

## PENGARUH PERUBAHAN KONSENTRASI KO-SUBSTRAT TERHADAP POPULASI MIKROORGANISME PEMUTUS ZAT WARNA AZO DI BIOREAKTOR MEMBRAN

## THE EFFECT OF CO-SUBSTRATE CONCENTRATION ON MICROBIAL POPULATION IN MEMBRANE BIOREACTOR

Dini Adyasari<sup>1</sup> dan Agus Jatnika Effendi<sup>2</sup>

Program Studi Teknik Lingkungan  
Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung,  
Jl. Ganesha 10 Bandung 40132

<sup>1</sup>[dini.adyasari@yahoo.com](mailto:dini.adyasari@yahoo.com) dan <sup>2</sup>[agusje@tl.itb.ac.id](mailto:agusje@tl.itb.ac.id)

**Abstrak** : Zat warna azo merupakan masalah utama dari limbah yang dihasilkan oleh industri tekstil. Zat warna azo menjadi begitu berbahaya karena sifatnya yang toksik dan mutagenik untuk kehidupan. Untuk menghilangkan zat warna azo pada air buangan, maka dikembangkan strategi baru untuk pengolahan air buangan secara biologi bernama bioreaktor membran (BRM). BRM yang memiliki 3 tangki, yaitu anoksik, kontak, dan stabilisasi, akan beroperasi dengan konsentrasi ko-substrat yang divariasikan, yaitu 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10%. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui dinamika populasi mikroba yang mempengaruhi proses rekayasa yang terjadi di dalam BRM, seperti penyisihan warna dan zat organik. Parameter yang diukur adalah perubahan populasi mikroba per tangki, identifikasi jenis mikroba dominan, dan pengaruh mikroba terhadap pendegradasian warna dan zat organik. Hasil menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba optimum terjadi di konsentrasi ko-substrat 6%. Mikroba sangat berperan terhadap pendegradasian zat warna azo, terutama mikroba di tangki anoksik. Spesies dominan yang berpengaruh terhadap proses rekayasa BRM diidentifikasi berjumlah 7 spesies.

**Kata Kunci** : bioreaktor membran, dinamika populasi bakteri, identifikasi bakteri, pertumbuhan bakteri, zat warna azo

**Abstract** : The azo dye is the main problem of the waste produced by the textile industries. It is very dangerous to living entities due to its toxicity and mutagenic properties. In order to remove the properties (color) of the azo dye waste when disposing to the water environment, this research developed a new concept using a Biology Treatment Process called as a membrane bioreactor (BRM). BRM has three tanks, which is anoxic, contacts, and stabilization, and it operates with various co-substrate concentrations, namely 2%, 4%, 6%, 8%, and 10%. The purpose of this research is to determine the dynamics of microbial population that affect the engineering process occurs in the BRM, such as azo dyes decolorization and organic matter removal. Parameters being measured are the changes in microbial populations in each tank, the identification of dominant microbial species, and the influence of microbes on color and organic matter removal. Results showed that optimum microbial growth occurred in the co-substrate concentration of 6%. Microbes contribute significantly in azo dyes removal, especially microbes in anoxic tank. There are 7 species identified as dominant species that contribute in the engineering process of BRM.

**Keywords** : azo dyes, membrane bioreactor, microbial growth, microbial identification, the dynamics of microbial population

## 1. PENDAHULUAN

Dewasa ini masalah kerusakan lingkungan sudah menjadi isu penting bagi semua negara terutama pada negara yang sedang berkembang seperti Indonesia. Salah satu contoh pencemaran yang sering terjadi masalah air buangan limbah industri tekstil. Air buangan yang dihasilkan oleh industri tekstil pada umumnya mempunyai karakteristik temperatur yang tinggi, pH yang tinggi atau rendah, warna yang pekat, mengandung minyak dan lemak, sabun, dan zat organik yang tinggi yang dapat mengganggu kehidupan perairan dan badan air sehingga tidak dapat dipergunakan lagi untuk keperluan sehari-hari.

Zat warna yang dominan digunakan pada industri tekstil yaitu zat warna azo. Masuknya komponen ini ke dalam lingkungan tidak diinginkan, tidak hanya karena warna yang ditimbulkan tetapi juga karena beberapa zat warna azo dan produk penguraiannya bersifat toksik dan atau mutagenik bagi kehidupan. Seiring dengan hal tersebut maka Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No. 18 Tahun 1994 menetapkan bahwa limbah industri tekstil termasuk limbah B3 dari sumber yang spesifik. Demikian juga berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup KEP-51/MENLH/10/1995 dan SK Gubernur Kepala Daerah Tingkat I Jawa Barat No.6 tahun 1994 tentang baku mutu limbah cair bagi kegiatan industri, dalam hal ini parameter COD yang diperbolehkan maksimum yaitu 150 mg/L. Berbagai proses pengolahan air buangan untuk industri tekstil telah dikembangkan diantaranya proses biologi, proses fisika-kimia, proses adsorpsi, proses ozonisasi, proses iradiasi UV, atau kombinasi dari proses fisik-kimia. Namun penerapan proses fisik-kimia dalam pengolahan zat warna memiliki kelemahan yaitu menghasilkan lumpur dalam jumlah yang besar dan memerlukan biaya yang besar. Tentu saja hal ini sangat bertentangan dengan prinsip industri yang menginginkan keuntungan yang sebesar-besarnya.

Metode biologi merupakan cara yang paling sering digunakan untuk pendegradasian zat warna azo karena cara kerjanya yang simpel dan tidak memakan biaya terlalu mahal (Poonam, et al, 1995). Zat warna azo umumnya persisten untuk didegradasi pada kondisi aerob. Tetapi pada kondisi anaerob zat warna azo dapat direduksi oleh mikroorganisme aerob dan menghasilkan amina aromatik yang tidak berwarna (Brown and Hamburger, 1987). Dengan demikian strategi pengolahan yang paling logis untuk degradasi sempurna zat warna azo adalah pendekatan rangkaian anaerob-aerob. Dalam kasus ini, pendekatan tersebut diwujudkan dengan alat bernama bioreaktor membran.

Bioreaktor membran (BRM) merupakan kombinasi proses lumpur aktif pada kontak stabilisasi, dimana proses pengolahan air buangan yang ditandai dengan pertumbuhan biomassa tersuspensi, dengan sistem membran mikro atau ultra filtrasi yang dapat menahan partikel. Aplikasi bioreaktor membran memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan pengolahan air buangan secara konvensional. Keuntungan penggunaan bioreaktor membran antara lain menghasilkan kualitas efluent yang lebih baik, tidak memerlukan lahan yang luas, peralatan membran yang sangat kompatibel, waktu pengolahan yang lebih singkat, dan menghasilkan lumpur dalam jumlah yang rendah.

Konsentrasi mikroba di dalam bioreaktor merupakan faktor penting yang menentukan kemampuan mikroba dalam mendegradasi limbah. Pada BRM, konsentrasi mikroba 10.000-30.000 mg/l umum dijumpai, demikian pula konsentrasi mikroba di atas 35.000 mg/l masih dapat diterapkan pada BRM (Stephenson, et al, 2000).

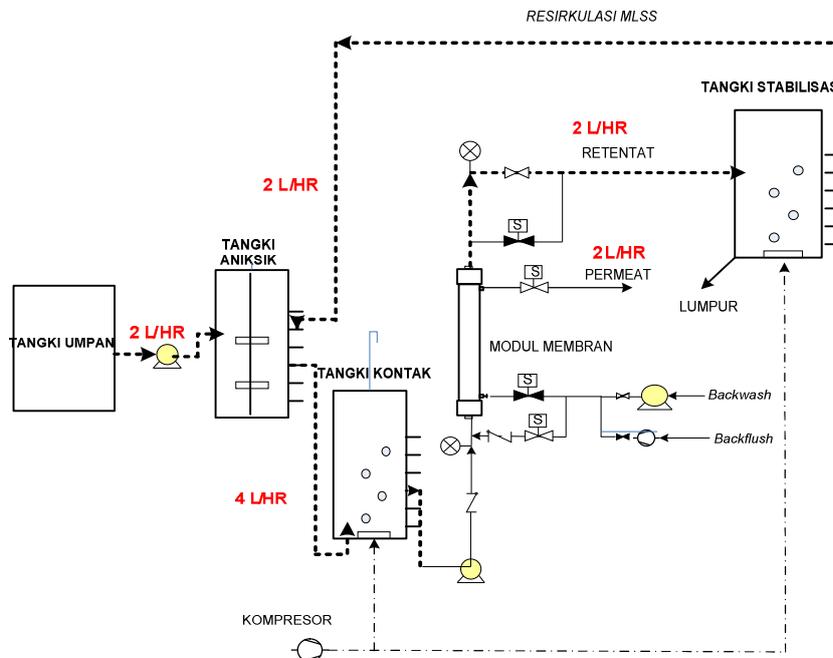
Penelitian lain menunjukkan sama sekali tidak ada lumpur yang dibuang (*zero-sludge wastaged*) ketika konsentrasi biomassa yang digunakan mencapai hingga di atas 50.000 mg/l (Houten, 1997; Muller, et al, 1995). Adapun jenis mikroba yang berperan untuk proses pendegradasian warna zat azo biasanya mencakup genus *Pseudomonas* sp dan *E.coli* (Mustafa and Sponza, 2002).

Tugas Akhir ini akan membahas dinamika populasi mikroba yang mencakup identifikasi spesies yang bertahan di setiap proses dan tangki, kemampuan mikroba dalam menghadapi perubahan kondisi lingkungan (dalam hal ini perubahan konsentrasi ko-substrat), pertumbuhan populasi di mikroba di tiap proses dan tangki, serta pengaruh mikroba terhadap proses rekayasa yang berlangsung di dalam tangki seperti penyisihan warna dan penyisihan bahan organik COD. Penelitian dilakukan untuk lima variasi konsentrasi substrat sehingga bisa diketahui mikroba dan konsentrasi ko-substrat optimum untuk penyisihan senyawa-senyawa diatas.

## 2. METODOLOGI

Bioreaktor membran yang digunakan merupakan jenis reaktor kontinu sehingga harus diberi *input* atau umpan setiap harinya. Umpan ini berupa zat warna azo jenis Remazol Black V, air, serta ko-substrat berupa limbah tempe dengan variasi konsentrasi (% volume): 2, 4, 6, 8, dan 10. Pergantian variasi substrat dilakukan jika kondisi bioreaktor sudah tunak untuk setiap variasi. Kondisi tunak ditandai dengan perbedaan fluktuasi penyisihan COD yang tidak lebih dari 10% selama 3 hari berturut-turut. Umpan diset agar memiliki pH 7-8. Karena limbah tempe umumnya memiliki pH asam, maka umpan perlu ditambah NaOH agar pH naik ke angka 7-8.

Bioreaktor terdiri dari tiga tangki, yaitu anoksik, kontak, dan stabilisasi. Dalam tiap tangki sudah diberikan *mixed culture* dimana sumber mikroorganisme berasal dari lumpur septik tank, lumpur IPAL tekstil, dan lumpur dari industri zat warna.



**Gambar 1.** Skema Bioreaktor Membran

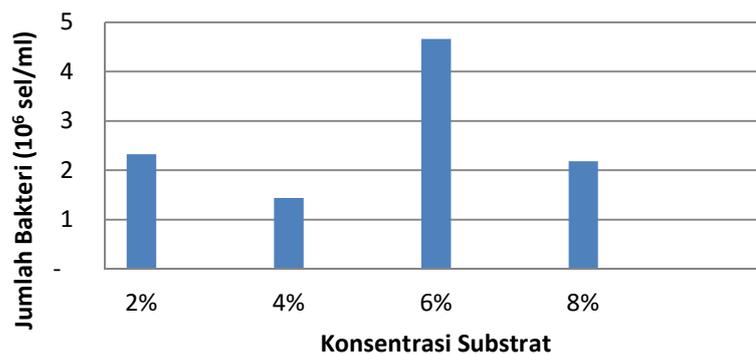
Sampling dilakukan setiap hari dari tangki anoksik, kontak, maupun stabilisasi. Untuk perhitungan jumlah mikroba digunakan metode Total Plate Count (TPC). Tiap sampel diencerkan dengan akuades steril sampai rasio pengenceran  $10^{-6}$ . Begitu diencerkan, suspensi ditanam di media agar nutrisi pada cawan petri dengan menggunakan metode *pour plate*. Penanaman ini dilakukan secara duplo agar lebih akurat. Cawan petri berisi suspensi ini diinkubasi semalam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , lalu dihitung koloninya dengan menggunakan *colony counter*. Kultur campuran ini dapat diisolasi lagi menjadi kultur murni untuk keperluan identifikasi mikroba.

Identifikasi menggunakan metode uji biokimia, kemudian hasilnya disesuaikan dengan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Beberapa uji atau prosedur yang dipakai untuk keperluan identifikasi adalah pewarnaan Gram, pengamatan morfologi koloni, hidrolisa pati, hidrolisa lemak, uji sitrat, gelatin, glukosa, sukrosa, laktosa,  $\text{H}_2\text{S}$ , motilitas, uji Methyl Red-Vogas Proskauer (MR-VP), reaksi katalase, hidrolisa kasein, uji nitrat, uji indol, dan reaksi urease.

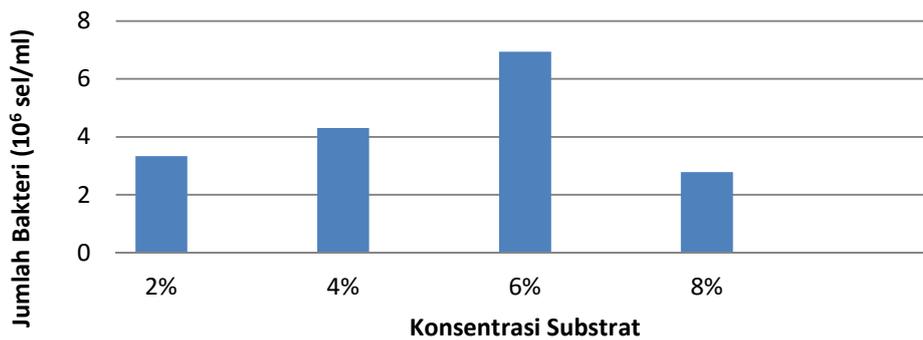
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Pengaruh Perubahan Konsentrasi Ko-Substrat terhadap Populasi Mikroba

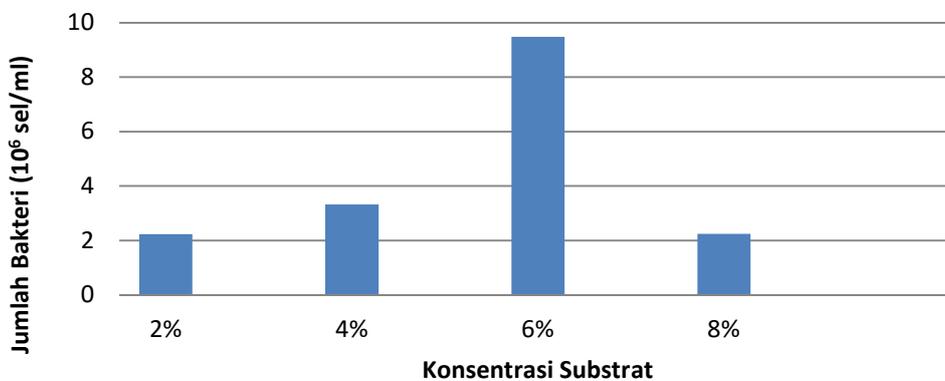
Penelitian ini menggunakan limbah tempe sebagai ko-substrat. Dalam proses penyisihan warna, mikroorganisme membutuhkan ko-substrat sebagai sumber nutrisi terutama sebagai sumber karbon, sehingga mikroorganisme memiliki energi untuk menghasilkan enzim yang dapat digunakan untuk proses penyisihan warna, yaitu enzim azo reduktase. Beberapa kandungan nutrisi yang ada di limbah tempe dan esensial untuk sumber energi mikroba diantaranya nitrogen, fosfor, Ca, Mg, K, Na, dan Fe. Idealnya penambahan ko-substrat akan memperbanyak juga populasi mikroba, karena dengan tercukupinya nutrisi, maka perkembangbiakan mikroba semakin lancar.



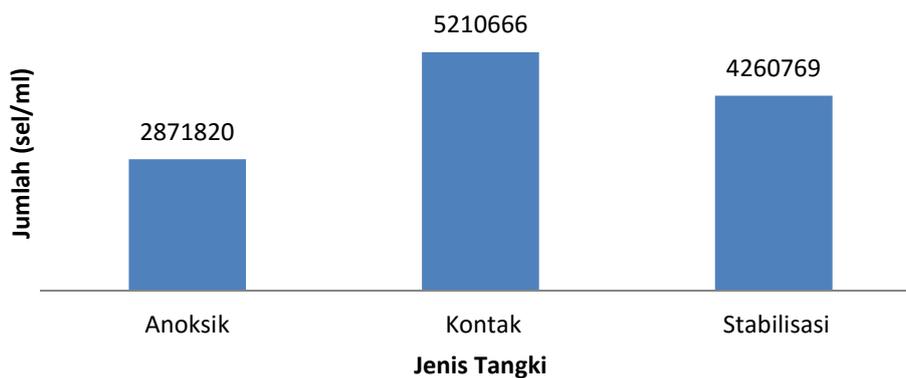
**Gambar 2.** Perubahan Konsentrasi Ko-Substrat terhadap Populasi Bakteri di Tangki Anoksik



**Gambar 3.** Perubahan Konsentrasi Ko-Substrat terhadap Populasi Bakteri di Tangki Kontak



**Gambar 4.** Perubahan Konsentrasi Ko-Substrat terhadap Populasi Bakteri di Tangki Stabilisasi



**Gambar 5.** Jumlah Populasi Bakteri per Tangki

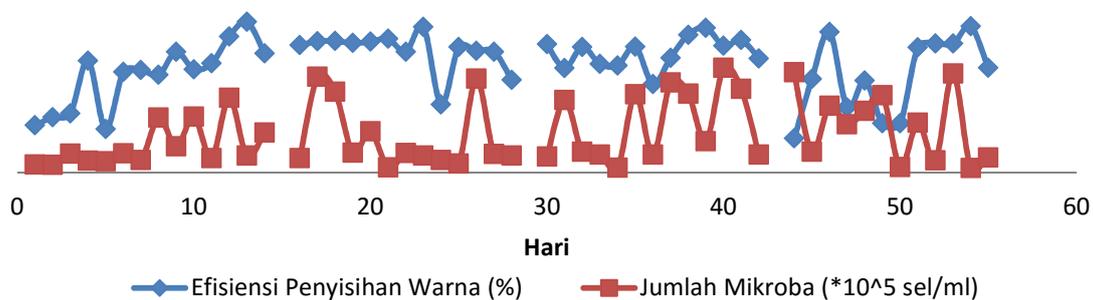
Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi mikroba terus naik dari konsentrasi 2% ke 6%. Namun pada konsentrasi ko-substrat 8%, populasi menurun. Hal ini disebabkan pada konsentrasi 6% semua ko-substrat dikonsumsi oleh mikroba dengan optimum, namun pada konsentrasi 8% terjadi redundansi ko-substrat. Artinya beban

organik yang diterima oleh mikroorganismenya tidak sebanding dengan jumlah konsentrasi mikroorganismenya yang ada. Lebih jauh lagi, konsentrasi ko-substrat yang terlalu banyak di lingkungan hidup mikroba malah dapat mengubah ko-substrat tersebut menjadi racun dan bersifat toksik bagi mikroba itu sendiri. Akibatnya populasi mikroba pun menurun.

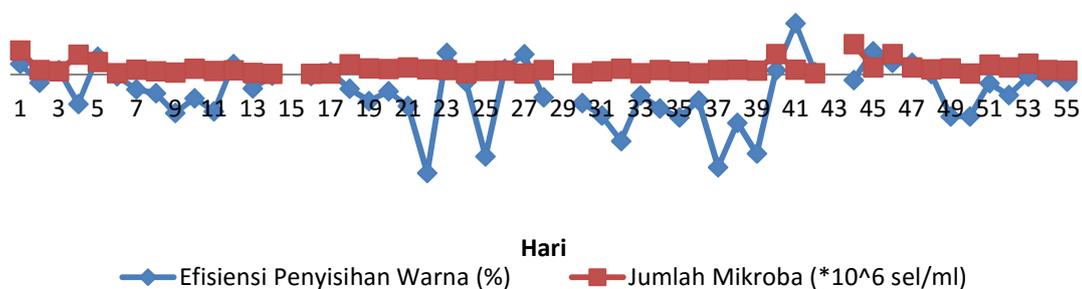
Gambar 5 menunjukkan jumlah populasi bakteri per tangki, bisa dilihat dari gambar tersebut bahwa tangki kontak memiliki jumlah bakteri tertinggi. Padahal jika ditinjau dari banyaknya lumpur yang terkandung di tangki stabilisasi, seharusnya tangki tersebut-lah yang memiliki jumlah bakteri tertinggi. Idealnya lumpur yang baik akan mengandung biomassa yang tinggi. Ketidaksiesuaian ini disebabkan oleh kurang lancarnya resirkulasi yang terjadi di pipa yang menghubungkan membran dengan tangki stabilisasi. Jika resirkulasi berjalan benar, maka retentat dari membran akan masuk ke stabilisasi. Hal ini nyatanya tidak terjadi pada BRM. Kinerja resirkulasi yang kurang memuaskan ini bisa disebabkan oleh pengaturan tekanan pipa resirkulasi yang kurang optimum.

### 3.2 Pengaruh Perubahan Populasi Mikroba pada Pendegradasian Zat Warna Azo

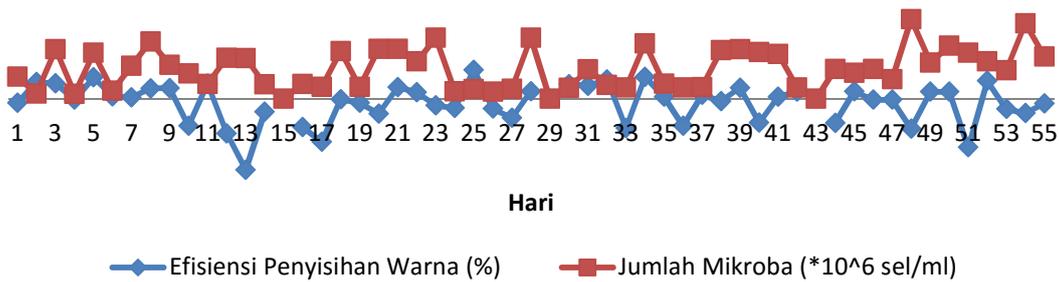
Banyaknya konsentrasi mikroba juga ikut mempengaruhi efisiensi penyisihan warna. Penelitian ini membandingkan tangki mana yang akan mengalami efisiensi penyisihan warna paling besar. Grafik di bawah tidak menunjukkan kuantitas efisiensi penyisihan warna maupun jumlah mikroba, melainkan hanya membandingkan dinamika perubahan kuantitas dari kedua parameter.



**Gambar 6.** Perbandingan Jumlah Mikroba dengan Efisiensi Penyisihan Warna di Tangki Anoksik



**Gambar 7.** Perbandingan Jumlah Mikroba dengan Efisiensi Penyisihan Warna di Tangki Kontak



**Gambar 8.** Hubungan Antara Jumlah Mikroba dengan Efisiensi Penyisihan Warna di Tangki Stabilisasi

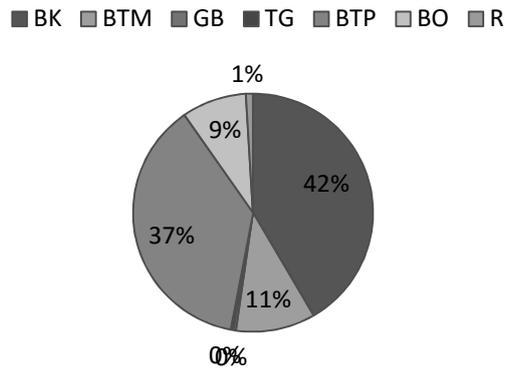
Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa efisiensi penyisihan warna terbesar terjadi di tangki anoksik, dimana efisiensi mencapai angka diatas 70% sedangkan di tangki lain angkanya lebih kecil dari 70%. Jumlah populasi mikroba tangki anoksik rata-rata berbanding lurus dengan efisiensi penyisihan warna. Dimana jika efisiensi meningkat di hari tertentu, populasi mikroba juga meningkat, dan sebaliknya. Keadaan ini tidak terlalu terlihat di tangki kontak dan stabilisasi. Pada kedua tangki tersebut, dinamika populasi mikroba tidak sejalan dengan naik turunnya efisiensi penyisihan warna.

Hal ini disebabkan keadaan aerob-anaerob yang berlaku di tangki anoksik merupakan kondisi ideal untuk pendegradasian rantai kimia azo yang bersifat dobel nitrogen. Tahap pertama meliputi pemutusan reduktif ikatan dobel nitrogen zat warna azo yang menghasilkan pembentukan amina aromatik yang tidak berwarna tetapi toksik. Tahap kedua meliputi degradasi amina aromatik. Reduksi zat warna azo biasanya memerlukan kondisi anaerob, sedangkan biodegradasi amina aromatik umumnya dilakukan secara aerob (Van Der Zee and Villaverde, 2002).

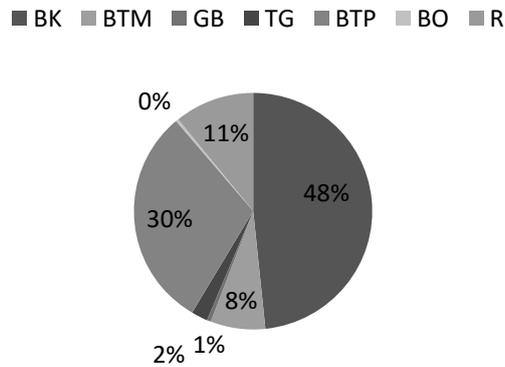
Di tangki lain, kondisinya aerob obligat sehingga zat warna azo tidak bisa disisihkan secara optimum. Tangki lain, misalnya stabilisasi, akan lebih optimum untuk pendegradasian bahan organik seperti COD karena sifatnya yang aerob. Proses yang terjadi pada tangki stabilisasi adalah penyempurnaan oksidasi bahan pencemar yang telah diabsorpsi, penghasilan sel-sel baru berupa bioflok dan penstabilan bioflok. Bioflok yang sudah stabil siap untuk diresirkulasi kembali pada tangki anoxic. Tangki kontak dimanfaatkan untuk menyerap bahan-bahan organik oleh mikroorganismenya. Tangki kontak berfungsi juga untuk menghilangkan metabolit-metabolit yang terbentuk dari tangki anoxic.

Jika dilihat dari Gambar 1, Gambar 2, dan Gambar 3, tangki anoksik memiliki jumlah mikroba yang paling sedikit dibanding kedua tangki lainnya. Tangki anoksik memiliki populasi mikroba rata-rata 2.8 juta sel/ml, sedangkan tangki kontak memiliki mikroba sebanyak 5.2 juta sel/ml, dan tangki stabilisasi memiliki rata-rata 4.2 juta sel/ml. Selain faktor aerob-anaerob, ada faktor lain yang menyebabkan tangki anoksik memiliki efisiensi penyisihan warna yang lebih baik dibanding kedua tangki lainnya walaupun jumlah mikrobaanya cukup kecil, yaitu persentase mikroba jenis apa yang terkandung di dalam tangki.

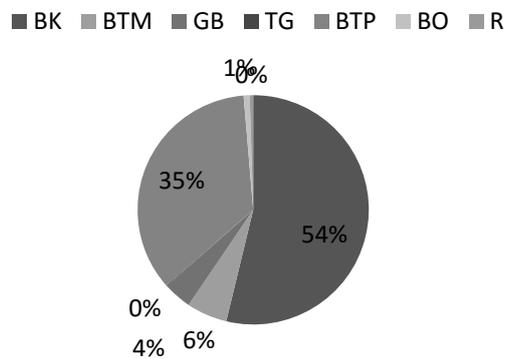
Mikroba di tangki anoksik, sesuai dengan perlakuannya, bisa bersifat aerob, aerob fakultatif, atau anaerob obligat. Sedangkan mikroba yang hidup di tangki kontak dan stabilisasi akan mayoritas bersifat aerob atau aerob fakultatif. Berikut adalah *pie chart* yang memperlihatkan persentase spesies mikroba per tangki.



**Gambar 9.** Persentase Jenis Bakteri di Tangki Anoksik  
 (Keterangan: BK=Bulat Kuning, BTM=Bulat Tepi Memudar, GB=Tidak Beraturan, TG=Bulat Tepi Gerigi, BTP=Bulat Tembus Pandang, BO=Bulat Oranye, R=Rhizoid)



**Gambar 10.** Persentase Jenis Bakteri di Tangki Kontak  
 (Keterangan: BK=Bulat Kuning, BTM=Bulat Tepi Memudar, GB=Tidak Beraturan, TG=Bulat Tepi Gerigi, BTP=Bulat Tembus Pandang, BO=Bulat Oranye, R=Rhizoid)



**Gambar 11.** Persentase Jenis Bakteri di Tangki Stabilisasi  
 (Keterangan: BK=Bulat Kuning, BTM=Bulat Tepi Memudar, GB=Tidak Beraturan, TG=Bulat Tepi Gerigi, BTP=Bulat Tembus Pandang, BO=Bulat Oranye, R=Rhizoid)

Penamaan didasarkan bentuk morfologi bakteri ketika masih berada di dalam kultur campuran di cawan petri. Dari *pie chart* dapat dilihat bahwa mikroorganisme dominan yang ada di tiap tangki adalah spesies BK dan BTP. Sedangkan bakteri lain mengalami penurunan atau kenaikan persentase dari tangki anoksik ke stabilisasi. Contohnya bakteri BO dan BTM hanya dominan berada di tangki anoksik, bakteri R dan TG hanya dominan di tangki kontak, dan bakteri GB hanya dominan di tangki stabilisasi. Dinamika populasi bakteri ini dipengaruhi oleh banyak hal, seperti ketersediaan oksigen, sumber nutrisi, senyawa toksik, dan lain-lain.

Identifikasi yang dilakukan terhadap jenis bakteri-bakteri tersebut sejauh ini baru berupa pewarnaan Gram dan spora. Berikut adalah hasilnya.

**Tabel 1.** Identifikasi Bakteri Berdasarkan Pewarnaan

Jenis Bakteri	Bentuk dan Pewarnaan Gram	Pewarnaan Spora
BK	Batang, Gram Negatif	Tidak Ada Spora
BTP	Oval, Gram Negatif	Tidak Ada Spora
BTM	Batang, Gram Negatif	Tidak Ada Spora
BO	Bulat, Gram Negatif	Tidak Ada Spora
TG	Batang, Gram Positif	Spora
R	Batang, Gram Positif	Spora
GB	Batang, Gram Positif	Spora

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa mayoritas bakteri yang teridentifikasi berbentuk batang. 57% dari total bakteri bersifat Gram Negatif dan tidak mempunyai spora. Sedangkan sisanya bersifat Gram Positif dan memiliki spora.

#### 4. KESIMPULAN

Beberapa kesimpulan yang didapat dari penelitian ini:

1. Perubahan konsentrasi ko-substrat menyebabkan perubahan populasi mikroba di tangki anoksik, kontak, maupun stabilisasi.
2. Konsentrasi ko-substrat optimum untuk pertumbuhan (*growth*) mikroba adalah 6%.
3. Efisiensi penyisihan warna di tangki anoksik lebih baik dibandingkan tangki lainnya, dengan nilai efisiensi diatas 70%.
4. Efisiensi warna di tangki anoksik berbanding lurus dengan jumlah mikroba.
5. Persentase mikroba mengalami perubahan di tiap tangki. Jenis mikroba yang selalu ada dan dominan tiap tangki adalah bakteri BK (42%-54%) dan BTP (30%-37%).
6. Mikroba lain yang terdeteksi adalah bakteri BTM (5%-11%), BO (dominan hanya di tangki anoksik), R (dominan hanya di tangki kontak), TG (dominan hanya di tangki kontak), dan GB (dominan hanya di tangki stabilisasi).

## DAFTAR PUSTAKA

- Brown D., Hamburger B.** (1987) *The degradation of dye stuffs Part III: Investigation of their ultimate degradability*. Chemosphere 1987, Vol 12, pp. 397- 404.
- Houten, R., D. Eikelboom.** (1997). *High Performance Membrane Bioreactors a Physiological Approach. MBR1-Proc. 1<sup>st</sup> Intl. Mtg. on Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment*. Cranfield University. Cranfield.UK
- Müller, E.B., A.H. Stouthamber, H.W. Verseveld, D.H. Ekelboom.** (1995). *Aerobic Domestic Wastewater Treatment in a Pilot Plant With Complete Sludge Retention By Crossflow Filtration*. Water Research, Vol 29, pp. 1179-1189.
- Mustafa, I., Sponza, D.** (2002). *Effect of oxygen on decolorization of azo dyes by Escherichia coli and Pseudomonas sp. and fate of aromatic amines*. Process Biochemistry, Vol 38, pp. 1183-1192, 2003.
- Poonam, N., Banath, I., Singh, D., Marchant, J.** (1995). *Microbial Process for the Decolorization of Textile Effluent Containing Azo, Diazo, and Reactive Dyes*. Process Biochemistry, Vol. 31, No. 5, pp. 435-442, 1996.
- Stephenson, T., Judd, S., Jefferson, B., Brindle, K.** (2000). *Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment*. IWA Publishing Company. UK
- Van der Zee, F.P., Villaverde, S.** (2002). *Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—a short review of bioreactor studies*. Water Research, Vol 39, pp. 1425–1440.