

# ISOLASI DAN UJI POTENSI BAKTERI NITRIFIKASI ASAL TANAH KEBUN KELAPA SAWIT DENGAN APLIKASI TANDAN KOSONG DAN LIMBAH CAIR PABRIK KELAPA SAWIT

Huryatul Islam<sup>1\*</sup>, Nelvia<sup>2</sup>, Delita Zul<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Riau, Pekanbaru, 28293, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau, Indonesia

Email: [huryatul09@gmail.com](mailto:huryatul09@gmail.com)

## Abstract

This study aimed was to isolate nitrifying bacteria from oil palm plantations fertilized with empty fruit bunch (EFB) and palm oil mill effluent (POME) and to analyze their potency. The soil samples were sampled from private oil palm plantations by purposive sampling method are mixed application (EFB + POME), EFB application, POME application and without application (C), and each location was taken 3 times. Isolation of nitrifying bacteria was performed by using *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. spesific media. The parameters observed were bacterial cells number, number of isolates and their potency. The results showed cells number of nitrifying bacteria range  $8.0 - 11.40 \times 10^5$  cfu g<sup>-1</sup> soil. A total of 18 isolates were isolated and potentially oxidized ammonium and nitrate. The best potential of bacteria in oxidizing ammonium at a concentration of 500 ppm (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> was isolate NSC34 (3.4 ppm), and isolate with the best potential to produce nitrate at a concentration of 500 ppm (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> were isolate of NBC225 (26.1 ppm). The most optimal activity of isolate bacteria to nitrifying occurred at a concentration of 500 ppm (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and at 4 days incubation time.

**Key words** : Nitrifying bacteria, palm oil empty fruit bunch, palm oil mill effluent

© 2021 Huryatul Islam, Nelvia, Delita Zul

## PENDAHULUAN

Limbah pabrik pengolahan kelapa sawit terdiri dari tandan kosong kelapa sawit (TKKS) dan limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS) merupakan bahan organik yang dapat diaplikasikan sebagai mulsa dan pupuk organik pada lahan perkebunan kelapa sawit karena limbah tersebut mengandung unsur hara esensial lengkap. Tandan kosong kelapa sawit dan limbah cair pabrik kelapa sawit mengandung unsur hara makro yaitu N, P, K, Ca, C, Na, S dan Mg serta hara mikro yaitu Fe, Mn, Cu, Zn, As, Hg, Cd, Pb dan Cr (Mulyani *et al.*, 2016). Menurut Pahan (2006) bahwa pemberian tandan kosong kelapa sawit dapat meningkatkan proses dekomposisi sehingga dapat memperbaiki sifat fisika, kimia dan

biologi tanah. Ketersediaan bahan organik berkorelasi positif dengan jumlah populasi mikroorganisme di dalam tanah karena tersedianya sumber energi dan karbon bagi mikroorganisme tersebut. Pemberian bahan organik secara terus menerus akan meningkatkan jumlah, aktivitas dan populasi mikroorganisme tanah terutama berkaitan dengan aktivitas dekomposisi dan mineralisasi.

Aktivitas mikroorganisme diperlukan untuk menjaga ketersediaan unsur hara dalam tanah terutama nitrogen yang sangat penting bagi tanaman. Nitrogen organik yang terakumulasi dalam tanah berupa bahan organik tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman. Oleh karena itu dibutuhkan proses perubahan bentuk nitrogen (N<sub>2</sub>) menjadi

amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) melalui proses nitrifikasi. Nitrifikasi merupakan proses oksidasi senyawa amonium menjadi nitrit dan nitrit menjadi nitrat oleh bakteri nitrifikasi. Nitrifikasi berlangsung melalui dua tahapan reaksi yaitu tahap pertama oksidasi amonium menjadi nitrit dilakukan oleh bakteri *Nitrosomonas*, dan tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh bakteri *Nitrobacter* (Anggrahini, 2009). Kedua jenis bakteri tersebut tergolong pada bakteri autotrof yang membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbon dioksida sebagai sumber karbon (Pratiwi, 2011).

Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi proses nitrifikasi dalam tanah meliputi; ketersediaan amonium ( $\text{NH}_4^+$ ), pH, kelembaban tanah, aerasi dan suhu (Antriana, 2015). Proses nitrifikasi dapat berlangsung jika  $\text{NH}_4^+$  tersedia. Proses nitrifikasi pada umumnya berlangsung secara aerob di dalam tanah. Keberadaan populasi bakteri nitrifikasi di dalam tanah sering digunakan sebagai indikator kualitas tanah karena jumlah jenisnya terbatas (Husen, 2007). Bakteri nitrifikasi merupakan bakteri yang berperan penting dalam meningkatkan kandungan bahan organik dan ketersediaan unsur hara pada tanah dengan menyediakan nitrat yang diserap oleh akar tanaman (Kiding *et al.*, 2015).

Tujuan penelitian adalah mendapatkan isolat bakteri nitrifikasi, mengetahui jumlah isolat bakteri *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang berpotensi mengoksidasi amonium menjadi nitrat dari lahan perkebunan kelapa sawit setelah aplikasi limbah kelapa sawit.

## BAHAN DAN METODA

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai Desember 2016. Sampel tanah diambil dari perkebunan kelapa sawit Kabupaten Pelalawan, Riau. Sampel tanah diambil dengan metode *purposive sampling* yaitu pada lahan yang telah diaplikasi tandan kosong kelapa sawit (TKKS), limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS), Campuran (TKKS+LCPKS) dan kebun masyarakat sebagai kontrol. Setiap lokasi diambil masing-masing 3 titik sebagai ulangan. Penelitian

dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Riau.

Penghitungan total populasi bakteri nitrifikasi dilakukan dengan metode tuang (*pour plate method*) (Waluyo, 2010). Prosedur penghitungan populasi bakteri sebagai berikut: timbang mengambil 1 gram sampel tanah dimasukkan dalam medium cair spesifik *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. Komposisi medium spesifik *Nitrosomonas* sp. yang digunakan terdiri dari 1000 ml aquades; 2,0 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ; 1,0 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 2,0 g NaCl; 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,4 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,01 g  $\text{CaCO}_3$  dan 0,025 g fenol-red, 15 g agar dengan pH 7 (Odokuma dan Akponah, 2008). Komposisi medium spesifik *Nitrobacter* sp. terdiri dari 1000 ml aquades; 0,2 g  $\text{NaNO}_2$ ; 0,50 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ; 0,50 g NaCl; 0,50 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,50 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 1,0 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 15 g agar dengan pH 7 (Zhang *et al.*, 2014). Kultur cair berisi sampel tanah tersebut dikocok dengan menggunakan shaker dan diinkubasi selama 7-10 hari atau hingga terjadi perubahan warna (Pratiwi, 2011). Bakteri pengoksidasi amonium diketahui karena terjadinya perubahan warna medium dari merah menjadi kuning. Bakteri pengoksidasi nitrat diketahui karena terjadinya perubahan warna medium dari bening menjadi keruh (Fatmawaty *et al.*, 2013). Selanjutnya dilakukan seri pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$ . Hasil seri pengenceran  $10^{-4}$  dan  $10^{-5}$  diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke cawan petri secara aseptis. Kemudian medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang masih encer dituang ke dalam cawan petri kemudian dihomogenkan dengan cara digoyang-goyang sampai suspensi tersebar merata. Selanjutnya, inkubasi pada suhu kamar selama 5-7 hari, lalu dihitung total populasi bakteri dari cawan petri yang mempunyai koloni 30-300 koloni.

Prosedur isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil 0,1 ml suspensi dari masing-masing medium spesifik dan dilakukan seri pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-4}$ . Kemudian dimasukkan ke dalam medium padat spesifik *Nitrosomonas* sp. dan medium spesifik *Nitrobacter* sp. Bakteri yang memiliki

karakteristik berbeda ditumbuhkan dengan metode streak kuadran pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. untuk mendapatkan kultur murni. Bakteri yang telah murni diinokulasikan pada agar miring dan diinkubasi pada suhu 4°C sehingga dapat digunakan pada tahap selanjutnya.

Prosedur uji potensi bakteri nitrifikasi dilakukan dengan mengukur kemampuan isolat dalam mengoksidasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan menghasilkan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ). Pengujian dilakukan dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dalam medium baru. Sebanyak 3 ml kultur bakteri nitrifikasi dipindahkan ke dalam 30 ml medium baru dengan konsentrasi 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  lalu dikocok. Pengukuran kadar amonium dan nitrat dilakukan pada interval waktu yaitu hari ke-0, ke-4, ke-8. Setiap pengukuran dilakukan juga terhadap blanko (Pratiwi, 2011).

Prosedur pengukuran kadar amonium dengan metode Nessler. Metode ini dilakukan dengan ambil 1 ml kultur ditambahkan 1-2 tetes larutan K-Na tartarat dikocok kuat-kuat, kemudian ditambahkan dengan pereaksi Nessler sebanyak 0,2 ml. Larutan tersebut kemudian didiamkan selama 10 menit hingga pembentukan warna menjadi sempurna. Selanjutnya kadar amonium diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm (Greenberg *et al.*, 1992). Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menggunakan kurva standar. Pengamatan tidak dilakukan pada

konsentrasi nitrit disebabkan nitrit bersifat reaktif, terbentuk sangat sedikit, tidak stabil dan merupakan senyawa peralihan dari oksidasi amonium menjadi nitrat (Tresnawati, 2006).

Prosedur uji potensi kadar nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dilakukan dengan metode Brusin. Pengukuran dilakukan dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Sebanyak 2,5 ml kultur ditambahkan dengan 0,25 ml brusin dan 2,5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat hingga warna medium berubah menjadi kuning, kemudian dikocok dan diamkan selama 60 menit. Kadar nitrat diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 432 nm (Sulaeman dan Eviati, 2009). Pengukuran nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dilakukan pada selang waktu yaitu pada hari ke-0, ke-4, ke-8. Kultur yang mengalami penurunan kadar amonium tercepat dan dengan kadar nitrat tertinggi merupakan kultur yang paling baik. Nilai absorbansi yang diperoleh dikonversi menggunakan kurva standar.

Karakteristik morfologi isolat bakteri nitrifikasi dilakukan dengan mengamati morfologi koloni yaitu bentuk, elevasi, permukaan, tepi dan warna. Morfologi sel yang diamati adalah bentuk sel dan dilakukan pewarnaan Gram.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total Populasi Bakteri Nitrifikasi

Total populasi bakteri nitrifikasi pada lokasi aplikasi limbah kelapa sawit dan kebun masyarakat, tidak berbeda nyata (Tabel 1).

Tabel 1. Total populasi bakteri nitrifikasi yang diaplikasi limbah kelapa sawit pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp.

| Aplikasi            | Medium (CFU/gram tanah)   |                          |
|---------------------|---------------------------|--------------------------|
|                     | <i>Nitrosomonas</i> sp.   | <i>Nitrobacter</i> sp.   |
| KM (Tanpa aplikasi) | 8,63 x 10 <sup>5</sup> a  | 8,00 x 10 <sup>5</sup> a |
| TKKS                | 10,87 x 10 <sup>5</sup> a | 8,31 x 10 <sup>5</sup> a |
| LCPKS               | 11,02 x 10 <sup>5</sup> a | 8,60 x 10 <sup>5</sup> a |
| Campuran            | 11,40 x 10 <sup>5</sup> a | 9,78 x 10 <sup>5</sup> a |

Angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama, berbeda tidak nyata menurut uji berganda Duncan  $\alpha = 5\%$ .

Tabel 1. Menunjukkan bahwa total populasi yang diperoleh pada ke empat lokasi tidak berbeda nyata, baik pada medium spesifik

*Nitrosomonas* sp. maupun *Nitrobacter* sp. Hal ini karena bakteri nitrifikasi tidak hanya bergantung pada bahan organik sebagai sumber

energi, akan tetapi dapat memanfaatkan senyawa anorganik sebagai sumber energi (Sudarno, 2012). Menurut Spotte (1979 dalam Pratiwi, 2011) bahwa bakteri nitrifikasi termasuk bakteri autotrof yang membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbon dioksida sebagai sumber karbon.

Lokasi aplikasi Campuran, TKKS dan LCPKS adalah lahan perkebunan kelapa sawit yang sudah diaplikasi bahan organik berupa tandan kosong dan limbah cair pabrik kelapa sawit. Sebaliknya, lokasi kebun masyarakat merupakan lahan kelapa sawit yang tidak diaplikasi bahan organik baik TKKS maupun LCPKS, namun petani menambahkan pupuk kimia salah satunya urea. Menurut Purwanto *et al.*, (2007) bahwa sebagian besar  $\text{NH}_4^+$  dari pupuk urea yang diberikan akan dimanfaatkan sebagai substrat sehingga populasi bakteri nitrifikasi meningkat. Menurut Alexander (1999), *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* tergolong ke dalam bakteri kemoautotrof obligat yang membutuhkan sumber energi yang spesifik, seperti *Nitrosomonas* membutuhkan amonium sebagai sumber energi dan *Nitrobacter* membutuhkan nitrit. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi proses nitrifikasi dalam tanah meliputi; ketersediaan amonium ( $\text{NH}_4^+$ ), pH, kelembaban tanah, aerasi dan suhu (Antriana, 2015). Proses nitrifikasi dapat berlangsung jika  $\text{NH}_4^+$  tersedia. Proses nitrifikasi pada umumnya berlangsung secara aerob di dalam tanah. Keberadaan populasi bakteri nitrifikasi di dalam tanah sering digunakan sebagai indikator kualitas tanah karena jumlah jenisnya terbatas (Husen, 2007).

Menurut Simanungkalit *et al.*, (2006) dan Nugroho (2012), bahwa tinggi rendahnya total populasi mikroba dipengaruhi oleh ketersediaan sumber energi di lingkungan dan kemampuan dalam bersaing dengan mikroba lain yang hidup dan berkembang biak dengan bergantung kepada sumber energi yang sama. Selain itu, ketersediaan media substrat dalam jumlah yang cukup, sangat menentukan dalam proses peningkatan populasi bakteri nitrifikasi (Saifullah, 2013). Faktor lain yang mempengaruhi jumlah populasi bakteri adalah adanya senyawa yang berasal dari eksudat akar

dan zat yang terlarut dalam tanah seperti *nitrapyrin*, *acetylene*, *chlorete*, *cyloheximide* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri nitrifikasi (Antriana, 2015).

Populasi bakteri nitrifikasi yang diperoleh pada penelitian lebih tinggi dari Atriana (2015) yang memperoleh jumlah bakteri nitritasi (*Nitrosomonas* sp.) pada karet berkisar  $0,28 \times 10^5$  cfu/g tanah dan bakteri nitratasi (*Nitrobacter* sp.) berkisar  $0,09 - 0,39 \times 10^5$  cfu/g tanah pada karet. Selanjutnya Hadi *et al.*, (2012) juga melaporkan total populasi bakteri nitrifikasi pada tanah gambut di Kalimantan selatan berkisar  $0,97 - 4,43 \times 10^3$  cfu/g tanah pada gambut dangkal dan  $0,33 - 1,46 \times 10^3$  cfu/g tanah pada gambut dalam. Namun lebih rendah dari penelitian Kiding *et al.*, (2015) yang memperoleh kepadatan bakteri nitrifikasi pada tingkat kematangan gambut berbeda di kawasan hutan lindung Gunung Ambawang yaitu tertinggi pada gambut fibrik yaitu  $160 \times 10^5$  cfu/g tanah dan terendah  $19 \times 10^5$  cfu/g tanah pada gambut saprik.

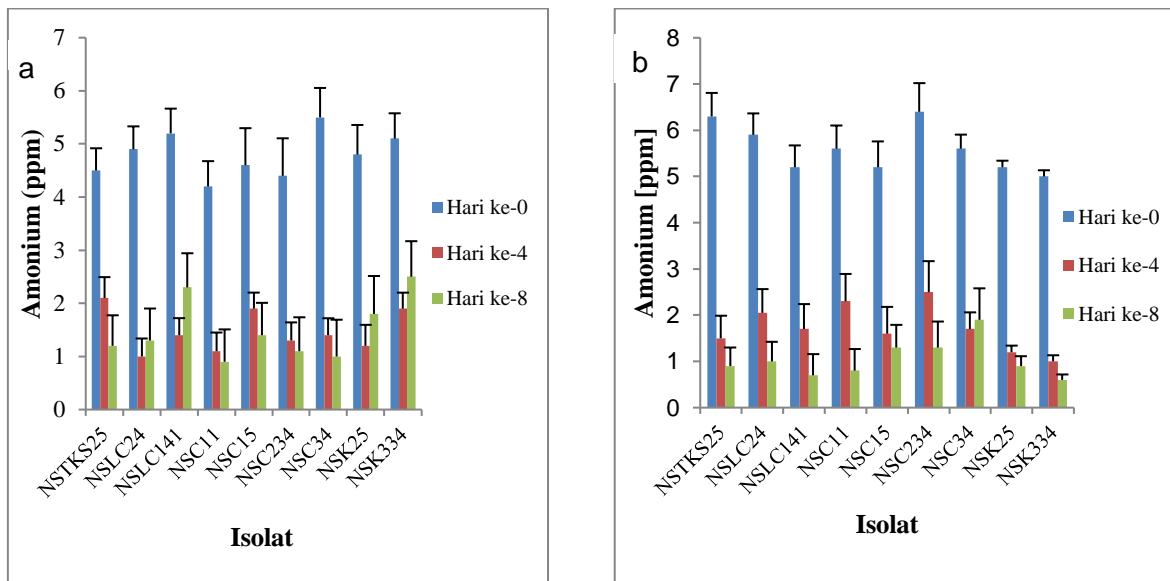
### Potensi Isolat Bakteri Nitrifikasi

Sebanyak 18 isolat bakteri nitrifikasi berhasil diisolasi dari empat lokasi sampel tanah, terdiri dari 9 isolat yang diperoleh dari medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dan 9 isolat dari medium spesifik *Nitrobacter* sp. Potensi isolat diperoleh dari pengukuran kemampuan isolat dalam mengoksidasi amonium ( $\text{NH}_4^+$ ) dan menghasilkan nitrat ( $\text{NO}_3$ ). Potensi isolat dalam mengoksidasi amonium pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1. Menunjukkan bahwa isolat NSC34 mempunyai potensi tertinggi dalam mengoksidasi amonium pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sedangkan isolat NSC11 berkemampuan paling rendah dengan konsentrasi 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan isolat NSLC141 dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  pada tahap awal inkubasi (0-hari). Pada inkubasi hari ke-4 terjadi penurunan konsentrasi amonium yang tajam baik pada

konsentrasi 250 ppm maupun 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sedangkan pada hari ke-8 penurunannya sangat sedikit, namun, ada isolat tertentu yaitu isolat NSLC141, NSK334, NSK25 dan NSLC24 terjadi peningkatan konsentrasi amonium pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Hal ini disebabkan beberapa faktor, di antaranya adalah aerasi, kandungan oksigen yang rendah dapat menghambat oksidasi amonium, sehingga terjadi akumulasi amonium (Pratiwi, 2011). Faktor lain adalah suhu, proses

nitrifikasi akan berlangsung cepat pada suhu optimum (Khasani, 2010). Rata-rata penurunan konsentrasi isolat dalam mengoksidasi amonium tertinggi pada konsentrasi 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah isolat NSK334 (3,2 ppm) dan terendah isolat NSC11 (2,1 ppm) sedangkan rata-rata penurunan konsentrasi isolat dalam mengoksidasi amonium pada konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah isolat NSC34 (3,4 ppm) dan terendah isolat NSK25 (2,4 ppm).



Gambar 1. Potensi beberapa isolat *Nitrosomonas* sp. dalam mengoksidasi Amonium pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. dengan konsentrasi; (a) 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . (b) 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

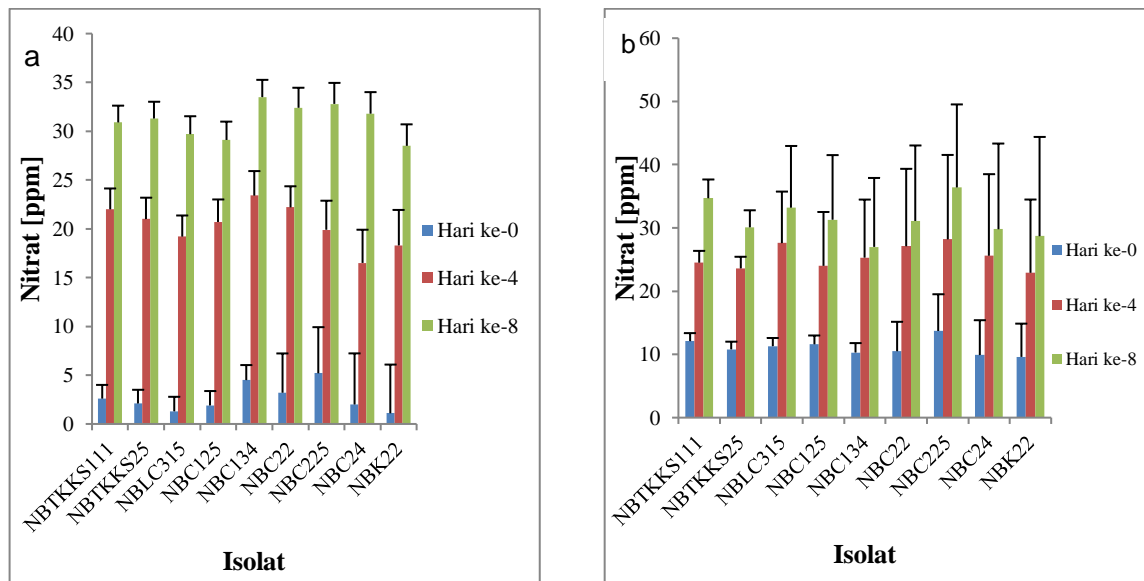
Hasil yang sama dilaporkan oleh Pratiwi (2011) bahwa aktivitas isolat bakteri nitrifikasi paling optimal terjadi waktu inkubasi 4 hari. Novita (2006) juga melaporkan bahwa konsentrasi senyawa amonium menurun hingga 7 hari inkubasi pada setiap perlakuan sumber karbon. Selanjutnya Hesselsoe *et al.*, (2006) melaporkan bahwa tanah yang diinkubasi dengan *Nitrosomonas europaea* menunjukkan aktivitas tinggi di awal inkubasi, diikuti penurunan yang cepat sampai hari ke-8 selanjutnya penurunan lebih lambat sampai hari ke-25.

Sebanyak sembilan isolat bakteri *Nitrobacter* sp. dalam menghasilkan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2. menunjukkan bahwa isolat NBC225 mempunyai potensi tertinggi menghasilkan nitrat pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. dengan konsentrasi 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan isolat NBTKKS11 pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sedangkan isolat NBK22 memiliki kemampuan terendah menghasilkan nitrat pada konsentrasi 250 ppm

dan isolat NBK22 pada konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  pada tahap awal inkubasi (0-hari). Pada inkubasi hari ke-4 terjadi peningkatan konsentrasi nitrat yang tajam pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. pada konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , sedangkan pada hari ke-8 menghasilkan nitrat lebih sedikit.

Isolat yang memiliki potensi rerata tertinggi dalam menghasilkan nitrat pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. dengan konsentrasi 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah isolat NBC134 sebesar 20,5 ppm dan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  adalah isolat NBC225 sebesar 26,1 ppm (Lampiran 5.b).



Gambar 2. Potensi beberapa isolat *Nitrobacter* sp. dalam menghasilkan Nitrat pada medium spesifik *Nitrobacter* sp. dengan konsentrasi (a) 250 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , (b) konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Hasil yang sama dilaporkan oleh Sitorus *et al.*, (2004) melaporkan bahwa kadar nitrat meningkat pada hari ke-4 sampai hari ke-7, sedangkan fase konstan hari ke-10 sampai hari ke-16. Selanjutnya Furyanti (2009) juga melaporkan bahwa pembentukan nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) setelah penambahan serasah *Tephrosia candida* mengalami peningkatan pada minggu pertama sampai minggu ke-4 dan mulai menurun minggu ke-7. Menurut Tate (2000) bahwa sintesis nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) akan meningkat sesuai dengan ketersediaan amonium di dalam tanah. Brady and Weil (2002 dalam Purwanto *et al.*, 2007) mengatakan bahwa konsentrasi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dalam tanah ditentukan oleh jumlah nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), bahan organik yang diberikan, imobilisasi mikroorganisme dan laju

nitrifikasi di dalam tanah. Konsentrasi nitrat akan meningkat, apabila tersedia oksigen yang cukup (Prantl *et al.*, 2006). Kondisi aerob menyebabkan terjadi nitrifikasi dan menghasilkan nitrat dengan bahan baku amonium yang ada di dalam tanah dan ketersediaan air sebagai media bagi bakteri nitrifikasi. Selanjutnya Purwanto (2007) menyatakan bahwa penurunan amonium dalam tanah akan meningkatkan konsentrasi nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) karena terjadi proses nitrifikasi.

### Karakteristik Isolat Bakteri Nitrifikasi

Karakteristik morfologi koloni isolasi bakteri nitrifikasi dari empat lokasi sampling menunjukkan sangat berbeda, disajikan pada Tabel.2.

Tabel 2. Karakteristik isolat bakteri nitrifikasi

| No | Kode Isolat | Morfologi Koloni |                 |         |          |                  | Morfologi Sel | Gram |
|----|-------------|------------------|-----------------|---------|----------|------------------|---------------|------|
|    |             | Bentuk           | Permukaan       | Elevasi | Tepi     | Warna            |               |      |
| 1  | NSTKKS25    | Tidak teratur    | Kering          | Cembung | Berombak | Putih            | Batang        | -    |
| 2  | NSLC24      | Bulat            | Halus           | Datar   | Rata     | Putih            | Batang        | -    |
| 3  | NSLC141     | Bulat            | Halus licin     | Tinggi  | Berombak | Putih keruh      | Batang        | -    |
| 4  | NSC11       | Bulat            | Halus           | Tinggi  | Rata     | Putih susu       | Batang        | -    |
| 5  | NSC15       | Tidak teratur    | Kering          | Cembung | Berombak | Putih susu       | Bulat         | -    |
| 6  | NSC234      | Bulat            | Halus           | Cembung | Rata     | Kuning           | Batang        | -    |
| 7  | NSC34       | Tidak teratur    | Halus           | Cembung | Rata     | Putih susu       | Batang        | -    |
| 8  | NSK25       | Bulat            | Halus           | Datar   | Rata     | Bening           | Batang        | -    |
| 9  | NSK334      | Bulat            | Kering          | Cembung | Berombak | Putih            | Spiral        | -    |
| 10 | NBTKKS11    | Bulat            | Halus           | Tinggi  | Berombak | Putih kekuningan | Batang        | -    |
| 11 | NBTKKS25    | Bulat            | Kering          | Datar   | Rata     | Putih susu       | Batang        | -    |
| 12 | NBLC315     | Bulat            | Halus           | Cembung | Berombak | Putih keruh      | Bulat         | -    |
| 13 | NBC125      | Tidak teratur    | Halus mengkilap | Tinggi  | Berombak | Putih susu       | Batang        | -    |
| 14 | NBC134      | Bulat            | Halus           | Cembung | Rata     | Krem             | Bulat         | -    |
| 15 | NBC22       | Tidak teratur    | Licin kering    | Cembung | Rata     | Putih            | Batang        | -    |
| 16 | NBC24       | Bulat            | Kering          | Datar   | Berombak | Putih keruh      | Batang        | -    |
| 17 | NBC225      | Bulat            | Halus           | Tinggi  | Rata     | Putih keruh      | Batang        | -    |
| 18 | NBK22       | Tidak teratur    | Licin           | Tinggi  | Berombak | Putih susu       | Batang        | -    |

Keterangan: NS: *Nitrosomonas* sp., NB : *Nitrobacter* sp., TKKS: Tandan kosong kelapa sawit, LC: Limbah cair pabrik kelapa sawit, C: Campuran, K: Kebun masyarakat.

Tabel 2. menunjukkan bahwa isolat bakteri nitrifikasi umumnya berbentuk bulat dan tidak teratur, permukaan koloni dominan halus, walaupun ada yang kering dan licin dengan elevasi cembung, datar dan tinggi, memiliki tepi berombak dan rata. Warna ada putih, putih susu, putih keruh, kuning dan krem. Morfologi sel umumnya berbentuk batang dan bulat serta satu isolat berbentuk spiral. Semua isolat termasuk Gram negatif. an dominan halus,

walaupun ada yang kering dan licin dengan elevasi berbentuk cembung, datar dan tinggi, memiliki tepi berombak dan rata. Warna koloni ada putih, putih susu, putih keruh, kuning dan krem. Morfologi sel umumnya berbentuk batang hingga bulat dan satu isolat berbentuk spiral. Semua isolat termasuk Gram negatif.

Menurut Holt *et al.*, (1994) bahwa bakteri nitrifikasi umumnya berbentuk bulat, batang dan spiral atau ellipsoid dan bersifat

Gram negatif. Karakteristik bakteri nitrifikasi yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan penelitian Kiding *et al.*, (2015) memperoleh karakteristik bakteri nitrifikasi bentuk koloni bulat dengan tepi licin, elevasi cembung dan datar, berwarna putih, kuning, dan putih bening. Fatmawaty *et al.*, (2013) melaporkan bentuk koloni yaitu *circular dan irregular*, elevasi berbentuk *low convex, raised dan flat*, tepi koloni berbentuk *entire, undulate, filamentous dan lobate* dan warna yang diperoleh putih susu, putih keruh, krem, krem kuning, krem bening dan putih kekuningan dengan 6 isolat bakteri Gram positif, dan 3 isolat Gram negatif Megawati (2014) juga melaporkan bahwa bakteri nitrifikasi di kolam ikan air tawar memiliki koloni berbentuk bundar dan tepi licin serta warna koloni sebagian besar berwarna putih. Phirke (2014) juga melaporkan 5 isolat merupakan bakteri *Nitrosomonas* bersifat Gram positif, 7 isolat termasuk bakteri *Nitrobacter* Gram negatif.

## KESIMPULAN

Total populasi bakteri nitrifikasi yang diperoleh pada ke empat lokasi tidak berbeda nyata, baik pada medium spesifik *Nitrosomonas* sp. maupun *Nitrobacter* sp. Sebanyak 18 isolat bakteri nitrifikasi berhasil diisolasi terdiri dari 9 isolat bakteri *Nitrosomonas* sp. dan 9 isolat bakteri *Nitrobacter* sp. Isolat bakteri *Nitrosomonas* sp. yang memiliki potensi tertinggi dalam mengoksidasi amonium yaitu isolat NSC34 (3,4 ppm) dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sedangkan isolat *Nitrobacter* sp. yang memiliki potensi tertinggi menghasilkan nitrat yaitu isolat NBC225 (26,1 ppm) dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Aktivitas isolat bakteri nitrifikasi paling optimal terjadi pada inkubasi hari ke-4 dengan konsentrasi 500 ppm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Karakteristik morfologi koloni memiliki bentuk koloni bulat dan tidak teratur, permukaan dominan halus, walaupun ada yang kering dan licin dengan elevasi cembung, datar dan tinggi. Tepi berombak dan rata. Warna bervariasi putih, putih susu, putih keruh,

kuning dan krem. Bentuk sel bulat, batang dan spiral. Semua isolat bersifat Gram negatif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustriyani D, Imamuddin H, Faridah EN, Oedji jono. 2004. Pengaruh pH dan Substrat Organik terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Bakteri Pengoksidasi Amonium. *Jurnal Biodiversitas*. 5(2):43-47.
- Anggrahini N. 2009. *Dinamika  $N\text{-NH}_4^+$ ,  $N\text{-NO}_3^-$  dan Potensial Nitrifikasi Tanah di Alfisol, Jumantono dengan Berbagai Perlakuan Kualitas Serasah Sengon Laut dan Mahoni*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Antriana N. 2015. *Keragaman dan Laju Kinetika Aktivitas Isolat Nitrifikasi Asal Perkebunan Karet dan Kelapa Sawit Jambi*. Tesis Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Fatmawaty B., Abdullah, A. A, Fahrudin, Masniawati, A. 2013. *Isolasi Bakteri Nitrifikasi pada Rhizosfer Tanaman Padi Aromatik Lokal (Oryza sativa L.) di Kab.Tona Toraj.*. Jurusan FMIPA Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Furyanti D. 2009. *Pengaruh Kualitas Serasah Pengkas *Tephrosia candida* dan *Acacia auriculiformis* Terhadap Pembentukan Nitrat ( $\text{NO}_3$ ) dan Potensial Nitrifikasi di Alfisol, Jumantono*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Greenberg A.E, Clesceri L.S, Eaton A.D. 1992. *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. 18<sup>th</sup> Edition, Washington DC: Publication Office American Public Health Association.
- Khasani I. 2010. Pemanfaatan Bioteknologi Berbasis Mikroorganisme Mendukung Peningkatan Produktivitas Perikanan Nasional. *Media Akuakultur*. Vol 5, No:1.



- Kiding A., Khotimah S., Linda R. 2015. Karakterisasi dan Kepadatan Bakteri Nitrifikasi pada Tingkat Kematangan Tanah Gambut yang Berbeda di Kawasan Hutan Lindung Gunung Ambawang Kab. Kubu Raya, dalam *Jurnal Protobiont*. Vol.4(1):17-21.
- Lay L. B.W. 1994. *Analisis Mikroorganisme di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Makosim S, Abu A, Bambang S. 2011. *Optimasi Media dan Isolat Bakteri Lokal dalam Produksi Fitohormon Indole-3-acetid Acid*. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. ITI.
- Mulyani S, Suryaningtyas D.T., Suwardi and Suwarno, 2016, Quality Improvement of Compost from Empty Oil Palm Fruit Bunch by the Addition of Boiler Ash and its Effect on Chemical Properties of Ultisols and the Production of Mustard (*Brassica juncea* L.), *Journal Trop Soil*, Vol.21, No.3:161-169.
- Nungroho A. 2012. *Pengaruh Bahan Organik Terhadap Sifat Biologi Tanah*. Program Studi Hortikultura. Politeknik Negeri Lampung. Bandar Lampung.
- Odokuma L.O dan akponah E. 2008. Response of Nitrosomonas, Nitrobacter and Escherichia coli to Drilling Fluids. *Journal of cell and Animal Biology*, Vol.2 (2): 043-054.
- Pahan, I. 2006. *Panduan Lengkap Kelapa Sawit Manajemen Agribisnis dari Hulu hingga Hilir*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Prantl R, Testar M, Huber M, Lechner p. 2006. Changes in Carbon and Nitrogen pool during in-situ aeration of old landfills under varying conditions. *Waste Manag* 26:373-380.
- Pratiwi Y.R. 2011. *Isolasi dan Seleksi Bakteri Penitrifikasi dari Sampel Tanah di Sekitar Kandang Ternak di Kabupaten Bogor*. Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan. Institut Pertanian Bogor.
- Saifullah. 2013. Peran Amonium Klorida (NH<sub>4</sub>Cl) dan Sodium Nitrit (NaNO<sub>2</sub>) dalam Menambah Bakteri Nitrifikasi. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan*. Vol. 2. No 2:171-177.
- Simanungkalit, R.D.M., Saraswati, R., Hastuti, R.D., dan Edi E. 2006. *Bakteri Penambat Nitrogen*. hlm 113-140. dalam Simanungkalit, R.D.M., Suriadikarta, D.A., Saraswati, R.D., Setyorini dan Hartatik, W, Pupuk Organik dan Pupuk Hayati. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian Bogor.
- Sitio Y., Wijana G., dan Raka I.G. 2015. Pemanfaatan Tandan Kosong Kelapa Sawit dan Pupuk Nitrogen Sebagai Substitusi Top Soil Terhadap Pertumbuhan Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Periode Pre Nursery. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*. Vol. 4, No.4.
- Sudarno. 2012. Perkembangan Biofilm Nitrifikasi di Fixed Bed Reactor pada Salinitas Tinggi. *Jurnal Presipitasi*, Vol. 9. N0.1.
- Waluyo L. 2010. *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. Universitas Muhammadiyah. Malang.
- Zhang D., Shouguang Ma., Zhang W dan Wang Y. 2014. Ammonia Stimulates Growth and Nitrite-Oxidizing Activity of Nitrobacter winogradskyi. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. Vol.28.N0.1, 27-32.