



## Laju nitrifikasi pada bioremediasi air limbah organik menggunakan *Chlorella* sp. dan bakteri nitrifikasi-denitrifikasi

### *Nitrification rate in the bioremediation of organic wastewater using Chlorella sp. and nitrifying-denitrifying bacteria*

Arya Ksatria Fernanda Hendrawan<sup>a</sup>, Norma Afiati<sup>a</sup>, Arif Rahman<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Departemen Sumberdaya Akuatik, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang, 50275, Indonesia

#### Article Info:

Received: 09 - 02 - 2021

Accepted: 10 - 06 - 2021

#### Keywords:

Bioremediation, *Chlorella* sp., nitrification, nitrifying-denitrifying bacteria, organic waste

#### Corresponding Author:

Arya Ksatria Fernanda  
Hendrawan  
Departemen Sumberdaya  
Akuatik, Fakultas Perikanan dan  
Ilmu Kelautan, Universitas  
Diponegoro;  
Tel. +628588236021  
Email:  
aryaksatria@students.undip.ac.id

**Abstract.** *Global nitrogen pollution in the aquatic environment has been increased mostly due to the disposal of organic wastewater from human activities. Chronic disposal of nitrogen compounds into the waters caused eutrophication and death of aquatic organisms. The process of reducing nitrogen in wastewater can be carried out economically and efficiently using nitrifying-denitrifying bacteria. Besides that, another environmentally friendly technology that can also be used is bioremediation using microalgae such as Chlorella sp. The synergistic relationship between bacteria and microalgae has a better performance in reducing nitrogen compounds in organic wastewater. This study aims to determine the rate of nitrification, changes in nitrate concentrations, and the effect of differences in treatments and time on changes in nitrate levels in organic wastewater. This study was conducted from July to August 2020 was an experimental laboratory using a randomized block design. Organic wastewater samples were taken from Lake Rawa Pening Central Java. The results showed the highest nitrification rate was performed by treatment C (a combination of probiotics and Chlorella sp.) of 0.2 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.hour<sup>-1</sup>, followed by treatment B (Chlorella sp.), D (control), and A (probiotics) of 0.169, 0.009 and 0.008 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.hour<sup>-1</sup>, respectively. The highest percentage change in nitrate levels during the study was treatment C (1 874%), B (1 664%), D (200%), and A (175%), respectively. The analysis of variance and the DMRT test showed that there were differences between treatments and times of changes in nitrate levels (p-value <0.05), with the highest average change in nitrate levels found in treatment C.*

#### How to cite (CSE Style 8<sup>th</sup> Edition):

Hendrawan AKF, Afiati N, Rahman A. 2021. Laju nitrifikasi pada bioremediasi air limbah organik menggunakan *Chlorella* sp. dan bakteri nitrifikasi-denitrifikasi. JPSL 11(2): 309-323. <http://dx.doi.org/10.29244/jpsl.11.2.309-323>.

## PENDAHULUAN

Pencemaran nitrogen secara global meningkat sejak akhir abad ke-20 seiring dengan pertumbuhan ekonomi negara berkembang. Tidak hanya itu, di negara-negara maju seperti Eropa Utara, pencemaran nitrogen juga terjadi akibat produksi pangan secara berlebihan (Martinez *et al.*, 2019). Nitrogen yang masuk ke perairan menjadi penyebab eutrofikasi yang dapat merusak ekosistem perairan (LIPI, 2015). Di Indonesia, ancaman terhadap lingkungan terjadi simultan di berbagai wilayah tanah air akibat pembuangan air limbah

nitrogen yang tidak terkendali. Seiring dengan meningkatnya pembangunan di tanah air, tingkat pencemaran nitrogen ke perairan pun menjadi semakin meningkat (Suswanti *et al.*, 2019). Data WWF tahun 2018 menunjukkan bahwa dari 550 sungai yang ada di Indonesia, sebanyak 82 persen berada dalam kondisi rusak. Selain itu, seiring berjalannya waktu terjadi perubahan status trofik perairan di Indonesia akibat pencemar nitrogen, salah satunya terjadi di danau Rawa Pening (Zulfia dan Aisyah, 2013).

Senyawa nitrogen di dalam air dapat berubah-ubah melalui proses nitrifikasi dan denitrifikasi (Prabowo, 2017). Nitrifikasi dan denitrifikasi di dalam siklus nitrogen memiliki peran penting pada produksi primer perairan dan termasuk siklus nutrisi yang utama (Paul *et al.*, 2020). Pada proses nitrifikasi, senyawa anorganik amonia dirubah menjadi nitrit, kemudian menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi, sedangkan dalam proses denitrifikasi senyawa nitrat dirubah menjadi  $N_2O$  (Herlambang dan Marsidi, 2003). Berbeda dengan amonia, nitrat merupakan nutrisi paling dominan (Adyasari *et al.*, 2018), yang dapat memengaruhi produktivitas perairan. Oleh karena itu, reaksi nitrifikasi sangat penting bagi keseimbangan nitrogen dan faktor penentu kualitas perairan (Paul *et al.*, 2020).

Dalam waktu yang lama, akumulasi senyawa nitrogen yang terjadi secara terus-menerus tinggi dapat mencemari lingkungan perairan dan menjadi penyebab terjadinya kematian biota air (Rustadi, 2009) dan eutrofikasi, sehingga terjadi *blooming* fitoplankton dan tumbuhan air lainnya (Lihawa dan Mahmud, 2017). Oleh karena itu, teknologi yang tepat dan ramah lingkungan untuk mengurangi kandungan senyawa nitrogen pada air limbah diperlukan guna mencegah pencemaran. Proses reduksi senyawa nitrogen pada air limbah dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya yang tergolong ekonomis dan efisien adalah menggunakan bakteri denitrifikasi (Agustiyani *et al.*, 2007). Adapun, teknologi yang juga dapat digunakan untuk mengurangi kandungan nitrogen pada air limbah adalah bioremediasi, secara umum menggunakan mikroalga seperti *Chlorella* sp. (Chen dan Wang, 2020).

Mikroalga memiliki kelebihan melalui kemampuannya mengasimilasi senyawa amonia dan nitrat untuk pertumbuhan (Chen dan Wang, 2020) dan untuk memenuhi kebutuhan fotosintesis yang menghasilkan produksi primer (Lomas dan Lipschultz, 2006). Selain itu, mikroalga juga memanfaatkan karbon dioksida yang dihasilkan bakteri melalui respirasi aerob untuk memproduksi oksigen bagi kebutuhan bakteri aerob dalam mengoksidasi senyawa nitrogen dan menguraikan bahan organik (Kwon *et al.*, 2019).

Penelitian oleh Herlambang dan Marsidi (2003) menunjukkan bahwa proses denitrifikasi pada air limbah dapat menghilangkan konsentrasi nitrat sebanyak 100% dalam 7 hari. Dari penelitian lain oleh Taziki *et al.* (2015) dan Al-Mamoori *et al.* (2020), diketahui bahwa pada percobaan bioremediasi limbah cair menggunakan *Chlorella* sp., efisiensi reduksi konsentrasi nitrat mencapai 88.17% dan 86%. Adanya hubungan sinergis dari bakteri dan mikroalga berpotensi meningkatkan kinerja reduksi senyawa nitrogen nitrat pada air limbah (Ma *et al.*, 2014). Lebih lanjut, gabungan kultur bakteri dapat meningkatkan efisiensi reduksi senyawa nitrat dalam air (Kwon *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui laju nitrifikasi dan perubahan kadar nitrat, serta pengaruh perbedaan perlakuan dan waktu terhadap perubahan kadar nitrat pada air limbah organik.

## METODE

### Hipotesis Penelitian

#### 1. Hipotesis Variabel Perlakuan

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan antar perlakuan aplikasi probiotik dan mikroalga *Chlorella* sp. Terhadap perubahan (peningkatan) kadar nitrat.

$H_1$  = Terdapat perbedaan antar perlakuan aplikasi probiotik dan mikroalga *Chlorella* sp. terhadap perubahan (peningkatan) kadar nitrat.

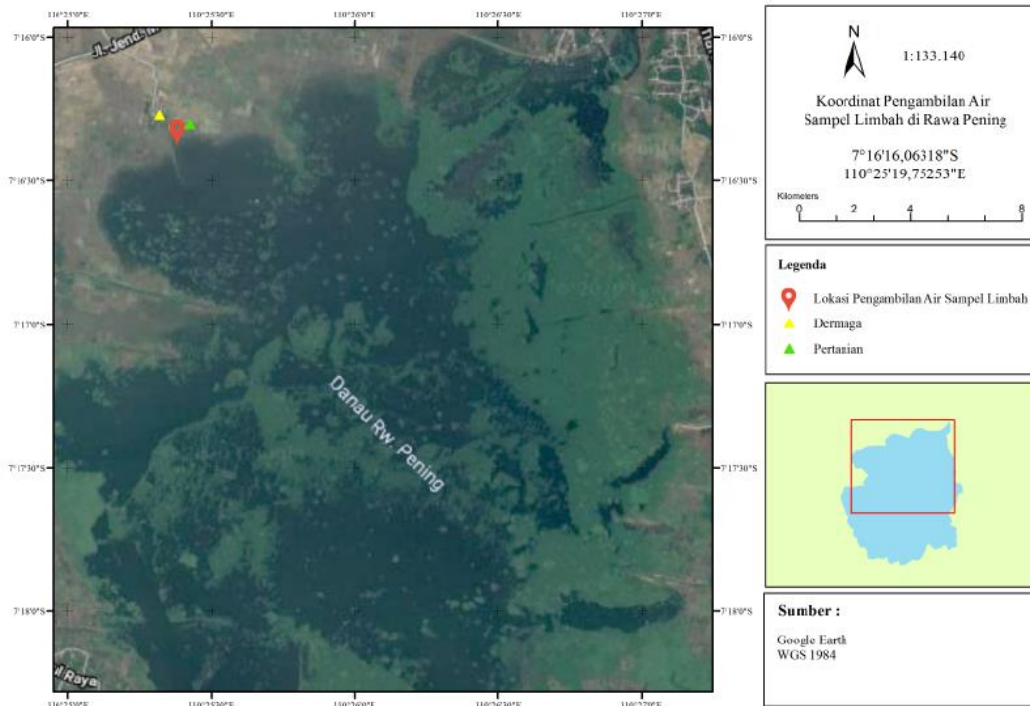
#### 2. Hipotesis Variabel Waktu

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan antar perlakuan aplikasi probiotik dan mikroalga *Chlorella* sp. terhadap perubahan (peningkatan) kadar nitrat.

H<sub>1</sub>= Terdapat perbedaan antar perlakuan aplikasi probiotik dan mikroalga *Chlorella* sp. terhadap perubahan (peningkatan) kadar nitrat.

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 18 hari pada bulan Juli hingga Agustus 2020 di Laboratorium Hidrobiologi dan Laboratorium Pengelolaan Sumberdaya Ikan dan Lingkungan (PSDIL), Departemen Sumberdaya Akuatik, serta Laboratorium Biologi, FPIK, Universitas Diponegoro.



Gambar 1 Peta lokasi pengambilan sampel air Danau Rawa Pening

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan diantaranya adalah Spektrofotometer Hach 2 000 untuk pengukuran kadar nitrat. Mikroskop, aerator, akuarium 12 liter, lampu LED *grow light*, botol sampel 600 ml, *slide glass* dan Sedgewick-Rafter *Counting Cell* untuk pengukuran kelimpahan mikroalga *Chlorella* sp. Cawan Petri, *hand counter*, tabung reaksi, inkubator, Erlenmeyer 1 000 ml, mikropipet dan *hotplate magnetic stirrer* untuk pengukuran Angka Lempeng Total (ALT). Gelas Beaker 100 ml, gelas ukur 100 ml, pipet ukur 25 ml, kuvet dan serta *thermometer*, DO meter dan pH meter untuk mengukur variabel kualitas air.

Bahan yang digunakan diantaranya yaitu air limbah 48 liter, probiotik starter bakteri nitrifikasi-denitrifikasi yang diperoleh dari toko online, yang terdiri dari konsorsium bakteri *Bacillus pumilus-megaterium*, *Thiobacillus denitrificans*, *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp., kultur mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*, pupuk Walne, akuades steril dan *Plate Count Agar* (PCA). Adapun bahan yang digunakan untuk analisis laboratorium diantaranya reagen Nitrate ver 5 Nitrate untuk pengukuran kadar nitrat.

### Pengambilan Sampel Air Limbah

Pengambilan sampel air limbah dilakukan dengan metode grab sample pada lokasi tertentu berdasarkan SNI 6989.59:2008. Sampel air limbah diambil sebanyak 48 liter untuk kebutuhan 6 liter air per akuarium dengan mengisi air menggunakan gayung dan ember, kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel (jerigen), ditutup dengan rapat dan dibawa ke laboratorium. Lokasi pengambilan sampel air limbah pada satu titik,

terletak di Danau Rawa Pening, Ambarawa, Jawa Tengah pada koordinat 7°16'16.06318"S 110°25'19.75253"E antara area pertanian dan dermaga berdasarkan peta lokasi pengambilan air sampel pada Gambar 1. Hal tersebut mengacu pada penelitian Zulfia dan Aisyah (2013), dimana kadar nitrogen yang diperoleh cukup tinggi terdapat pada wilayah perairan dekat dengan dermaga.

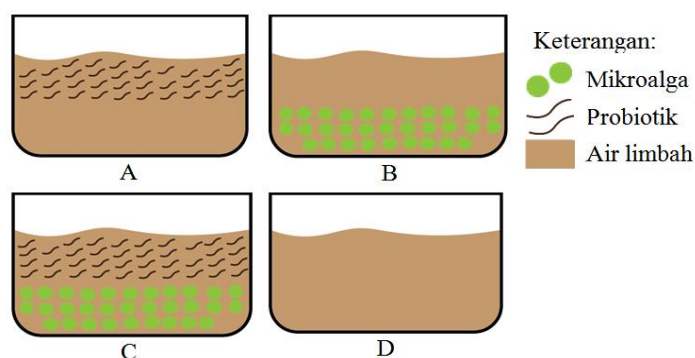
### Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dimaksudkan untuk mempersiapkan kultur mikroalga *Chlorella* sp. dan mengetahui laju pertumbuhannya pada sampel segar limbah cair organik. Tahap awal dimulai dengan kultur *Chlorella* sp. dari 250 mL bibit kultur *Chlorella* sp. yang dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 1 000 ml, diencerkan dengan akuades sebanyak 750 ml dan ditambah dengan pupuk Walne sebanyak 2.5 mL. Pupuk Walne mengandung larutan nutrien, larutan *trace metal*, vitamin B12, thiamin dan biotin yang berfungsi memberikan nutrisi untuk mendukung pertumbuhan *Chlorella* sp. Setelah itu, bibit kultur *Chlorella* sp. sebanyak 250 ml dimasukkan ke dalam akuarium berisi sampel segar limbah cair organik 6 liter diberikan aerator sebagai sumber oksigen dan pencahayaan menggunakan lampu LED *grow light* 3 watt sebagai sumber cahaya untuk fotosintesis karena apabila wadah uji diletakkan di dalam ruangan, dapat ditambah dengan lampu LED sebagai substitusi cahaya matahari yang diperlukan mikroalga selama proses fotosintesis (Rusdiani *et al.*, 2016).

Pengukuran kelimpahan awal sel mikroalga *Chlorella* sp. dengan selang waktu 5, 10, 30, 60 menit, dilanjutkan menjadi 2, 4, 6, 8, 12, 16 dan 24 jam pada 24 jam pertama. Pengamatan hari berikutnya dilakukan dengan selang waktu 24 jam dimulai pada pukul 08.00 WIB setiap harinya, hingga laju pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. mencapai fase penurunan yaitu hari ke-9 (Prayitno, 2015). Ketika kultur *Chlorella* sp. mencapai fase pertumbuhan puncak (hari ke-7) (Prayitno, 2015), bibit kultur *Chlorella* sp. tersebut digunakan sebagai bahan untuk rancangan percobaan, sambil tetap melanjutkan pengamatan hingga hari ke 9.

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan pengelompokan berdasarkan dua faktor dan dua ulangan. Adapun, faktor-faktor tersebut adalah faktor perlakuan (4 taraf) yaitu perlakuan A (probiotik), B (mikroalga *Chlorella* sp.), C (kombinasi mikroalga *Chlorella* sp. dan probiotik) dan D (kontrol), sedangkan faktor waktu (4 taraf) meliputi hari ke-0, ke-3, ke-6 dan hari ke-9 (Gambar 2). Rancangan percobaan pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian perlakuan terhadap perubahan kadar nitrat pada waktu pengamatan yang berbeda. Percobaan ini dilakukan selama 9 hari untuk mengetahui variasi kadar nitrat yang terkandung pada setiap wadah uji. Skema rancangan percobaan disimulasikan dalam wadah uji berupa akuarium berisi 6 liter sampel air limbah organik yang diberi perlakuan berbeda dengan dua ulangan. Wadah disusun seperti Gambar 2.



Gambar 2 Skema rancangan percobaan tiga perlakuan dengan dua ulangan dan kontrol: A. Perlakuan dengan probiotik (bakteri nitrifikasi-denitrifikasi), B. Perlakuan dengan mikroalga *Chlorella* sp., C. Kombinasi mikroalga *Chlorella* sp. dan probiotik, D. Kontrol tanpa perlakuan

Setiap wadah uji perlakuan probiotik diberi probiotik sebanyak  $7.2 \times 10^{-3}$  gr (Suprianto *et al.*, 2019), sedangkan penambahan mikroalga *Chlorella* sp. sebanyak 100 ml dari bibit kultur *Chlorella* sp. yang telah diketahui kelimpahan selnya, diukur sebelum percobaan pendahuluan yaitu sebesar  $183.4 \times 10^3$  sel/L. Wadah D berisi air limbah tanpa penambahan probiotik maupun mikroalga *Chlorella* sp atau sebagai wadah kontrol.

### Pengukuran Variabel Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan pada sampel air dari wadah uji, meliputi variabel kimia dan fisika. Waktu pengukuran variabel kimia dan fisika kualitas air yang meliputi pH, DO, kadar nitrat, temperatur air dan udara adalah setiap 3 hari selama 9 hari yaitu pada waktu (jam) ke-0, ke-72, ke-144 dan ke-216 (Cytryn *et al.*, 2012), yang dilakukan selama rancangan percobaan.

Pengukuran variabel oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen*, DO) dilakukan menggunakan DO-meter dengan cara memasukkan *reference electrode* ke dalam air (Carritt dan Kanwisher, 1959). Pengukuran temperatur air dan udara dilakukan menggunakan *thermometer* dengan memasukkan sensor temperatur ke dalam sampel air (EPA, 1974). Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter dengan cara memasukkan sensor pH ke dalam air (Karangan *et al.*, 2019). Kemudian pengukuran kadar nitrat dilakukan dengan metode Hach Programme menurut Arizuna *et al.* (2014) dalam Ikhsan *et al.* (2020).

### Kelimpahan *Chlorella* sp.

Pengamatan kelimpahan mikroalga *Chlorella* sp. dilakukan menggunakan mikroskop pada pembesaran lensa objektif 10x. Sebelum itu, perlu dilakukan sterilisasi alat yang akan digunakan untuk menghindari kontaminasi biologi seperti kontaminasi Protozoa yang dapat diminimalisir melalui proses sterilisasi peralatan yang akan digunakan sesuai *Standard Operational Procedure* (SOP). Air sampel diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan ke dalam *Sedgewick-Rafter Counting Cell*, kemudian ditutup dengan *slide glass*. Apabila kelimpahan sel terlalu tinggi, dilakukan pengenceran dengan akuades. Kelimpahan mikroalga dihitung menggunakan rumus APHA (1989), yaitu:

$$N = n \times \frac{V_c}{V_{src}} \times \frac{A_{src}}{A_a} \times \frac{1}{V_k} \quad (1)$$

Dimana:

N = Kelimpahan mikroalga (sel/L)

n = Jumlah mikroalga yang diamati

$V_c$  = Volume air yang diambil (1 ml)

$V_{src}$  = Volume air dalam *Sedgewick-Rafter Counting Cell* (1 ml)

$A_a$  = Luas total petak *Sedgewick-Rafter Counting Cell* yang diamati (30 mm<sup>2</sup>)

$A_{src}$  = Luas area *Sedgewick-Rafter Counting Cell* (1 000 mm<sup>2</sup>)

$V_k$  = Volume kultur (6 liter)

### Perhitungan Kelimpahan Total Bakteri

Pengukuran kelimpahan total bakteri dilakukan pada awal dan akhir rancangan percobaan. Kelimpahan total bakteri dengan media PCA atau *Plate Count Agar* dihitung menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) sesuai SNI 01-2332.3-2006 dengan pengenceran sampel bakteri secara bertingkat dan penanaman bakteri menggunakan teknik *spread plate*.

## Metode Analisis Data

### Analisis Perubahan Kadar Nitrat

Persentase perubahan kadar nitrat mengacu pada perhitungan persen perubahan kualitas air (Arifin, 2000), yang dirumuskan sebagai berikut:

$$E = \frac{B-A}{A} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

E = Persentase perubahan kadar nitrat selama percobaan

A = Kadar nitrat di awal percobaan (mg/l)

B = Kadar nitrat di akhir percobaan (mg/l)

### Laju Nitrifikasi (Nitrification Rate)

Laju nitrifikasi dengan satuan mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.jam<sup>-1</sup>, indikatornya adalah peningkatan atau penurunan kadar nitrat, menurut Gilhawley (2008) diestimasikan dalam persamaan sebagai berikut:

$$\text{Laju nitrifikasi (NH}_4\text{-N l}^{-1}\text{.jam}^{-1}) = \left( \frac{C_{x,\text{NO}_3} - C_{0,\text{NO}_3}}{t_x} \right) / 24 \quad (3)$$

Keterangan:

C<sub>x,NO<sub>3</sub></sub> = Kadar nitrat di waktu ke-x (di akhir percobaan) (mg/l)

C<sub>0,NO<sub>3</sub></sub> = Kadar nitrat di waktu ke-0 (di awal percobaan) (mg/l)

t<sub>x</sub> = Waktu ke-x (jam)

### Analisis Sidik Ragam Univariate dan Uji Duncan Multiple Range Test

Analisis data pada rancangan acak kelompok ini menggunakan analisis sidik ragam *univariate*, untuk menguji hipotesis dengan dua variabel atau lebih. Analisis sidik ragam pada penelitian ini menggunakan Aplikasi SPSS 25. Model matematik Rancangan Acak Kelompok ini ditunjukkan dalam formula berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad (4)$$

Keterangan:

Y<sub>ij</sub> = Pengaruh pengamatan pada perlakuan ke-i dan waktu ke- j

μ = Rataan umum

α<sub>i</sub> = Pengaruh perlakuan ke-i

β<sub>j</sub> = Waktu ke-j

ε<sub>ij</sub> = Pengaruh acak dari waktu dengan perlakuan (0,σ<sup>2</sup>)

Uji linearitas atau uji pengaruh dilakukan untuk mengetahui hubungan linear antara variabel dependen dengan setiap variabel independen yang diuji. Uji pengaruh diperoleh dengan membandingkan nilai *p-value* (signifikansi) dengan α (taraf signifikansi). Jika *p-value* (α) < 0.05, maka dikatakan H<sub>0</sub> ditolak (Djazari *et al.*, 2013). Pada kondisi demikian, aplikasi probiotik (bakteri nitrifikasi-denitrifikasi) dan kultur mikroalga *Chlorella* sp. dapat berpengaruh terhadap kenaikan/penurunan kadar nitrat. Menurut Mattjik dan Sumertajaya (2000), jika kesimpulan uji pengaruh yang didapatkan menolak H<sub>0</sub>, yang dalam hal ini adalah aplikasi probiotik dan kultur mikroalga memberikan pengaruh yaitu berbeda nyata terhadap perubahan kadar nitrat, maka dilakukan uji lanjut, yaitu uji perbandingan berganda Duncan atau *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk menentukan perlakuan mana yang menyebabkan terjadinya penolakan terhadap H<sub>0</sub>. Menurut Persulesy *et al.* (2016), uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) digunakan untuk menguji beda nilai rata-rata dari urutan nilai rata-rata tiap perlakuan dari terbesar sampai yang terkecil atau sebaliknya.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Kelimpahan Bakteri dan Kondisi Kualitas Air Selama Percobaan**

Hasil pengukuran kelimpahan bakteri, pH, *dissolved oxygen* (DO) dan temperatur ditunjukkan pada Tabel 1. Kelimpahan bakteri pada setiap perlakuan menunjukkan bahwa kelimpahan bakteri pada akhir pengamatan lebih tinggi daripada awal pengamatan yang berarti terjadi peningkatan kelimpahan bakteri. Pada perlakuan probiotik (perlakuan A), kelimpahan bakteri meningkat dari  $2.6 \times 10^4$  cfu/ml menjadi  $35.3 \times 10^4$  cfu/ml. Pada perlakuan kombinasi (perlakuan C), kelimpahan total bakteri meningkat dari  $3.05 \times 10^4$  cfu/ml menjadi  $23.5 \times 10^4$  cfu/ml. Peningkatan kelimpahan total bakteri hingga akhir pengamatan dipengaruhi oleh kandungan oksigen terlarut (DO) yang tinggi, sehingga membantu kinerja bakteri dalam proses nitrifikasi dan denitrifikasi (Cui *et al.*, 2019). Sebaliknya pada kondisi oksigen terlarut (DO) yang rendah, pertumbuhan bakteri akan menjadi lambat dan dapat menghambat proses nitrifikasi dan denitrifikasi (Chen *et al.*, 2020).

Tabel 1 Kondisi kualitas air pada perlakuan A (probiotik), B (*Chlorella sp.*), C (kombinasi probiotik dan *Chlorella sp.*), D (kontrol tanpa perlakuan)

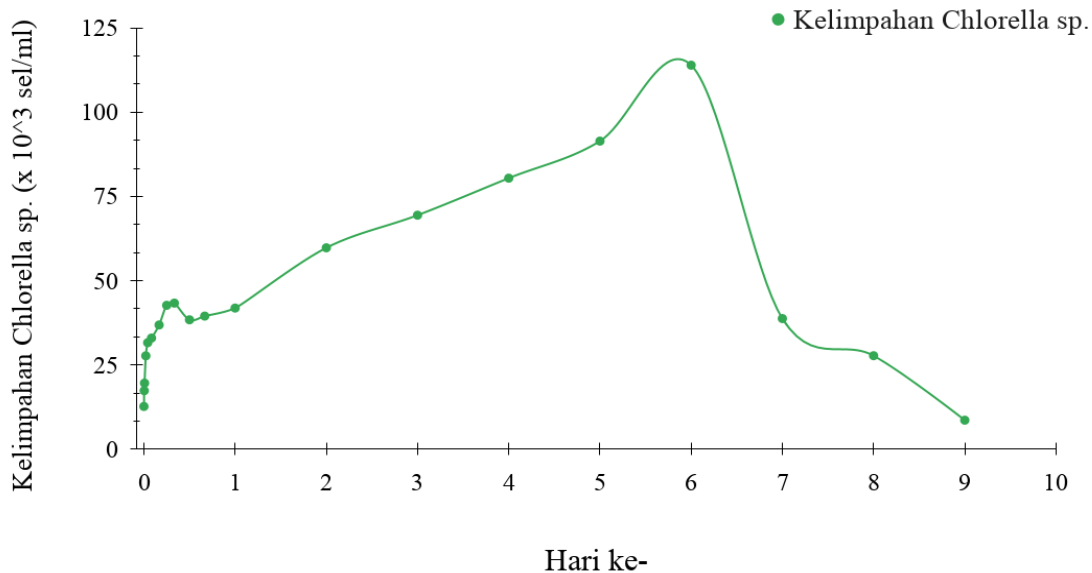
Variabel	Perlakuan	Hari ke-				Rata-rata
		0	3	6	9	
Kelimpahan Bakteri (cfu/ml)	A	$2.60 \times 10^4$	-	-	$35.3 \times 10^4$	-
	C	$3.05 \times 10^4$	-	-	$23.5 \times 10^4$	-
pH	A	8.11	8.05	8.13	8.18	$8.12 \pm 0.05$
	B	8.00	8.08	8.02	6.64	$7.68 \pm 0.14$
	C	7.87	8.05	7.17	6.67	$7.44 \pm 0.6$
	D	7.78	8.12	8.13	8.21	$8.06 \pm 0.02$
DO (mg/l)	A	11.30	10.55	9.90	9.75	$10.38 \pm 0.07$
	B	11.05	10.45	10.00	9.90	$10.35 \pm 0.14$
	C	10.9	10.55	10.20	10.05	$10.43 \pm 0.07$
	D	10.95	10.75	10.30	10.05	$10.51 \pm 0.05$
Temperatur Air (°C)	A	25.05	25.86	25.75	26.20	$25.71 \pm 0.13$
	B	25.30	25.75	25.60	26.10	$25.69 \pm 0.09$
	C	25.50	25.55	25.65	26.00	$25.68 \pm 0.04$
	D	25.85	25.65	25.70	26.10	$25.83 \pm 0.07$
Temperatur Udara (°C)		24	24	24	24	24

Variabel pH pada perlakuan C (kombinasi) dan B (*Chlorella sp.*) mengalami penurunan pH hingga akhir pengamatan dengan rata-rata pH yang paling rendah yaitu  $7.44 \pm 0.6$  dan  $7.68 \pm 0.14$ , sedangkan perlakuan A (probiotik) dan D (kontrol) relatif mengalami peningkatan dengan rata-rata  $8.12 \pm 0.05$  dan  $8.06 \pm 0.02$ . Sebagian besar pH berada pada kondisi optimal berkisar antara 7.9-8.1 (Grunditz dan Dalhammar, 2001). Kandungan oksigen terlarut (DO) setiap perlakuan mengalami penurunan dengan rata-rata tertinggi adalah perlakuan D (kontrol) yaitu  $10.51 \pm 0.05$  mg/l, diikuti dengan perlakuan C (kombinasi) yaitu  $10.43 \pm 0.07$  mg/l, perlakuan A (probiotik) yaitu  $10.38 \pm 0.07$  mg/l dan perlakuan B (*Chlorella sp.*) yaitu  $10.35 \pm 0.14$  mg/l. Variabel temperatur memiliki angka yang relatif homogen dan mengalami peningkatan hingga akhir pengamatan pada setiap perlakuan yaitu berkisar antara 25-26 °C. Kebutuhan oksigen terlarut (DO) dipenuhi dengan adanya aerasi secara konstan dan temperatur yang dicapai optimal pada  $25 \pm 1$  °C (Feng *et al.*, 2020).



### Kelimpahan dan Laju Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella* sp.

Kelimpahan *Chlorella* sp. pada percobaan pendahuluan, memiliki pola pertumbuhan yang meningkat hingga mencapai puncak pada hari ke-6 dengan kelimpahan *Chlorella* sp. tertinggi sebesar  $113 \times 10^3$  sel/L. Setelah itu, kelimpahan *Chlorella* sp. mengalami penurunan hingga hari ke-9 (hari terakhir) dengan kelimpahan terendah sebesar  $8.6 \times 10^3$  sel/L (Gambar 3). Pada pengamatan di hari pertama (hari ke 0), kelimpahan *Chlorella* sp. meningkat secara drastis mencapai  $43 \times 10^3$  sel/L hingga jam ke 8, pada waktu memasuki malam hari. Peningkatan kelimpahan *Chlorella* sp. secara drastis disebabkan karena kandungan nutrisi yang berasal dari air limbah dan adanya penambahan pupuk Walne. Menurut Sutomo (2005) dalam Boroh *et al.* (2019), pada awal pertumbuhan *Chlorella* sp. memiliki laju pertumbuhan relatif tinggi, menandakan bahwa *Chlorella* sp. cepat memiliki daya adaptasi lingkungan yang baru sehingga dapat tumbuh dengan cepat. Pada pengamatan berikutnya, kelimpahan *Chlorella* sp. mengalami penurunan sebesar 13% hingga  $38 \times 10^3$  sel/L, yang menunjukkan sebagian kecil *Chlorella* sp. tidak dapat bertahan terhadap lingkungan yang baru sehingga *Chlorella* sp. mengalami pertumbuhan yang lambat (Boroh *et al.*, 2019).



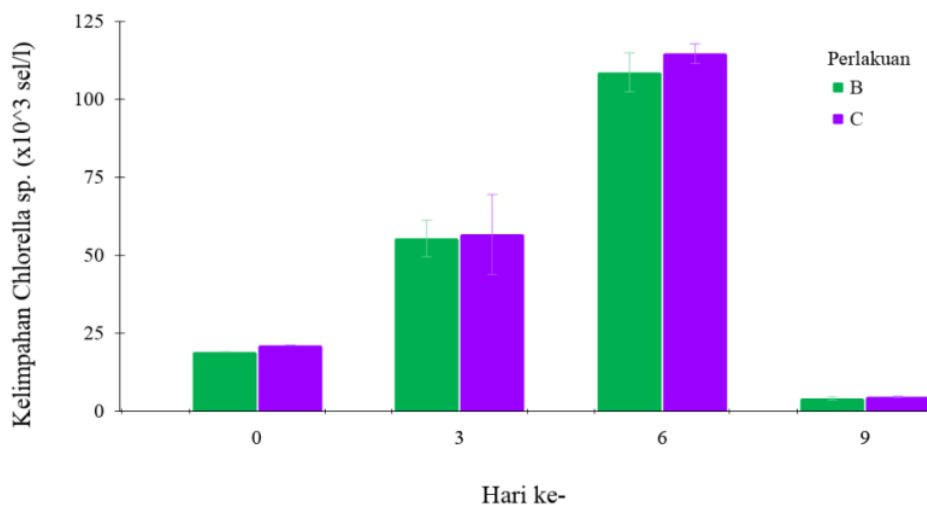
Gambar 3 Laju pertumbuhan *Chlorella* sp. pada percobaan pendahuluan

*Chlorella* sp. mengalami pertumbuhan secara eksponensial mulai hari ke-1 hingga mencapai puncak pada hari ke-6 dengan kelimpahan sebesar  $113 \times 10^3$  sel/L. Hal ini disebabkan ketersediaan unsur hara nitrogen membuat pembelahan sel masih terus berlangsung hingga masa puncak eksponensial, dan menurun secara signifikan pada hari ke-7 menjadi  $38 \times 10^3$  sel/L. Menurut Fogg (1965) dalam Chilmawati dan Suminto (2008), penurunan kelimpahan *Chlorella* sp. setelah masa puncak disebabkan karena berkurangnya nutrisi diikuti dengan peningkatan jumlah populasi *Chlorella* sp., sehingga *Chlorella* sp. tidak mampu dalam mempertahankan kelimpahan selnya dan terjadi penurunan secara drastis. Selain itu, pada pengamatan ditemukan adanya organisme lain seperti zooplankton yang merupakan predator bagi *Chlorella* sp. juga merupakan faktor yang memengaruhi penurunan kelimpahan *Chlorella* sp. Adanya kompetisi, sifat fisik lingkungan (daya dukung), predasi dan sifat genetik menjadi faktor yang memengaruhi kelimpahan *Chlorella* sp. yang dalam waktu berbeda akan mengalami penurunan populasi akibat faktor tersebut (Boroh *et al.*, 2019)

Kelimpahan *Chlorella* sp. pada rancangan percobaan yang dilakukan, menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan yang dilakukan pengukuran kelimpahan *Chlorella* sp. yaitu perlakuan B (mikroalga *Chlorella* sp.) dan perlakuan C (kombinasi mikroalga dengan probiotik), juga memiliki pola pertumbuhan yang sama seperti pada percobaan pendahuluan yaitu meningkat dari waktu ke waktu pengamatan hingga mencapai hari puncak



(hari ke-6), kemudian menurun hingga akhir pengamatan (hari ke-9) (Gambar 4). Pada perlakuan C, kelimpahan *Chlorella* sp. mencapai puncaknya pada  $114 \times 10^3$  sel/L, sedangkan pada perlakuan B mencapai puncak pada  $109 \times 10^3$  sel/L, sedikit lebih rendah dari perlakuan C. Kelimpahan *Chlorella* sp. pada perlakuan C dan B hingga hari puncak, masing-masing menunjukkan persentase kenaikan sebesar 82.6% dan 81.6%. Kelimpahan terendah terjadi pada hari ke-9, yaitu perlakuan B sebesar  $4 \times 10^3$  sel/L, sedangkan perlakuan C sebesar  $4.4 \times 10^3$  sel/L (Gambar 4). Dari waktu ke waktu pengamatan, kelimpahan *Chlorella* sp. pada perlakuan C relatif lebih tinggi daripada perlakuan B. Hal tersebut menandakan bahwa populasi *Chlorella* sp. pada perlakuan C lebih tinggi dibandingkan perlakuan B. Tingginya kelimpahan *Chlorella* sp. didukung oleh adanya faktor kualitas air terutama temperatur, yang menjadi faktor pembatas untuk organisme air (Cech, 2005 dalam Djoharam *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil pengamatan temperatur air, menunjukkan bahwa temperatur air memiliki angka yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. berkisar  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (Feng *et al.*, 2020).

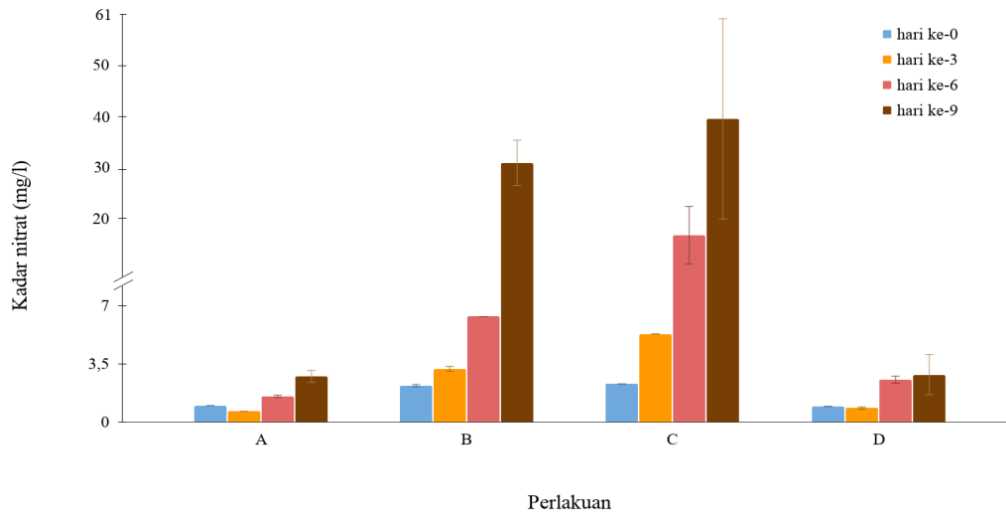


Gambar 4 Rancangan percobaan kelimpahan *Chlorella* sp. pada perlakuan B (*Chlorella* sp.) dan C (kombinasi *Chlorella* sp. dan probiotik)

### Perubahan Kadar Nitrat

Hasil pengukuran variabel nitrat menunjukkan bahwa kadar nitrat berbeda-beda antar perlakuan. Pada perlakuan penambahan probiotik (A) dan perlakuan kontrol (D), variasi nitrat dari hari 0 hingga hari ke 9 memiliki pola yang sama yaitu mengalami penurunan kadar nitrat pada hari ke-3 (Gambar 5). Berbeda dengan perlakuan penambahan mikroalga (perlakuan B) dan kombinasi probiotik dan mikroalga (perlakuan C) yang memperlihatkan pola perubahan yang serupa dengan kenaikan kadar nitrat setiap harinya. Pada perlakuan A dan D, kenaikan kadar nitrat relatif lebih rendah dibandingkan perlakuan B dan C. Hasil perhitungan perubahan kadar nitrat (persamaan 2) menunjukkan bahwa persentase kenaikan kadar nitrat tertinggi adalah perlakuan C (probiotik dan *Chlorella* sp.) sebesar 1 874%, diikuti perlakuan B dengan 1 664%, perlakuan D sebesar 200% dan terendah adalah perlakuan A sebesar 175%.

Kadar nitrat yang meningkat secara signifikan, sangat dipengaruhi oleh faktor lain yang salah satunya adalah pH. Dalam penelitian ini, pada saat angka pH menurun diikuti oleh peningkatan kadar nitrat seperti pada perlakuan B (mikroalga *Chlorella* sp.) dan C (kombinasi probiotik dan mikroalga). Peningkatan senyawa nitrat diduga diakibatkan kenaikan senyawa amonium yang dipengaruhi oleh fluktuasi pH. Senyawa amonium dianggap sebagai sumber nitrogen yang hemat energi untuk mikroalga karena dalam penyerapannya membutuhkan lebih sedikit energi dibandingkan nitrat ( $\text{NO}_3$ ) (Minhas *et al.*, 2016). Fluktuasi pH yang terjadi akan memengaruhi kesetimbangan amonia ( $\text{NH}_3$ ) dan ion amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) di air. Semakin tinggi pH dan temperatur air akan memungkinkan terbentuknya amonia ( $\text{NH}_3$ ) yang bersifat toksik, begitu juga sebaliknya.



Gambar 5 Persentase perubahan kadar nitrat pada perlakuan A (probiotik), B (*Chlorella* sp.), C (kombinasi *Chlorella* sp. dan probiotik), D (kontrol tanpa perlakuan)

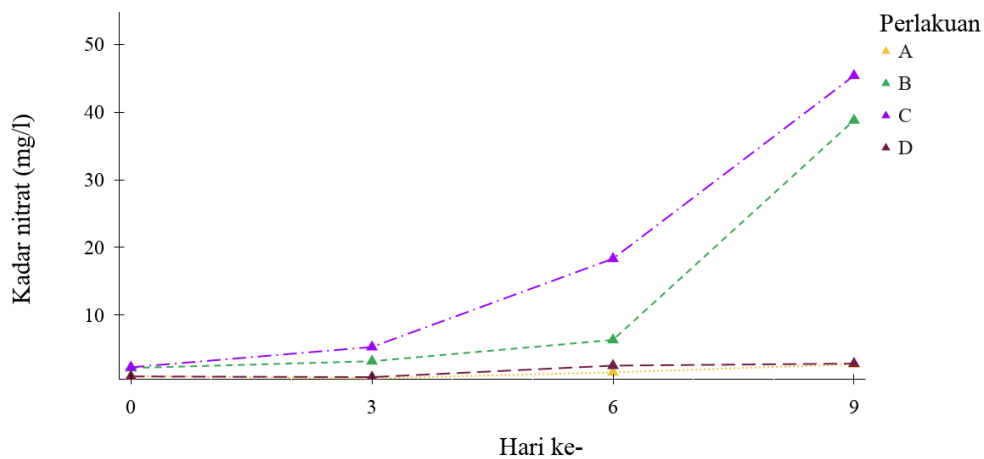
Pada perlakuan penambahan probiotik (A) dan kontrol (D), angka pH cenderung meningkat dan berada pada kondisi optimal pH antara 7.9-8.1 (Grunditz dan Dalhammar, 2001). Hal tersebut menandakan bahwa kadar amonia (senyawa amonium) pada perlakuan tersebut meningkat seiring dengan peningkatan pH. Apabila terdapat nitrat dan amonia secara bersamaan, maka nitrat tidak akan diabsorpsi sampai semua amonia habis terserap (Nurhayati *et al.*, 2014). Sementara itu pada perlakuan C (kombinasi), kondisi pH setelah pengamatan hari ke 6, cenderung menurun di bawah kondisi optimal bagi bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi ( $\text{pH} < 7.9$ ), sehingga pertumbuhan bakteri melambat, karena pada pH rendah laju nitrifikasi terjadi secara lambat dan pertumbuhan bakteri menjadi lebih rendah.

Peningkatan senyawa nitrat juga diduga disebabkan karena pada saat fase lag atau fase adaptasi *Chlorella* sp. terhadap lingkungan yang baru, sebagian *Chlorella* sp. tidak dapat beradaptasi terhadap air limbah, sehingga sebagian mati dan membentuk nitrogen organik yang menjadi senyawa amonium, kemudian diurai menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi. Senyawa amonium yang tinggi terbentuk karena proses ionisasi amonia pada  $\text{pH} < 7$ , dan menjadi sumber energi yang lebih disukai oleh *Chlorella* sp. meskipun senyawa amonia dalam bentuk ini bersifat racun bagi mikroalga (Arifin, 2012). Peningkatan kadar nitrat secara drastis juga sangat dipengaruhi oleh kelimpahan bakteri. Hal ini ditunjukkan pada setiap perlakuan dengan pengukuran kelimpahan total bakteri yaitu perlakuan A (probiotik) dan C (kombinasi probiotik dan mikroalga), memiliki hasil kelimpahan bakteri yang meningkat hingga akhir pengamatan (Tabel 1). Berbeda dengan perlakuan C, perlakuan A (probiotik) memiliki laju nitrifikasi yang paling rendah. Hal tersebut diduga disebabkan karena adanya pengaruh kinerja bakteri denitrifikasi dalam mengurai nitrat menjadi  $\text{N}_2\text{O}$  dan nitrogen bebas, sehingga kadar nitrat menjadi berkurang yang memengaruhi angka laju nitrifikasi. Sementara itu, pada perlakuan kontrol (D) laju nitrifikasi meningkat disebabkan karena adanya bakteri nitrifikasi yang berasal dari air limbah itu sendiri dan dipengaruhi oleh adanya aerasi.

Menurut Djokosetyanto *et al.* (2006), suplai oksigen dari proses aerasi dapat memengaruhi proses nitrifikasi, sehingga jumlah oksigen mencukupi untuk kebutuhan proses merubah senyawa amonia menjadi nitrit dan kemudian nitrat. Organisme dalam air yaitu bakteri heterotrof dan bakteri nitrifikasi-denitrifikasi sangat membutuhkan oksigen untuk mengoksidasi senyawa amonia menjadi nitrat (Kwon *et al.*, 2019), sehingga oksigen terlarut pada setiap perlakuan cenderung mengalami penurunan pada hingga akhir pengamatan (Tabel 1). Hal tersebut ditunjukkan pada peningkatan kelimpahan total bakteri hingga akhir pengamatan yang dipengaruhi oleh kandungan oksigen terlarut (DO). Kandungan DO yang tinggi membantu kinerja bakteri dalam proses nitrifikasi dan denitrifikasi yang mungkin tidak dapat dicapai pada keadaan DO yang rendah yaitu  $< 3 \text{ mg/l}$  (Cui *et al.*, 2019).

**Laju Nitrifikasi (*Nitrification Rate*)**

Laju nitrifikasi disebut juga sebagai laju oksidasi amonia atau amonium secara biologis menjadi nitrit diikuti dengan oksidasi nitrit menjadi nitrat (Hong *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, besarnya laju nitrifikasi menunjukkan besarnya perubahan (peningkatan) kadar nitrat pada waktu awal pengamatan hingga waktu akhir pengamatan pada setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa laju nitrifikasi pada 4 perlakuan yang dilakukan memiliki pola yang berbeda-beda (Gambar 6). Kombinasi antara bakteri dan *Chlorella* sp. (perlakuan C) memperlihatkan laju nitrifikasi paling tinggi yaitu 0.2 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.jam<sup>-1</sup>, sedangkan laju nitrifikasi paling rendah terjadi pada penambahan probiotik bakteri (perlakuan A) yaitu 0.008 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.jam<sup>-1</sup>. Kedua perlakuan lainnya yaitu perlakuan B (penambahan *Chlorella* sp.) dan D (kontrol) masing-masing memiliki laju nitrifikasi 0.169 dan 0.009 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.jam<sup>-1</sup> (Gambar 6).



Gambar 6 Laju nitrifikasi pada perlakuan A (probiotik), B (*Chlorella* sp.), C (kombinasi *Chlorella* sp. dan probiotik), D (kontrol tanpa perlakuan)

Perlakuan yang memiliki laju nitrifikasi tertinggi adalah perlakuan C yaitu kombinasi antara bakteri dan *Chlorella* sp. sebesar 0.2 mg NH<sub>4</sub>-N l<sup>-1</sup>.jam<sup>-1</sup> atau 0.2 miligram amonium per liter per jam. Hal ini didasarkan pada kadar nitrat yang meningkat sebesar 1 874% hingga akhir pengamatan (Gambar 5). Nitrat merupakan indikator penentu laju nitrifikasi, dimana semakin banyak terjadi nitrifikasi maka kadar nitrat akan semakin tinggi. Laju nitrifikasi tertinggi yang terjadi pada perlakuan C (kombinasi probiotik dan *Chlorella* sp.), dapat disebabkan oleh adanya *Chlorella* sp. Mikroalga *Chlorella* sp. memiliki pengaruh yang besar terhadap peningkatan nitrat. Hal tersebut dikarenakan adanya proses nitrifikasi dan penyerapan terhadap nitrat terjadi sangat sedikit karena mikroalga lebih menyukai bentuk senyawa amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), sehingga penyerapannya lebih tinggi daripada nitrat (Minhas *et al.*, 2016).

Tabel 2 Hasil analisis sidik ragam dan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)

Faktor (Variabel)	Keterangan	Notasi	Signifikansi
Perlakuan (P)	A (probiotik)	a	0.000435 (p<0.05)
	D (kontrol)	a	
	B ( <i>Chlorella</i> sp.)	b	
	C (kombinasi A dan B)	b	
Waktu (W)	Hari ke-0	a	0.000905 (p<0.05)
	Hari ke-3	a	
	Hari ke-6	b	
	Hari ke-9	c	

Analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan data kadar nitrat yang ditransformasi menjadi logaritma natural ( $\ln$ ) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dan waktu (durasi perlakuan) terhadap perubahan (peningkatan) kadar nitrat ( $p\text{-value}<0.05$ ) (Tabel 2). Hasil uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), menunjukkan angka rata-rata tertinggi terdapat pada perlakuan C (kombinasi probiotik dan mikroalga *Chlorella* sp.), diikuti dengan perlakuan B (mikroalga *Chlorella* sp.), perlakuan D (kontrol) dan terendah adalah perlakuan A (probiotik) (Tabel 2). Pada variabel waktu (W) rata-rata tertinggi terdapat pada hari ke-9, diikuti dengan hari ke-6, hari ke-3 dan terendah adalah hari ke-0 (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan C (kombinasi) dan waktu ke-9 adalah perlakuan dan waktu yang memiliki perubahan (peningkatan) kadar nitrat paling tinggi karena memiliki rata-rata tertinggi. Hasil tersebut dipengaruhi oleh peningkatan kadar nitrat pada setiap perlakuan hingga akhir pengamatan. Kadar nitrat yang sangat tinggi menandakan bahwa kadar amonium yang terkandung dalam air cukup tinggi, dimana sebagian besar amonium mengalami proses nitrifikasi karena ada donor oksigen yang berasal dari aerasi (Riffiani, 2009) dan dari mikroalga sebagai penghasil oksigen bagi bakteri nitrifikasi (Jia dan Yuan, 2016).

Proses nitrifikasi yang terjadi menyebabkan senyawa amonium dan nitrit secara signifikan berubah menjadi nitrat, sehingga menyebabkan terjadinya akumulasi nitrat yang tinggi (Riffiani, 2009). Sementara itu, akumulasi nitrat berbanding terbalik dengan penyerapan kadar nitrat oleh mikroalga dan bakteri yang terjadi. Hal tersebut terjadi karena mikroalga lebih menyukai senyawa berbentuk amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) karena lebih sedikit energi yang dikeluarkan dalam penyerapannya daripada penyerapan senyawa nitrat (Minhas *et al.*, 2016). Mikroalga lebih mengutamakan penyerapan senyawa amonium dibandingkan dengan penyerapan senyawa bentuk nitrat, karena penyerapan amonium dapat melalui membran sel secara langsung, sedangkan untuk nitrat harus dilakukan proses translokasi ion terlebih dahulu karena membran tidak bersifat permeabel untuk nitrat (Riffiani, 2009). Mikroalga memiliki pengaruh yang sangat besar terhadap peningkatan senyawa nitrat, terlihat dari perlakuan yang memiliki rerata paling tinggi yaitu perlakuan kombinasi probiotik dan mikroalga (C) dan perlakuan *Chlorella* sp. (B), yang keduanya merupakan perlakuan dengan adanya penambahan mikroalga *Chlorella* sp., berbeda dengan perlakuan A (probiotik) dan perlakuan D (kontrol) yang tanpa adanya penambahan *Chlorella* sp.

Hubungan mikroalga *Chlorella* sp. dengan bakteri nitrifikasi-denitrifikasi dapat dikatakan sangatlah kompleks. Konsorsium mikroalga dengan bakteri dapat membentuk hubungan yang berlangsung secara sinergis. Mikroalga *Chlorella* sp. dapat menghasilkan berbagai zat organik yang dapat diasimilasi oleh bakteri secara langsung serta menghasilkan oksigen untuk kebutuhan bakteri dalam proses nitrifikasi (Jia dan Yuan, 2016). Di dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan oksigen, mikroalga *Chlorella* sp. menyerap  $\text{CO}_2$  sehingga meningkatkan penyerapan amonium dan konsentrasi ion  $\text{OH}^-$  serta banyak melepaskan ion  $\text{H}^+$  (Knud-Hansen, 1998 dalam Jia dan Yuan, 2016), dimana melimpahnya ion hidrogen yang terlepas dapat menurunkan pH (Le *et al.*, 2018). Hubungan bakteri dan mikroalga *Chlorella* sp. memiliki kesamaan, hal itu karena pelepasan ion hidrogen sama halnya pada proses fotosintesis (mikroalga) juga terjadi pada proses nitrifikasi (bakteri), yaitu saat terjadinya oksidasi amonia (amonium) menjadi nitrit (Le *et al.*, 2018).

## KESIMPULAN

Laju nitrifikasi pada setiap perlakuan memiliki pola yang berbeda-beda tetapi relatif meningkat hingga akhir pengamatan. Laju nitrifikasi tertinggi terjadi pada perlakuan C (kombinasi probiotik dan *Chlorella* sp.) yaitu  $0.2 \text{ mg NH}_4\text{-N l}^{-1}\text{.jam}^{-1}$ , diikuti perlakuan B (*Chlorella* sp.), D (kontrol), dan A (probiotik) masing-masing sebesar  $0.169$ ,  $0.009$  dan  $0.008 \text{ mg NH}_4\text{-N l}^{-1}\text{.jam}^{-1}$ . Persentase perubahan (peningkatan) kadar nitrat dari awal hingga akhir pengamatan dari yang tertinggi secara berurutan yaitu perlakuan C sebesar  $1874\%$ , perlakuan B sebesar  $1664\%$ , D sebesar  $200\%$  dan perlakuan A sebesar  $175\%$ . Hasil analisis sidik ragam dan uji DMRT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar perlakuan dan waktu terhadap perubahan kadar nitrat ( $p\text{-value}<0.05$ ) dengan rata-rata perubahan (peningkatan) kadar nitrat tertinggi terdapat pada perlakuan C dan hari ke-9.

## DAFTAR PUSTAKA

- [APHA] American Public Health Association. 1989. *Standar Methods for The Examination of Water and Wastewater*. Washington DC (US): American Public Control Federation.
- [EPA] Environmental Protection Agency. 1974. *Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes*. Washington DC (US): EPA.
- [LIPI] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2015. *Eutrofikasi Penyebab Kematian Massal Ikan* [Internet]. [diunduh 2020 Jan 12]. Tersedia pada: <http://lipi.go.id/>.
- Adyasari D, Oehler T, Afiati N, Moosdorf N. 2018. Groundwater nutrient inputs into an urbanized tropical estuary system in Indonesia. *Science of the Total Environment*. 627(1): 1066-1079.
- Agustiyani D, Imamuddin H, Gunawan E, Darusman LK. 2007. Proses nitrifikasi oleh kultur mikroba penitrifikasi N-Sw dan zeolit. *Jurnal Ilmiah Nasional*. 8(5): 405-411.
- Al-Mamoori SOH, Al-Yaseen BM, Jabuk SIA, Kamil ZS, Jawad ZF, Naji OM. 2020. Bioremediation by using the microalgae *Chlorella vulgaris* to remove phosphate and nitrite from the domestic waste water treatment plant in Iraq. *The Journal of Research on the Lepidoptera*. 51(1): 660-668.
- Arifin F. 2012. Uji kemampuan *Chlorella* sp. sebagai bioremediator limbah cair tahu [tesis]. Malang (ID): UIN Maliki Malang.
- Arifin M. 2000. Pengolahan limbah hotel berbintang [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Boroh R, Litaay M, Umar MR, Ambeng. 2019. Pertumbuhan *Chlorella* sp. pada beberapa kombinasi media kultur. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*. 4(2): 129-137.
- Carritt DE, Kanwisher JW. 1959. Electrode system for measuring dissolved oxygen. *Anal Chem* 31: 5-9.
- Chen H, Wang Q. 2020. Microalgae-based nitrogen bioremediation. *Algal Research*. 46: 10-17.
- Chen Z, Jiang Y, Chang Z, Wang J, Song X, Huang Z, Chen S, Li J. 2020. Denitrification characteristics and pathways of a facultative anaerobic denitrifying strain, *Pseudomonas denitrificans* G1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 30: 1-8.
- Chilmawati D, Suminto. 2008. Penggunaan media kultur yang berbeda terhadap pertumbuhan *Chlorella* sp. *Jurnal Saintek Perikanan*. 4(1): 42-49.
- Cui B, Yang Q, Liu X, Huang S, Yang Y, Liu Z. 2019. The effect of dissolved oxygen concentration on long-term stability of partial nitrification process. *Journal of Environmental Sciences*. 30: 1-9.
- Cytryn E, Levkovitch I, Negreanu Y, Dowd S, Frenk S, Silber A. 2012. Impact of short-term acidification on nitrification and nitrifying bacterial community dynamics in soilless cultivation media. *Appl Environ Microbiol*. 78(18): 6576-6582.
- Djazari M, Rahmawati D, Nugroho MA. 2013. Pengaruh sikap menghindari risiko *sharing* dan *knowledge self-efficacy* terhadap informal knowledge sharing pada mahasiswa FISE UNY. *Jurnal Nominal*. 2(2): 181-209.
- Djoharam V, Riani E, Yani M. 2018. Analisis kualitas air dan daya tampung beban pencemaran Sungai Pesanggrahan di wilayah Provinsi DKI Jakarta. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan* 8(1): 127-133.
- Djokosetiyanto D, Sunarma A, Widanarni. 2006. Perubahan ammonia (NH<sub>3</sub>-N), nitrit (NO<sub>2</sub>-N) dan nitrat (NO<sub>3</sub>-N) pada media pemeliharaan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.) di dalam sistem resirkulasi. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 5: 13-20.
- Feng P, Xu Z, Qin L, Alam AM, Wang Z, Zhu S. 2020. Effects of different nitrogen sources and light paths of flat plate photobioreactors on the growth and lipid accumulation of *Chlorella* sp. GN1 outdoors. *Bioresource Technology*. 301: 1-9.
- Gilhawley F. 2008. Factors governing nitrification in an activated sludge system treating a pharmaceutical wastewater [tesis]. Dublin (IE): Dublin City University.
- Grunditz C, Dalhammar G. 2001. Development of nitrification inhibition assays using pure cultures of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Research*. 35(2): 433-440.

- Herlambang A, Marsidi R. 2003. Proses denitrifikasi dengan sistem biofilter untuk pengolahan air limbah yang mengandung nitrat. *J Tek Ling*. 4(1): 46-55.
- Hong Y, Wang Y, Wu J, Jiao L, He X, Wen X, Chang X. 2018. Developing a mathematical modeling method for determining the potential rates of microbial ammonia oxidation and nitrite oxidation in environmental samples. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 133: 116-123.
- Ikhsan MK, Rudiyantri S, Ain C. 2020. Hubungan antara nitrat dan fosfat dengan kelimpahan fitoplankton di Waduk Jatibarang Semarang. *MAQUARES*. 9(1): 23-30.
- Jia H, Yuan Q. 2016. Removal of nitrogen from wastewater using microalgae and microalgae–bacteria consortia. *Cogent Environmental Science*. 2(1): 1-15.
- Karangan J, Sugeng, B, Sulardi. 2019. Uji keasaman air dengan alat sensor pH di STT Migas Balikpapan. *Jurnal Keilmuan Teknik Sipil*. 2(1): 65-72.
- Kwon G, Kim H, Song C, Jahng D. 2019. Co-culture of microalgae and enriched nitrifying bacteria for energy-efficient nitrification. *Biochemical Engineering Journal*. 152: 1-54.
- Le TTH, Fettig J, Meon G. 2018. Kinetics and simulation of nitrification at various pH values of a polluted river in the tropics. *Ecohydrology & Hydrobiology*. 118: 1-12.
- Lihawa F, Mahmud M. 2017. Evaluasi karakteristik kualitas air Danau Limboto. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. 7(3): 260-266.
- Lomas MW, Lipschultz F. 2006. Forming the primary nitrite maximum: nitrifiers or phytoplankton?. *Limnol Oceanogr*. 51(5): 2453-2467.
- Ma X, Zhou W, Fu Z, Cheng Y, Min M, Liu Y, Ruan R. 2014. Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system. *Bioresource Technology*. 167: 8-13.
- Martinez S, Alvarez S, Marin MR, Delgado DMM. 2019. Food consumption contribution to nitrogen pollution of cities in Northern and Southern Europe. *Sustainable Cities and Society*. 50: 1-10.
- Mattjik AA, Sumertajaya M. 2000. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Bogor (ID): IPB Press.
- Minhas AK, Hodgson P, Barrow CJ, Adholeya A. 2016. A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. *Front Microbiol*. 7: 1-19.
- Nurhayati C, Hamzah B, Pambayun R. 2014. Pengaruh pH, konsentrasi isolat *Chlorella vulgaris* dan waktu pengamatan terhadap tingkat cemaran limbah cair crumb rubber. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 25(2): 97-106.
- Paul I, Panigrahi AK, Datta S. 2020. Influence of nitrogen cycle bacteria on nitrogen mineralisation, water quality and productivity of freshwater fish pond: A review. *Asian Fisheries Science*. 33: 145-160.
- Persulesy ER, Lembang FK, Djidin H. 2016. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap (studi kasus: Jurusan Matematika FMIPA UNPATTI). *Jurnal Ilmu Matematika dan Terapan*. 10(1): 9-16.
- Prabowo R. 2017. Kadar nitrit pada sumber air sumur di Kelurahan Meteseh, Kec. Tembalang, Kota Semarang. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*. 1(1): 55-61.
- Prayitno J. 2015. Pola pertumbuhan dan pemanenan biomassa dalam fotobioreaktor mikroalga untuk penangkapan karbon. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 17(1): 45-52.
- Riffiani R. 2009. Peningkatan kualitas akuakultur menggunakan teknologi biofilter mikroalga imobil. *Biosfera* 26(3): 124-130.
- Rusdiani RR, Boedisantoso R, Hanif M. 2016. Optimalisasi teknologi fotobioreaktor mikroalga sebagai dasar perencanaan strategi mitigasi gas CO<sub>2</sub>. *Jurnal Teknik ITS*. 5(2): 2337-3539.
- Rustadi. 2009. Eutrofikasi nitrogen dan fosfor serta pengendaliannya dengan perikanan di Waduk Sermo. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 16(3): 176-186.

- Suprianto, Redjeki ES, Dadiono MS. 2019. Optimalisasi dosis probiotik terhadap laju pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada sistem bioflok. *Journal of Aquaculture and Fish Health*. 8(2): 80-86.
- Suswanti I, Sutamihardja RTM, Arrisujaya D. 2019. Potensi senyawaan nitrogen dan fosfat pada pencemaran Sungai Ciliwung hulu Kota Bogor. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 9(1): 11-21.
- Taziki M, Hossein A, Marcia AM. 2015. Growth of *Chlorella vulgaris* in high concentrations of nitrate and nitrite for wastewater treatment. *Current Biotechnology*. 4(3): 1-7.
- Zulfia N, Aisyah. 2013. Status trofik Perairan Rawa Pening ditinjau dari kandungan unsur hara (NO<sub>3</sub> dan PO<sub>4</sub>) serta klorofil-a. *BAWAL* 5(3): 189-199.