

LAJU PERTUMBUHAN MIKROBIA PADA PENGOLAHAN LIMBAH CAIR TEMPE MENGUNAKAN SISTEM BIOFILM

Endang Sulistyawati dan Gunarto
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri
UPN. "Veteran" Yogyakarta

Abstract

Limbah cair industri tempe bersifat biodegradable, sehingga dapat diurai secara biologi. Pengolahannya yang dicobakan adalah sistem biofilm. Percobaan dilakukan dengan mengembangbiakkan Bakteri Bacillus Sphaericus menggunakan nutrisi MRS Broth dalam aquades dan media bio film batu apung yang dimasukkan dalam limbah. Laju pertumbuhan bakteri diamati pada variasi suhu 29°C, 40°C, 50°C dan 60°C pada fase pertumbuhan cepat. Hasil analisis data dengan pendekatan bahwa reaksi yang terjadi mengikuti reaksi katalitik orde satu diperoleh persamaan laju pertumbuhan mikrobial sebagai fungsi suhu sebagai $r = 1,75 \cdot 10^8 e^{(-13.209,12/RT)}$ S.

Kata kunci: biofilm, laju pertumbuhan, limbah cair tempe

Pendahuluan

Kegiatan industri baik besar maupun kecil berpotensi menghasilkan limbah. Industri tempe yang kebanyakan skala sedang dan kecil, menghasilkan limbah padat dan cair, buangan operasi pembersihan dan proses pengolahan. Pembuatan tempe melalui beberapa tahapan, yaitu pencucian, perendaman, pemasakan, peragian dan pengemasan. Limbah padat berupa kulit kedelai masih bernilai gizi tinggi, sehingga banyak dimanfaatkan sebagai campuran pakan ternak. Limbah cair tempe diperoleh pada operasi pencucian, perendaman dan sisa air perebusan kedelai. Limbah cair mengandung bahan tersuspensi dan berbagai substansi organik terlarut dengan konsentrasi cukup tinggi, ditandai dengan kadar *Biological Oxygen Demand* [BOD] yang tinggi. Rasio BOD terhadap *Carbon Oxygen Demand* [COD] pada limbah cair lebih besar 0,2 dengan kadar Nitrogen cukup tinggi [Tabel 2] maka limbah cair industri tempe dapat digolongkan limbah *biodegradable*. Limbah cair tersebut berwarna kehitaman dengan bau yang tidak sedap, sehingga perlu diberi perlakuan sebelum dibuang ke badan air, untuk menghindari dampak penurunan kualitas lingkungan.

Industri pengolahan pangan pada umumnya menghasilkan limbah cair dengan kandungan bahan organik cukup tinggi sehingga dapat berperan sebagai pasokan pangan pertumbuhan mikroba. Mikro-organisme akan berkembang biak dengan cepat dan mereduksi oksigen yang terlarut dalam air. Hal tersebut harus dihindari dan diharapkan air buangan memenuhi standar kualitas yang diberlakukan. Komposisi biji kedelai kering sebagai tercantum pada Tabel I berikut [Rahayu dkk., 1989]

Tabel I. Komposisi Biji Kedelai

No.	Komponen	Kadar,%
1.	Air	2,0
2.	Protein	47,5
3.	Protein terlarut [dalam air]*	6,5
4.	Lemak	30,6
5.	Karbohidrat	17,1

**protein dengan berat molekul rendah*

Karakteristik limbah cair industri tempe secara umum sebagai ditunjukkan dalam Tabel II berikut [Hadiwiyoto dkk., 1993]:

Tabel II. Karakteristik Limbah Cair Tempe

No.	Parameter	Nilai
1.	BOD, mg/L	6250
2.	COD, mg/L	14000
3.	Total padatan, mg/L	7670
4.	Padatan terlarut, mg/L	3860
5.	Abu, %	1,9
6.	Phenol, mg/L	4-7
7.	Nitrogen, mg/L	90
8.	Phospor, mg/L	31
9.	NH ₃ , mg/L	8
10.	Bakteri, cfu/ML	10 ⁷ -10 ⁸
11.	PH	5,5

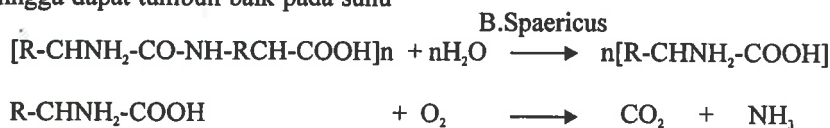
Jenis mikrobial mempengaruhi kerusakan komponen pada jalur proses yang dilewati. Bahan yang mengandung protein, bakteri akan merusak lewat jalur kerusakan protein dengan menghasilkan bau busuk. Kerusakan karena jamur mengarah ke kerusakan lemak dan menyebabkan bau tengik, sedang khamir kearah pengrusakan karbohidrat dan menyebabkan alkoholis, bau dan rasa [Rahayu dkk., 1989].

Limbah cair yang mengandung bahan organik bersifat *biodegradable*, dapat diolah secara biologi. Pengolahan secara biologi bisa secara sistem tersuspensi [contoh, lumpur aktif] dan sistem terikat atau biofilm. Pengolahan limbah tempe menggunakan lumpur aktif telah dilakukan [Christyadi T. dkk., 2001]. Penelitian kali ini dicoba dengan sistem biofilm. Biofilm memberi dampak kepada berbagai kehidupan sehari-hari, sehingga penelitian mengenai sistem biofilm menjadi penting dan semakin populer [Tarumkeng, 2002].

Biofilm adalah istilah untuk menggambarkan suatu lingkungan hidup khusus dari sekelompok mikro-organisme yang melekat erat ke permukaan suatu padatan,

sehingga berada dalam keadaan diam, tidak mudah lepas atau berpindah tempat. Padatan bisa berupa batu, plastik, tumbuhan air [batang dan daunnya], dan tulang yang ada dalam air. Pelekatan disertai oleh penumpukan bahan-bahan organik yang diselubungi oleh matrik polimer ekstra-seluler yang dihasilkan mikrobia tersebut, sehingga menyebabkan pembentukan lapisan berlendir [biofilm]. Biofilm terbentuk karena adanya interaksi antara mikro-organisme dan permukaan yang ditemeli, yaitu adanya gaya tarik antara kedua permukaan [psikokimia] dengan alat yang menjadi jembatan pelekatan yaitu matrik polimer ekstra-seluler, disamping ketersediaan makanan dan kondisi lingkungan yang sesuai [Tarumingkeng, 2002 dan Hammer, 1986].

Mikro-organisme yang dapat digunakan untuk menguraikan zat organik dalam limbah cair tempe adalah bakteri kelompok *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pedococcus* dan *Bacillus*. Bakteri *Bacillus shpaericus* termasuk kelompok bakteri proteolitik, yaitu bakteri yang dapat menghasilkan enzim proteolitik, sehingga sangat efektif untuk mendegradasi protein, bersifat aerobik atau fakultatif dan pembentuk spora. Bakteri ini termasuk golongan mesofil sehingga dapat tumbuh baik pada suhu



Perbedaan anatomi dan mekanisme pertumbuhan mikrobia menyebabkan perbedaan dalam laju pertumbuhannya. Semakin kompleks struktur sel suatu organisme semakin lama waktu pembelahan dirinya atau waktu generasinya. Selama proses pertumbuhan, bakteri muda dan tua campurannya terus berubah dan selalu menyesuaikan lingkungan hidupnya, sehingga selalu mengalami perubahan fisik dan kimianya.

Landasan Teori

Dalam penyusunan Laju pertumbuhan bakteri dilakukan penyederhanaan dengan menganggap:

1. Sel-sel dianggap sebagai sel tunggal
2. Massa sel terdistribusi secara homogen
3. Media tumbuh dikondisikan hanya ada satu komponen pembatas laju reaksi

Bakteri yang bersifat aerobik akan menghasilkan enzim katalase. Reaksi biologis yang terjadi dapat didekati sebagai reaksi kimia katalitik order pertama sehingga laju pertumbuhan spesifik sel sesuai dengan massa sel persatuan waktu. Laju pertumbuhan sel dan konsentrasi mikrobia (X) pada biofilm ditunjukkan oleh:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad [1]$$

Bila S konsentrasi substrat dalam lapisan mikrobia dan efisiensi pertumbuhan dihitung sebagai yield pertumbuhan [Y], maka:

$$Y = \frac{dX}{dS} \quad [2]$$

30-45°C, walau dapat hidup pada suhu 55°C tetapi pH yang cocok, berkisar 7,2-7,6. Untuk pertumbuhan dan kembang biak bakteri *Bacillus Spaericus*, nutrisi yang cocok adalah agar dan MRS (*De Man, Rogosa, Sharpe*) Broth.

Bakteri tidak akan tumbuh pada lingkungan yang tidak sesuai dengan peruntukannya atau jika tidak tersedia makanan, yang berupa pemecahan protein dan karbohidrat yang bermolekul kecil, misal asam amino, peptida, gula atau asam laktat. Bahan makanan bermolekul kecil akan menyebabkan populasi mikrobia tumbuh dengan pesat, bersamaan dengan dihasilkannya senyawa yang lebih kecil lagi, misalnya *cadaverine*, *putreccine*, asam-asam organik, CO₂, H₂S dan NH₃. Perkembangan populasi mikrobia mampu menghasilkan enzim-enzim protease yang berfungsi memecah senyawa polimer bermolekul besar. Mekanisme demikian akan berlangsung terus hingga kondisi lingkungan tidak lagi memenuhi persyaratan mikroba tumbuh dan hal tersebut akan menyebabkan penurunan populasi, karena mikrobia yang ada akan saling memakan untuk melanjutkan hidup atau pertumbuhannya. Reaksi yang terjadi dapat ditunjukkan sebagai berikut:

Sehingga kecepatan pemakaian materi organik:

$$-rS = \frac{\mu X}{Y} \quad [3]$$

$$-rS = \mu S \quad [4]$$

Kecepatan pertumbuhan pada fase logaritmik dipengaruhi oleh tersedianya nutrien di dalam medium dan dapat mencapai maksimum. Laju pertumbuhan spesifik pada sistem batch dapat dinyatakan :

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad [5]$$

Harga laju pertumbuhan spesifik sel pada keadaan jenuh m dan Konsentrasi nutrien pada kecepatan 1/2_m K_s dapat ditentukan dengan menggunakan metode Lineweaver-Burk, sehingga persamaan [5] menjadi:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} \quad [6]$$

Pengaruh suhu terhadap laju pertumbuhan spesifik dapat ditentukan dalam persamaan Arrhenius sebagai berikut:

$$\mu = A.e^{-E_a/RT} \quad [7]$$

$$\ln \mu = \ln A + \frac{-E_a}{RT} \quad [8]$$

Dengan data hubungan ln μ pada berbagai suhu dapat diperoleh faktor tumbukan dan energi aktivasi.

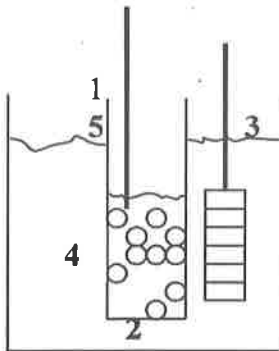
Metodologi

Limbah cair tempe diambil dari pabrik tempe PEDRO Yogyakarta dengan kadar protein 1,99 % [berat]. Penyangga tumbuh bakteri dibuat dari batu apung yang dibentuk bola dengan diameter rerata 1,5 cm. Bakteri *Bacillus Sphaericus* dibeli di PAU UGM dalam bentuk agar miring. *MRS Broth* sebagai organik buatan, *Bovin Serum Albumin [BSA]* dalam bentuk serbuk padat berwarna putih serta Reagen A, B, C, D, dan E cair dibeli di Fakultas Teknologi Pertanian UGM.² Komposisi reagen sebagai tertunjuk dalam Tabel III.

Tabel III. Komposisi Reagen A,B,C,D dan E

Nama	Komposisi
Reagen A	10% NaCO ₃ dilarutkan dalam 100ml NaOH 0,5N
Reagen B	CuSO ₄ 1%
Reagen C	Kalium tatarat 2 %
Reagen D	Campuran Reagen A:B:C [volume] sebagai 10:0,5:0,5
Reagen E	Folin

Rangkaian Alat



Keterangan Gambar:

1. Tangki Air
2. Batu Apung
3. Pemanas
4. Tangki Limbah Termometer

Gambar 1. Rangkaian Alat Percobaan

Pelaksanaan Percobaan

Pembiakan mikrobia menggunakan nutrisi *MRS Broth* sebanyak 5,52 g yang dilarutkan dalam 100 ml aquades, disterilkan 30 menit dalam *autoclave* kemudian diperam selama 44 jam. Disebut sebagai limbah organik.

Pembiakan kultur campuran dilakukan pada suhu yang divariasikan sebagai 29°C, 40°C, 50°C dan 60°C, dengan memasukkan 50 ml limbah organik ke dalam tangki yang berisi 500 ml limbah cair tempe [disebut sebagai substrat] dan dimasukkan juga batu apung yang telah diperam selama 12 jam. Setiap waktu tertentu dilakukan analisa pertumbuhan dengan mengambil 3 ml substrat yang kedalamnya ditambahkan 2 ml Reagen D dan 6 ml Reagen E, kemudian dilihat absorbansinya untuk menentukan konsentrasi mikrobia [X]. Selanjutnya kedalam cuplikan substrat tersebut dimasukkan 1 buah batu apung, digoyang-goyang agar tercampur. Batu apung diambil dan substrat diukur absorbansinya untuk menentukan konsentrasi substrat [S].

Metoda Analisis

Pengukuran massa sel dilakukan dengan metode turbidimetri. Analisis konsentrasi substrat dilakukan dengan metode Lowry yang sensitive untuk konsentrasi protein rendah, menggunakan *spectronic 20* pada panjang gelombang 600 nm. Konsentrasi sel dan substrat ditentukan dengan telaah menggunakan kurva standar hubungan konsentrasi *BSA* [mg/ml] sebagai larutan protein standar dan derajat absorbansi.

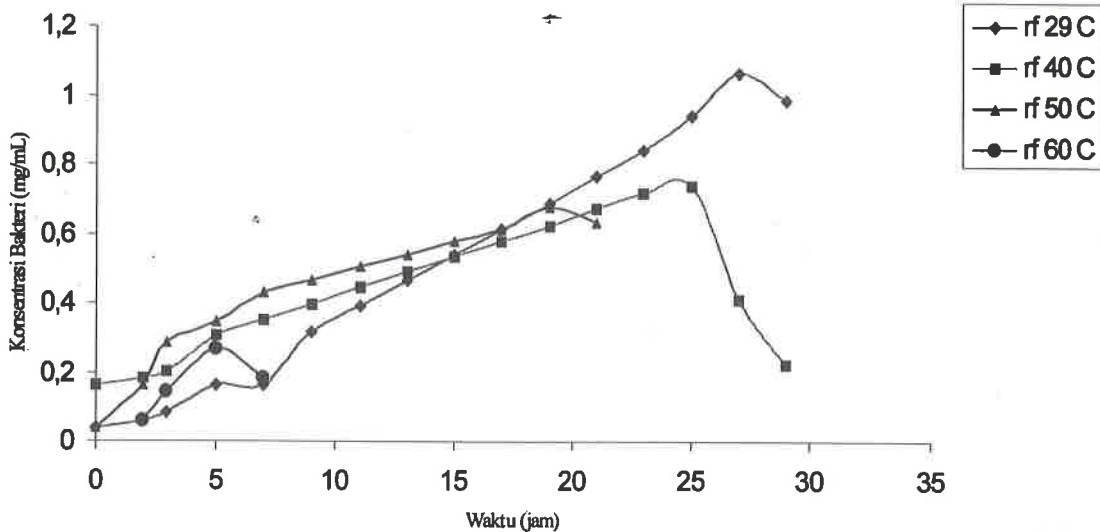
Hasil dan Pembahasan

Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menggunakan data percobaan hubungan antara waktu [t] terhadap konsentrasi mikrobia [X] dan konsentrasi substrat [S] pada berbagai variasi suhu [T], seperti tercantum pada Tabel IV

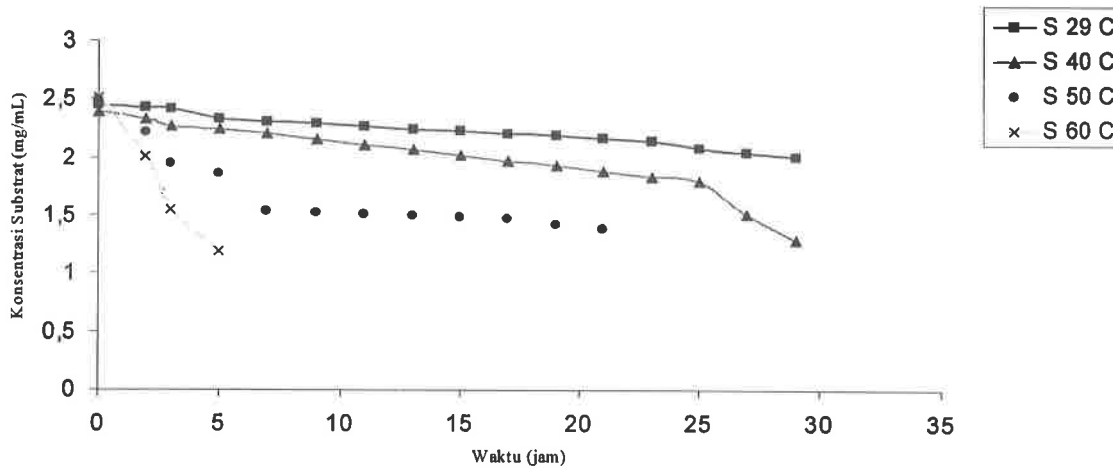
Tabel IV. Hubungan Waktu, Konsentrasi Mikrobia dan Konsentrasi Substrat Pada Berbagai Suhu

No	Waktu Jam	T=29°C	T=40°C	T=40°C	T=40°C	T=50°C	T=50°C	T=60°C	T=60°C
		X mg/mL	S mg/mL	X mg/mL	S mg/mL	X mg/mL	S mg/mL	X mg/mL	S mg/mL
1.	0	0,0409	2,4535	0,1635	2,3922	0,0409	2,4944	0,0613	2,5149
2.	2	-	-	-	-	-	-	1,1431	2,0037
3.	3	0,0818	2,4126	0,2045	2,2695	0,2862	1,9424	0,2658	1,5539
4.	5	0,1635	2,3308	0,3067	2,2491	0,3476	1,8606	0,1840	1,1859
5.	7	0,1636	2,3105	0,3520	2,2038	0,4294	1,5335	-	-
6.	9	0,3137	2,2901	0,3974	2,1584	0,4660	1,5216	-	-
7.	11	0,3885	2,2697	0,4428	2,1130	0,5028	1,5094	-	-
8.	13	0,4636	2,2493	0,4882	2,0676	0,5396	1,4972	-	-
9.	15	0,5388	2,2289	0,5336	2,0222	0,5764	1,4850	-	-
10.	17	0,6134	2,2085	0,5790	1,9768	0,6134	1,4721	-	-
11.	19	0,6886	2,1881	0,6244	1,9314	0,6747	1,4312	-	-
12.	21	0,7635	2,1667	0,6698	1,8860	0,6338	0,3903	-	-
13.	23	0,8384	2,1468	0,7156	1,8401	-	-	-	-
14.	25	0,9405	2,0855	0,7361	1,7992	-	-	-	-
15.	27	1,0632	2,0446	0,4089	1,5130	-	-	-	-
16.	29	0,9814	2,0037	0,2200	1,2881	-	-	-	-

Data pada Tabel IV direpresentasikan dalam Gambar 2 dan 3 berikut



Gambar 2. Pengaruh Waktu dan Suhu terhadap Konsentrasi Mikrobial



Gambar 3. Pengaruh Waktu dan Suhu terhadap Konsentrasi Substrat

Dari Tabel IV dan gambar 2 terlihat bahwa pertumbuhan *Bacillus Spharicus* dalam limbah cair tempe pada variasi suhu 29°C-40°C semakin meningkat, kemudian mendekati konstan dan pada waktu tertentu turun. Terlihat bahwa setelah waktu 3 jam jumlah bakteri mengalami kenaikan atau mencapai fase logaritmik sampai waktu ke-20 jam. Sehingga fase adaptasi dan pertumbuhan awal kemungkinan terjadi pada waktu 0<t<3.. Selanjutnya mengalami fase perumbuhan cepat, sedangkan fase statis tidak teramati. Setelah sekitar 25-27 jam dari mulai bakteri dimasukkan dalam limbah cair tempe, bakteri mengalami fase kematian. Keadaan yang hampir sama terjadi pada suhu 50°C, tetapi fase logaritmik berlangsung lebih singkat, sampai waktu ke-17. Pada suhu 60°C, fase logaritmik secara terinci tidak teramati. Terlihat sampai waktu ke-2 terjadi peningkatan bakteri yang cukup pesat tetapi pada waktu ke-3 sudah mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena bakteri *Bacillus Spharicus* bersifat mesofil, sehingga pada suhu yang terlalu tinggi, energi aktivasi sangat tinggi kecepatan kematian sel juga meningkat dengan cepat.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa konsentrasi substrat untuk semua variasi suhu mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu. Hal tersebut kemungkinan karena adanya penurunan jumlah bakteri *Baccillus* dalam sample sehingga konsumsi protein semakin lambat. Peningkatan suhu ternyata menyebabkan penurunan konsentrasi semakin cepat, karena kenaikan suhu menyebabkan pertumbuhan bakteri semakin cepat, sampai batas suhu tertentu, yang sesuai dengan wilayah suhu hidup bakteri. Di atas suhu maksimum untuk pertumbuhan, kecepatan pertumbuhan terlihat menurun karena adanya peningkatan jumlah kematian bakteri pada suhu yang tidak sesuai untuk kehidupan bakteri

Yield pertumbuhan bakteri [Y], konstante laju pertumbuhan bakteri pada keadaan jenuh [μ_m] dan konstante konsentrasi jenuh [K_s] dihitung dari persamaan [2] dan [6] menggunakan data pertumbuhan bakteri pada fase pertumbuhan logaritmik pada berbagai suhu pengamatan. Hasil perhitungan sebagai tertunjuk dalam Tabel V.

Tabel V. Harga Y, m dan Ks pada berbagai suhu

Suhu, °C	μ_m , jam ⁻¹	K _s , mg/mL	Y
29	0,3473	2,6279	0,4409
40	0,2077	2,6629	0,2602
50	0,1022	0,6478	0,2453

Dari Table V terlihat bahwa kondisi optimum untuk bakteri *Bacillus* diperoleh pada suhu 29 °C.

Harga faktor frekuensi tumbukan [A] dan energi aktivasi [E_a] dihitung dengan persamaan Arrhenius [8], menggunakan harga konstante pertumbuhan pada saat konsentrasi jenuh dengan pendekatan konsentrasi nutrisi pada laju pertumbuhan rerata pada ½ μ m. Dengan metode *least-square* diperoleh:

$$A = 17518,108 \text{ jam}^{-1}$$

$$E_a = 13209,1219 \text{ kJ/gmol}$$

Harga tersebut menurut Ritmann sesuai dengan energi aktivasi untuk pertumbuhan bakteri yang berkisar antara 13 - 17 Kkal/gmol.

Dengan menggunakan persamaan [7] dan [4] didapat persamaan laju pertumbuhan bakteri sebagai:

$$r_t = 1,75 \cdot 10^8 e^{(-13.209,12/RT)} S$$

Kesimpulan

Pengolahan limbah cair tempe menggunakan sistem biofilm dapat dilakukan dengan bantuan bakteri *Bacillus Spharicus*. Dengan pendekatan reaksi orde satu, laju pertumbuhan mikrobia ditunjukkan oleh persamaan:

$$r_t = 1,75 \cdot 10^8 e^{(-13.209,12/RT)} S$$

Laju pertumbuhan mikrobia pada suhu rendah lebih baik daripada suhu tinggi, ditunjukkan dengan konsentrasi bakteri [mg/ml] dengan suhu pertumbuhan optimum pada suhu 29 °C.

Daftar Pustaka

- Christyadi, T. Dan Endang, S., 2001, "Tinjauan Kinetika Pengolahan Limbah Cair Tempe dan Tahu dengan Lumpur Aktif", Eksergi, UPN "Veteran" Yogyakarta 101-107
- Friedli, G.L., 1996 "Interaction of SWP with BSA", A Thesis Presented for The Award of Doctor of Philosophy to The University of Surrey, USA, 193-195
- Hadiwiyoto, S., Supriyadi dan Endang S.R., 1993, "Penanggulangan Pencemaran oleh Limbah Cair dari Industri Hasil Pertanian Tingkat Menengah dan Kecil dengan Teknik Algaepond", hal. 73-86, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta
- Rahayu, K., dan Sudarmaji S., 1989, "Mikrobiologi Pangan", hal. 2-19, 271-282, PAU Pangan dan Gizi, UGM, Yogyakarta
- Tarumkeng, R.C., 2002, "Biofilm sebagai Microlingkungan Bakteri yang Unik: Seberapa Jauh Kita Mengenalnya" Makalah Falsafah Sains, IPB, Bogor
- Todar, Kenneth, 2003, "Todar's Online Textbook of Bacteriology", University of Wisconsin-Medison Departemen of Bacteriology, USA
- Williamson, J., 2000, "Protein Determination Lowry Procedure", p.p. 265-275, Department Of Biology, Davidson College, North Carolina, USA