

## **Pengaruh Penambahan *Plant Growth Promoting Bacteria* (*Azospirillum* sp.) pada Kultivasi *Chlorella* sp. dalam Penyisihan COD di Limbah Cair Tahu**

**Mesy Susri Darsi<sup>1)</sup>, Shinta Elystia<sup>2)</sup>, Sri Rezeki Muria<sup>3)</sup>**

<sup>1)</sup> Mahasiswa Program Studi Teknik Lingkungan,

<sup>2)</sup> Dosen Teknik Lingkungan, <sup>3)</sup> Dosen Teknik Kimia

Laboratorium Pengendalian dan Pencegahan Pencemaran Lingkungan  
Program Studi Teknik Lingkungan S1, Fakultas Teknik Universitas Riau  
Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km. 12,5 Simpang Baru, Panam  
Pekanbaru, 28293

E-mail: [mesysusridarsi@gmail.com](mailto:mesysusridarsi@gmail.com)

### **ABSTRACT**

*Chlorella* sp. can be used as a solution to tofu liquid waste problems. Therefore, it is important to develop this microalgae cultivation technique. One of them is by using the *Azospirillum* sp. which can support growth and can increase the efficiency of removal from tofu liquid waste. In this research, the measurement of the growth rate of the microalgae *Chlorella* sp. and COD removal. The research conducted in batches with the addition of bacteria at 5 different levels, namely 0 (without the addition of *Azospirillum* sp.), the addition of *Azospirillum* sp. as many as 0.25; 0.50; 0.75; and 1 (% v/v). Processing is carried out for 13 days by irradiating sunlight in a photobioreactor. Based on the research results, the highest growth rate of *Chlorella* sp. and the best COD removal efficiency of 0.17/day and 86.84% were obtained from the addition of *Azospirillum* sp. 1% v/v on the thirteenth day.

**Keywords:** *Azospirillum* sp., *Chlorella* sp., COD, Contact Time, Tofu Liquid Waste

### **1. PENDAHULUAN**

Tahu merupakan salah satu makanan pokok di Indonesia yang terbuat dari kedelai. Selain rasanya yang enak dan bergizi, tahu memiliki harga yang relatif murah sehingga dapat dijangkau oleh tiap kalangan. Sintawardani (2011) mengatakan bahwa tiap tahunnya dibutuhkan 2,56 juta ton kedelai dalam memproduksi tahu sehingga menghasilkan 20 juta m<sup>3</sup>/tahun limbah cair dan 1,024 juta ton limbah padat berupa ampas tahu.

Berbeda dengan limbah padat yang biasanya dimanfaatkan untuk makanan ternak, sebagian besar industri tahu mengalirkan langsung limbah cairnya ke badan air tanpa melakukan pengolahan terlebih dahulu (Rossiana, 2006). Hasil penelitian menyebutkan bahwa umumnya limbah cair tahu memiliki kandungan *Chemical Oxygen Demand* (COD) yang tinggi yaitu sekitar 7500-14000 mg/l (Herlambang, 2002).

Penggunaan limbah cair tahu sebagai medium kultivasi mikroalga akan memberikan dampak positif bagi lingkungan. Di dalam limbah tahu terdapat kandungan protein 40–60%, karbohidrat 25–50%, dan lemak 10%. Beberapa kandungan dalam limbah cair tahu tersebut dapat dijadikan oleh mikroalga sebagai sumber nutrisi untuk melakukan proses metabolisme sehingga menjadikan mikroalga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai alternatif dalam pengolahan limbah (Hadiyanto dan Azim, 2012).

Salah satu jenis mikroalga yang digunakan dalam pengolahan limbah yaitu *Chlorella* sp., dimana mikroalga ini banyak dibudidayakan karena mudah dan cepat berkembang biak pada air kotor (Darsono, 2007). *Chlorella* sp. mampu menghasilkan oksigen dengan baik melalui proses fotosintesis serta mengandung protein yang tinggi dengan komponen utama asam amino (Arifin, 2012). Dalam pengolahan limbah cair tahu, Istirokhatun dkk (2017) mengemukakan bahwa *Chlorella* sp. mampu menyisihkan COD dengan efisiensi penyisihan sebesar 77,40%.

Bashan dkk (2004) mengatakan bahwa saat ini *Chlorella* sp. mulai dibudidayakan dengan memanfaatkan bakteri pendukung pertumbuhan tanaman, salah satunya adalah *Azospirillum* sp. Simbiosis mikroalga dengan bakteri *Azospirillum* sp. dapat mendukung pertumbuhan pada mikroalga serta efisien dalam menyisihkan pencemar, terutama limbah cair tahu.

Dalam hubungan simbiosisnya, mikroalga menghasilkan oksigen yang tersedia untuk bakteri. Sebagai

imbalannya, bakteri memberikan CO<sub>2</sub> untuk mendukung pertumbuhan lebih lanjut dari mikroalga. *Azospirillum* sp. juga memberikan vitamin B12 sebagai koenzim organik untuk *Chlorella* sp. dapat mendukung pertumbuhan (Fuentes dkk., 2016). Mikroalga dan bakteri bersinergis dalam mempengaruhi fisiologi dan metabolisme masing-masing, sehingga berpotensi meningkatkan penyisihan parameter pencemaran lingkungan

Pada penelitian ini akan diteliti potensi bakteri *Azospirillum* sp. pada kultivasi mikroalga *Chlorella* sp. dengan variasi penambahan bakteri *Azospirillum* sp. dalam penyisihan kadar COD di limbah cair tahu.

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

Mikroalga *Chlorella* sp. yang digunakan berasal dari Pusat Penelitian Alga Fakultas Perikanan Universitas Riau, dikultur menggunakan *Dahril Solution*. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *Azospirillum* sp. dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC), *Research Center for Biology*, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor yang diremajakan pada medium NA kemudian dibuat kultur stok bakteri cair pada medium NB.

Proses penelitian dilakukan dengan menggunakan fotobioreaktor berukuran 20 cm x 10 cm x 30 cm dengan volume kerja total 3 liter dan aerator dengan debit 3 L/menit serta menggunakan sinar matahari sebagai sumber cahaya.

## 2.2 Prosedur Penelitian

### 2.2.1 Preparasi Limbah Cair Tahu

Pada penelitian ini, limbah cair tahu yang digunakan diperoleh dari industri tahu rumahan di jalan Garuda Ujung, Kelurahan Tangkerang Tengah, Kecamatan Marpoyan Damai, Pekanbaru. Diambil sebanyak 15 Liter kemudian dilakukan uji karakteristik COD awal.

### 2.2.2 Seeding dan Aklimatisasi

*Seeding* merupakan tahap pembibitan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroalga yang digunakan dalam proses pengolahan. Proses pembibitan dilakukan selama seminggu menggunakan medium Dahril *Solution* dengan penyinaran bersumber dari matahari. Selama kultivasi sel dihitung setiap 24 jam menggunakan *thomacytometer* dan mikroskop.

Kultur alga hasil perbanyakan kemudian diaklimatisasi. Aklimatisasi ini bertujuan untuk membiasakan kondisi alga hasil *seeding* dengan limbah cair secara bertahap sehingga diperoleh kepadatan alga minimal sebesar  $10^6$  sel/ml. Tahap pertama dilakukan dengan mencampurkan alga hasil perbanyakan dengan limbah cair tahu dengan perbandingan 50% : 50%. Lalu tahap selanjutnya mencampurkan alga dari tahap pertama dan limbah cair tahu dengan rasio sebesar 75% : 25% (Anggreani, 2011).

### 2.2.3 Preparasi Bakteri

#### *Azospirillum* sp.

Preparasi bakteri terdiri dari peremajaan dan pembuatan kultur stok bakteri *Azospirillum* sp. Peremajaan dilakukan dengan cara

menggoreskan koloni bakteri yang diperoleh menggunakan jarum ose steril pada medium NA (*Nutrient Agar*) dengan metode *streak plate*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  (Arwiyanto dkk., 1993).

Selanjutnya dilakukan pembuatan stok kultur bakteri cair. Bakteri hasil peremajaan pada medium NA diinokulasikan satu ose ke dalam 50 mL media NB (*Nutrient Broth*) yang telah disiapkan sebagai indukan di dalam Erlenmeyer. Kemudian dihomogenkan menggunakan *shacker* dan di inkubasi selama 24 jam. Setelah itu dari biakan tersebut diambil 1 mL dan dituangkan ke dalam 100 mL media NB yang telah disiapkan lalu dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam kemudian dilakukan perhitungan bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) rumus sebagai berikut (Apriani, 2012 dalam Arman dkk., 2013):

$$\text{Jumlah koloni} = \frac{1}{\text{Faktor pengenceran} \times \text{volume}}$$

### 2.2.4 Percobaan Utama

Percobaan utama dilakukan dengan memasukkan limbah cair tahu, suspensi mikroalga dan bakteri *Azospirillum* sp. ke dalam fotobio-reaktor berdasarkan variasi perlakuan, yaitu dengan variasi konsentrasi bakteri *Azospirillum* sp. dengan kepadatan  $10^8$  cfu/ml dalam fotobioreaktor sebesar 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75% dan 1% v/v (volume bakteri : volume kerja). Konsentrasi suspensi alga yang digunakan tetap yaitu sebesar 25% dari volume kerja

(750 ml). Kemudian diberikan sumber cahaya yang berasal dari sinar matahari. Dalam hal ini dilakukan perhitungan jumlah sel awal dari suspensi alga itu sendiri.

Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan menggunakan kamar hitung *thomacytometer* yang diamati di bawah mikroskop cahaya dengan bantuan *hand counter* dengan rumus perhitungan sebagai berikut (Bastidas, 2008):

$$N = n \times 10^4$$

Dimana:

N = kelimpahan sel (sel/ml)

n = jumlah sel dihitung

$10^4$  = vol kotakan *thomacytometer*

Sedangkan laju pertumbuhan sel dihitung dengan menggunakan persamaan berikut ini:

$$\mu = \frac{1}{(\Delta t)} \times \ln(X_n) - \ln(X_0)$$

Dimana :

$X_n$  = densitas sel pada waktu ke-n

$X_0$  = densitas sel pada waktu ke-0

$\Delta t$  = waktu ke n – waktu ke-0

### 2.2.5 Analisis Kandungan COD

Analisis kadar COD dilakukan di awal sebelum kultivasi dan setelah kultivasi yaitu pada hari ke-0, hari ke-7 dan hari ke-13. Analisis parameter COD mengacu pada SNI 6989.73:2009 dengan metode refluks terbuka secara titrimetri. Kadar COD dihitung menggunakan rumus:

$$\text{COD} = \frac{(A - B) \times M \times 8000}{\text{mL sampel}}$$

Dimana :

A = mL FAS untuk blanko

B = mL FAS untuk sampel

M = Molaritas FAS

8000 = berat miliequivalent oksigen x 1000 mL/L

Untuk mengetahui efisiensi penurunan parameter uji COD digunakan persamaan berikut:

$$\text{Efisiensi (\%)} = \frac{C_{in} - C_{ef}}{C_{in}} \times 100\%$$

Dimana:

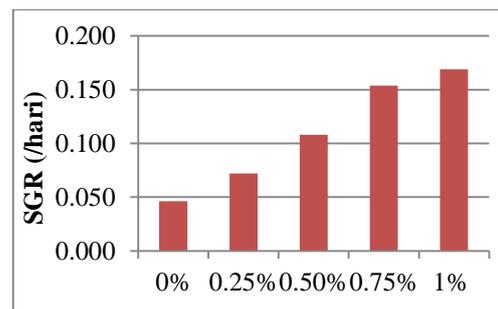
$C_{in}$  = konsentrasi influen (mg/L)

$C_{ef}$  = konsentrasi efluen (mg/L)

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Laju pertumbuhan Sel *Chlorella* sp. Selama proses pengolahan

Laju pertumbuhan sel mikroalga dengan variasi penambahan konsentrasi bakteri *Azospirillum* sp. dapat dilihat pada Gambar 1.



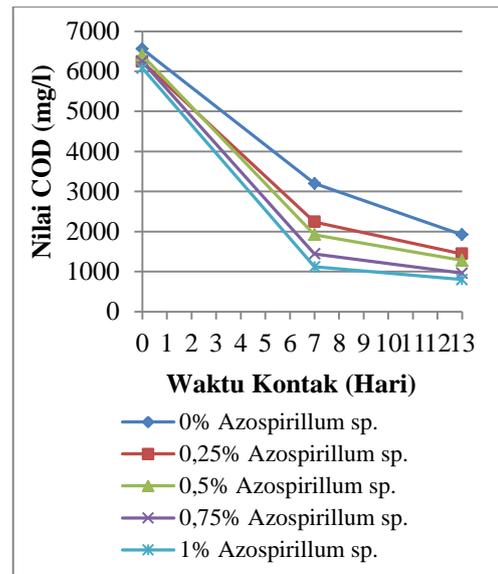
Berdasarkan hasil penelitian, laju pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. tertinggi terdapat pada variasi penambahan bakteri *Azospirillum* sp 1% dengan nilai SGR 0,17/hari. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan bakteri *Azospirillum* sp. pada media kultur menunjukkan nilai *specific growth rate* yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa penambahan bakteri. Nurlaili (2015) mengatakan bahwa semakin tinggi dosis bakteri *Azospirillum* sp. yang ditambahkan pada kultivasi mikroalga maka laju pertumbuhan akan semakin tinggi pula. Laju pertumbuhan menggam-

barkan kecepatan pertumbuhan sel-sel mikroalga persatuan waktu dapat dipakai sebagai tolak ukur untuk mengetahui daya dukung medium atau nutrient terhadap pertumbuhan dan pembelahan sel mikroalga (Istirokhatun dkk., 2017).

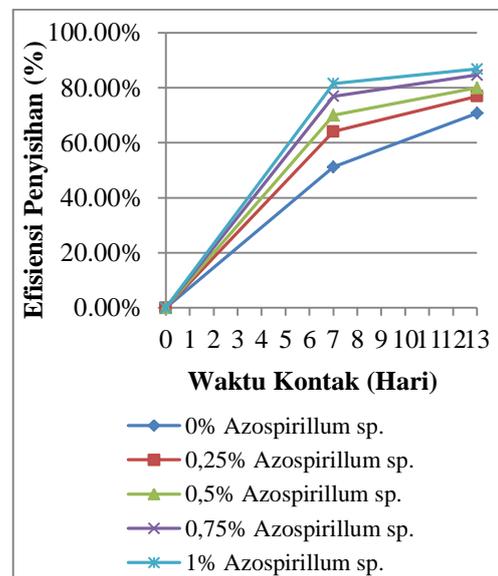
Menurut Bashan dkk (2008), ketika dua mikroorganisme (mikroalga dan bakteri) tumbuh bersama, ada interaksi biologis yang saling menguntungkan diantara keduanya. Studi menunjukkan bahwa oksigen dihasilkan dari proses fotosintesis mikroalga dapat dimanfaatkan oleh bakteri dan kemudian menghasilkan karbondioksida yang dimanfaatkan mikroalga untuk mendukung pertumbuhan lebih lanjut. *Azospirillum* sp. juga memberikan vitamin B12 sebagai koenzim organik untuk *Chlorella* sp. sehingga dapat mendukung pertumbuhan. Hadiyanto (2010) mengatakan pertumbuhan mikroalga sangat dipengaruhi oleh tersedianya nutrisi dalam media kultivasi.

### 3.2 Efisiensi Penyisihan COD

Hasil uji konsentrasi dan efisiensi penyisihan COD pada limbah cair tahu selama proses pengolahan menggunakan mikroalga *Chlorella* sp. dengan variasi penambahan bakteri *Azospirillum* sp. pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



(a)



(b)

Gambar 2 (a) Grafik Nilai Konsentrasi COD dan (b) Efisiensi Penyisihan COD

Berdasarkan Gambar 2, penyisihan parameter COD pada setiap perlakuan penambahan bakteri *Azospirillum* sp. menunjukkan hasil yang berbeda diakhir proses pengolahan. Penyisihan tertinggi berada pada perlakuan penambahan bakteri *Azospirillum* sp. dengan konsentrasi 1% v/v yaitu sebesar 86,84%. Penambahan bakteri *Azospirillum* sp. dengan konsentrasi

0%; 0,25%; 0,50% dan 0,75% v/v berturut-turut menghasilkan efisiensi penyisihan parameter COD sebesar 70,73%; 76,92%; 80,00% dan 84,62%. Efisiensi penyisihan COD semakin tinggi seiring dengan banyaknya variasi penambahan bakteri *Azospirillum* sp. Sedangkan penurunan nilai COD yang cenderung lebih rendah terdapat pada fotobio-reaktor kontrol dikarenakan penyisihan bahan organik hanya dilakukan oleh mikroalga *Chlorella* sp.

Konsentrasi COD pada tiap perlakuan baik dengan penambahan bakteri maupun tanpa penambahan bakteri selama proses pengolahan dari awal hingga akhir kultivasi terus mengalami penurunan menandakan bahwa bahan organik dalam limbah cair tahu dimanfaatkan oleh mikroorganisme seiring dengan lamanya waktu kontak. Hal ini membuktikan bahwa kandungan yang dimiliki oleh limbah cair tahu khususnya senyawa organik dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi dalam pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. Tam dan Wong (2000) menyatakan bahwa semakin lama waktu kontak maka efisiensi penyisihan semakin tinggi karena waktu kontak untuk menyisihkan semakin lama.

Penurunan nilai COD lebih tinggi terjadi pada perlakuan penambahan bakteri *Azospirillum* sp. disebabkan adanya interaksi mikroalga dengan bakteri *Azospirillum* sp. dalam pengolahan limbah. Nurlaili (2015) mengatakan bahwa ketika bakteri sebagai agen pertumbuhan diaplikasikan pada media, sel-sel bakteri tersebut mampu melakukan proses dekomposisi senyawa-senyawa

organik dan mengkonversikannya menjadi CO<sub>2</sub> yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroalga dalam proses fotosintesis, kemudian menghasilkan oksigen yang dimanfaatkan oleh bakteri dalam proses penguraian atau mengoksidasi senyawa organik pada air limbah. Sehingga interaksi ini mempercepat proses perombakan senyawa organik yang terdapat pada limbah.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, laju pertumbuhan *Chlorella* sp. terbaik terdapat pada penambahan bakteri *Azospirillum* sp. 1% sebesar 0,17/hari. Hal ini dikarenakan adanya interaksi bakteri dengan mikroalga yang mampu mendukung pertumbuhan sel sehingga laju pertumbuhan juga akan meningkat. Efisiensi penyisihan COD tertinggi juga terjadi pada penambahan bakteri *Azospirillum* sp. 1% dengan efisiensi penyisihan COD sebesar 86,84% dan Semakin lama waktu kontak pada penelitian ini maka semakin besar efisiensi penyisihan COD pada limbah.

#### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, F. (2012). Uji Kemampuan *Chlorella* sp. Sebagai Bioremediator Limbah Cair Tahu. *Tesis*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Arman, Puspita, F., dan Ali, M. (2013). Uji Beberapa Konsentrasi *Bacillus* Sp. untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Basah oleh Bakteri *Erwinia Caratovora* Pada Tanaman

- Sawi (*Brassica juncea* L.)  
*Jurnal Agroteknologi*. Vol. 1, 1-15.
- Arwiyanto, T., M. Goto., and Y. Takikawa. (1993). Characterization of Bacteriocins Produced by *Pseudomonas solanacearum*. *Journal Annals Phytopathological Society of Japan*. Vol 59: 114-122
- Bashan, L. E., Hernandez, J. P., Morey, T. dan Bashan, Y. (2004). Microalgae Growth-Promoting Bacteria as “Helpers” for Microalgae: a Novel Approach for Removing Ammonium and Phosphorus from Municipal Wastewater. *Water Res.* 38:466–474.
- Bashan. L. E., Antoun, H., and Bashan, Y. (2008). Involvement of Indole-3-Acetic-Acid Produced By The Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* spp. In Promoting Growth Of *Chlorella vulgaris*. *J. Phycol.* 44:938–947.
- Bastidas, Oscar. (2008). Thoma Chamber Formulae Calculation with Thoma Chamber Made Easy. Celeromics
- Darsono. (2007). Pengolahan Limbah Cair Tahu Secara Anaerob dan Aerob. Yogyakarta: Universitas Atmajaya.
- Fuentes, J.L., Garbayo, I., Cuaresma, M., Montero, Z., Valle, M.G.D., dan Vilchez, C. (2016). Impact of Microalgae-Bacteria Interactions on the Production of Algal Biomass and Associated Compounds. *Journal Marine Drugs*. Vol 14: 2-3
- Hadiyanto. (2010). Produksi Mikroalga Berbiomassa Tinggi dalam Bioreaktor Open Pond. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*. Vol. A02:1-6.
- Hadiyanto dan Azim, M. (2012). *Mikroalga Sumber Pangan dan Energi Masa Depan*. Semarang: UPT UNDIP.
- Herlambang, A. (2002). *Teknologi Pengolahan Limbah Cair Industri Tahu*. Samarinda: Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Lingkungan (BPPT) dan Badan Pengendalian Dampak Lingkungan.
- Istirokhatun, T., Aulia, M., dan Sudarno. (2017). Potensi *Chlorella* sp. untuk Menyisihkan COD dan Nitrat dalam Limbah Cair Tahu. *Jurnal Teknik Lingkungan*, Vol. 14, No. 2, 88-96.
- Nurlaili, F.R, Hendrawan, Y., dan Nugroho, W.A. (2015). Pengaruh Dosis Pertambahan Bakteri (*Azospirillum* sp.) Terhadap Kelimpahan Populasi Mikroalga (*Chlorella* sp.) pada Media Kultur Limbah Cair Biogas (Setelah Proses Anaerob). *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. Vol. 3, No. 2, 121-126.
- Rossiana, Nia. (2006). Uji Toksisitas Limbah Cair Tahu Sumedang terhadap Reproduksi *Daphnia carinata* King. Bandung: FMIPA Biologi, Universitas Padjajaran.
- Sintawardani, N. (2011). Socio-Economic Problem on

Reducing the Waste Water  
Pollution from Tofu Processing  
in The Cibuntu Area, Indonesia.  
*Research Center For Physics  
Indonesian Insitute of Science.*

Tam, N.F.Y. dan Y.S. Wong. (2000).  
Effect of Immobilixed  
Microalgal bead Concentration  
on Wastewater Nutrient  
Removal. *Environmental  
Pollution. 107. 145-151.*