

Isolation of Molds for Reducing the Color of Vinase

Yahya Kurniawan¹ dan Hendro Santoso M¹

Abstract—Vinase or ethanol slop is blackish brown liquid, which is not friendly to the environment. Therefore, it is necessary the possibility to reduce the color biologically. The study was started by isolating molds from the vinase of Jatiroto Alcohol factory and the isolated molds was tested to study the capability of their color reduction. The results showed that there were 4 kinds of molds in the vinase i.e. : *Rhizopus sp.*, *Penicillium A*, *Penicillium B*, and *Aspergillus*. Amongst these molds, *Penicillium A* and *Penicillium B* had the best potency in reducing the slop color. Around 54 % of its absorbance value at 420 nm could be reduced by the molds.

Keywords—Molds, Isolation, Color, Vinase.

I. PENDAHULUAN

Limbah cair pabrik alkohol memiliki warna coklat kehitaman, berasal dari cairan sisa destilasi dengan suhu sekitar 90°C atau lebih. Limbah ini disebut juga vinase, dengan kadar polutan organik yang sangat tinggi [1]. Vinase memiliki kadar BOD antara 30.000–50.000 mg/l dan kadar COD berkisar antara 60.000–120.000 mg/l [2].

Dengan kondisi tersebut dapat dibayangkan bagaimana sulitnya menurunkan kadar polutan dalam vinase agar dapat memenuhi baku mutu air buangan industri alkohol yang telah ditentukan yaitu BOD 100 mg/l. Pada perkembangan industri yang pesat saat ini dan semakin ketatnya pengawasan dan baku mutu lingkungan, maka masalah warna vinase juga seyogyanya harus mendapat perhatian.

Pabrik alkohol sebagai industri fermentasi yang menggunakan tetes tebu sebagai bahan baku, menghasilkan limbah cair yang membawa warna tetes. Penyumbang utama warna tetes adalah senyawa melanoidin, sebagai polimer coklat hasil dari reaksi Maillard antara senyawa karbonil, produk dekomposisi gula, dengan amino nitrogen. [3], [4]. Produk reaksi Maillard memiliki sifat penghambatan terhadap pertumbuhan mikro organisme [5].

Pengurangan warna coklat tersebut secara teknis dapat dilakukan dengan metode flokulasi [6] dan bahan kimia Hydrogen peroxide [7]. Namun karena warna vinase yang demikian pekat maka cara-cara kimiawi tersebut tidak ekonomis untuk dilakukan. Oleh karena itu metode pengurangan warna vinase secara biologis merupakan tumpuan masa depan, sehingga perlakuan biologis dapat diterapkan secara ekonomis. Beberapa penelitian menggunakan jamur telah dilakukan seperti pada referensi [14] dan [8]. Mekanisme pengurangan warna oleh jamur dilakukan berdasarkan adanya aktivitas enzimatis oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur tersebut. Chivukula dan Rengana-

than (1995) melaporkan bahwa enzim laccase dari jamur *Pyricularia oryzae* mampu untuk mengoksidasi warna. Selain biodegradasi secara enzimatis, mekanisme dekolonisasi juga terjadi karena adanya proses biosorpsi oleh jamur [15].

Dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan pengujian terhadap jamur yang terdapat dalam kolam pengolahan limbah cair pabrik alkohol Jatiroto, terutama pada potensi jamur tersebut untuk mereduksi warna vinase.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah vinase yang berasal dari PSA Jatiroto, agar PDA, tetes dari PG Kedawung dan bahan lain yang biasa digunakan untuk analisis limbah dan isolasi jamur seperti Sukrosa, Glukosa, Magnesium sulfat, Kalium dikromat, Fero amonium sulfat, Perak sulfat, Natrium tio sulfat, Asam sulfat, Mangan sulfat dan kalium Iodida.

Peralatan yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, Laminar air flow, Spektrophotometer UV-Vis, Autoklaf, pH meter, Inkubator, thermoreactor dan peralatan laboratorium lainnya seperti erlenmeyer, gelas ukur, buret dan pipet.

B. Metode

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yaitu :

1. Isolasi Jamur

Dilakukan isolasi jamur dari contoh vinase dan pengujian isolat jamur untuk mengetahui adanya jamur yang mampu mengurangi warna vinase.

Jamur diisolasi dengan menggunakan media PDA dan tetes, disterilisasi dengan Autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri, kemudian diinokulasi dengan vinase dan diinkubasi pada 31°C selama 4 hari.

2. Uji kemampuan reduksi warna

Pengujian terhadap kemampuan isolat jamur dilakukan terhadap vinase yang telah diencerkan 50 kali dengan pH=5,6. Tiap erlenmeyer diisi 100 ml dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Isolat jamur diinokulasikan ke dalam media uji tersebut lalu digoyang pada shaker selama 8 hari. Pengamatan dilakukan dua hari sekali terhadap absorbensi pada panjang gelombang 420 nm. Parameter laboratorium yang diamati adalah kadar COD dan BOD yang dilakukan pada awal dan akhir perlakuan. Masing-masing isolat diuji dengan 3 kali ulangan percobaan.

Naskah diterima 14 September 2006; selesai revisi pada 8 Mei 2008

¹ Yahya K. dan Hendro S.M. adalah peneliti Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia, Pasuruan, INDONESIA (e-mail: isri@telkom.net)

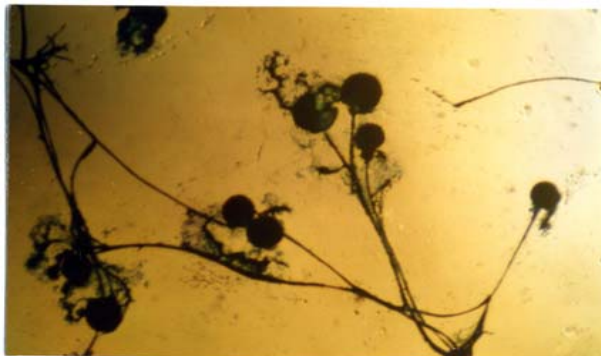
III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi jamur dari vinase diperoleh 4 macam isolat jamur dengan dengan bentuk koloni yang berbeda dalam medium padat. Secara makroskopis *Rhizopus* memiliki koloni berwarna hitam dengan tekstur kasar. *Penicillium* dengan koloni berwarna kuning hijau dan abu-abu hijau sedangkan *Aspergillus* dengan koloni berbentuk bulat berwarna kuning hijau kemudian menjadi coklat pada usia tua. Berdasarkan karakteristik morfologinya, jamur-jamur tersebut tergolong dalam kelompok *Rhizopus*, *Aspergillus* dan 2 macam *Penicillium*. *Rhizopus* memiliki ciri-ciri yaitu *hypha* tidak bersekat, *mycelium* seperti benang dengan *sporangiofor* tumbuh pada ruas-ruas dimana *rhizoid* terbentuk. Sporangia besar dan hitam membentuk seperti akar untuk melekat disebut rhizoid [9]. Jamur *Rhizopus* disajikan pada Gambar 1.

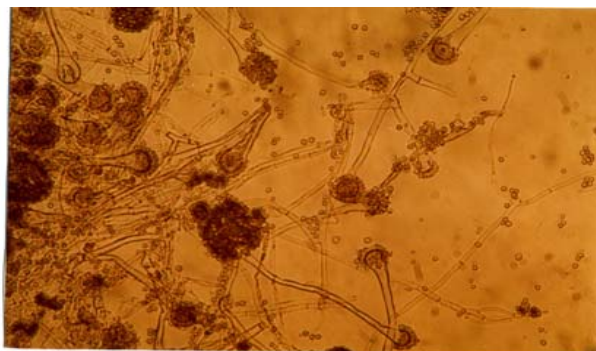
Sementara pada Gambar 2 disajikan jamur *Aspergillus* dengan ciri-ciri, konidia berwarna kuning hijau ketika muda dan menjadi coklat setelah tua, bentuk koloni bulat, konidiofor tidak bersekat.

Pada Gambar 3 dan Gambar 4 disajikan jamur *Penicillium* dengan ciri-ciri, mycellium vegetatif bersekat dan menghasilkan hypha aerial pada konidiofor, sterigunata di satu tempat dan masing-masing terbentuk sederet konidia, mampu tumbuh pada suhu 31°C, dan berkas koloni berwarna kuning hijau, abu-abu hijau.

Hasil pembiakan isolat jamur tersebut dalam media cair dengan komposisi yang sama menunjukkan penampakan yang berbeda. Hal ini diduga disebabkan oleh aktifitas fisiologis yang berbeda dari masing-masing jamur, serta perbedaan kemampuan dalam menggunakan bahan-bahan organik yang terkandung didalamnya. Perbedaan kenampakan tersebut disajikan pada Gambar 5.



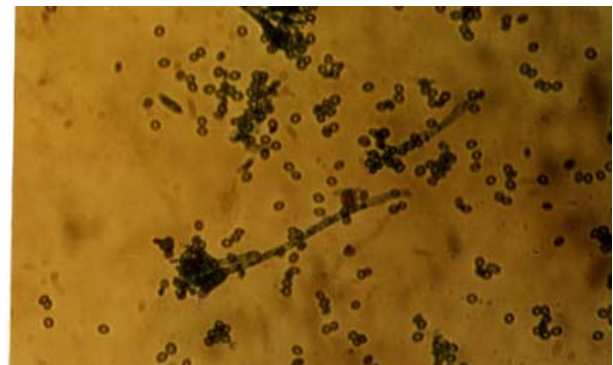
Gambar. 1. *Rhizopus*; sporangia hitam besar, terdapat rhizoid (perbesar 400x).



Gambar.2. *Aspergillus*; hypha tidak bersekat pada perbesaran 1.000x.



Gambar 3. *Penicillium A*; mycellium vegetatif bersekat, sterigunata disatu tempat pada perbesaran 1.000x.



Gambar 4. *Penicillium B*; mycellium vegetatif bersekat, konidiofor bercabang, pada perbesaran 400x.

Kemampuan dekolorisasi keempat isolat jamur tersebut diuji berdasarkan besarnya penurunan absorbensi pada panjang gelombang 420 nm. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa *Penicillium A* dan *Penicillium B* mampu menurunkan nilai absorbensi sekitar 54 %, sedangkan isolat *Rhizopus* dan *Aspergillus* hanya menurunkan nilai absorbensi berturut-turut sebesar 43 % dan 32 % (Tabel 1.). Hasil pengamatan selama 8 hari menunjukkan bahwa penurunan absorbensi terjadi dalam persentase yang besar selama dua sampai empat hari pertama, sedangkan penurunan absorbensi pada hari selanjutnya relatif kecil.



Gambar 5. Pertumbuhan isolat jamur dalam media cair berumur 6 hari :

- I. *Rhizopus*
- II. *Penicillium A*
- III. *Penicillium B*
- IV. *Aspergillus*

Kemampuan dekolorisasi jamur memang telah dikenal dalam proses penjernihan limbah, namun baru pada tahap laboratorium. Referensi [12] menyebutkan bahwa telah ditemukan jamur *Coriolus sp.* dari klas *Basidiomycetes* mampu mereduksi warna karamel. Menurut referensi [13] bahwa telah ditemukan jamur *Penicillium oxalicum* untuk mereduksi warna air limbah. Dalam penelitian tersebut nilai absorban dari warna limbah menurun dengan perlakuan jamur *P.oxalicum* namun mekanisme penurunan warna yang terjadi lebih disebabkan proses biosorpsi karena selama proses dekolorisasi tidak terjadi pembentukan

kan senyawa baru sebagai hasil biodegradasi oleh jamur tersebut.

Ditinjau dari kemampuan isolat jamur tersebut dalam mereduksi nilai COD, dapat dikatakan bahwa potensinya relatif kecil, karena reduksi COD yang terjadi sampai hari ke- 8 masih di bawah 50 % (Tabel 2). Hal ini jauh lebih kecil apabila misalnya dibandingkan dengan mikroba dalam pengolahan limbah cair pabrik gula dengan Sistem Aerasi Lanjut (SAL) yang mampu mereduksi COD sampai 90–95 % [10] dan penggunaan inokulum yang berasal dari kotoran ternak yang mampu mereduksi COD hingga 92% [11].

TABEL 1
PENURUNAN ABSORBENSI PADA $\lambda = 420$ NM DARI AKTIVITAS ISOLAT JAMUR

Perlakuan	Hari ke				
	0	2	4	6	8
Kontrol	0,635	0,569	0,569	0,569	0,569
<i>Rhizopus</i>	0,636	0,424	0,369	0,366	0,363
<i>Penicillium A</i>	0,634	0,293	0,286	0,290	0,290
<i>Penicillium B</i>	0,622	0,278	0,277	0,277	0,288
<i>Aspergillus</i>	0,620	0,620	0,544	0,424	0,425

TABEL 2
HASIL PENGAMATAN COD PADA ISOLAT JAMUR
DALAM MEDIA VINASE ENCER (2 %).

Perlakuan	Kadar COD (mg/l)		Reduksi (%)
	Awal	Akhir	
Kontrol	1615	1611	0,25
<i>Rhizopus</i>	1615	1012	37,34
<i>Penicillium A</i>	1615	1012	37,34
<i>Penicillium B</i>	1615	1012	37,34
<i>Aspergillus</i>	1615	1389	37,34

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa jamur tersebut memiliki potensi hanya untuk tujuan dekolorisasi dalam pengolahan limbah, sedangkan pengurangan kadar polutan COD masih perlu dikembangkan lebih lanjut. Hal ini disebabkan oleh zat warna melanoidin dalam vinase memang sulit diurai oleh mikroba umumnya sehingga diperlukan mikroba yang memiliki kemampuan spesifik. Sementara pengurangan kadar BOD juga kurang begitu baik meskipun persentasenya sedikit lebih tinggi dari pada reduksi COD (Tabel 3).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan tersebut maka dapat disimpulkan bahwa jamur memiliki potensi untuk dekolorisasi warna vinase. Dari isolat jamur yang mendominasi dalam contoh vinase telah diperoleh 4 macam jamur yaitu *Rhizopus sp.*, *Penicillium A*, *Penicillium B* dan *Aspergillus*. Kemampuan mereduksi warna vinase yang terbaik di antara keempat isolat tersebut adalah *Penicillium B* dan *Penicillium A*.

TABEL 3
KADAR BOD PADA ISOLAT JAMUR DALAM MEDIA VINASE ENCER 2% (V/V)

Perlakuan	Kadar BOD (mg/l)		Reduksi (%)
	Awal	Akhir	
Kontrol	587	585	0,34
<i>Rhizopus</i>	587	354	39,69
<i>Penicillium A</i>	587	332	43,44
<i>Penicillium B</i>	587	326	44,45
<i>Aspergillus</i>	587	359	38,84

V. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Penatti, C.P., J.V.De Araujo, J.L.Donzelli, S.A.V.De Souza, J.A.Forti and P. Ribeiro., "Vinase : A Liquid fertilizer." *Proc. ISSCT*. Vol 25 : 403 – 411. 2005.
- [2] Kurniawan, Y., "Pendayagunaan limbah pabrik alkohol." *Gula Indonesia XVII/2*, pp. 6 – 10. Ikatan Ahli Gula Indonesia. 1981.
- [3] Saeki, T., Y.Michiki, A.Itomine, K. Murekami and S.Fujii., "Studies on the colored components in cane final molasses." *Proc. Res. Soc. Japan Sugar Refineries Tech*, 40 : 58 – 63. 1992.
- [4] Triantarti dan J. P. Dufour., Effect of Maillard reaction products on *Leuconostoc mesentroides* growth and dextran sucrose activity. *New Zealand Institute of Food Science and Technology*. 1998.
- [5] Mochtar, H. M. L. Ambarsari, E. Widhiastuti, "Produk reaksi Maillard, sintesa dan pengaruhnya pada penghambatan kerusakan tebu dalam pasca panen." *Buletin Nomor 31*. Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia. 1997.
- [6] Migo, V.P, M. Matsumura, E.J.D. Rosario, H. Kataolan, "Decolorization of molasses waste water using an inorganik flocculant." *Journal of Fermentation and Bioengineering* 75 (6), pp. 438 – 442. 1993.
- [7] Mackenzie, J., Hydrogen Peroxide without accidents. *Chem. Engineering*, 97 (6), pp. 84 – 90. 1990.
- [8] Ohmono S., M.Kainuma., S.Sirianuntapibrom. I.Aoshima and P.Attahasampunna, "Adsorption of Melanoidin to the Mycelia of *Aspergillus oryzae* Y.2.32." *Agriculture Biological Chemistry* 52 (2) : 381 – 386. 1988.
- [9] Peleazar, Reid dan Chan, Microbiology. 4th ed. *Mr. Graw Hill Book Co.* : 285 – 287. 1977.
- [10] Kurniawan, Y., "Sistem pengolahan limbah cair pabrik gula pada lahan sempit." *Prosiding Temu Lapang Pengelolaan Limbah Pabrik Gula*. Batu, Malang. 1993.

- [11] Santoso, H dan Y.Kurniawan, "Kotoran ternak sebagai inokulum pada pengolahan air limbah pabrik gula secara biologis aerob." *Jurnal Kimia Terapan Indonesia* Vol.9 No. 1-2., pp. 39-44. Pusat Penelitian dan Pengembangan Kimia Terapan-LIPI, Bandung. 1999.
- [12] Watanabe., R.Sugi, Y.Tanaka and S. Hayashida, Enzymatic decolorization of melanoidin by *Coriolus sp.* No. 20. *Agric-Biol. Chen.* 46 (6) : 1623 – 1630. 1981.
- [13] Zhang,S.J.; M.Yang ; Q.X.Yang;Y.Zhang ; B.P Shin anf F.Pan, Biosorption of reactive dyes by the mycelium pellets of a new isolate of *Penicillium oxalicum*. *Biotechnology Letters* 25 : 1479 – 1482. 2003.
- [14] Chivukula,M and V.Renganathan, Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae*. *Appl Environ.Microbiol.* 61 : 4374 – 4377. 1995.