PROSIDING SEMINAR NASIONAL REKAYASA KIMIA DAN PROSES 2007
ISSN : 1411 – 4216

PENGOLAHAN ZAT WARNA AZO MENGGUNAKAN BIOREAKTOR MEMBRAN KONSEKUTIF AEROB-ANAEROB

P.S.Komala[1)], Wisjnuprapto[1)], I.G. Wenten[2)]
[1)]Jurusan Teknik Lingkungan, Institut Teknologi Bandung
[2)]Jurusan Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132
Telp.: 62–22–253 4105/250 2647, Fax.: 62–22–253 0704, email: putisrikomala@telkom.net

Abstrak

Zat warna azo merupakan salah satu grup zat warna sintetis yang paling banyak digunakan di sejumlah industri seperti tekstil, makanan, kosmetik dan pencetakan kertas. Pengolahan zat warna azo dengan metoda biologi dianggap ramah lingkungan karena dapat memineralisasi senyawa organik secara sempurna dengan biaya rendah. Akan tetapi zat warna azo bersifat rekalsitran untuk dibiodegradasi karena bersifat xenobiotik. Namun mikroorganisme dapat mengembangkan sistem enzim untuk biodegradasi dan mineralisasi zat warna pada kondisi lingkungan tertentu. Biodegradasi zat warna azo dapat dilakukan pada kondisi anaerob, anoksik dan aerob. Berbagai mekanisme pada pemutusan reduktif zat warna azo, meliputi mekanisme enzimatis, melalui penambahan mediator redoks berat molekul rendah, melalui reduksi kimia. Pemutusan ikatan azo menimbulkan pembentukan amina aromatik. Degradasi amina aromatik tergantung pada struktur kimia dan kondisi lingkungan. Pada telaah pustaka ini akan dibahas tentang biodegradasi dan mekanisme pemutusan warna, kemudian akan diusulkan suatu teknologi pengolahan air buangan yang mengandung zat warna azo, khususnya pengolahan biologi. Dari hasil telaahan, diperoleh sistem bioreaktor membran (BRM) sebagai alternatif teknologi pengolahan limbah untuk mengolah limbah dengan kandungan senyawa toksik seperti zat warna azo sekaligus senyawa organik, sehingga dihasilkan kualitas efluen yang jauh lebih baik dibandingkan proses pengolahan limbah konvensional. Pengolahan BRM aerob-anaerob lebih efektif untuk dikembangkan, dibandingkan dengan proses anaerob-aerob. Konfigurasi reaktor ini dapat dilakukan dalam suatu reaktor tunggal dengan resirkulasi efluen proses anaerob ke proses aerob untuk penyempurnaan degradasi amina aromatik.

Kata kunci: *amina aromatik; biodegradasi; bioreaktor membran; pengolahan aerob-anaerob; zat warna azo*

Pendahuluan

Salah satu zat warna yang paling banyak digunakan pada industri tekstil adalah zat warna azo. Zat warna azo mempunyai karakteristik utama yaitu terdapatnya gugus nitrogen yang berikatan ganda dengan nitrogen, dikenal sebagai rantai azo (- N = N -), di dalam satu jenis zat warna bisa terdiri dari satu atau lebih rantai ini. Pada tahun 1994 diperkirakan, produksi zat warna di dunia sekitar 1 juta ton, sekitar lebih dari 50% adalah zat warna azo (Ollgaard dkk., 1999; Stolz, 2001). Zat warna ini digunakan secara luas di sejumlah industri, seperti pewarna tekstil, makanan, kosmetik, kertas, dimana industri tekstil merupakan pemakai terbesar.Tidak semua zat warna terikat dengan kain; tergantung pada kelas zat warna. Kehilangannya dalam air buangan dapat bervariasi dari 2% untuk zat warna basa sampai sekitar 50% untuk zat warna reaktif, menimbulkan kontaminasi berat pada air permukaan dan air tanah di sekitar industri pewarna atau tekstil (Ganesh, dkk., 1994; O'Neill dkk., 1999). Beberapa zat warna dan hasil degradasinya bersifat karsinogenik (Levine, 1991). Penelitian baru-baru ini oleh Rajaguru dkk. (2002) dan Umbuzeiro dkk., (2005) menunjukkan bahwa zat warna azo berkontribusi terhadap aktivitas mutagenitas air tanah dan permukaan yang terpolusi oleh elfluen tekstil. Lebih jauh, pembuangannya ke dalam air permukaan menimbulkan masalah estetik dan menghalangi penetrasi cahaya dan transfer oksigen ke dalam badan air, sehingga mempengaruhi kehidupan akuatis. Oleh karena itu, penyisihan warna dari efluen tekstil menjadi perhatian utama.

Beberapa penelitian tentang penggunaan metoda fisika kimia untuk penyisihan warna dari efluen yang mengandung warna telah banyak dilakukan (Churchley, 1994; Behnajady dkk., 2004; Wang dkk., 2004; Golab dkk., 2005; Lopez-Grimau and Guiterrez, 2005). Teknik koagulasi/flokulasi yang digunakan secara ekstensif menghasilkan sejumlah besar lumpur yang membutuhkan pembuangan yang aman. Adsorpsi dan teknik filtrasi membran sampai tingkat tertentu menghasilkan aliran limbah sekunder yang memerlukan pengolahan lebih lanjut.

Kendala ini telah menyebabkan untuk mempertimbangkan proses oksidasi lanjut (AOP) dan filtrasi membran sebagai pilihan yang menarik untuk pengolahan air buangan yang mengandung zat warna azo. Proses oksidasi lanjut (AOP) tidak menghasilkan limbah padat. Akan tetapi, kombinasi metode AOP dan filtrasi membran membutuhkan energi dan biaya tinggi. Metode biologi umumnya dianggap ramah lingkungan, karena dapat memineralisasi senyawa organik secara sempurna dengan biaya rendah. Namun, pengolahan biologi konvensional memiliki kelemahan-kelemahan seperti rendahnya kualitas efluen, rendahnya konsentrasi biomassa di dalam bioreaktor, dan kemungkinan tersapunya (*wash-out*) mikroba dari bioreaktor.

Bioreaktor membran (BRM) merupakan teknologi pengolahan limbah yang menawarkan keuntungan lebih dibandingkan teknologi konvensional khususnya proses lumpur aktif. BRM adalah sistem pengolahan limbah yang menggabungkan proses membran ke dalam sistem pengolahan biologis khususnya lumpur aktif. Sistem BRM dapat beroperasi pada beban organik yang tinggi namun lahan yang dibutuhkan lebih sedikit. Aplikasi BRM aerob terendam untuk pengolahan zat warna azo telah dilakukan Hai (2005) menggunakan *fungi* dengan tingkat penyisihan warna yang sangat tinggi. Penelitian lain menggunakan BRM aerob eksternal dengan sistem ultra filtrasi pada limbah tekstil oleh Badani *dkk.* (2005) menghasilkan penyisihan COD tinggi, namun penyisihan warna belum memenuhi persyaratan reuse, sehingga diperlukan pengolahan lebih lanjut.

Makalah ini membahas tentang mekanisme biodegradasi azo dan mineralisasi amina aromatik, serta aplikasi proses-proses ini pada pemutusan warna. Selain itu juga dijelaskan mengenai aplikasi BRM pada pengolahan air buangan industri dan kemungkinan penerapannya dalam pengolahan air buangan yang mengandung zat warna azo.

Biodegradasi Zat Warna Azo oleh Bakteri

Pemutusan reduktif ikatan –N=N– merupakan tahap awal degradasi zat warna azo oleh bakteri. Dekolorisasi zat warna azo terjadi pada kondisi anaerob (methanogenik), anoksik dan aerobik oleh grup-grup bakteri trofik yang berbeda. Berikut akan dijelaskan bidegradasi zat warna azo pada berbagai kondisi.

Biodegradasi zat warna Azo pada kondisi anaerob

Proses metanogenesis/anaerob dari komponen organik kompleks membutuhkan partisipasi beberapa grup tropis bakteri yang berbeda, meliputi bakteri asidogenik, asetogenik dan metanogenik (Kasper dan Wuhrmann, 1978). Zat warna azo merupakan senyawa organik kompleks, dalam kondisi anaerob biodegradasi zat warna membutuhkan sumber karbon/energi. Substrat-substrat sederhana seperti glukosa, pati, asetat, etanol dan yang lebih kompleks seperti air dadih dan tapioka digunakan untuk biodegradasi warna pada kondisi metanogenik (Soewondo, 1999; Chinwetkitvanich dkk., 2000; Wiletts dkk., 2000; Talarsposhti dkk., 2001; Yoo dkk., 2001; Isik dan Sponza, 2005a: Van der Zee and Villaverde, 2005). Selain substrat faktor-faktor lain seperti potensial redoks, nutrien, pH, garam dan temperatur turut mempengaruhi reduksi warna (Delée, 1998; Dharmayanthie, 1999; Handoko, 2003; Dos Santos, 2005)

Reduksi pada kondisi anaerob menunjukkan reaksi non spesifik, karena umumnya berbagai grup komponen azo dapat diputuskan pada kondisi ini, meskipun laju pemutusan tergantung pada sumber karbon organik yang ditambahkan serta struktur zat warna (Bromley-challlenor dkk., 2000; Stolz, 2001). Pada beberapa zat warna khusus, seperti *acid orange* 7 (AO7), autokatalisis oleh senyawa seperti *quinone*, yang terbentuk selama reduksi zat warna azo, berkontribusi besar terhadap proses reduksi keseluruhan (Van der Zee dkk., 2000; Mendez-Paz dkk., 2005).

Biodegradasi zat warna azo pada kondisi anoksik

Biodegradasi anoksis berbagai zat warna azo oleh konsorsium mikroba fakultatif anaerob telah dilaporkan (Nigam dkk., 1996; Kapdan dkk., 2000; Padmavathy dkk., 2003; Khehra dkk., 2005; Moosvi dkk., 2005). Meskipun beberapa kultur ini mampu tumbuh secara aerob, pemutusan warna dilakukan hanya pada kondisi anaerob. Strain bakteri murni, seperti *Pseudomonas luteola, Aeromonas hydrophila, Bacillus subtilis, Pseudomonas sp.* dan *Proteus mirabilis*, mendegradasi warna pada kondisi anoksik (Chang dkk., 2001; Chen, dkk., 1999; 2003; Yu etal., 2001). Pemutusan warna melalui kultur campuran ataupun murni umumnya memerlukan sumber organik kompleks, seperti *yeast extract*, pepton atau kombinasi sumber organik kompleks dan karbohidrat (Chen, dkk., 2003; Khehra dkk., 2005). Glukosa adalah substrat yang disukai pada kondisi metanogenik, tetapi pada pemutusan warna oleh bakteri fakultatif anaerob dan bakteri fermentasi substrat lebih bervariasi tergantung kultur bakteri.

Biodegradasi zat warna azo pada kondisi aerob

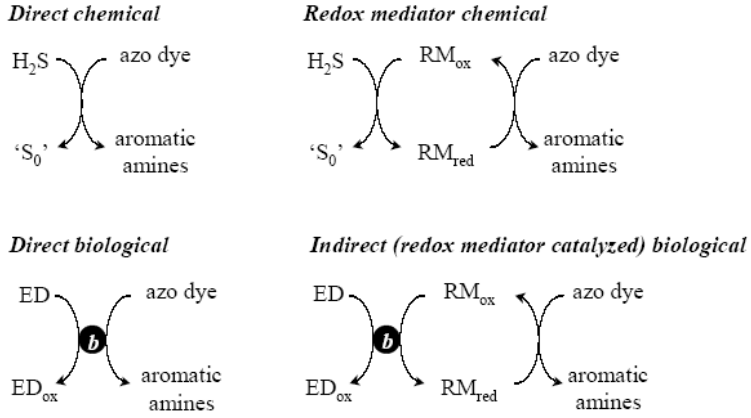
Beberapa strain bakteri yang dapat memutuskan warna secara aerob telah diisolasi pada beberapa tahun terakhir ini. Umumnya strain ini membutuhkan sumber karbon organik, karena mereka tidak dapat mempergunakan zat warna sebagai substrat pertumbuhan (Stolz, 2001). *P. aeruginosa* memutuskan limbah zat warna penyamakan dan tekstil, Navitan Fast Blue S5R, dengan adanya glukosa pada kondisi aerob. Organisme ini juga mampu memutuskan berbagai zat warna azo lainnya (Nachiyar dab Rajkumar, 2003). Hanya ada sedikit bakteri yang mampu tumbuh dengan senyawa azo sebagai satu-satunya sumber karbon. Bakteri-bakteri ini memutuskan ikatan –N=N– secara reduktif dan menggunakan amina sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Organisme tersebut

spesifik terhadap substratnya. Misalnya strain-strain bakteri dengan ciri ini adalah Xenophilus azovorans KF46 (sebelumnya Pseudomonas sp. KF46) dan Pigmentiphaga kullae K24 (sebelumnya Pseudomonas sp. K24), yang dapat tumbuh secara aerobik pada carboxy-orange I dan carboxy-orange II (Zimmermann et al., 1982; Kulla et al., 1983).

Senyawa aromatik pada dasarnya mudah diuraikan secara biologi baik dalam kondisi aerob maupun anaerob (Field dkk., 1995). Pada kondisi anaerob, enzim-enzim *mono-* dan *di-oxygenase* mengkatalisis oksigen yang tergabung dari O_2 ke dalam cincin aromatik senyawa organik sebelum peleburan (fisi) cincin (Madigan, dkk., 2003). Pada kebanyakan *mono-oxygenase*, donor elektron adalah NADH atau NAD(P)H, meskipun hubungan langsung ke O_2 melalui suatu flavin yang direduksi oleh donor NADH atau NAD(P)H (Madigan, dkk., 2003). Meskipun zat warna azo adalah senyawa aromatik, substituennya mengandung grup-grup nitro dan sulfonat, yang sangat rekalsitran bagi degradasi bakteri aerob (Claus dkk., 2002). Hal ini berhubungan dengan sifat penarik elektron dari ikatan azo dan resistensi mereka terhadap serangan oksigenase, atau karena oksigen merupakan akseptor elektron yang lebih efektif sehingga lebih disukai untuk ekivalen pereduksi dibandingkan zat warna azo (Chung dkk., 1992; Knackmuss, 1996). Namun, dengan adanya enzim spesifik pengkatalis oksigen yang disebut azo reduktase, beberapa bakteri aerob mampu mereduksi komponen azo dan menghasilkan amina aromatik (Stolz, 2001). Azo reduktase aerob mampu menggunakan baik NAD(P)H dan NADH sebagai ko faktor dan memutuskan secara reduktif tidak hanya substrat pertumbuhan bakteri karboksil tetapi juga analog struktur sulfonat.

Mekanisme reduksi zat warna azo

Tahap pertama dalam degradasi zat warna azo oleh bakteri baik dalam kondisi anaerob ataupun aerob adalah reduksi ikatan –N=N–. Reduksi ini dapat meliputi mekanisme-mekanisme yang berbeda, seperti reaksi enzimatis, melalui penambahan mediator redoks berat molekul rendah, melalui reduksi kimia dengan reduktan biogenik seperti sulfida atau kombinasi dari reaksi-reaksi tersebut **(Gambar 1)**. Selain itu, lokasi reaksi dapat terjadi secara intraseluler atau ekstraseluler.



Ket : RM = redox mediator; ED = donor elektron ; *b* = bakteri (enzim)

Gambar 1. Mekanisme Reduksi zat warna Azo
Sumber : Van der Zee, 2002

1. Reduksi azo secara enzimatis langsung

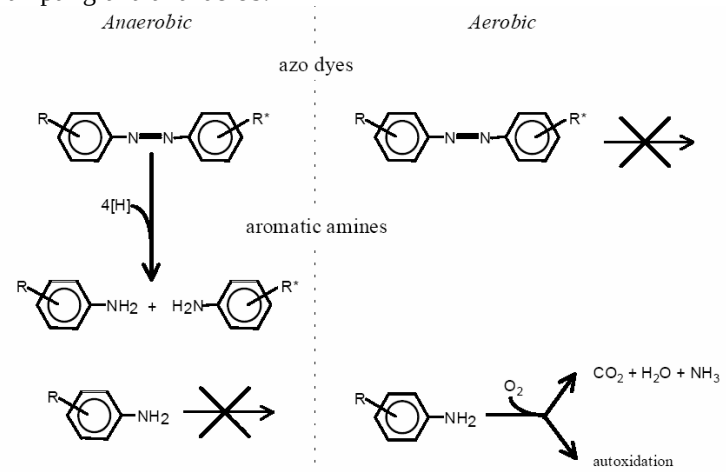
Mekanisme ini melibatkan transfer ekivalen pereduksi melalui mediasi enzim, yang dihasilkan dari oksidasi substrat/koenzim kepada zat warna azo. Enzim-enzim ini dapat bersifat spesifik, yang mengkatalisis hanya reduksi zat warna azo, atau non spesifik. Enzim non spesifik dapat mengkatalisisis reduksi berbagai jenis substrat. Akibat sifat non spesifik tersebut, enzim-enzim ini mereduksi zat warna azo dengan alasan yang belum diketahui.

– **Kondisi anaerob**

Adanya azoreduktase pada bakteri-bakteri anaerob yang mendekolorisasi zat warna azo tersulfonasi selama pertumbuhan pada media solid atau kompleks pertama kali dilaporkan oleh Rafii dkk. (1990). Strain-strain ini termasuk pada genera *Clostridium* dan *Eubacterium*. Azoreduktase dari strain-strain ini sensitif terhadap oksigen dan diproduksi secara berurutan dan dilepaskan ekstraseluler. Senyawa amina aromatik merupakan hasil dekolorisasi senyawa azo pada kondisi anaerob. Senyawa ini sulit untuk didegradasi lebih jauh pada kondisi anaerob. Namun mineralisasi beberapa amina aromatik sederhana dapat dilakukan pada kondisi metanogen. Amina aromatik yang terbentuk dari reduksi zat warna azo lebih mudah didegradasi pada kondisi aerob. Pemutusan zat warna azo dan amina aromatik pada pengolahan anaerob-aerob dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Pada kondisi anaerob zat warna azo direduksi secara non spesifik tetapi laju penyisihan rendah, terutama pada zat warna reaktif, merupakan masalah khusus dalam aplikasi pengolahan anaerob sebagai salah satu tahap dalam

biodegradasi komponen ini. Untuk mengatasi masalah tersebut, mediator redoks yaitu komponen yang mempercepat laju reaksi dengan transfer pereduksi ekivalen antara donor elektron (terminal) dan akseptor elektron, dapat membantu. Kofaktor enzim seperti NADH, NAD(P)H, $FMNH_2$, $FADH_2$ (Dos Santos, 2005) diketahui sebagai mediator redoks yang efektif untuk reduksi zat warna azo. Quinone buatan juga dapat berfungsi sebagai mediator redoks yang mempercepat reduksi zat warna azo secara kimia maupun elektrokimia. Dalam sistem biologi *quinone* juga mempercepat reduksi oleh biomassa aerob yang diinkubasi secara anaerob serta reduksi zat warna azo oleh lumpur granular anaerob.



Gambar 2. Pemutusan zat warna azo dan amina aromatik pada pengolahan anaerob-aerob
Sumber : Van der Zee, 2002

– **Kondisi aerob**

Adanya azoreduktase dalam bakteri *obligate* aerob terbukti pertama kali ketika dua azo reduktase diisolasi dan dikarakterisasi dari strain pendegradasi *carboxy-orange* strain *Pseudomonas* K24 dan *Xenophilus azovorans* KF46 (Zimmermann dkk., 1982, 1984). Meskipun zat warna azo AO7 dan AO20 dapat diputuskan oleh azoreduktase yang bersangkutan dan bahkan berfungsi sebagai induser, tetapi organisme tersebut tidak dapat menggunakan zat warna sulfonat sebagai sumber karbon (Pandey, 2007).

Enzim-enzim non spesifik pengkatalis reduksi ikatan azo telah diisolasi dari kultur-kultur *Shigella dysentriae* yang tumbuh secara aerob (Ghosh dkk., 1992), *E.coli* (Nakashi dkk., 2001), *Bacillus sp*. (Maier dkk., 2004), *Staphylococcus aereus* (Chen dkk., 2005) dan *P.aeruginosa* (Nachiyar dan Rajkumar, 2005), dimana dikarakterisasi bahwa enzim-enzim ini menjadi flavoprotein. Telah dilaporkan bahwa reduksi intraseluler zat warna azo sulfonat tidak hanya membutuhkan azo reduktase tetapi juga sistem transport spesifik, dimana zat warna terserap ke dalam sel (Russ, dkk., 2000). Penelitian-penelitian pada strain-stran pendegradasi 4-ABS juga menunjukkan bahwa mereka sangat spesifik, karena mereka hanya dapat menggunakan 4-ABS dan tidak benzenesulfonat lainnya (Feigel dan Knackmuss, 1993; Singh dkk., 2004).

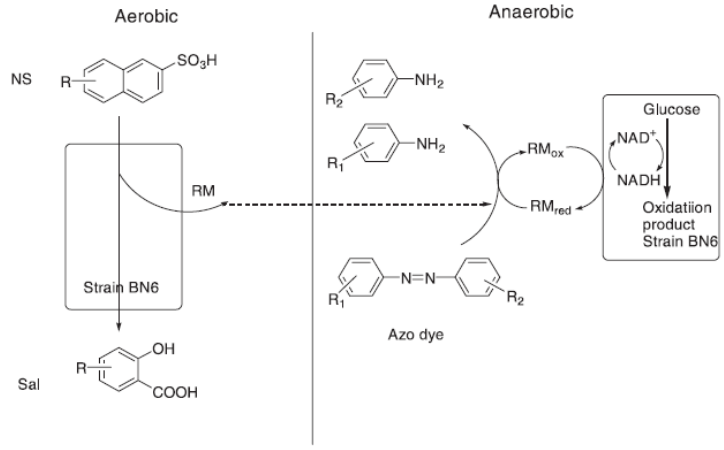
2. Reduksi azo melalui mediasi biologi

Keck dkk. (1997) melaporkan contoh pertama pemutusan zat warna azo secara anaerob dengan mediator redoks yang terbentuk pada degradasi aerob senyawa xenobiotik. Suspensi sel *Sphingomonas sp*. strain BN6 yang tumbuh secara aerob dengan adanya 2-naphtyl sulfonat (NS), memperlihatkan 10-20 kali peningkatan laju pemutusan zat warna azo, *amaranth*, pada kondisi anaerob dibandingkan pertumbuhan tanpa adanya NS. Bahkan penambahan filtrat kultur dari sel-sel in dapat meningkatkan pemutusan oleh suspensi sel yang ditumbuhkan tanpa adanya NS. Berdasarkan pengamatan ini, diperkirakan suatu mekanisme reduksi zat warna azo melalui mediasi redoks oleh *S.xenophaga* **(Gambar 3)**. Kultur bakteri lain yang menghasilkan intermediasi redoks selama degradasi aerob senyawa aromatik juga dapat meningkatkan pemutusan warna pada kondisi anaerob (Keck dkk., 1997) (Pandey, 2007). Van der Zee dkk. (2003) mengungkapkan bahwa karbon aktif, yang diketahui mempunyai grup *quinone* pada permukaannya, dapat meningkatkan pemutusan warna. Hal tersebut merupakan contoh pertama biokatalisis yang dimediasi oleh karbon aktif.

3. Reduksi azo melalui anorganik biogenik

Pemutusan zat warna azo dapat terjadi melalui reaksi kimia murni dengan komponen anaorganik seperti ion sulfida dan ferrous yang terbentuk sebagai produk akhir reaksi metabolisme pada kondisi anaerob. Telah diteliti bahwa pembentukan H_2S oleh SRB dihasilkan dalam pemutusan ekstraseluler zat warna azo (Yoo, dkk., 2000; Diniz dkk., 2002). Reduksi warna yang dipengaruhi sulfat disebabkan oleh pembentukan sulfida biogenik pada kondisi metanogenik. Tanpa komponen sulfur, pemutusan warna terjadi langsung dalam lumpur granular, yang

memperlihatkan peranan mekanisme enzimatik. Analisis kinetika pemutusan warna dalam reaktor batch dan reaktor anaerob skala laboratorium mengindikasikan bahwa peran mekanisme reduksi warna secara kimia dalam bioreaktor anaerobik laju tinggi relatif kecil, akibat tingginya konsentrasi biomassa dalam reaktor (Van der Zee dkk., 2003).



Gambar 3. Mekanisme pemutusan azo melalui mediator redoks oleh Strain BN6
Sumber: (Pandey, 2007).

4. Degradasi amina aromatik

Mikroorganisme, khususnya bakteri mempunyai sistem enzim yang berkembang untuk mendegradasi struktur benzena pada kondisi aerob dan anoksik (Gibson dan Subramanian, 1984; Schrink dkk., 2000). Dalam metabolisme aerob, reaksi awal meliputi penggantian grup fungsional lain dari cincin aromatik dengan grup hidroksil, diikuti dengan pemutusan oleh gabungan dua atom oksigen. Reaksi ini dikatalisis oleh hidroksilase dan oksigenase. Pada kondisi anoksik, dearomatisasi diperoleh melalui reduksi cincin, reaksi karboksilasi dan reaksi-reaksi tambahan lainnya, yang tidak terdapat pada metabolisme aerob (Heider dan Fuchs, 1997).

– **Degradasi amina aromatik pada kodisi anaerob**

Biodegradasi zat warna pada lingkungan anaerob menyebabkan pembentukan amina aromatik. Beberapa diantaranya diasumsikan tidak dapat lebih jauh didegradasi pada kondisi ini (Stolz, 2001). Meskipun demikian, mineralisasi sedikit amina aromatik sederhana telah dilaporkan pada kondisi metanogenik. Mereka terdiri dari tiga isomer aminobenzoate, 2-dan 4-aminophenol, 2,4-dihidroksianilin dan 5-aminosalicylic (5-ASA) (Connor dan Young, 1993; Razo-Flores et al., 1997b; Kaluzhnyl et al., 2000; Yemashova et al., 2004). Beberapa laporan menyatakan bahwa amina aromatik sulfonat (SAA) tidak dapat diuraikan pada kondisi metanogenik (Tan dkk., 2005).

– **Biodegradasi aerob amina aromatik**

Amina aromatik yang terbentuk dari reduksi zat warna, telah dilaporkan lebih mudah diuraikan pada kondisi aerob (Brown dan Laboureur, 1983; Haug dkk., 1991; Ekici dkk., 2001) (Pandey, 2007). Bakteri-bakteri yang mampu melakukan biodegradasi 5-ASA jumlahnya lebih sedikit (Stolz dkk., 1992). Tan dkk. (1999) menyatakan bahwa 4-aminophenol (4-AP) dan 5-ASA cenderung untuk diautoksidasi dengan adanya oksigen. Namun laju autooksidasi untuk 4-AP beberapa kali jauh lebih besar dibandingkan dengan pada 5-ASA. Oksigen bereaksi dengan produk aromatik melalui reaksi radikal bebas dan mengakibatkan pembentukan warna oligomer dan polimer yang tidak diinginkan, yang dapat bersifat toksik dan mutagenik (Field dkk., 1995), (Pandey, 2007). Meskipun proses autoksidasi menghilangkan amina aromatik, produk yang tebentuk lebih rekalsitran untuk biodegradsi biologi. Oleh karena itu, untuk degradasi biologi komponen ini, laju degradasi harus lebih cepat dibandingkan dengan laju autoksidasi.

Pengolahan air buangan dengan bioreaktor membran

Penggunaan membran sebagai unit pemisah antara biomassa dan efluen terbukti mampu menghasilkan efluen berkualitas tinggi. Hal ini dibuktikan dari banyak hasil penelitian maupun hasil kinerja instalasi BRM yang menunjukkan efisiensi penyisihan COD di atas 95%. Efisiensi penyisihan yang tinggi ini dijumpai pada BRM baik yang mengolah limbah cair domestik maupun limbah industri.

Aplikasi BRM untuk pengolahan limbah domestik, perkotaan, maupun limbah industri telah dilakukan dalam bentuk penelitian-penelitian maupun aplikasi komersil. Adapun jenis limbah industri yang dilaporkan telah diolah dengan BRM diantaranya lindi landfil, limbah minyak dari "*transformation mill*" (Van Dijk dkk., 1997;

Stephenson, 2000), limbah dari industri transformasi logam (Zaloum, 1994), residu materi organik dalam limbah berminyak dari plant manufaktur mesin otomobil (Seo, 1997), *fruit juice rinsing water*, limbah yang mengandung surfaktan, kondensat evaporator pabrik pulp dan kertas (Berube, 1999), limbah susu, limbah industri pangan (Stephenson, 2000) dan limbah pabrik pengalengan ikan (Oyanedel dkk. 2003). Aplikasi BRM lainnya dapat ditujukan untuk penyisihan senyawa spesifik seperti misalnya fenantren (Dosoretz dkk., 2004), fenol (Van Dijk dkk., 1997), dan sulfat (Mizuno dkk., 1998). Selain itu adakalanya dalam limbah yang diolah juga terkandung senyawa-senyawa organik kontaminan sehingga pengolahan selain ditujukan untuk penyisihan COD dan BOD juga mempertimbangkan terhadap penyisihan senyawa-senyawa tersebut misalnya seperti dijumpai oleh Pirbazari, dkk. (1996) dalam mengolah limbah lindi yang mengandung aseton, metiletil keton, tetrahidrofuran, dikloroetana, fenol, asam benzoat, dan asam klorobenzoat.

Konfigurasi BRM dapat dilakukan secara eksternal atau terendam. Sejumlah keunggulan yang dijumpai pada BRM khususnya pada konfigurasi terendam telah menyebabkan meningkatnya kecenderungan penggunaan konfigurasi ini dibandingkan konfigurasi eksternal yang pertama kali muncul. Sejumlah keuntungan konfigurasi terendam dibandingkan konfigurasi eksternal diantaranya penghematan kebutuhan ruang, penghematan energi khususnya dari pemompaan, dan juga perpipaan yang lebih sederhana. Perkembangan bioreaktor membran terendam ditandai pula dengan adanya modifikasi-modifikasi terhadap konfigurasi sistem seperti ditampilkan pada **Tabel 1**.

Beberapa penelitian mengenenai aplikasi bioreaktor membran untuk pengolahan air buangan tekstil telah dilakukan menggunakan sistem aerob konfigurasi eksternal. Badani *et al.* (2005) menggunakan BRM aerob eksternal dengan sistem ultra filtrasi pada pengolahan limbah tekstil menghasilkan penyisihan COD tinggi (97%), namun penyisihan warna 70% masih relatif rendah untuk memenuhi persyaratan *reuse*, sehingga diperlukan pengolahan lebih lanjut. Penelitian Brik *et al.* (2006) pada limbah tekstil menggunakan BRM aerob eksternal dengan membran tubular menghasilkan penyisihan warna yang bervariasi antara 30-99,5% dan penyisihan COD antara 60-95%.

Penelitian oleh Hai (2005) menggunakan bioreaktor membran terendam dengan sistem aerob yang menggunakan *fungi* menghasilkan penyisihan warna sampai 99% dan TOC 97% (dari TOC = 2 g/l; warna = 100 mg/l), namun ternyata mengakibatkan *fouling* yang parah pada membran akibat perlekatan *fungi* yang berlebihan. Pada percobaan ini juga dilakukan upaya-upaya untuk meniminasi fouling dengan memodifikasi membran dengan memberikan selubung diluarnya yang berfungsi sebagai *pre filter*. Pengolahan air buangan yang mengandung zat warna azo umumnya masih dilakukan dengan proses aerob, sedangkan kombinasi proses aerob-anaerob menggunakan sistem BRM sejauh ini belum pernah dilakukan.

Pengolahan biologi anaerob-aerob zat warna azo

Pemutusan dan degradasi zat warna azo dalam proses biologi berdasarkan aktivitas biologi memerlukan kombinasi proses anaerob-aerob. Pengolahan ini dapat dilakukan secara sekuensial atau simultan. Pada pengolahan sekuensial, lingkungan anaerob dan aerob dapat disediakan dalam reaktor tunggal dalam beberapa perioda berbeda atau dalam dua reaktor yang terpisah. Kelayakan strategi ini pertama kali didemonstrasikan pada zat warna azo Mordant Yellow 3 (Haug dkk., 1991). Dalam sistem pengolahan simultan, pemutusan warna terjadi dalam zona anaerob pada biofilm atau mikroba yang terperangkap dan diimobilisasi dalam matriks gel (Field dkk., 1995; Kudlich dkk., 1996). Beberapa konfigurasi reaktor yang digunakan pada tahap anaerob/aerob, dan efisiensi penyisihan menunjukkan hasil yang sangat baik seperti yang diungkapakan oleh Van der Zee dan Villaverde (2005). Pengolahan ini menggunakan reaktor-reaktor anaerob laju tinggi seperti *upflow anaerobic sludge blanket, fixed film, rotating biological contactor* dan *anaerobic baffled reactor* untuk proses anaerob serta lumpur aktif dan *rotating biological contactor* untuk pengolahan aerob (Isik dan Sponga, 2004). Substrat tambahan biasanya diperlukan untuk proses pemutusan warna. Tingkat penyisihan warna berkisar antara 70-95% dilaporkan pada reaktor-reaktor anaerob-aerob (Van der Zee dan Villaverde, 2005). Penelitian Dharmayanthie (1999), gabungan proses anaerob-aerob menggunakan proses kontinu skala lab. dengan limbah tekstil sebenarnya menunjukkan penyisihan COD rata-rata 85% dan penurunan warna rata-rata 47%.

Berbeda dengan penelitian biodegradasi warna, penelitian tentang akhir dari amina aromatik masih sedikit dilakukan. Beberapa dari penelitian ini menunjukkan penyisihan sebagian atau sempurna dari beberapa amina aromatik dalam tahap aerob. Lebih jauh, pengurangan toksisitas (diperlihatkan dengan supresi dari *luminescence* bakteri) antara efluen tahap anaerob dan anaerob-aerob memberikan bukti tidak langsung dari penyisihan amina aromatik. Seperti dijelaskan oleh Pinheiro dkk. (2004), berbagai substitusi komponen aminobenzena, aminonaphtalen dan aminobenzidine bersifat *biodegradable* untuk proses aerob. Namun demikian, umumnya dibutuhkan pembiakan kultur khusus. Biodegradabilitas SAA diperlihatkan hanya pada beberapa senyawa ABS dan ANS sederhana.

Tabel 1. Modifikasi-modifikasi BRM terendam

Modifikasi	Peneliti
Variasi jarak antara membran (datar) yang diposisikan vertikal terhadap dinding bioreaktor	Ozaki & Yamamoto (2001)

Variasi geometri reaktor dan penggunaan "*riser*" dan "*downcomer*"	Shim, dkk. (2002)
Konfigurasi "ELDE-MBR" (*external loop dead-end* MBR)	Espinosa-Bouchot & Cabassud (2003)
Membagi bioreaktor menjadi dua ruang dengan suatu plat yang masing-masing berisi biomassa dan modul membran, namun masih memungkinkan terjadinya overflow dari bagian bioreaktor yang berisi modul membran menuju bagian bioreaktor lainnya yang berisi biomassa	Kulick III (2004)
Sistem dan metode BRM terendam yang memungkinkan pencucian membran secara *in-situ*	Del Vecchio, dkk. (2003)
Modifikasi yang memungkinkan penghisapan permeat pada kondisi oksik maupun anoksik sehingga fouling tetap minim dengan cara menggunakan dua jenis aerasi yaitu aerasi dengan gelembung kasar dan aerasi dengan gelembung halus	Behman, dkk. (2003)
Sistem aerasi bersiklus untuk BRM terendam, yang memungkinkan laju alir udara yang dihasilkan berbeda antara rangkaian aerator satu dengan lainnya, dapat mengeliminasi kelemahan-kelemahan yang biasa dijumpai pada pengoperasian konvensional seperti peningkatan laju alir udara yang biasanya menyebabkan cekaman terhadap membran dan motor blower dan juga biaya operasi; pengoperasian intermiten yang dilakukan dengan menghidupkan dan mematikan *blower* beresiko pada kerusakan blower. Keuntungan lainnya adalah sistem ini memungkinkan dihasilkannya pola-pola aliran sehingga tidak terbentuk zona mati di dalam bioreaktor.	Rabie, dkk. (2004)
Penggunaan promoter turbulensi pada membran keramik	Xu, dkk. (2002)
Penggunaan "*inclined-plate*"	Xing, dkk. (2005)
Penempatan membran secara vertikal di dalam BRM dimana posisi peletakannya memungkinkan terjadinya penyisihan senyawa karbon dan nutrien secara bersamaan melalui pengaturan peletakan *diffuser*	Chae, dkk. (2006)
BRM yang dikombinasikan dengan partikel unggun (kubus-kubus poliuretan berukuran 1,3 cm yang dilapisi karbon aktif) yang turut bergerak bersama di dalam bioreactor	Lee, dkk. (2006)
BRM yang dikombinasikan dengan partikel unggun (plastik-plastik berbentuk granul); partikel ini dimasukkan ke dalam bioreaktor berisi biomassa kemudian dialirkan ke bioreaktor lain yang didalamnya terdapat membran terendam	Artiga, dkk. (2005)
Penambahan polimer (*modified cationic polymer*, MPE50) ke dalam mixed-liquor BRM	Yoon & Collins (2006)
Penggunaan gabungan kondisi mikroaerobik dan kondisi aerob sehingga tercapai penyisihan senyawa karbon dan nutrien secara bersamaan	Chu, dkk. (2006)
Penggunaan lumpur aktif tipe granular (diameter 2-8 mm)	Li, dkk. (2005)
Modifikasi bahan membran menjadi lebih hidrofilik melalui perlakuan plasma CO2 dan NH4	Yu, dkk. (2005a, 2005b)
Modifikasi bahan membran menjadi lebih hidrofilik dengan mengimobiliasi PVP dibantu melalui perlakuan plasma udara	Yu, dkk. (2006)
Grafting membran NF PVDF dengan *amphiphilic graft copolymer PVDF-g-POEM (poly(vinylidene fluoride)-graft- poly (oxyethylene) methacrylate)* untuk menghasilkan membran yang tahan fouling	Asatekin, dkk. (2006)
Modifikasi bahan membran (PE) dengan cara *radiation-induced graft polymerization* dengan monomer vynil, glycidyl methacrylate untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri nitrifikasi	Hibiya, dkk. (2000)
BRM tertanam, dengan cara membran diposisikan terendam di dalam bioreaktor kemudian ditanam dalam unggun partikel karbon aktif untuk meningkatkan penyisihan senyawa organik serta meminimasi *fouling*	Wenten (2006)

Pengolahan biologi aerob-anaerob zat warna azo

Meskipun proses anaerob merupakan proses yang efektif untuk penghilangan warna, namun proses ini memerlukan volume hidrolis yang sangat tinggi khususnya untuk air buangan tekstil yang mengkonsumsi air dalam jumlah yang besar. Sementara itu juga dibutuhkan peralatan khusus untuk menjaga kondisi anaerob. Sebaliknya pengolahan dengan sistem aerob lebih mudah dilakukan, terlebih jika dihubungkan dengan pengolahan anoksik setelahnya. Penelitian untuk pengolahan zat warna dengan pengolahan aerob-anaerob masih sedikit dilakukan.

Pengolahan sekuensial aerob-anaerob (dilakukan dengan kondisi anoksik) masih dilakukan pada skala laboratorium. Shandiya dkk. (2004) melakukan percobaan batch dengan menggunakan zat warna reaktif dengan pengolahan aerob-anoksik yang mampu menyisihkan warna dan COD secara simultan. Penelitian yang dilakukan Khehra dkk. (2005) menggunakan bakteri tercampur untuk penyisian zat warna azo AR88, AR 119, AR 97, AB 113, RR 120 dalam percobaan batch pada kondisi aerasi yang dilanjutkan dengan kondisi anoksik menghasilkan beberapa strain *Bacillus cereus* (BN-7), *Pseudomonas putida* (BN-4), *Pseudomonas fluorescence* (BN-5) dan *Stenotrophomonas acidaminiphila* (BN-3) yang dapat memutuskan warna dengan sempurna setelah 60 jam.

Pengolahan zat warna azo secara batch dengan proses aerob-anoksik juga dilakukan oleh Wisjnuprapto dkk. (2001) menggunakan dua isolat *Bacillus sp* EK1 dan *Pseudomonas sp* EK5 yang menunjukkan fase eksponensial pada pertumbuhannya setelah diinkubasi pada kondisi aerob selama 24 jam. Pada saat tersebut tidak terdapat penyisihan warna, namun setelah selanjutnya diinkubasi pada kondisi statik dihasilkan penyisihan warna yang

sangat meningkat setelah 4 jam. Percobaan ini menunjukkan sensitifitas aktivitas reduksi terhadap oksigenase meskipun mikroorganisme yang berperan dalam penyisihan warna adalah mikroorganisme aerob. Percobaan selanjutnya adalah untuk mengetahui aktivitas azoreduktase dengan mikroorganisme yang sama pada kondisi anaerob, menunjukkan pemutusan warna pada zat warna RO16, RR3 dan AB113. Percobaan kontak-stabilisasi dilakukan untuk pengolahan zat warna azo RO16 dan limbah cair tempe yang berfungsi sebagai ko substrat (aerasi pada tangki kontak, pengadukan pada tangki stabilisasi). Percobaan ini mampu menyisihkan warna 93%, sedangkan penyisihan COD 63% (Wisjnuprapto, 1999).

Kebanyakan dari penelitian-penelitian yang dilakukan masih pada skala laboratorium dan dengan air buangan sintetis. Implementasi skala pilot dan skala penuh pengolahan anaerob-aerob masih jarang dilakukan. Carciell dkk. (1996) meneliti percobaan laboratorium dan skala penuh pada pengolahan efluen zat warna reaktif dan mengungkapkan bahwa pengolahan efluen bersama dalam suatu digester lumpur air buangan menunjukkan hasil yang cukup memuaskan. Delee dkk, (1998) telah mereview pengolahan-pengolahan skala pilot dan skala penuh dengan keterbatasan-keterbatasannya.

Pengolahan limbah konvensional ini umumnya masih dibatasi oleh karakteristik pengendapan lumpur aktif yang akan menentukan kualitas efluen yang dihasilkan, yang seringkali tidak dapat memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan. Oleh karena itu perlu dikembangkan teknik pengolahan limbah yang mampu menangani limbah cair dengan efisiensi penyisihan COD dan zat warna yang tinggi.

Pengolahan zat warna azo menggunakan bioreaktor membran konsekutif aerob-anaerob

Bioreaktor membran (BRM), yang merupakan kombinasi proses lumpur aktif dengan sistem membran, dimana membran dapat menggantikan unit gravitasi sedimentasi tradisional dalam proses lumpur aktif yang dapat beroperasi pada beban organik yang tinggi namun lahan yang dibutuhkan lebih sedikit. .Dari uraian tersebut di atas dapat dilihat bahwa sistem bioreaktor membran merupakan teknologi pengolahan limbah yang mampu mengolah limbah dengan kandungan senyawa toksik seperti zat warna azo sekaligus senyawa organik dan menghasilkan kualitas efluen yang jauh lebih baik dibandingkan proses pengolahan limbah konvensional.

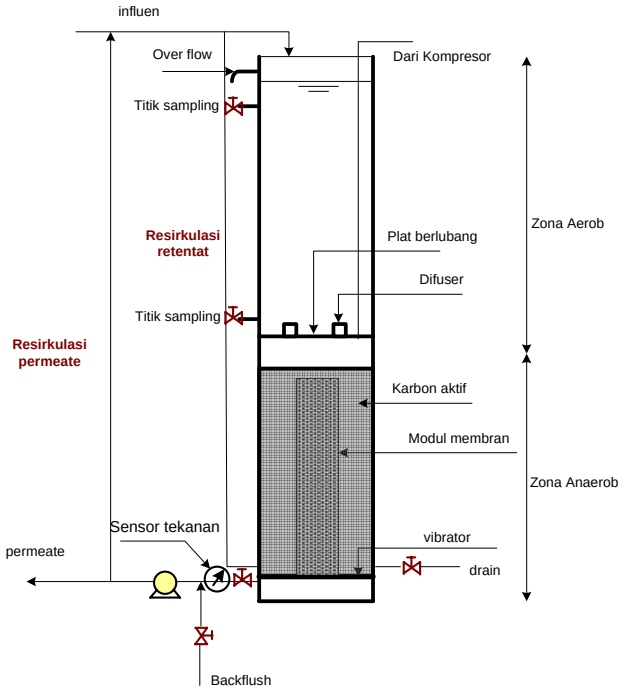
Aplikasi BRM pada pengolahan zat warna azo telah dilakukan menggunakan fungi dengan tingkat penyisihan warna dan COD yang tinggi, namun ternyata mengakibatkan *fouling* yang parah pada membran akibat perlekatan yang berlebihan. Penelitian lain menggunakan BRM aerob eksternal menghasilkan penyisihan warna yang masih relatif rendah, sehingga masih diperlukan pengolahan lebih lanjut.

Bioreaktor membran konsekutif aerob-anaerob untuk biodegradasi zat warna azo dengan konfigurasi membran tertanam diharapkan dapat mengatasi kelemahan-kelemahan tersebut. Penggunaan membran tertanam dalam unggun partikel karbon aktif memungkinkan untuk retensi zat warna dan senyawa organik sehingga penyisihan meningkat serta meminimasi *fouling*. Dengan demikian BRM konsekutif aerob-anaerob tertanam diharapkan dapat menggantikan pengolahan limbah tekstil konvensional dengan kemampuan penyisihan yang tinggi terhadap zat warna dan senyawa organik secara simultan dalam satu reaktor.

Pengolahan aerob-anaerob merupakan alternatif pengolahan zat warna yang menjanjikan karena lebih mudah pengoperasiannya dan lebih mudah dikembangkan dibandingkan dengan proses anaerob-aerob. Proses aerob dan anaerob dilakukan dalam suatu reaktor tunggal, dimana pada bagian atas merupakan zona aerob, sedangkan bagian bawah merupakan zona anaerob/anoksik (**Gambar 4**). Untuk penyempurnaan degradasi amina aromatik dapat dilakukan dengan resirkulasi efluen dari proses anaerob ke proses aerob.

Kesimpulan

Kehadiran zat warna pada air buangan menimbulkan masalah lingkungan serta estetika pada lingkungan. Pengolahan air buangan dengan kandungan zat warna azo secara teknologi masih merupakan suatu tantangan.
Karena peraturan yang berlaku semakin ketat maka diperlukan pemilihan metoda yang layak serta ekonomis. Dari literatur yang tersedia dutunjukkan bahwa metoda biologi yang layak untuk pengolahan air buangan yang mengandung zat warna. Namun metoda ini memerlukan kapasitas yang besar dan sulit pengoperasiannya. Proses aerob-anaerob untuk pengolahan zat warna lebih efektif untuk dikembangkan dibandingkan pengolahan anaerob-aerob. Namun penelitian-penelitian ini masih perlu dikembangkan, terutama pengkajian dari sisi amina aromatik yang dihasilkan. Penggabungan sistem bioreaktor membran dengan pengolahan biologi aerob-anaerob merupakan alternatif pengolahan air buangan yang mengandung zat warna azo sekaligus senyawa organik, sehingga dihasilkan kualitas efluen yang jauh lebih baik dibandingkan proses pengolahan limbah konvensional. Konfigurasi reaktor proses ini dapat dilakukan dalam suatu reaktor tunggal (simultan) dengan resirkulasi dari efluen proses anaerob ke proses aerob untuk penyempurnaan degradasi amina aromatik.



Gambar 4. Skema Konfigurasi Bioreaktor membran Konsekutif Aerob-Anaerob

DAFTAR PUSTAKA

Artiga, P., Oyanedel, V., Garrido, J.M., Mendez, R. 2005. An innovative biofilm-suspended biomass hybrid membrane bioreactor for wastewater treatment. Desalination 179 (2005) 171-179

Asatekin, A., Menniti, A., Kang, S., Elimelech, M., Morgenroth, E., Mayes, A.M. 2006. Antifouling nanofiltration membranes for membrane bioreactors from self-assembling graft copolymers. Journal of Membrane Science 285 (2006) 81-89

Badani, Z., Ait-Amara, H., Si-Salahb, A., Brik, M.and Fuchs, W. (2005) Treatment of textile waste water by membrane bioreactor and reuse. *Desalination* 185, 411–417

Behmann, H. 1993. Modular shipboard membrane bioreactor system for combined wastewater streams. U.S. Patent No. 5.254.253

Behnajady, M.A., Modirshahla, N., Shokri, M., (2004). Photodestruction of Acid Orange 7 (AO7) in aqueous solutions by UV/H2O2: influence of operational parameters. *Chemosphere* 55 (9), 129–134.

Brik, P.M., Schoeberl, Chamam, B., Braun, R., Fuchs, W., (2006). Advanced treatment of textile wastewater towards reuse using a membrane bioreactor, *Process Biochemistry* 41, 1751–1757

Bromley-Challenor, K.C.A., Knapp, J.S., Zhang, Z., Gray, N.C.C., Hetheridge, M.J., Evans, M.R., (2000). Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions. *Water Research* 34, 4410–4418.

Berube, P.E., Hall, E.R. _____. Treatment of Evaporator Condensate Using a High Temperature Membrane Bioreactor: Determination of Maximum Operating Temperature and System Costs. http://sfm-1.biology.ualberta.ca/english/pubs /PDF/PR_1999-31.pdf

Chae, S.R., Kang, S.T., Watanabe, Y., Shin, H.S. 2005. Development of an innovative vertical submerged membrane bioreactor (VSMBR) for simultaneous removal of organic matter and nutrients. Water Research.

Chang, J.S., Chou, C., Lin, Y., Ho, J., Hu, T.L. (2001). Kinetic Characteristics of bacterial azo-dye decolorization by Pseudomonas luteola. *Water Research* 35, 2041–2850.

Chen, K.C., Huang, W.T., Wu, J.Y., Houng, J.Y.(1999). Microbial decolorization of azo dyes by Proteus mirabilis. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 23, 686–690.

Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J., Hwang, S.J. (2003). Decolorization of textile dyes by newly isolated bacterial strains. *Journal of Biotechnology* 101, 57–68.

Chen, H., Hopper, S.L., Cerniglia, C.E. (2005). Biochemical and molecular characterization of an azoreductase from Staphylococcus aereus. A tetrameric NADPH—dependent flavoprotein. *Microbiology* 151, 1433–1441.

Chinwetkitvanich, S., Tuntoolvest, M., Panswad, T. (2000). Anaerobic decolorization of reactive dyebath effluents by a two stage UASB system with Tapioca as co-substrate. *Water Research* 34, 2223–2232.

Chu, L., Zhang, X., Yang, F., Li, X. 2006. Treatment of domestic wastewater by using a microaerobic membrane bioreactor. Desalination 189 (2006) 181-192

Chung, KT and Cerniglia, CE. (1992). Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity relationships. *Mutation Research* 277: 201-220.

Churchley, J.H. (1994). Removal of dyewaste color from sewage effluent—the use of a full scale ozone plant. *Water Science and Technology* 30, 275–284.

Claus H, Faber, G. and Koenig, H. (2002). Redox-mediated decolorization of synthetic dyes by fungal laccases. *Applied Microbiology and Biotechnology* 59: 672-678.

Connor, O.A., Young, L.Y. (1993). Effect of nitrogen limitation on the biodegradability and toxicity of nitro and aminophenol isomers to methanogenesis. *Archives of Environment Contamination and Toxicology* 25, 285–291.

Del Vecchio, M.A., R.E. Loudon, P.M. Sutton. 2003. System and method for withdrawing permeate through a filter and for cleaning the filter in situ. U.S. Pat. No. 6.627.082 B2

Dele, W., O.Neill, C., Hawkes, F.R., Pinheiro,H.M. (1998). Anaerobic treatment of textile effluents: a Review. *J. Chem. T echnol. Biotechnol.* 1998, 73, 323-335.

Dharmayanthie, I., Setiadi, T. (1999). Pengolahan limbah cair industri tekstil dengan proses anaerob-aerob. *Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardoyo 1999*. Menuju perwujudan industri proses dengan produksi bersih, Institut Teknlogi Bandung, 19-20 Oktober 1999, ISBN 0854-7769. Jurusan Teknik Kimia dan Himpunan Mahasiswa Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung.

Dos Santos, A.B. (2005). Reductive Decolourisation of Dyes by Thermophilic Anaerobic Granular Sludge, *PhD-Thesis*, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 176 p.

Dosoretz, C.G., Boddeker, K.W. (2004). Removal of trace organics from water using a pumped-bed membrane bioreactor with powdered activated carbon. *Journal of Membrane Science* 239 , 81-90. Elsevier

Espinosa-Bouchot, M., Cabassud, C. (2003). Gas sparging in a membrane bioreactor for wastewater treatment. IMSTEC'03

FEMS Microbiology Letters 98, 229–234.Isik, M., Sponza, D.T. (2005a). Effects of alkalinity and co-substrate on the performance of an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor through decolorization of Congo Red azo dye. *Bioresource Technology* 96, 633–643.

Field, J.A., Stams, A.J.M., Kato, M., Schraa, G. (1995). Enhanced biodegradation of aromatic pollutant in coculture of anaerobic and aerobic bacterial consortia. *Antonie Van Leeuwenhoek* 67, 47–77.

Feigel, B.J., Knackmuss, H-J. (1993). Syntropic interactions during degradation of 4-aminobenzenesulfonic acid by a two species bacterial culture. *Archives of Microbiology* 159, 124–130.

Ganesh, R., Boardman, G.D., Michelson, D.(1994). Fate of azo dyes in sludges. *Water Research* 28, 1367–1376.

Ghosh, D.K., Mandal, A., Chaudhuri, J. (1992). Purification and partial characterization of two azoreductases from Shigella dysenteriae type 1.

Gibson, D.T., Subramanian, V. (1984). In: Gibson, D.T. (Ed.), Microbial Degradation of Aromatic Hydrocarbons, in Microbial Degradation of Organic Compounds. Marcel Dekker, New York, pp. 181–252.

Golab, V., Vinder, A., Simonic, M. (2005). Efficiency of the coagulation/flocculation method for the treatment of dye bath effluent. *Dyes and Pigments* 67, 93–97.

Hai, F.I., Yamamoto, K., Fukushi, K. (2005). Different fouling modes of submerged hollow fiber and flat sheet membranes influenced by high strength wastewater with concurrent biofouling, *Desalination* 180, pp 89-97, Elsevier ltd.

Handoko, Y.A., Mangimbulude, J.C., Metiniarti, V.I. (2003). Dekolorisasi acid blue 113 oleh lumpur aktif dalam kondisi anaerobic termofilik. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia & Proses 2003, 23-24 Juli 2003, ISSN 1411-4216. Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro.

Haug, W., Schmidt, A., Nortemann, B., Hempel, D.C., Stolz, A., Knackmuss, H.J. (1991). Mineralization of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by a 6-aminonaphthalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium. *Applied and Environmental Microbiology* 57, 3144–3149.

Heider, J., Fuchs, G. (1997). Anaerobic metabolism of aromatic compounds. *European Journal of Biochemistry* 243, 577–596.

Hibiya, K., Tsuneda, S., Hirata, A. 2000. Formation and characteristics of nitrifying biofilm on a membrane modified with positively-charged polymer chains. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 18 (2000) 105-112

Isik, M., Sponza, D.T. (2004). Decolorization of azo dyes under batch anaerobic and sequential anaerobic/aerobic conditions. *Journal of Environment Science and Health*. Part A 39, 1107–1127.

Kalyuzhnyl, S., Sklyar, V., Mosolova, T., Kucherenko, I., Russkova, Z., Degtyaryova, N. (2000). Methanogenic biodegradation of aromatic amines. *Water Science and Technology* 42, 363–370.

Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S., Chimni, S.S. (2005). Decolorization of various azo dyes by bacterial consortia. *Dyes and Pigments* 67, 55–61.

Knackmuss HJ. (1996). Basic knowledge and perspectives of bioelimination of xenobiotic compounds. *Journal of Biotechnology* 51: 287-295.

Kudlich, M., Bishop, P., Knackmuss, H.-J., Stolz, A. (1996). Synchronous anaerobic and aerobic degradation of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by immobilized cells from a naphthalenesulfonate-degrading mixed culture. *Applied Microbiology and Biotechnology* 46, 597–603.

Kulick, III, F.M. 2004. Bioreactor tank internally chambered to sequentally perform biological treatment and membrane filtration. U.S. Pat. No. 6.752.921 B1

Lee, W.-N., Kang, I.-J., Lee, C.-H. 2006. Factors affecting filtration characteristics in membrane-coupled moving bed biofilm reactor. Water Research 40 (2006) 1827-1835

Levine, W.G. (1991). Metabolism of azo dyes: implication for detoxification and activation. *Drug Metabolism Review* 23, 253–309.

Li, X., F. Gaoa, Z. Hua, G. Dua, J. Chen. 2005. Treatment of synthetic wastewater by a novel MBR with granular sludge developed for controlling membrane fouling. Separation and Purification Technology 46 (2005) 19–25

Lopez-Grimau, V., Gutierrez, M.C. (2005). Decolorization of simulated reactive dyebath effluents by electrochemical oxidation assisted by UV light. *Chemosphere* (available online 12th May 2005).

Madigan, MT, Martinko, JM and Parke,r J. (2003). *Brock biology of microorganisms*, 10th ed. Prentice-Hall, Inc., Simon & Schuster/ A Viacom Company, Upper Saddle River, New Jersey, USA.

Mizuno, O., Takagi, H., Noike, T. (1998). Biological sulfate removal in an acidogenic bioreactor with an ultrafiltration membrane system. Abstrak. *Water Science and Technology* Vol. 38 No. 4-5 pp. 513-520

Nakanishi, M., Yatome, C., Ishida, N., Kitade, Y. (2001). Putative ACP phosphodiesterase gene encodes an azoreductase. *Journal of Biological Chemistry* 49, 46394–46399.

Nachiyar, C.V., Rajkumar, G.S., 2003. Degradation of tannery and textile dye, Navitan Fast Blue S5R by Pseudomonas aeruginosa. World Journal of Microbiology and Biotechnology 19, 609–614.

Nachiyar, C.V., Rajkumar, G.S. (2005). Purification and characterization of an oxygen insensitive azoreductase from Pseudomonas aeruginosa. *Enzyme and Microbial Technology* 36, 503–509.

Ollgaard, H., Frost, L., Galster, J., Hensen, O.C. (1999). Survey of Azocolorants on Denmark: Milgoproject 509. *Danish Environmental Protection Agency.*

O'Neill, C., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., Lourenco, N.D., Pinheiro, H.M., Delee, W. (1999). Color in textile effluents sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 74, 1009–1018.

Oyanedel, V., Garrido, J.M., Lema, J.M., Mendez, R. (2003). A membrane assisted hybrid bioreactor for the post treatment of an anaerobic effluent from a fish canning factory. Abstrak. *Water Science & Technology* Vol. 48 No. 6 pp. 301-309

Ozaki, N., Yamamoto, K. (2001). Hydraulic effects on sludge accumulation on membrane surface in crossflow filtration. *Wat. Res.* Vol. 35 No. 13, pp. 3137-3146

Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L. (2007). Review Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59, 73–84

Pinheiro, H.M., Touraud, E., Thomas, O. (2004). Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters. *Dyes and Pigments* 61, 121–139.

Rabie, H., P. Cote, S. Burlington, J. Burlington. 2004. Cyclic aeration system for submerged membrane modules. U.S. Pat. No. 6.706.189 B2

Rafii, F., Franklin, W., Cerniglia, C.E. (1990). Azoreductase activity of anaerobic bacteria isolated from human intestinal microflora. *Applied and Environmental Microbiology* 56, 2146–2151.

Rajaguru, P., Vidya, L., Baskarasethupathi, B., Kumar, P.A., Palanivel, M., Kalaiselvi, K. (2002). Genotoxicity evaluation of polluted ground water in human peripheral blood lymphocytes using the comet assay. *Mutation Research* 517, 29–37.

Russ, R., Rau, J., Stolz, A. (2000). The function of cytoplasmic flavin reductases in the reduction of azo dyes by bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 1429–1434.

Sandhya, S., Padmavathy, S., Swaminathan, K., Subrahmanyam, Y.V., Kaul, S.N. (2005). Microaerophilic–aerobic sequential batch reactor for treatment of azo dyes containing simulated wastewater. *Process Biochemistry* 40, 885–890

Schrink, B., Philipp, B., Muller, J. (2000). Anaerobic degradation of phenolic compounds. *Review Naturwissenschaften* 87, 12–23.

Shim, J.K., Yoo, I-K., Lee, Y.M. (2002). Design and operation considerations for wastewater treatment using a flat submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry* 38 (2002) 279-285

Singh, P., Mishra, L., Iyengar, L. (2004). Biodegradation of 4-aminobenzenesulphonate by a newly isolated bacterial strain PNS-1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20, 845–849.

Razo-Flores, E., Luijten, M., Donlon, B., Lettinga, G., Field, J. (1997b). Complete biodegradation of the azo dye azosalicylate under anaerobic conditions. *Environmental Science and Technology* 31, 2098–2103.

Seo, G.T., Lee, T.S., Moon, B.H., Choi, K.S., Lee, H.D. (1997). Membrane separation activated sludge for residual organic removal in oil wastewater. *Water Science and Technology* Vol. 36 No. 12 pp. 275-282. IWA Publishing 1997

Soewondo, P. (1999). Penghilangan zat warna reactive secara biologis dalam percobaan batch. *Seminar Teknik Kimia Soehadi Reksowardoyo 1999*. Menuju perwujudan industri proses dengan produksi bersih, Institut Teknlogi Bandung, 19-20 Oktober 1999, ISBN 0854-7769. Jurusan Teknik Kimia dan Himpunan Mahasiswa Teknik Kimia Institut Teknologi Bandung.

Stephenson, T., Judd, S., Jefferson, B., Brindle, K. (2000). *Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment.* IWA Publishing Company. UK

Stolz, A., (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 56, 69–80.

Tan, N.C.G., Prenafeta-Boldu, F.X., Opsteeg, J.L., Lettinga, G., Field, J.A. (1999). Biodegradation of azo dyes in cocultures of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 865–871.

Tan, N.C.G., van Leeuwen, A., van Voorthuizen, E.M., Slenders, P., Prenafeta-Boldu, F.X., Temmink, H., Lettinga, G., Field, J.A. (2005). Fate and biodegradability of sulfonated aromatic amines. *Biodegradation* 16, 527–537.

Talarposhti, A.M., Donnelly, T., Anderson, G.K. (2001). Colour removal from a simulated dye wastewater using a two phase anaerobic packed bed reactor. *Water Research* 35, 425–432.

Umbuzeiro, G.A., Freeman, H., Warren, S.H., Oliveira, D.P., Terao, Y., Watanabe, T., Claxton, L.D. (2005). The contribution of azo dyes to the mutagenic activity of the Cristais River. *Chemosphere* 60, 55–64.

Van der Zee, F.P., Bisschops, I.A.E., Lettings, G., Field, J.A. (2003). Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes. *Environmental Science and Technology* 37, 402–408.

Van der Zee, F.P., Villaverde, S. (2005). Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—a short review of bioreactor studies. *Water Research* 39, 1425–1440.

Van Dijk, L., Roncken, G.C.G. (1997). Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment: The State of The Art and New Development. *Wat. Sci. Tech. Vol. 35*, No. 10, pp. 35-41

Wang, A., Qu, J., Liu, H., Ge, J. (2004). Degradation of azo dye Acid Red 14 in aqueous solution by electrokinetic and electooxidation process. *Chemosphere* 55, 1189–1196.

Wenten I.G. (2006). Performance of Newly Configured Submerged MBR for Wastewater Treatment. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, Palembang Juli 2006.

Willetts, J.R.M., Ashbolt, N.J., Moosbrugger, R.E., Aslam, M.R. (2000). The use of thermophilic anaerobic system for pretreatment of textile dye wastewater. *Water Science and Technology* 42 (5-6), 309–316.

Wisjnuprapto, Kardena, E., Artha, W. (1999). Penyisihan warna azo CIRO-16 dalam modifikasi proses kontak-stabilisasi menggunakan limbah cair industri tempe. Jurnal Biosains. Juni 1999, Vol.4. No.1, ISSN 02159333. 7PAU Biosans.

Wisjnuprapto, Kardena, E., Ali, A., Suhardi, S. (2002). Removal of Textile AzoDyes using Bacteria and Activated Carbon, *Workshop on Environmental Technology Diffusion in the Asia-Pacific Region*, in Yokkaichi City-Japan, March 7 – 8, 2002.

Xing, C.-H., Yamamoto, K., Fukushi, K. 2005. Performance of an inclined-plate membrane bioreactor at zero excess sludge discharge. *Journal of Membrane Science* xxx (2005) xxx-xxx

Xu, N., Xing, W., Xu ,N., Shi, J. 2002. Application of turbulence promoters in ceramic membrane bioreactor used for municipal wastewater reclamation. *Journal of Membrane Science* 210 (2002) 307-313

Yemashova, N., Telegina, A., Kotova, I., Netrusova, A., Kalyuzhnyi, S, (2004). Decolorization and partial degradation of selected azo dyes by methanogenic sludge. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 119, 31–40.

Yoo, E.S., Libra, J., Adrian, L. (2001). Mechanism of decolorization of azo dyes in an anaerobic mixed culture. *Journal of Environment Engineering (ASCE)* 127, 844–849.

Yoon, S-H., Collins, J.H. 2006. A novel flux enhancing method for membrane bioreactor (MBR) process using polymer. Desalination 191 (2006) 52-61

Yu, J., Wang, X., Yue, P.L. (2001). Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by Pseudomonas strains. *Water Research* 35, 3579–3586.

Yu, H-Y., Xie, Y-J., Hu, M-X., Wang, J-L., Wang, S-Y., Xu, Z-K. (2005a). Surface modification of polypropilene microporous membrane to improve its antifouling property in MBR: CO_2 plasma treatment. *Journal of Membrane Science* 254 (2005) 219-227

Yu, H.Y., Hua, M-X., Xua, Z-K., Wang, J-L., Wang, S-Y. (2005b). Surface modification of polypropylene microporous membranes to improve their antifouling property in MBR: NH3 plasma treatment. Separation and Purification Technology 45 (2005) 8–15

Yu, H.-Y., Xu, Z.-K., Xie, Y.-J., Liu, Z.-M., Wang, S.-Y. 2006. Flux enhancement for polypropilene microporous membrane in a SMBR by the immobilization of poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) on the membrane surface. Journal of Membrane Science 279 (2006) 148-155

Zaloum, R., Lessard, S., Mourato, D., Carriere, J. (1994). Membrane bioreactor treatment of oily wastes from a metal transformation mill. *Water Science and Technology* Vol. 30 No. 9 pp. 21-27. IWA Publishing 1994.

Zimmermann, T., Kulla, H., Leisinger, T., 1982. Properties of purified orange II-azoreductase, the enzyme initiating azo dye degradation by Pseudomonas KF46. European Journal of Biochemistry 129, 197–203.