

DINAMEKA POPULASI MIKROBA BENTUK FILAMEN PADA PROSES ANAEROBIK-AEROBIK UNTUK PENAMBATAN POSPAT DENGAN MIKROBA

[Dynamic Population of Filamentous Organism in Anaerobic-Aerobic Process for Enhanced Biological Phosphate Removal Process]

I Made Sudiana

(Research and Development Centre for Biology)

Jl. Juanda 18 Bogor 16122. Tel. (251) 321038. Fax (251) 325854

ABSTRACT

*Filamentous bulking is commonly observed in activated sludge treatment plant. The present study is intended to study the dynamic of filamentous organism in enhanced biological phosphorous removal. An anaerobic-aerobic sequential batch reactor was operated at 6 cycles per day with anaerobic phase for 55 minutes, aerobic phase for 135 minutes and settling phase for 60 minutes. Population of filamentous organism were counted and identified. Fluorescence in situ hybridization (FISH) with oligonucleotide probe specific for the alpha, beta, gamma sub class *Proteobacteria* and gram positive high GC DNA content organism was done to identify in-situ community of filamentous organism in the activated sludge. There were 4 major filamentous organisms namely Type 021N, 0041, *Micntrix oarvicella* and *Haliscomenobacter hydrosis*, in which type 021N was always dominant. Deterioration of enhanced biological phosphorous removal process was observed when filamentous organism outgrew. Probing technique with oligonucleotide probe revealed that filamentous organism mostly belong to the gamma sub class of *Proteobacteria*.*

Kata kunci/keywords: anaerobik-aerobik, mikroba bentuk filamen, FISH.

PENDAHULUAN

Penambahan tangki anaerobik pada sistem pengolahan limbah secara konvensional berfungsi menghambat pertumbuhan organisme bentuk filamen (microbial selector) (Wanner dan Novak, 1990). Populasi jasad renik bentuk filamen yang berlebihan dapat menyebabkan lumpur aktif, kumpulan jasad renik yang ada di pengolahan limbah, sulit mengendap (sludge bulking). Terdapat lebih dari 26 jenis mikroba bentuk filamen yang dapat menyebabkan lumpur aktif sulit mengendap (Kaempfer, 1997). Keberadaan mikroba bentuk filamen pada lumpur aktif dapat digunakan sebagai penciri kondisi sistem pengolahan limbah. Jenis organisme penciri itu dicantumkan dalam Tabel 1.

Tabel 1, memberikan pengertian bahwa pemahaman fisiologi dan identifikasi jenis mikroba

berfilamen yang tumbuh mendominasi komunitas mikroorganisme dalam pengolahan limbah sangat diperlukan. Dengan memahami mikroba penciri itu maka kondisi sistem pengolahan dapat diketahui dengan cepat, sehingga dengan cepat pula dapat dilakukan tindakan pencegahan dengan cara memperbaiki kondisi operasi sistem pengolahan limbah. Asetat dapat digunakan dengan mudah oleh mikroba yang hidup pada kondisi anaerobik-aerobik. Akan tetapi peran asetat terhadap pertumbuhan jasad renik bentuk filament belum banyak diketahui. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari dinamika populasi mikroba berfilamen pada pengolahan limbah yang menggunakan sistem anaerobik-aerobik untuk penambatan pospat dengan menggunakan asetat sebagai sumber karbon utama.

BAHAN DAN METODE

Sebuah reaktor yang menerapkan sistem anaerobik-aerobik berurutan pada satu tangki (*sequential anaerobic-aerobic batch reactor*) dioperasikan 6 siklus perhari. Dalam hal ini, kondisi anaerobik diberlangsungkan selama 55 menit, aerobik selama 135 menit dan waktu pengendapan selama 60 menit. Kondisi anaerobik diciptakan dengan mengalirkan gas nitrogen ke dalam reaktor, sedangkan kondisi aerobik dengan mengalirkan udara luar ke dalam reaktor dengan menggunakan pompa udara. Asetat digunakan sebagai sumber karbon utama, dengan input total makanan 0,5 kg/m³/hari. Konfigurasi reaktor yang digunakan mengikuti Sudiana (1998).

Stater lumpur aktif yang mengandung mikroba bentuk filamen diambil dari pengolahan limbah domestik yang menerapkan sistem anaerobik-aerobik di Tokyo, Jepang.

Dilakukan dua tipe operasi reaktor. Pertama dengan mengaklimasi lumpur aktif yang mengandung organisma bentuk filamen selama 14 minggu. Tipe kedua dilakukan dengan mengganti setengah dari lumpur aktif yang ada pada reaktor dengan lumpur aktif baru yang mengandung mikroba berfilamen yang diambil dari pengolah limbah domestik yang sama.

Dinamika populasi mikroba bentuk filamen diamati setiap minggu dan indentifikasi jenis dilakukan mengikuti cara Eikleboom dan van Buisjsen (1983). Selain itu juga dilakukan identifikasi *in-situ* mikroba berfilamen dengan

menggunakan teknik FISH (Fluorescence *In-situ* Hybridization) dengan probe oligonukleotida yang dilabel dengan XRTIC (Rodhamine Isotycinat) dan FITC (Fluorecent Isotyacianate). Probe yang digunakan dan daerah tujuan probe untuk analisis *in-situ* dinamika mikroba berfilamen selama aklimasi lumpur aktif tercantum pada Tabel 2.

Analisis profil kondisi reaktor dilakukan dengan mengikuti konsentrasi pospat senyawa organik total (TOC, *Total Organic Carbon*) mengikuti cara Satoh *et al.* (1992).

HASIL

Jasad renik pada lumpur aktif

Ditemukan beberapa jenis organisma berfilamen selama aklimasi lumpur aktif. Jenis dan kemelimpahannya tercantum dalam Tabel 3. Komunitas jasad renik bentuk filamen didominasi oleh tipe 02IN. CM morfologi dari jasad renik ini adalah sebagai berikut: bentuk filamen agak membengkok, berpilin non-motil, septa sel jelas, bentuk sell sangat bervariasi dari bentuk disk sampai persegi panjang, pada umumnya bentuk persegi panjang, semua bentuk antara (*intermediate*) ditemukan, panjang sell sekitar (0.4-0.7µm); diameter (1.8-2.2 µm), tidak ada konstiksi yang jelas diantara sel. Kadang-kadang ditemukan granula sulfur. Hasil uji sulphur filamen kebanyakan positive. Jarang ditemukan filamen yang tumbuh vertikal pada filamen utama (*attach growth*).

Tabel 1. Organisma penciri kondisi pengolahan limbah.

Penyebab lumpur aktif sulit mengendap	Organisma penciri
Rendahnya oksigen terlarut	Tipe V101, <i>Sphaerotilus natans</i> ,
Rendahnya rasio makanan/biomasa	<i>Microthrix parvicella</i> , tipe 02 IN, tipe 0041
Kekurangan nutrisi	<i>Haliscomenobacter hydrosis</i> , tipe 0041 dan Tipe 0675

Table 2. Daftar probe oligonukleotide yang digunakan dan daerah tujuan probe.

Probe	Sekuens Probe	Tujuan probe*
ALF-32a	5-CGTTTCGCTGAGCCAG-3	16S, 19-35
BET-42a	5-GCCTTCCACTTCGTTT-3	23 S, 1027-1043
GAM	5-GCCTTCCACATCGTTT-3	23 S, 1027-1043
HGC-69a	5-TATAGTTACCACCACCGCCGT-3	23S, 1901-1918

Keterangan: Probe oligonukleotide ALF-32a, BET-42a, dan GAM adalah masing-masing untuk *alfa*, *beta*, *gamma* sub kelas *Proteobacteria*. HGC-69a untuk bakteri gram positive dengan kandungan GC DNA tinggi. *posisi tujuan berdasarkan *E. coli*.

Tabel 3. Jenis mikroba bentuk filamen dan kelimpahannya pada operasi tipe-1.

Waktu aklimasi lumpur aktif (minggu)															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15	14
Tipe 02 IN	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+	+	+
Tipe 0041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. Parvicella</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>H. hydrosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + sedikit; ++ banyak, +++ berlebihan, ++++ sangat berlebihan

Tabel 4. Jenis mikroba bentuk filamen dan kemelimpahannya pada operasi tipe-2.

Waktu aklimasi lumpur aktif (minggu)											
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Tipe 021N	++	++	++	-H-	+++	++	++	++	++	++	
Tipe 0041	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>M. Parvicella</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>H. hydrosis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan: + sedikit; ++ banyak, +++ berlebihan, ++++ sangat berlebihan

Tabel 5. Analisis *in-situ* dinamika mikroba bentuk filamen di operasi tipe-1 dengan menggunakan FISH

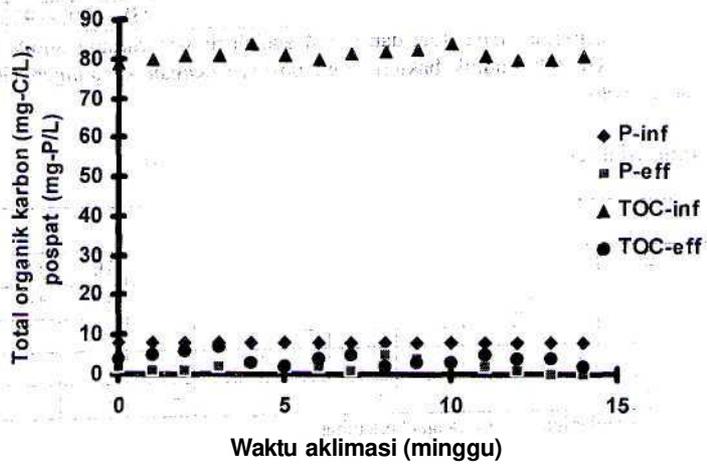
Waktu lumpur aktif aklimasi (minggu)															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
GAM	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+	+	+
BET	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ALF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HGC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + sedikit; ++ banyak, +++ berlebihan, ++++ sangat berlebihan

Tabel 6. Analisis *in-situ* dinamika mikroba bentuk filamen di mode operasi 2 dengan menggunakan FISH

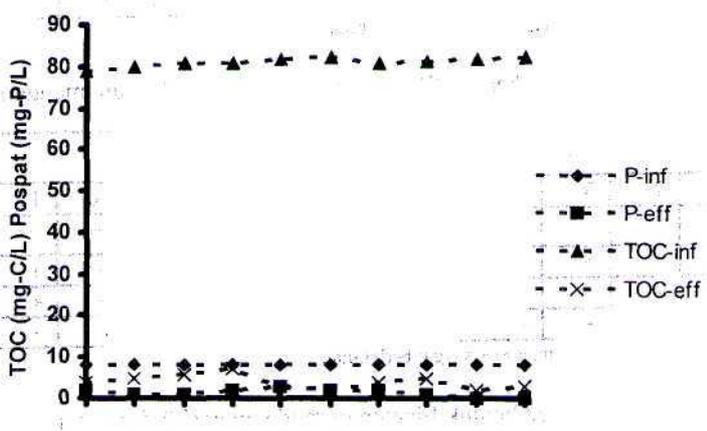
Waktu lumpur aktif aklimasi (minggu)										
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
GAM	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++
BET	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ALF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HGC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan: + sedikit; ++ banyak, +++ berlebihan, ++++ sangat berlebihan



Keterangan: P-inf, pospat pada influen; P-eff pospat pada efluen; TOC inf, total organik karbon pada influen; TOC eff, total organik karbon pada efluen.

Gambar1. Profil total senyawa organik dan pospat pada aklimasi tipe-1.



Keterangan: P-inf, pospat di influen; P-eff, pospat di efluen; TOC inf, total organik karbon di influen; TOC eff, total organik karbon di efluen.

Gambar2. Profile total senyawa organik dan pospat pada aklimasi tipe-2.

PEMBAHASAN

Dinamika populasi jasad renik selama aklimasi lumpur aktif

Populasi mikroba bentuk filamen stabil pada awal aklimasi, kemudian meningkat drastis pada minggu ke 9 didominasi oleh tipe 02IN. Populasi mikroba ini menurun mulai minggu ke 10. Komunitas mikroorganisma berfilamen terendah dijumpai pada minggu ke 14. Oleh karena populasinya sangat rendah, pada akhir minggu ke 14, dilakukan operasi tipe-2 (lihat bahan dan metode) yang bertujuan mengetahui dinamika populasi mikroba berfilamen dan pengaruhnya terhadap kemampuan penambatan pospat oleh lumpur aktif.

Dinamika populasi mikroba bentuk fileman pada tipe-2 serupa dengan yang terjadi pada mode 1. Pada awal aklimasi lumpur aktif, jumlah mikroba berfilamen rendah kemudian meningkat drastis pada minggu ke 4. Seperti halnya pada mode 1, Tipe 02IN juga mendominasi komunitas mikroba berfilamen pada mode 2 seperti terlihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Kondisi reaktor (hubungan antara kemampuan penambatan pospat dan kemelimpahan mikroba bentuk filamen)

Pada awal reaktor mulai dioperasikan, penyerapan senyawa organik cukup baik. Hampir 75 % asetat diserap pada kondisi anaerobik (Gambar 1). Ini menunjukkan bahwa pergantian substrat dari limbah domestik dengan asetat tidak menyebabkan banyak perubahan terhadap absorpsi substrat, atau asetat dapat digunakan sebagai sumber karbon utama oleh lumpur aktif. Ini dapat disebabkan oleh limbah domestik yang juga mengandung asetat yang merupakan produk fermentasi dari senyawa organik (Mino *et al.*, 1994). Absorpsi substrat pada kondisi aerobik meningkat sampai minggu ke 8. Terjadi sedikit penurunan pada minggu ke 9.

Pospat dalam bentuk ortopospat juga dilepas pada kondisi anaerobik menandakan jasad renik menggunakan energi yang berasal dari hidrolisis intraselular polipaspat untuk penyerapan asetat (Sudiana, 1998). Orthopospat yang terlepas pada kondisi anaerobik kemudian diabsorpsi kembali pada kondisi aerobik (Sudiana 1997). *Microlonatus phosphorous*, NM1 dilaporkan mempunyai kemampuan menyerap pospat pada kondisi aerobik, kemungkinan dengan menggunakan energi yang berasal dari degradasi karbohidrat.

Peningkatan populasi bakteri bentuk filamen dan naiknya konsentrasi pospat pada efluen

Pada minggu ke 9 pada operasi mode 1 dan minggu ke 4 operasi mode 2, terjadi peningkatan populasi jasad renik berfilamen yang sangat drastis. Populasinya didominasi oleh tipe 02IN. Kejadian ini ditandai dengan meningkatnya pospat pada efluen (Tabel 3, 4 dan Gambar 1). Ini menandakan penambatan pospat secara biologis oleh lumpur aktif tidak efisien, atau dengan kata lain penambatan pospat mengalami deteriorasi. Kemampuan jasad renik berfilamen untuk menggunakan asetat belum banyak dilaporkan. Tetapi kemelimpahan mikroba ini pada sistem pengolahan limbah yang menerapkan proses anaerobik-aerobik telah dilaporkan oleh Ekama *et al.*, (1996). Mereka menemukan bahwa kebanyakan sistem pengolahan limbah untuk penurunan nutrien dalam air limbah tidak berfungsi secara baik karena melimpahnya organisma bentuk filamen.

Tipe 02 IN banyak ditemukan pada pengolahan limbah domestik di Jepang (Kanagawa *et al.*, 1998). Mereka melaporkan 02IN yang ditemukan di Jepang kemungkinan jenisnya berbeda dengan jenis yang dilaporkan di Eropa. Bentuk roset seperti yang dilaporkan oleh Eikleboom dan van Buissjen" (1983) tidak ditemukan pada sistem pengolahan domestik di

Jepang dan juga tidak ditemukan pada lunipur aktif yang diamati. Keunikan jasad renik ini belum diketahui secara pasti. Glukosa dilaporkan menstimulasi pertumbuhan jenis ini (Jenkin *et ai*, 1986), tetapi Andreason and Nielsen (1997) dengan teknik mikroaudiografi melaporkan jasad renik ini selektif hanya menggunakan asam oleat. Beberapa organisma berfilamen juga mampu mengakumulasi polihidrosi-alkanot (Anderson dan Dawes, 1990). Dengan kemampuan ini mereka dapat hidup pada kondisi lingkungan rendah nutrien.

Penelitian ini menunjukkan bahwa selektor anaerobik yang diharapkan berfungsi untuk menekan populasi mikroba bentuk filamen tidak selalu berhasil menghambat pertumbuhan mikroba ini. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian yang lebih mendalam mengenai keunikan sistem elektron transpor yang digunakan untuk mendapatkan energi. Kemampuannya menggunakan aseptor elektron selain oksigen juga perlu diteliti lebih lanjut.

Analisis *in-situ* dengan FISH

Mikroba bentuk filamen yang ditemukan pada lumpur aktif sebagian besar termasuk ke dalam *gamma* sub-kelas *Proteobacteria*. Sedangkan grup bakteri gram positif dengan kadungan G+C DNA tinggi menempati urutan kedua (lihat Tabel 5 dan 6). Semua jenis tipe 02IN termasuk dalam *gamma* sub class of *Proteobacteria* (Kanagawa *et al.* 1998). *M. parvicella* termasuk dalam grup bakteri gram positif dengan kadungan G+C DNA tinggi. Hasil identifikasi dengan FISH memperkuat identifikasi secara morfologi dan kimia.

KESIMPULAN DAN SARAN

Mikroba bentulc filamen yang ditemukan pada sistem anaerobik-aerobik dengan menggunakan asetat sebagai sumber karbon utama adalah tipe 02IN, tipe 0041, *M. parvicella*, and *H.*

hydrosi. Tipe 02IN mendominasi komunitas jasad renik bentuk filamen.

Deteororasi penambatan pospat secara biologi terjadi saat populasi mikroba berfilamen berlebihan.

Selektor anaerobik tidak selalu berhasil menekan pertumbuhan mikroba bentuk filamen, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memahami keunikan fisiologi mikroba ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Prof. Dr. Takashi MINO dan Dr. Hiroyashu SATOH dari University of Tokyo atas informasi dan fasilitas yang diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson AJ and Dawes EA. 1990.** Occurrence, metabolisme metabolic role and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanotes. *Microbiological reviews* 54 December, 450-472.
- Andreasen K, Nielsen PH. 1997.** Application of microautoradiography to the study of substrate uptake by filamentous organism in activated sludge. *Applied and Environmental Microbiology* **63**, 3662-3668.
- Blackbeard JR, Gab DMD, EkamaGA, Marais GVR. 1988.** Identification of filamentous organism in nutrient removal activated sludge plants in South Africa. *Water Science Association (Pretoria)* 14, 29-34.
- Eikleboom DH and van Buijsen HJJ. 1983.** *Microscopic sludge investigation manual.* IMG-TNO report A94. TNO Delft, The Netherland. him 1-75.
- Ekama GA, Wetzel MC, Casey TG, Marais GVR. 1996.** Filamentous organism bulking in nutrient removal activated sludge system: Paper 3: Stimulation of the selector effect

under anoxic conditions. *Water Science Association (Pretoria)* **22**, 119-126.

Erhart R, Bradford D, Sevier RJ, Amann R, Blakcall, LL. 1997. Development and use of fluorescent in situ hybridization probes for the detection of *Microthrix parvicella* in activated sludge. *Systematic and Applied Microbiology* **20**, 310-318.

Kaempfer PP. 1997. Detection and cultivation of filamentous bacteria from activated sludge. *FEMS Microbiology Ecology* **23**, 169-181.

Kanagawa T, Kamagata K, Kohno, T. 1998. Phylogenetic analyses of Type 021 N strains isolated from bulking sludges, dalam *Microbial Community and Functions in Wastewater Treatment Processes*. Department of Urban Engineering, Tokyo, Japan. 151-160.

Mino T, Satoh H and Matuso T. 1994. Metabolism of different bacterial populations in enhanced biological phosphate removal. *Wat. Sci. Tech.* **29**, 67-70.

Satoh H, Mino T and Matsuo T. 1992. Uptake of organic substrate and accumulation of

polyhydroxyalkanoate linked with glycolyses of intracellular carbohydrate under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal process. *Wat. Sci. Technol.* **26**, 933-942.

Sudiana IM. 1997. Proses anaerobik-aerobik pada pengolahan air limbah untuk pengurangan kadar nutrien pospat. *Prosiding temu ilmiah VI PPI di Jepang*: 19-22. Gifu 20 Agustus 1997. Kaseno (penyunting). Perhimpunan Pelajar Indonesia di Jepang.

Sudiana IM. 1998. Metabolic characteristic and morphology of glycogen accumulating organism in enhanced biological phosphorous removal sludge. *Prosiding temu ilmiah VII PPI di Jepang*: 180-184, Hiroshima 5-6 September 1998. AH Saputera (Penyunting) Perhimpunan Pelajar Indonesia di Jepang.

Wanner J. and Novak L. (1990). The influence of a particulate substrate on filamentous bulking and phosphorous removal in activated lumpur aktif system. *Water Research* **24**, 573-582.