

OPTIMASI ASAM SITRAT LIMBAH BATANG PISANG (*Musa Paradisiaca L.*) DENGAN METODE KULTIVASI CAIR

Putri Prihastuti^{1*}, Bayu Prasetyo Aji², Dea Syifa Fitriani², Farikha Maharani, dan Indah Hartati²

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim, Semarang
Jalan Menoreh Tengah X/22 Sampangan, Semarang 50236

*Email : putriprihastuti25@gmail.com

Abstrak

Asam sitrat merupakan salah satu produk kimia yang dinyatakan aman digunakan pada makanan oleh semua badan pengawasan makanan nasional maupun internasional. Asam sitrat dapat diproduksi melalui metode kultivasi cair dengan mikroorganisme penghasil asam sitrat, yakni jamur *Aspergillus niger*. Umumnya produksi asam sitrat membutuhkan sumber mineral, sumber nitrogen berupa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan sumber karbon berupa glukosa. Perlu diketahui limbah batang pisang mengandung senyawa selulosa yang dapat dikonversi menjadi glukosa melalui proses hidrolisis. Tujuan dari penelitian ini adalah (i) untuk mengkaji pengaruh penambahan volume starter terbaik pada parameter metode kultivasi cair (ii) untuk mengetahui pengaruh lama waktu kultivasi cair pada parameter metode kultivasi cair. Pada kultivasi cair, parameter yang diamati mencakup total asam, perubahan derajat keasaman (pH), dan rendemen (yield) yang dihasilkan. Hasil kultivasi cair terbaik pada penambahan volume starter 20 mL serta lama waktu fermentasi 5 hari dengan total asam 8,06 mg/ml, pH 2,8 dan rendemen 46%.

Kata Kunci : Limbah Batang Pisang, *Aspergillus niger*, Kultivasi cair, Asam sitrat

1. PENDAHULUAN

Sebagai negara tropis, Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tanaman pisang (*Musa Paradisiaca L.*) terbesar. Menurut Badan Pusat Statistik (2020), produksi buah pisang di Indonesia per tahun 2019 mencapai 7.180.465 ton. Sedangkan perbandingan bobot segar antara daun, buah, dan batang pisang berturut-turut adalah 14%, 23%, dan 63% (Rahman, 2006). Hal tersebut menyatakan bahwa ada sekitar 19.668.230 ton limbah batang pisang pada tahun yang sama.

Venkateshwaran dan Elayaperumal (2010) menyatakan bahwa limbah batang pisang mengandung lignoselulosa yaitu 43,46% selulosa, 38,54% hemiselulosa, dan 9% lignin. Untuk membuka struktur lignoselulosa tersebut perlu dilakukan *pretreatment*. Salah satu metode *pretreatment* yang dianggap efektif dan mampu meningkatkan selulosa yaitu SAA/*Soaking Aqueous Ammonia*. Proses SAA/*Soaking Aqueous Ammonia* menggunakan rasio umpan : pelarut (w/v) 10 gram : 150 mL dan lama waktu perendaman 5 jam. Tujuan lain dari metode *pretreatment* tersebut adalah agar komponen yang dihasilkan lebih mudah untuk dihidrolisis dan mendapatkan hasil optimum dalam metode kultivasi cair.

Senyawa selulosa yang dihasilkan perlu dikonversi menjadi glukosa melalui proses hidrolisis. Hidrolisis merupakan proses pemecahan polisakarida pada biomassa lignoselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Beberapa metode hidrolisis yang biasa digunakan untuk memecah selulosa antara lain, hidrolisis menggunakan larutan asam, larutan basa secara enzimatik, maupun termal, masing-masing memiliki kekurangan dan kelebihan (Pejo et al., 2008). Namun, pada hidrolisis secara asam memiliki kelemahan yakni, kurang ramah lingkungan. Terlebih lagi adalah bahaya zat asam yang digunakan terhadap kesehatan manusia. Melihat kekurangan proses tersebut, aplikasi hidrolisis secara enzimatik dapat dilakukan secara sederhana dengan mengganti tahap hidrolisis asam dengan tahap hidrolisis enzimatik. Proses hidrolisis yang dilakukan secara enzimatik memiliki keuntungan, antara lain tidak terjadi degradasi gula hasil hidrolisis, kondisi proses lebih lunak (pH sekitar 4,70 – 4,80 dan suhu 45-50°C), tidak terjadi reaksi samping, tidak melibatkan bahan-bahan yang bersifat korosif dan lebih ramah lingkungan (Cheng & Timilsina, 2011; Schacht et al., 2008). Selulosa dapat dihidrolisis secara enzimatik dengan menggunakan enzim selulasa.

Pada dewasa ini 99% produksi asam sitrat dilakukan secara fermentasi. Proses fermentasi yang terjadi pada pembentukan asam sitrat dapat berlangsung secara metode kultivasi padat maupun dengan metode kultivasi cair. Fermentasi yang digunakan pada penelitian ini adalah fermentasi dengan metode kultivasi cair. Hal ini dikarenakan kultivasi media cair memiliki beberapa keunggulan dibandingkan proses fermentasi pada media padat antara lain rendemen yang dihasilkan tinggi, waktu fermentasi lebih singkat, biaya perawatan murah, dan resiko terkontaminasi rendah (Sasmitaloka, 2017). Produksi asam sitrat pada proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah jenis media, pH media, waktu fermentasi, suhu dan mikroorganisme yang digunakan (Friendrich dkk, 1994).

Dalam metode kultivasi cair asam sitrat mikroorganisme utama yang digunakan adalah jamur *Aspergillus niger*. Hal ini disebabkan karena, *Aspergillus niger* mampu memproduksi asam sitrat dari bahan yang murah dan dapat menghasilkan lebih banyak asam sitrat per satuan waktu (Soccol *et al.*, 2006). Penggunaan jamur *Aspergillus niger* dapat mencegah terbentuknya produk yang tidak diinginkan seperti asam oksalat, asam isositrat dan asam glukogonat (Michael dkk, 2013). Papagianni (2007) menyatakan bahwa jamur *Aspergillus niger* mampu menghasilkan rendemen tinggi hingga 70%.

Dengan melihat potensi limbah batang pisang yang melimpah dimana terdapat senyawa yang dapat digunakan sebagai sumber karbon dalam proses fermentasi dan melihat keunggulan metode kultivasi cair dalam memproduksi asam sitrat maka dalam penelitian ini dilakukan kajian tentang "Optimasi Asam Sitrat Limbah Batang Pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dengan Metode Kultivasi Cair".

2. METODOLOGI

2.1 Bahan

Bahan baku dalam penelitian ini adalah batang (gedebog) pisang kepek yang diambil dari desa Cemangklek, Kendal. Bahan lainnya adalah *Aspergillus Niger FNCC – 6114* berumur 5 hari, enzim selulase, aquadest, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , NaOH.

2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven, *crusher*, ayakan 100 mesh, *heating mantle*, labu leher tiga, kondensor, thermometer, erlenmeyer, corong saring, corong buchner, pompa vakum, kertas saring, beaker gelas, gelas ukur, labu ukur, dan *moisture balance*, *autoclave*, *laminar air flow (LAF)*.

2.3 Prosedur Percobaan

2.3.1 Preparasi Bahan

Menyiapkan hasil pretreatment batang pisang menggunakan metode *Soaking in Aqueous Ammonia* dengan rasio umpan:pelarut 1:15 dan waktu perendaman selama 5 jam.

2.3.2 Hidrolisa

Residu hasil pretreatment yang sudah kering dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500mL dan ditambahkan 100mL aquadest serta pH diatur hingga 4-5. Sterilisasi alat dan bahan pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Larutan yang sudah steril ditambah dengan enzim selulase sebanyak 20 mL dan diaduk selama 1 menit dan perlakuan dilakukan pada *laminar air flow (LAF)*, kemudian di diamkan selama 1. Filtrat dari hasil hidrolisa dianalisa kadar glukosa dengan metode Luff Schoorl (Windiyati, 2014).

2.3.3 Kultivasi Cair Asam Sitrat

Biakan *Aspergillus niger FNCC – 6114* yang digunakan berumur 5 hari dalam media agar miring. Media propagasi dibuat dengan melarutkan 450 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan 225 mg KH_2PO_4 dalam 100 mL. Sterilisasi alat dan bahan pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Larutan yang sudah steril ditambahkan 15 mL hasil hidrolisa ke dalam media propagasi dan inokulasi dilakukan dengan suspensi spora *Aspergillus niger FNCC – 6114* sebanyak 2% (v/v). Hasil inokulasi media propagasi kemudian diinkubasi pada suhu $29 \pm 1^\circ\text{C}$ (suhu kamar) selama 24 jam.

Media fermentasi disiapkan dengan melarutkan 450 mg $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan 225 mg KH_2PO_4 dalam 100 mL aquadest selanjutnya sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan.

Inokulum diinokulasikan sebanyak (10,20,30,40,50) mL. Kultivasi cair dilakukan selama (1,2,3,4,5) hari.

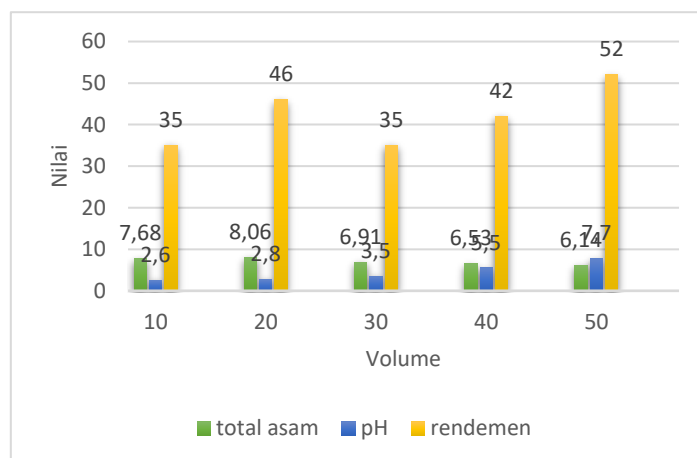
2.3.4 Analisa

Pada penelitian ini akan dilakukan analisa asam sitrat meliputi tingkat derajat keasaman (pH) berkisar 1,7 – 2,0 (sasmitaloka, 2017), rendemen, dan total asam.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini mengaplikasikan proses hidrolisis dan proses fermentasi. Proses hidrolisis dilakukan dengan melarutkan residu hasil pretreatment yang sudah kering dalam aquadest yang kemudian ditambah dengan enzim selulase. Hal tersebut dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan hasil glukosa yang optimum dengan waktu yang singkat. Jenis jamur yang digunakan pada proses fermentasi menggunakan metode kultivasi cair ini adalah *Aspergillus niger FNCC – 6114*. Metode kultivasi cair tersebut terdiri dari dua tahap yaitu fasa pertumbuhan mikroba dan fasa produksi asam sitrat. Fasa pertumbuhan mikroba pada media propagasi terjadi ketika jamur *Aspergillus niger FNCC – 6114* diinkubasi selama 3-5 hari. Hasil inkubasi pada media propagasi disebut inokulum. Pada fasa produksi asam sitrat, inokulum yang dihasilkan diinokulasi sebanyak 2% kedalam media. Parameter pada pembentukan asam sitrat dengan metode kultivasi cair adalah pH, total asam, dan rendemen.

3.1 Pengaruh Volume Starter Terhadap Total Asam, Derajat Keasaman (pH), dan Rendemen

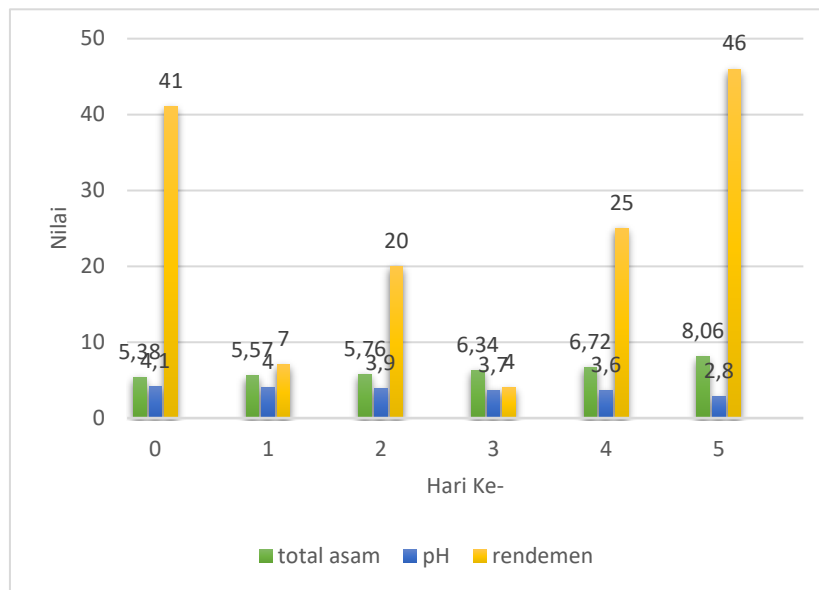


Gambar 1. Diagram total asam, pH, dan rendemen pada variabel volume starter

Gambar 1 memperlihatkan pengaruh penambahan volume starter terhadap total asam, derajat keasaman (pH), dan rendemen yang dihasilkan. Pada gambar 1 diketahui bahwa total asam yang dihasilkan mengalami kenaikan pada penambahan volume starter 20 mL yaitu 8,06 mg/ml. Seiring dengan bertambahnya volume starter, total asam yang dihasilkan mengalami penurunan, hingga pada penambahan volume starter 50 ml total asam yang dihasilkan sebesar 6,14 mg/ml. Hal tersebut berkaitan dengan nilai derajat keasaman (pH) yang dihasilkan pada produksi asam sitrat. Poesponegoro & Liang (1991) menyatakan bahwa untuk merangsang akumulasi asam sitrat, proses pembentukannya memerlukan pH awal yang rendah (kurang dari 3,0). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH pada media mengalami peningkatan seiring dengan penambahan volume starter. Pada penambahan volume starter 10 mL pH yang dihasilkan sebesar 2,6 dan mengalami kenaikan seiring dengan penambahan volume starter hingga 50 ml yaitu 7,7. Dengan mempertimbangkan hasil pH pada media, penambahan volume starter optimal terjadi pada volume 20 mL.

Produksi asam sitrat secara teori dengan menggunakan *Aspergillus niger FNCC – 6114* dapat menghasilkan rendemen hingga 70% (Papagianni, 2007). Gambar 1. menunjukkan bahwa hasil rendemen dari penelitian ini paling optimal pada penambahan volume starter 20 mL yaitu 46%.

3.2 Pengaruh Waktu Kultivasi Cair Terhadap Total Asam, Derajat Keasaman (pH), dan rendemen



Gambar 2. Diagram total asam, pH, dan rendemen pada variabel waktu fermentasi

Metode kultivasi cair dengan variabel lama waktu fermentasi ditunjukkan pada gambar 2. Bahwa total asam tertinggi diperoleh pada hari ke-5 yaitu 8,06 mg/ml dan terendah pada hari ke-1 dengan perolehan total asam 5,38 mg/ml. Selama proses fermentasi, jamur akan tumbuh dan berkembang terus menerus sampai fase kematian. Hal ini disebabkan oleh *Aspergillus niger* FNCC – 6114 selama waktu fermentasi terus menghasilkan asam dengan cara membelah diri sehingga jumlahnya meningkat dan cepat (Michael, 2013).

Proses pembentukan asam sitrat memerlukan pH awal yang rendah untuk merangsang akumulasi asam sitrat (Poesponegoro & Liang, 1991). Selain itu, pH awal yang tinggi dapat memicu akumulasi produk lain, yaitu asam oksaloasetat (Shadafza *et al*, 1997). Pada proses awal kultivasi cair diketahui bahwa pH medium sebesar 4,1 kemudian mengalami penurunan pada hari ke-1 sebesar 4. Nilai pH mengalami penurunan kembali pada hari ke-2 sampai hari ke-5 menjadi sebesar 2,8. Hal ini karena penurunan pH mengidentifikasi terbentuknya asam sitrat. Kultivasi cair asam sitrat akan optimal dengan pH sekitar 2. Namun, jika kondisi tersebut tidak diperoleh hasil produksi akan berkurang (Mattey, 1992).

Dapat dilihat pada gambar 2 bahwa rendemen asam sitrat optimal diperoleh pada perlakuan hari ke-5 sebanyak 46%. Rendemen asam sitrat akan terus meningkat sampai nutrisi substrat habis. Jika nutrisi habis maka kapang akan mengalami fase kematian. Menurut Sasmitaloka (2017) nutrisi dalam media fermentasi yang berjumlah sedikit dapat menurunkan rendemen asam sitrat.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan penambahan volume starter terbaik pada 20 ml dan lama waktu fermentasi 5 hari dengan total asam 8,06 mg/ml, derajat keasaman 2,8 dan rendemen 46%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi atas hibah Program Kreativitas Mahasiswa yang telah diberikan sehingga dapat mendanai seluruh penelitian ini serta Dosen Pembimbing yang senantiasa membimbing dan mengarahkan dalam melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2020. *Statistik Indonesia 2020, Penyedia Data untuk Perancangan Pembangunan*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Cheng, J. J., & Timilsina, G. R., (2011). "Status and barriers of advanced biofuel technologies" A review. *Renewable Energy*, Vol: 36, pp. 3541-3549.
- Datta, R. 1981. Acidogenic Fermentation of Lignocellulose-Acid Yield and Conversion of Components. *Biotechnology and Bioengineering*. 23 (9): 2167-2170.
- Friedrich, J., A. Cimerman, dan W. Steiner. 1994. Concomitant biosynthesis of *Aspergillus niger* pectolytic enzymes and citric acid on sucrosa. *J. Enzym and Microbial Technology* 16: 703-710
- Hidayat, M.R. 2013. Teknologi *Pretreatment* Bahan Lignoselulosa dalam Proses Produksi Bioetanol. *Biopropal Industri*. 4 (1):33-48.
- Mattey, M. 1992. The production of organic acids. *Critical Review Biotechnology*. 12 : 87–132.
- Michael., M. Dashen., S. A. Ado., J. Ameh, T. Amapu., dan H. Zakari. 2013. Screening and improvement of local isolates of *Aspergillus niger* for citric acid production. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 6(1) : 105–111.
- Novia, Utami, I., dan Windiyati, L. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Sekam Padi Menggunakan Kombinasi Soaking in Aqueous Ammonia (SAA) Pretreatment – Acid Pretreatment – Hidrolisis – Fermentasi. *Teknik Kimia*. 1 (20): 46-53.
- Papagianni, M., Advances in Citric Acid Fermentation by *Aspergillus niger*: Biochemical Aspects, Membrane Transport and Modeling. *Biotechnology Advances*, 2007, 25, 244-263.
- Pejo, E. T., Oliva, J. M., & Ballesteros, M. (2008). Realistic approach for full scale bioethanol production from lignocellulose : A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 67, 874 - 884
- Poesponegoro, M. dan Liang, O.B. 1991. Fermentasi asam sitrat dari tetes tebu secara biak rendam dengan *Aspergillus niger*, *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 1(2): 35 – 40.
- Rahman, H. 2006. Pembuatan Pulp dari Batang Pisang Uter (*Musa paradisiaca* Linn. *Var uter*) Pascapanen dengan Proses Soda. *Skripsi*. Fakultas Kehutanan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sasmitaloka, K.S. 2017. Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Cair. *Jurnal Integrasi Proses*. 6 (3):116-122.
- Shadafza, D., T. Ogawa, dan A. Fazeli. 1976. Comparison of citric acid production from beet molasses and date syrup with *Aspergillus niger*, *Journal of Fermentation Technology*. 54: 67 – 75.
- Soccol, C.R., Vandenberghe, L.P., Rodrigues, C. & Pandey, A. (2006). New perspective for citric acid production and application, *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 141-149.
- Utami, N.I. dan Windiyati, L. 2014. Pembuatan Bioetanol dari Sekam Padi Menggunakan Kombinasi *Soaking in Aqueous Ammonia (SAA) Pretreatment – Acid Pretreatment – Hidrolisis – Fermentasi*. *Teknik Kimia*. 1 (20):46-53.
- Venkateshwaran, N., dan Elayaperumal, A. 2010. Banana Fiber Reinforced Polymer Composites – A Review. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*. 29 (15): 2387-2396.