

KINERJA KONSORSIUM BAKTERIA DARI SUNGAI OPAK YOGYAKARTA DALAM REDUKSI NITRAT DENGAN SUMBER KARBON YANG BERBEDA

Hanies Ambarsari, Miswanto

Balai Teknologi Pengolahan Air dan Limbah (BTPAL) – BPPT
Gedung 820 Geostech, Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan, Banten 15314
Email: hanies.ambarsari@gmail.com

ABSTRAK

KINERJA KONSORSIUM BAKTERIA DARI SUNGAI OPAK YOGYAKARTA DALAM REDUKSI NITRAT DENGAN SUMBER KARBON YANG BERBEDA. Sebuah penelitian di laboratorium telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari penambahan dan jenis sumber karbon terhadap aktivitas reduksi nitrat (denitrifikasi) oleh konsorsium bakteria yang telah diisolasi dari Sungai Opak, Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diulang sebanyak tiga kali. Perlakuan yang diujikan adalah sumber karbon dengan lima taraf perlakuan, yaitu: C0 (tanpa penambahan sumber karbon dan sedimen sungai), C1 (penambahan sedimen sungai tanpa penambahan sumber karbon), C2 (penambahan methanol dan sedimen sungai), C3 (penambahan glukosa dan sedimen sungai), dan C4 (penambahan asam asetat dan sedimen sungai). Parameter utama yang diukur adalah konsentrasi nitrat, sedangkan parameter pendukung meliputi nilai pH, suhu, dan jumlah mikroba. Penelitian ini dijalankan dengan sistem *Batch* dan pengambilan sampel dilakukan setiap 3 hari sekali selama tiga minggu. Konsentrasi nitrat diukur dengan metode kolometri dan data reduksi nitrat kemudian dianalisis menggunakan analisis varian (Uji F) dan dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Aktivitas reduksi nitrat dihitung berdasarkan substrat sisa. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang paling kuat menstimulasi aktivitas reduksi nitrat konsorsium bakteria dari Sungai Opak, Yogyakarta.

Kata Kunci : denitrifikasi, reduksi nitrat, Sungai Opak, sumber karbon, metanol, glukosa, asam asetat.

ABSTRACT

PERFORMANCE OF BACTERIAL CONSORTIUM FROM OPAK RIVER YOGYAKARTA IN NITRATE REDUCTION USING DIFFERENT CARBON SOURCES. A laboratory study was conducted to determine the effect of the addition and type of different carbon sources on the activity of nitrate reduction (denitrification) by a consortium of bacteria that have been isolated from Opak River, Yogyakarta. This research was carried out with an experimental method according to a completely randomized design (CRD) which was repeated three times. The treatments tested were the different sources of carbon with a five-stage treatment, namely: C0 (without the addition of a carbon source and stream sediments), C1 (the addition of river sediment without the addition of a carbon source), C2 (addition of methanol and river sediment), C3 (addition of glucose and river sediments) and C4 (the addition of acetic acid and river sediments). The main parameter measured was the concentration of nitrate, while supporting parameters were including pH value, temperature, and number of microbes. This study was run with a batch system and the sampling was done every 3 day for three weeks. Nitrate concentrations were measured using the Colometric method and the nitrate reduction data were then analyzed using analysis of variance (F test) and continued with Least Significant Difference Test (BNT). The Activity of nitrate reduction was calculated based on the rest of the substrate. The results of this study indicated that glucose was of the most powerful carbon source stimulating the activity of nitrate reduction by a bacteria consortium from Opak River, Yogyakarta.

Keywords : denitrification, nitrate reduction, Opak River, carbon source, methanol, glucose, acetic acid

PENDAHULUAN

Nitrogen adalah salah satu unsur yang esensial bagi makhluk hidup. Nitrogen mengalami reaksi oksidoreduksi sehingga dapat terbentuk berbagai senyawa yang berbeda-beda sifatnya. Produk akhir dari reaksi oksidasi senyawa yang mengandung N adalah nitrat (NO_3^-) [1]. Nitrat bersifat mudah mengalami transportasi karena kandungan ion negatifnya, sehingga menyebabkan senyawa ini dapat masuk ke dalam perairan. Nitrat di perairan berasal dari dua sumber, yaitu sumber organik seperti residu hewan dan tumbuhan serta sumber anorganik seperti pupuk buatan. Transportasi nitrat dari daratan ke lingkungan akuatik diperantarai oleh sungai. Sungai ini menerima masukan nitrat di

sepanjang aliran seperti dari lahan pertanian, industri dan rumah tangga.

Nitrat merupakan senyawa nutrisi yang sangat penting bagi pertumbuhan tanaman, tetapi nitrat yang berlebihan juga dapat merugikan. Konsentrasi nitrat yang tinggi di perairan dapat memicu terjadinya eutrofikasi yang sangat merugikan bagi lingkungan [2]. Eutrofikasi ini menyebabkan lingkungan perairan berwarna hijau karena pertumbuhan plankton dan makrofit yang sangat subur, bau yang kurang sedap, pendangkalan dan menyebabkan biota air seperti ikan dapat mati karena kekurangan oksigen. Kerugian lain dari konsentrasi nitrat yang berlebihan pada air minum dapat menyebabkan penyakit *methemoglobinemia* yang mematikan pada bayi

[3]. Oleh karena itu agen untuk menurunkan kadar nitrat di lingkungan sangat dibutuhkan. Mikroba menjadi salah satu alternatif pilihan karena mampu mereduksi nitrat di lingkungan dengan mengubahnya menjadi bentuk lain yang lebih aman bagi lingkungan.

Nitrat direduksi oleh mikroba menjadi nitrit, ammonia, bahkan sampai menjadi nitrogen bebas. Bakteri pereduksi nitrat umumnya bersifat fakultatif anaerobik dan nitrat digunakannya sebagai akseptor elektron untuk tumbuh pada kondisi anaerobik tersebut [4]. Beberapa jenis bakteri mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit (NO_2^-), ammonia (NH_3), nitrogen oksida (NO_2) dan nitrogen bebas (N_2). Umumnya bakteri mereduksi nitrat sampai menjadi gas N_2 , tetapi ada juga mikroba yang hanya mampu mereduksi nitrat sampai tingkat ammonium (NH_4^+) saja. Jadi reduksi nitrat oleh bakteri ini tergantung pada sifat fisiologis bakteri yang bersangkutan. Beberapa genus bakteri yang mampu mereduksi nitrat antara lain *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paracoccus*, *Thiobacillus*, *Chromobacterium*, *Corinebacterium*, dan *Hypomicrobium*. Reduksi nitrat oleh mikroba-mikroba tersebut tidak menyebabkan hilangnya nitrogen dari lingkungan, namun hanya mengalami transformasi ke bentuk lain [5].

Kecepatan reduksi nitrat berhubungan erat dengan aktivitas mikroba dan faktor lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang berpengaruh antara lain adalah sumber karbon, kelembaban, aerasi, pH, dan suhu [6]. Sumber karbon merupakan faktor lingkungan yang penting dalam mengontrol kecepatan reduksi nitrat. Mikroba menggunakan sumber karbon sebagai tenaga pereduksi dan substrat untuk tumbuh. Pemberian sumber karbon dalam media harus memperhatikan rasio C/N. Bakteri memiliki kebutuhan rasio C/N yang berbeda-beda tergantung pada lingkungan tumbuhnya. Bakteri yang tumbuh dengan N tinggi seperti bakteri pendenitrifikasi ini rasio C/N-nya mencapai 1:3 [7].

Penelitian kali ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan dan jenis sumber karbon terhadap aktivitas reduksi nitrat konsorsium bakteri yang berhasil diisolasi dari Sungai Opak, Yogyakarta. Beberapa sumber karbon yang dipakai adalah metanol, gula (glukosa), dan asam asetat. Dari hasil studi sebelumnya diketahui bahwa kecepatan reduksi nitrat berkaitan dengan berat molekul dan sifat sumber karbon, antara lain mudah tidaknya didegradasi. Metanol merupakan sumber karbon yang ekonomis dan efektif dalam meningkatkan aktivitas denitrifikasi [8] dan dapat meningkatkan efisiensi denitrifikasi, tetapi juga

ditemukan bahwa penambahan metanol yang berlebihan ternyata juga dapat menghambat proses denitrifikasi. Konsentrasi metanol yang masih dapat ditoleransi oleh mikroba adalah 2000 mg/L (2000 ppm) [9]. Sedangkan asam asetat digunakan sebagai sumber karbon dalam penelitian ini untuk reduksi nitrat adalah karena dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa asam asetat merupakan substrat yang paling efisien untuk denitrifikasi [2]. Glukosa sendiri adalah karbohidrat yang paling sederhana dan banyak digunakan sebagai sumber karbon oleh bermacam bakteri karena sifatnya yang mudah didegradasi. Dalam literatur disebutkan bahwa karbohidrat merupakan sumber karbon utama bagi mikroorganisme heterotrof seperti mikroba pendenitrifikasi ini [10]. Literatur yang lain juga menyebutkan bahwa dari berbagai macam jenis karbohidrat, maka glukosa merupakan monosakarida yang paling sering digunakan sebagai nutrisi bakteri [5].

METODOLOGI

Bahan dan Peralatan

Obyek penelitian adalah konsorsium bakteri yang diperoleh dari Sungai Opak, Yogyakarta. Bahan-bahan yang diperlukan antara lain adalah: kapas, tisu, *aluminium foil*, kertas label, karet, kertas payung, spiritus, alkohol 70%, akuades, agar, tripton, ekstrak khamir, glukosa, metanol, asam asetat, potassium nitrat, sodium hidroksida, asam salisilat, asam sulfur, asam klorida, *sulfanilamide*, *N-(1-naphthyl) ethylenediamine hydrochloric*, NaNO_2 , K_2HPO_4 , alkohol 95%, kalium iodida, kristal violet, safranin, pasir dan *cyclohexamide*. Sedangkan alat-alat yang dipakai adalah cawan petri, labu *Erlenmeyer*, *Drugalsky*, pipet ukur, pipet tetes, mikro pipet, gelas ukur, tabung reaksi, jarum ose, autoklaf, inkubator, *colony counter*, *vortex*, pH meter elektrik, termometer, *Bunsen burner*, Spektrofotometer, mikroskop, neraca analitik, *fermenter batch*, dan labu ukur.

Tata Kerja

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Balai Teknologi Lingkungan (BTL), Puspiptek Serpong, Kota Tangerang Selatan, Banten selama enam bulan. Penelitian dilakukan dengan disain eksperimen menggunakan rancangan eksperimen Random Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dicobakan adalah faktor sumber karbon (C) dengan lima taraf perlakuan, yaitu:

C0 : tanpa penambahan sumber karbon dan sedimen sungai

C1 : penambahan sedimen sungai + tanpa penambahan sumber karbon

C2 : penambahan metanol 1,5 g/L + sedimen sungai

C3 : penambahan glukosa 0,25 g/L + sedimen sungai

C4 : penambahan asam asetat 1 g/L + sedimen sungai

Perlakuan tersebut dilakukan menurut Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga pengulangan. Parameter yang diukur meliputi parameter utama yaitu kadar nitrat dan parameter pendukung meliputi pH, suhu, jumlah mikroba dan jenis mikroba. Variabel yang diamati meliputi variabel bebas berupa jumlah dan jenis bakteri pereduksi nitrat dengan variabel tergantung berupa konsentrasi nitrat.

Penyiapan media uji aktivitas reduksi nitrat dilakukan dengan menggunakan *fermenter batch* bervolume 10 L sebanyak 5 buah dan masing-masing diisi dengan 0,5 g/L KNO_3 , 0,2 g/L *Cyclohexamide*, dan 3 mg/L K_2HPO_4 . *Fermenter batch* dengan perlakuan C0 dan C1 tidak ditambah dengan sumber karbon, sedangkan C2, C3, dan C4 masing-masing ditambah dengan sumber karbon secara berurutan: metanol, glukosa, dan asam asetat. Dengan memperhitungkan rasio C/N maka penambahan sumber karbon metanol adalah sebanyak 1,5 g/L, glukosa sebanyak 0,25 g/L, dan asam asetat sebanyak 1,0 g/L. Masing-masing ditambah dengan pasir sebagai tempat hidup bakteri dan aquades sampai penuh, selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf selama 20 menit dengan tekanan 2 atm.

Uji aktivitas reduksi nitrat dilakukan dengan menginokulasikan 5 g/L sampel untuk sedimen basah dari Sungai Opak, Yogyakarta ke dalam masing-masing *fermenter batch* kecuali perlakuan C0, lalu *fermenter batch* itu diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 minggu. Setiap 3 hari sekali dilakukan pengukuran konsentrasi nitrat, suhu, pH, dan jumlah (populasi) bakteri. Pengukuran konsentrasi nitrat dilakukan sesuai dengan prosedur dari metode Kolorimetri [11]. Sedangkan penghitungan jumlah (populasi) mikroba dilakukan dengan metode TPC (*Total Plate Count*) yang didasarkan pada *Colony Forming Unit* (CFU) dengan *caraspread plate* pada medium PCA [12]. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan alat pH-meter dan pengukuran suhu dilakukan dengan alat termometer. Karakteristik morfologis mikroba juga dilakukan dengan prosedur pewarnaan Gram (*Gram staining*) untuk diamati secara mikroskopis dan pengamatan bentuk koloni yang tumbuh pada medium agar PCA pada sebuah

cawan petri. Motilitas sel mikroba juga diamati dengan menggunakan mikroskop.

Data yang diperoleh lalu dianalisis menggunakan analisis varian (Uji F) dengan tingkat kesalahan 5% dan 1%. Apabila hasil analisis menunjukkan perlakuan berbeda sangat nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji BNT.

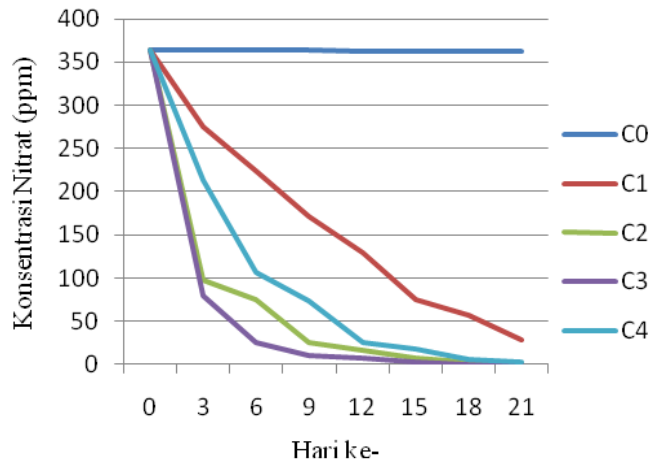
HASIL DAN PEMBAHASAN

Reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri pereduksi nitrat (pendenitrifikasi) dijalankan menggunakan sistem *batch*. Sistem *batch* ini merupakan sistem yang paling sederhana karena tanpa penambahan nutrisi selama proses berlangsung sehingga cocok untuk mengamati proses reduksi nitrat, yaitu dengan mengamati substrat awal dan substrat akhir [13].

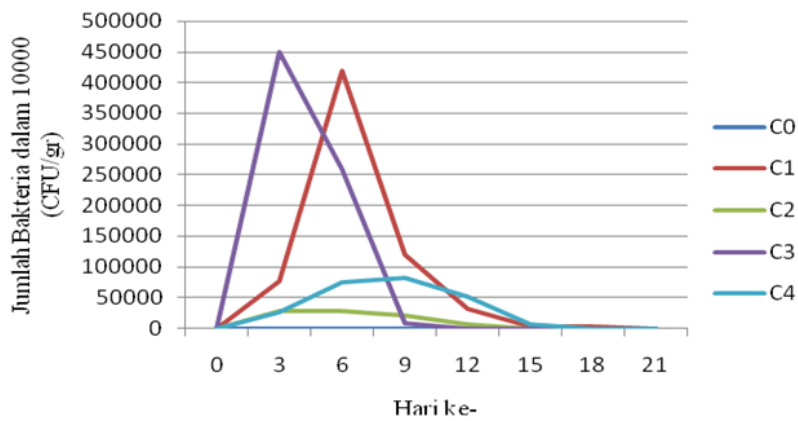
Hasil uji reduksi nitrat dengan sumber karbon metanol, glukosa, dan asam asetat dapat dilihat pada Gambar 1. Gambar tersebut menjelaskan bahwa reduksi nitrat pada masing-masing perlakuan ternyata berbeda. Perlakuan C0 sebagai kontrol tidak menunjukkan penurunan konsentrasi nitrat. Penyebabnya adalah karena bakteri yang berperan dalam menurunkan konsentrasi nitrat tidak tumbuh di dalam *fermenter*.

Pada perlakuan C1 tetap terjadi reduksi nitrat meskipun tanpa penambahan sumber karbon, tetapi karena sedimen sungai yang ditambahkan juga mengandung bakteri, maka bakteri dari sedimen sungai itulah yang ikut berperan dalam reduksi nitrat yang terjadi pada perlakuan ini, walaupun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya yang ditambah sumber karbon (perlakuan C2, C3, dan C4).

Aktivitas reduksi nitrat yang tertinggi ditunjukkan pada perlakuan dengan penambahan glukosa (C3). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang paling potensial sebagai elektron donor dalam proses reduksi nitrat [14]. Tingginya nitrat yang direduksi didukung oleh populasi dan jenis bakteri yang hidup di dalamnya. Populasi bakteri pada perlakuan dengan penambahan glukosa ternyata juga lebih banyak dibandingkan perlakuan yang lain (Gambar 2), sementara jenis bakteri yang hidup di dalamnya juga lebih banyak, yaitu 6 isolat, sedangkan pada perlakuan lain hanya diperoleh 3 isolat (Tabel 1).



Gambar 1. Penurunan konsentrasi nitrat selama perlakuan



Gambar 2. Pertumbuhan jumlah bakteri selama perlakuan

Tabel 1. Data morfologi koloni, sifat Gram, bentuk sel dan motilitas isolate pereduksi nitrat dari Sungai Opak, Yogyakarta.

Isolat	Morfologi Koloni				Sifat Gram	Bentuk Sel	Motilitas
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna			
C1.1	Tak teratur	Halus	Muncul	Putih mengkilap	Positif	Coccus	Non motil
C1.2	Kecil	Halus	Cembung	Putih	Positif	Coccus	Non motil
C1.3	Bulat	Halus	Cembung	Putih	Positif	Coccus	Non motil
C2.1	Tak teratur	Berlekuk	Berkerut	Putih	Negatif	Batang	Motil
C2.2	Tak teratur	Berlekuk	Cembung	Putih	Positif	Coccus	Non motil
C2.3	Bulat	Halus	Berlekuk	Putih	Negatif	Coccus	Non motil
C3.1	Tak teratur	Bercuping	Berkerut	Putih	Positif	Batang	Motil
C3.2	Tak teratur	Berlekuk	Berlekuk	Putih	Negatif	Coccus	Motil
C3.3	Akar	Bercuping	Cembung	Putih	Negatif	Coccus	Motil
C3.4	Tak teratur	Bercuping	Muncul	Putih	Negatif	Batang	Non motil
C3.5	Bulat	Halus	Cembung	Putih	Negatif	Coccus	Non motil
C3.6	Bulat	Halus	Cembung	Ungu	Negatif	Coccus	Motil
C4.1	Tak teratur	Berlekuk	Muncul	Putih transparan	Negatif	Batang	Motil
C4.2	Kecil	Halus	Cembung	Putih	Negatif	Batang	Motil
C4.3	Bulat	Halus	Cembung	Putih	Negatif	Coccus	Non motil

Keterangan:

C1.1 – C1.3 = 3 isolat pada perlakuan C1

C2.1 – C2.3 = 3 isolat pada perlakuan C2

C3.1 – C3.6 = 6 isolat pada perlakuan C3

C4.1 – C4.3 = 3 isolat pada perlakuan C4

Dari analisis sidik ragam (Tabel 2) diketahui bahwa F hitung berbeda sangat nyata. Hal ini menunjukkan bahwa antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap aktivitas reduksi nitrat. Glukosa merupakan sumber karbon yang paling tinggi dalam meningkatkan aktivitas reduksi nitrat, dibuktikan dari data bahwa pada hari ke-21 sudah tidak terdeteksi. Sebaliknya, asam asetat

merupakan sumber karbon yang paling lambat dalam meningkatkan aktivitas reduksi nitrat dengan adanya data konsentrasi nitrat pada hari ke-21 yang masih tersisa sebanyak 3,27 ppm (data primer). Uji BNT dilakukan setelah analisis sidik ragam menghasilkan F hitung yang berbeda sangat nyata (Tabel 3).

Tabel 2. Analisis varian aktivitas reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri dari Sungai Opak, Yogyakarta dengan sumber karbon berbeda.

Sumber	DB	JK	KT	F hitung	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	4	565808.95	141452.24	43.27**	2.65	3.93
Galat	30	3098074	3269.14			
Total	34	663883.40				

Keterangan:

** : berbeda sangat nyata

Tabel 3. Uji BNT aktivitas reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri dari Sungai Opak, Yogyakarta dengan sumber karbon berbeda.

	C0	C1	C2	C3
C4	299.56*	73.45 ^{ns}	31.73 ^{ns}	46.08 ^{ns}
C3	345.63*	119.53*	14.35 ^{ns}	
C2	331.28*	105.18*		
C1	226.10*			
C0				

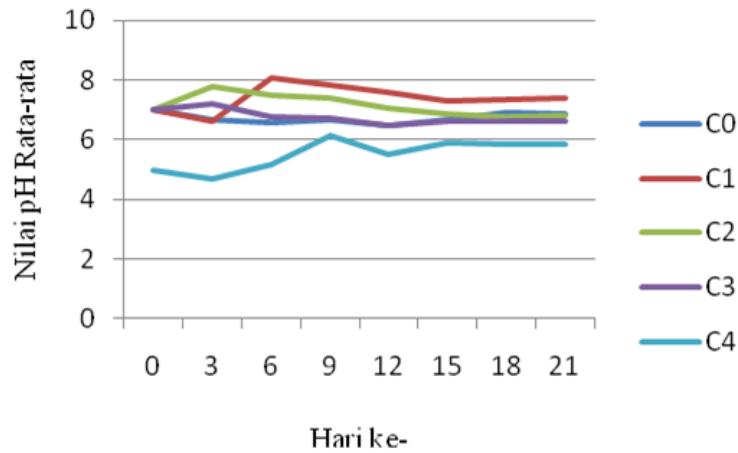
Keterangan: * : berbeda nyata pada taraf $P < 0.05$

ns : berbeda tidak nyata

Hasil uji BNT tersebut menunjukkan bahwa perlakuan dengan dan tanpa sumber karbon berpengaruh terhadap aktivitas reduksi nitrat. Hal ini ditunjukkan oleh hasil uji BNT antara C0 dengan perlakuan lainnya, dan juga antara C1 dengan perlakuan C3 dan C2. Hasil itu juga menunjukkan bahwa antara perlakuan C1 dengan C3, perlakuan C2 dengan C3 atau C4, serta perlakuan C3 dengan C4 berbeda tidak nyata terhadap aktivitas reduksi nitrat. Walaupun demikian, penambahan sumber karbon glukosa terbukti meningkatkan aktivitas reduksi nitrat oleh konsorsium bakteri dari Sungai Opak, Yogyakarta menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan sumber karbon metanol atau asam asetat.

Tingginya konsentrasi nitrat yang direduksi pada perlakuan dengan penambahan

glukosa ini didukung oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH, jenis dan jumlah populasi bakteri. Aktivitas bakteri pereduksi nitrat dipengaruhi juga oleh pH [6]. Reduksi nitrat dapat terjadi pada kisaran pH 3,9-9,0. Faktor yang menjadi penyebab rendahnya aktivitas bakteri pada perlakuan C4 dapat terjadi karena pengaruh dari derajat keasaman atau pH ini. Nilai pH awal yang rendah (pH 4,7) seperti yang terlihat pada Gambar 3 menyebabkan aktivitas bakteri kurang optimal. Reduksi nitrat tetap berjalan cepat pada pH 4,7 [6], tetapi nilai pH yang rendah menyebabkan hanya spesies tertentu yang dapat tumbuh di dalamnya [15]. Aktivitas bakteri pereduksi nitrat dapat berjalan optimum pada kisaran pH 7-8 [16]. Fluktuasi pH selama perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Fluktuasi nilai pH selama penelitian pada setiap perlakuan

Berdasarkan data pada Gambar 3 tersebut, dapat dilihat bahwa nilai pH pada perlakuan C4 dan C3 cenderung naik. Kenaikan ini dapat terjadi karena adanya kenaikan konsentrasi ammonium hasil dari reduksi nitrat, seperti yang telah disarikan dalam literatur sebelumnya bahwa nitrat dapat direduksi dengan sempurna menjadi ammonium oleh bakteri [6]. Proses ini disebut sebagai nitrat disimilatif. Reaksi ammonium dan air menghasilkan senyawa NH_4OH yang bersifat basa, sehingga menaikkan nilai pH [17].

Sebaliknya, penurunan pH pada perlakuan C1 dan C2 disebabkan karena terjadinya penumpukan asam hasil metabolisme primer seperti asam sitrat, asam fumarat, dan asam laktat [18]. Penurunan juga terjadi karena nitrat direduksi menjadi N_2 dan N_2O secara langsung, tidak melalui jalur ammonium. Proses ini dikenal sebagai denitrifikasi [4].

Temperatur merupakan salah satu faktor yang juga dapat mempengaruhi kecepatan reduksi nitrat. Reduksi nitrat dapat terjadi pada suhu 5°C sampai 75°C dan optimum pada suhu $60\text{-}75^\circ\text{C}$ [19]. Semua perlakuan itu diinkubasi pada suhu 25°C di dalam ruangan dan selama pengamatan berlangsung tidak terjadi perubahan suhu, yaitu tetap menunjukkan suhu 25°C untuk setiap perlakuan (data primer tidak ditampilkan). Karena suhu yang stabil itu, maka pengaruh suhu terhadap aktivitas reduksi nitrat diabaikan. Reduksi nitrat merupakan reaksi eksotermik yang mengeluarkan kalor ke lingkungan. Suhu yang stabil selama perlakuan ini kemungkinan disebabkan oleh pengaruh suhu lingkungan yang begitu besar sehingga kalor hasil reaksi eksotermik yang dikeluarkan oleh bakteri tidak mempengaruhi suhu di dalam fermenter batch secara signifikan.

Tinggi rendahnya konsentrasi nitrat yang direduksi sangat erat hubungannya dengan populasi bakteri yang terdapat di dalamnya. Isolasi bakteri pereduksi nitrat pada masing-masing perlakuan menghasilkan isolat-isolat yang berbeda (Tabel 1). Perlakuan tanpa penambahan sumber karbon diperoleh 3 isolat, pada reaktor dengan penambahan metanol dan asam asetat masing-masing diperoleh 3 isolat, sedangkan perlakuan dengan penambahan glukosa diperoleh 6 isolat. Isolat-isolat yang diperoleh kebanyakan adalah Gram negatif (11 isolat), sedangkan yang lainnya adalah Gram positif (4 isolat). Hal ini sesuai dengan hasil studi sebelumnya [14] yang menyatakan bahwa bakteri yang berperan dan proses reduksi nitrat pada umumnya adalah bakteri Gram negatif.

Gambar pertumbuhan bakteri pereduksi nitrat selama perlakuan (Gambar 2) menunjukkan bahwa sumber karbon yang tercepat dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri adalah glukosa, pada hari ke-3 telah mencapai titik tertinggi jumlah populasinya. Populasi bakteri tanpa sumber karbon mencapai titik tertinggi pada hari ke-6, metanol pada hari ke-3, dan asam setat pada hari ke-9. Pada perlakuan C2 atau dengan penambahan metanol terlihat konsorsium bakteri membutuhkan waktu lama untuk beradaptasi dibandingkan dengan perlakuan tanpa sumber karbon atau sumber karbon glukosa. Hal ini sesuai dengan hasil studi sebelumnya yang menunjukkan bahwa proses reduksi nitrat dengan sumber karbon metanol membutuhkan waktu adaptasi karena hanya spesies tertentu yang dapat memanfaatkannya [20]. Metanol ini selektif untuk jenis *Hypomicrobium* [8].

Gambar 2 juga menunjukkan perbedaan antara perlakuan dengan sumber karbon dan tanpa sumber karbon. Walaupun populasi bakteri pada perlakuan tanpa sumber karbon berjumlah besar, tapi hasil penurunan nitratnya kecil. Sementara pada perlakuan C2 dan C4 dengan populasi bakteri yang kecil ternyata dapat menurunkan konsentrasi nitrat yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan oleh kemampuan atau kinerja yang lebih tinggi dari bakteri yang hidup di dalam perlakuan C2 dan C4 ketika melakukan aktivitas reduksi nitrat dibandingkan dengan perlakuan tanpa sumber karbon. Hal ini sudah disebutkan dalam studi sebelumnya bahwa laju reduksi nitrat sangat berhubungan erat dengan aktivitas dan kinerja bakteri pereduksi nitrat, bukan hanya dengan jumlah populasi bakteri [21].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan tersebut, maka dapat diambil kesimpulan bahwa laju reduksi nitrat sangat erat hubungannya dengan sumber karbon yang digunakan. Sumber karbon yang berbeda-beda dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri pereduksi nitrat secara berbeda-beda pula. Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang paling efektif dalam menstimulasi proses reduksi nitrat dibandingkan dengan metanol dan asam asetat.

Dalam mengoptimalkan proses reduksi nitrat tidak hanya dari aktivitas bakterinya saja, tetapi juga faktor lingkungan seperti sumber karbon harus diperhatikan dalam pemilihannya. Dari hasil penelitian kali ini, masih diperlukan penelitian lanjutan tentang reduksi nitrat dengan optimasi faktor lingkungan yang lain misalnya nilai pH, suhu, dan sebagainya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kedua penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam kegiatan penelitian ini, terutama yang bekerja di Balai Teknologi Lingkungan (BTL) – BPPT atas segala fasilitas laboratorium di kawasan Puspipetek Serpong, Tangerang Selatan, dan yang bekerja di Fakultas Biologi, Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto atas kerjasamanya yang baik selama ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ilmu Alam Net. 2016. 4 *Proses Tahapan Siklus Nitrogen*. Artikel 20 Maret 2016 <http://ilmualam.net/4-proses-tahapan-siklus-nitrogen.html>. Diakses tanggal 15 Agustus 2016 pukul 13.25 WIB.
2. M. Marchetto, P.G. Eloisa, R.C. Jose, C.P. Roberto, E.M. Morales. 2003. Estimate of denitrifying microbiota in tertiary sewage treatment and kinetics of the denitrification process using different sources of carbon. *Brazilian Journal Microbiology* 34 (2): 1-9.
3. H. Ambarsari. 2000. *Effectiveness of Plant Residues for Biological Nitrate Reduction in Freshwater System*. Thesis. Lincoln University Canterbury, New Zealand.
4. M. Alexander. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Second Edition. John Wiley & Sons., New York.
5. M.M. Suterdjo, A.G. Kartasapoetra, Sastroatmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. Penerbit Rineka Cipta, Jakarta.
6. E.A. Paul, F.E. Clark. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc., San Diego.
7. J.W. Payne. 1980. *Microorganism and Nitrogen Source Transport and Utilization of Amino Acids, Peptides, Protein and Related Substrates*. John Wiley & Sons Inc., New York.
8. G.T. Spearl, D.S. Hare. 1971. Denitrification with methanol: A selective enrichment for *Hypomicrobium* species. *Journal of Bacteriology* 108 (2): 733-736.
9. J. J. Her, J.S. Huang. 1995. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. *Bioresource Technology* 54: 45-51.
10. F.A. Carey. 1996. *Organic Chemistry*. Third Edition. McGraw-Hill, New York
11. J.M. Anderson, J.S. I. Ingram. 1993. *Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Method*. CAB International, London.
12. Cappuccino, J.G., Welsh, C.T. 2016. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Pearson Education.
13. M.J. Waites, L.M. Neil., S.R. John, H. Gary. 2001. *Industrial Microbiology: An Introduction*. Blackwell Science Ltd., Oxford.
14. N.P. Revbech, J. Sorensen. 1990. *Denitrification in Soil and Sediment*. Plenum Press, London.

15. S.A. Waksman. 1963. *Soil Microbiology*. John Wiley & Sons Inc., New York.
16. B.E. Rittmann, P.I. McCarty. 2001. *Environmental Biotechnology: Principles and Application*. McGraw-Hill Book Co., Singapore.
17. Ilmu Alam Net. 2016. *Pengertian Amonia NH3*. <http://ilmualam.net/pengertian-amonia-nh3.html> tanggal 1 Maret 2016 diakses tgl 15 Agustus 2016 jam 13.50 WIB.
18. Ibrahim, M. 2007. *Mikrobiologi Prinsip dan Aplikasi*. Surabaya; Unesa University Press.
19. M.S. Coyne. 1999. *Soil Microbiology: An Exploratory Approach*. Delmer Publisher: Washington.
20. M. Christensson, E. Lie, W. Thomas. 1994. A comparison between methanol and ethanol as carbon source for denitrification. *Water Science and Technology* 30 (6): 83-90.
21. B.H.L. Kelso, R.V. Smith, R.C. Laughlin. 1999. Effect of carbon substances on nitrite accumulation in freshwater sediment. *Applied and Environmental Microbiology* 65 (1): 61-66.