk antara berupa nitrit juga. Reaksi penghilangan senyawa nitrogen secara keseluruhan dapat dituliskan sebagai berikut:

Nitrifikasi dapat mudah terjadi di alam asalkan ada oksigen dan mikroba yang cukup. Berbeda dengan dengan reaksi nitrifikasi, reaksi denitrifikasi hanya dapat berlangsung seandainya kondisi-kondisi tertentu seperti keasaman, adanya donor hidrogen dan lain sebagainya terpenuhi. Karena sulitnya reaksi denitrifikasi, maka banyak kejadian di alam penghilangan senyawa nitrogen berhenti hanya sampai nitrat ataupun nitrit. Contoh nyata adalah studi yang dilakukan oleh Wetselaar 1996 yang menyebutkan kalau sumur penduduk di beberapa pemukiman di Jawa Timur tercemar oleh nitrat. Dari penelitian mereka ternyata nitrat tersebut berasal dari amonium maupun amoniak dari tangki septik yang meresap kedalam sumur. Selama peresapan, amonium teroksidasi menjadi nitrat. Dan nitrat selanjutnya tidak dapat denitrifikasi menjadi gas nitrogen karena kondisi yang kurang memungkinkan yaitu rendahnya konsentrasi organik yang akan

dipakai sebagai donor hidrogen pada reaksi denitrifikasi dan juga keasaman lapisan tanah yang terlalu tinggi.

Proses penghilangan senyawa nitrogen dari amonium yang hanya berhenti sampai nitrat maupun nitrit akan menimbulkan masalah yang lebih serius mengingat nitrat dan nitrit juga membahayakan terhadap lingkungan dan kesehatan manusia. Dalam makalah terdahulu penulis menerangkan mengenai bahaya yang ditimbulkan oleh senyawa nitrat dan nitrit diantaranya kejadian eutrofikasi di danau dan methemoglobinemia. Dengan mengingat bahaya yang ditimbulkan oleh nitrat tersebut, maka sangatlah perlu dilakukan kajian mengenai teknologi denitrifikasi yang murah, mudah dan efisien.

Ada beberapa proses yang bisa diterapkan untuk denitrifikasi yaitu proses kimia fisika seperti penukar ion, pemisahan dengan membran dan proses biologis dengan menggunakan bakteri heterotroph dan autotroph. Dahab 1988, melakukan kajian berbagai proses denitrifikasi tersebut diatas untuk air limbah dan menyimpulkan kalau sistem biologis adalah yang paling ekonomis dan layak⁽⁴⁾.

Denitrifikasi air limbah yang kandungan organiknya rendah seperti air limbah domestik, air limbah dari proses pencucian di industri yang menggunakan asam nitrat dan lain sebagainya sangat efisien apabila dilakukan dengan menggunakan mikroba autotroph (Rudi, 2003). Kenapa demikian, karena mikroba tersebut dapat beraktifitas dan berkembang biak tanpa memerlukan bahan organik. Perlu diketahui bahwa penggunaan bahan organik untuk pengolahan limbah akan membawa dampak terhadap kenaikan biaya pengolahan.

Mikroba autotroph untuk mendenitrifikasi air limbah nitrat ada beberapa jenis diantaranya *Thiobacillus denitrificans*, *Thiobacillus ferrooxidans* dan *Paracoccus denitrificans*. *Thiobacillus denitrificans* menggunakan elektron donor dari senyawa belerang tereduksi seperti batuan sulfur, thiosulfat untuk reaksi denitrifikasi. *Thiobacillus ferrooxidans* menggunakan senyawa besi, sedangkan *Paracoccus denitrificans* menggunakan gas hidrogen.

Penelitian-penelitian mengenai pemanfaatan mikroba autotroph sudah banyak dilakukan di negara Amerika maupun Eropa pada tahun 1970 sampai 1980. Namun karena sifatnya yang sangat lambat dalam berkembang biak yang berakibat pada lambatnya reaksi denitrifikasi, tulisan-tulisan mengenai pemanfaatan mikroba autotroph akhir-akhir ini sangatlah sedikit. Pada makalah ini penulis menyajikan pengaruh keasaman air limbah terhadap kecepatan reaksi denitrifikasi dengan mikroba autotroph. Mikroba autotroph yang digunakan adalah dari jenis *Thiobacillus denitrificans*. Diharapkan dengan variasi kondisi keasaman, akan dapat diketahui reaksi denitrifikasi yang cepat dan optimum.

2. TUJUAN

Penelitian dalam makalah ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH atau tingkat keasaman air limbah terhadap kecepatan reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph. Selanjutnya melakukan simulasi untuk mencari menggunakan model matematis untuk mencari kondisi pH optimum untuk reaksi denitrifikasi.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Mikroba

Mikroba yang digunakan untuk penelitian pada makalah ini adalah mikroba autotroph yang dikembangkan di laboratorium Kimia Terapan Universitas Oita Jepang. Seed untuk mikroba tersebut diambilkan dari lumpur aktif pada Instalasi Pengolahan Limbah Domestik Komunal Propinsi Oita. Prosedur pengembangbiakan mikroba selengkapnya diuraikan pada makalah terdahulu (Rudi, JTL 2004). Setelah mikroba hasil aklimatisasi aktifitas denitrifikasinya cukup bagus, aklimatisasi dilanjutkan dengan merubah elektron donornya yang tadinya menggunakan natrium thiosulfat diganti dengan serbuk belerang.

3.2 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan penyangga pH yang terdiri dari campuran K_2HPO_4 dan NaOH, Kalium nitrat untuk sumber nitrogen, Serbuk belerang

untuk elektron donor reaksi denitrifikasi, dan $NaHCO_3$ untuk mengatur kesadahan air limbah buatan. Kesemua bahan kimia yang digunakan adalah standar untuk analisa.

3.3 Air Limbah

Air limbah nitrat yang digunakan untuk penelitian adalah air limbah buatan dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Air Limbah Buatan

Jenis bahan kimia	Konsentrasi ($g.m^{-3}$)
KNO_3	576
NaOH	bervariasi tergantung kondisi pH
K_2HPO_4	13.600
Serbuk belerang	5 g

3.4 Prosedur penelitian

Percobaan dilakukan dalam gelas Erlenmeyer volume 300 ml sebanyak 8 buah. Mikroba hasil aklimatisasi sebelumnya dicuci 2 kali dengan menggunakan air dan terakhir 1 kali dengan menggunakan larutan penyangga yang terbuat dari campuran NaOH dan K_2HPO_4 . pH Larutan penyangga yang digunakan untuk mencuci mikroba disesuaikan dengan pH percobaan. Kondisi pH percobaan adalah 5.5, 6.05, 6.52, 7.0, 7.45, 7.8, 8.2, 8.55 dan 9.2. Mikroba yang telah dicuci diambil 100 ml dan kandungan MLSS diatur $3.800 g.m^{-3}$. Air limbah yang akan didenitrifikasi adalah air limbah buatan dengan komposisi seperti yang tercantum pada Tabel 1.

Air limbah buatan tersebut diatas di campurkan kedalam gelas Erlenmeyer yang berisi mikroba hasil aklimatisasi dan serbuk belerang. Volume air limbah buatan dan volume mikroba sama yaitu 100 ml. Sesaat setelah pencampuran, sample diambil secepatnya lebih kurang 10 ml. Kemudian campuran dalam gelas Erlenmeyer di hembus dengan gas nitrogen selama 3 menit untuk membuat kondisi anaerob. Selanjutnya Erlenmeyer ditutup rapat dengan penutup karet dan diletakkan dalam pemanas air temperatur $30^\circ C$ sambil digoyang dengan "shaker". Reaksi denitrifikasi dilakukan selama 2 jam dengan periode pengambilan sampel 30 menit.

3.5.1 Analisa

Senyawa nitrat, nitrit dan sulfat dianalisa dengan menggunakan ion chromatografi merek

JASCO dilengkapi dengan kolom analisa merek DIONEX. MLSS diukur dengan cara menyaring campuran antara air limbah dengan mikroba (*sludge*) dengan kertas saring 45 mikron yang telah dikeringkan. Selanjutnya kertas saring dan mikroba yang tertahan di masukkan kedalam oven dengan temperature 105 °C selama 12 jam. Selisih berat kertas tanpa mikroba dengan berat kertas ada mikrobanya dihitung sebagai MLSS dan dinyatakan dalam g.m⁻³. pH diukur dengan pH meter merek TOA-5B.

3.5.2 Simulasi untuk mencari kondisi Ph optimum

Untuk mengetahui kondisi pH yang optimum bagi reaksi denitrifikasi dilakukan dengan simulasi menggunakan persamaan persamaan "Bell-shape" (Octave Levenspiel, 1972) sebagai berikut:

$$-r_a = \frac{1 + 2\sqrt{\frac{K_2}{K_1}}}{1 + \frac{H^+}{K_1} + \frac{K_2}{H^+}} \quad (1)$$

r_a = kecepatan reaksi denitrifikasi relatif

H^+ = konsentrasi proton dalam larutan

K_1 dan K_2 =konstanta bebas

Konstanta bebas dihitung dengan menggunakan rumus:

$$pH_{opt} = (pK_1 + pK_2)/2$$

Simulasi untuk membuat kurva perhitungan dilakukan dengan komputer menggunakan program excell.

3. HASIL PERCOBAAN

Gambar 1 menunjukkan perubahan konsentrasi nitrat terhadap waktu pada berbagai kondisi keasaman. Dari slope penurunan konsentrasi tersebut dapat diketahui kalau pH sangat berpengaruh terhadap kecepatan reaksi. Ini merupakan fenomena umum dari reaksi kimia biologis. Slope paling besar terlihat pada kondisi pH antara 7 dan 7,2.

Gambar 1 bagian bawah memperlihatkan konsentrasi nitrit. Dari gambar tersebut konsentrasi nitrit terhadap waktu mendekati nol pada kondisi pH dibawah 7,8. Akan tetapi pada pH diatas 7,8 nitrit mulai muncul. Dari sini bisa ditarik kesimpulan kalau mikroba autotroph yang mereduksi nitrit lebih sensitif terhadap pH daripada mikroba yang mereduksi nitrat. Dengan demikian dapat dipastikan bahwa pengkondisian

keasaman dapat dilakukan untuk mengontrol akumulasi nitrit selama reaksi denitrifikasi.

Gambar 1: Perubahan konsentrasi nitrat dan nitrit terhadap waktu pada reaksi denitrifikasi sistim batch untuk masing masing kondisi pH. Suhu 30°C dan MLSS 3,800 g.m⁻³. pH: ●, 5.5; ▲, 6.05; ■, 6.52; ▼, 7.0; ○, 7.45; △, 7.8; □, 8.2; ▽, 8.55; ◇, 9.2

Dalam percobaan di atas, akumulasi konsentrasi nitrit tertinggi adalah sebesar 1,1 g-N.m⁻³. Nilai ini masih merupakan nilai yang aman, artinya tidak menimbulkan pengaruh negatif terhadap aktifitas mikroba autotroph (Rudi, 2002). Untuk mengetahui hubungan antara kecepatan reaksi denitrifikasi dengan pH, kecepatan reaksi denitrifikasi dirubah menjadi kecepatan reaksi denitrifikasi relatif yaitu perbandingan antara kecepatan reaksi pada suatu kondisi pH dengan kecepatan reaksi yang paling cepat. Kecepatan reaksi denitrifikasi dihitung dari besarnya slope penurunan konsentrasi nitrat terhadap waktu dari Gambar 1.

Gambar 3 menggambarkan hubungan antara kecepatan reaksi denitrifikasi relatif dengan pH. Terlihat data percobaan membentuk semacam bell. Dengan menggunakan persamaan bell 1 dan 2 diatas serta dengan simulasi *least-square*, nilai konstanta K_1 dan K_2 dapat diketahui yaitu sebesar 10^{-6,00} dan 10^{-8,14}. Selanjutnya pH optimum dapat ditentukan yaitu sebesar 7,07.

Claus dan Kutzner (1985) melaporkan pH optimum untuk reaksi denitrifikasi menggunakan *Thiobacillus denitrificans* adalah berkisar antara 7,5 dan 8,0. Sayangnya selama percobaannya

pH tidak dijaga tetap dengan larutan penyangga. Sehingga kemungkinan pH optimum tersebut tidak mencerminkan nilai pH yang sebenarnya.

Gambar 2 : Pengaruh pH terhadap kecepatan reaksi denitrifikasi pada suhu 30 and MLSS 3,800 g.m⁻³. , (NO₃+NO₂)-N denitrifikasi; , NO₃-N denitrifikasi; solid line, kurva perhitungan.

Furumai (1996) juga melaporkan dalam tulisannya pH optimum berkisar antara 7,4 dan 7,6. Elektron donor yang dipakai untuk percobaan adalah senyawa sulfur tereduksi berupa thiosulfat. Dengan demikian diperkirakan yang menyebabkan perbedaan hasil pH optimum yang dilaporkan oleh Furumai dengan percobaan di tulisan ini adalah perbedaan jenis elektron donor.

Untuk mengaplikasikan teknologi yang sederhana sedapat mungkin dihindari pengontrolan pH secara tepat atau presisi. Dengan demikian data hubungan pH dengan kecepatan reaksi denitrifikasi yang diperoleh diatas dapat digunakan untuk menentukan sampai batas range seberapa lebar pH harus dipertahankan. Menurut data pada Gambar 1, pH 6,5 sampai 8 memungkinkan denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph dapat berlangsung cukup bagus. Dengan demikian pengontrolan pH dengan sistim pompa dosing tidak diperlukan.

Reaksi denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph dengan elektron donor serbuk belerang dapat dituliskan sebagai berikut:

Karena reaksi denitrifikasi tersebut diatas menghasilkan proton H⁺. Dengan demikian apabila tidak dibantu dengan penyangga pH ataupun alkalinity air limbah yang cukup maka akan terjadi penurunan pH secara signifikan.

Apabila kondisi pH ataupun alkalinity air limbah yang akan diolah sangat rendah, pada aplikasi di lapangan dapat digunakan CaCO₃, Limestone, slag, maupun koral untuk menaikkan sekaligus berfungsi sebagai penyangga pH.

Untuk mengetahui pengaruh CaCO₃ kapur, slag, limestone dan koral terhadap suplai alkalinity dan pH, penelitian dilanjutkan dengan mencampurkan masing masing batuan tersebut kedalam limbah nitrat buatan selama 24 jam sampai terjadi kesetimbangan. Hasilnya menunjukkan bahwa limestone adalah material terbaik yang dapat ditambahkan untuk reaksi denitrifikasi. CaCO₃ dapat mensuplai alkalinity paling besar, namun pH kesetimbangan terlalu rendah untuk berlangsungnya reaksi denitrifikasi.

Gambar 3 : Pengaruh beberapa batuan terhadap suplai alkalinity dan pH kesetimbangan. □, air limbah nitrat buatan; ■, air RO.

3. KESIMPULAN

Denitrifikasi dengan menggunakan mikroba autotroph dapat berlangsung pada kondisi air limbah yang asam maupun basa dengan pH 5,5 sampai dengan 9,2. Pada pH yang terlalu asam ataupun terlalu basa kecepatan reaksi denitrifikasi sangat lambat. Hubungan antara pH dengan kecepatan reaksi denitrifikasi dapat diilustrasikan dengan menggunakan persamaan bentuk bell. Hasil simulasi data percobaan dengan persamaan bell, diperoleh pH optimum untuk reaksi denitrifikasi adalah 7,07. Namun melihat kurva hubungan antara pH dengan kecepatan reaksi, kondisi pH 6,5 sampai 8 pun kecepatan reaksi denitrifikasi sudah cukup bagus. Dengan demikian pada aplikasi di lapangan, denitrifikasi menggunakan mikroba autotroph tidak diperlukan pengontrolan pH yang ketat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Claus, G. and H. J. Kutzner. (1985) Autotrophic Denitrification by *Thiobacillus denitrificans* in a Packed Bed Reactor, *Applied Microbiology and Biotechnology*, Vol.22 pp 289-296.
2. Dahab, M. F., and Lee, Y. W. (1988) Nitrat removal from water supplies using biological denitrification, *Journal WPCF.*, 60, 9, 1670-1674.
3. Furumai, H., Tagui, H. and Fujita, K. (1996) Effect of pH and alkalinity on sulfur-denitrification in a biological granular filter, *Water Science Technology*, 34, 1-2, 355-362.
4. Koenig, A. and L. H. Liu. (1996) Autotrophic Denitrification of Landfill Leachate using Elemental Sulphur, *Water Science and Technology*, , Vol. 34 No. 5-6 pp 469-476.
5. Rudi Nugroho, Pemanfaatan Mikroba Autotroph dalam Pengolahan Limbah Nitrat Konsentrasi Tinggi, *Jurnal Teknologi Lingkungan*, Vol. 4, No. 3, 122-127.
6. Rudi Nugroho, Kwon Taeok, Hirokazu Takanashi, Makoto Hirata and Tadashi Hano (2002) Effect of nitrite on denitrification of wastewater by autotrophic bacteria, *Proc. of the Regional Symposium on Chemical Engineering*.
7. Wetselaar, R., Fox, J. J. Smith, G. D., Ali, M. R., Moermanto, R. J. and Achmad, I. (1993) Groundwater nitrate in East Java, *J. Aust. Geol. Geophys.*, 12, 2/3, 273-277.