

STUDI KINETIKA PERTUMBUHAN *ASPERGILLUS NIGER* PADA FERMENTASI ASAM SITRAT DARI KULIT NANAS DALAM REAKTOR AIR-LIFT EXTERNAL LOOP

Nanas banyak dimanfaatkan dalam industri makanan untuk dijadikan buah dalam kaleng. Dari industri pengalengan nanas banyak dihasilkan limbah padat berupa kulit dan bonggol. Limbah kulit dan bonggol nanas masih mengandung glukosa dan sukrosa cukup tinggi yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan asam sitrat. Asam sitrat dibuat dengan fermentasi dalam reaktor air-lift external loop dengan bantuan jamur *Aspergillus niger*. Agar pertumbuhan jamur optimum maka diperlukan nutrien tambahan yaitu $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kinetika pertumbuhan *Aspergillus niger* pada fermentasi dalam reactor air lift external loop. Variabel – variabel yang berpengaruh pada fermentasi asam sitrat adalah bahan-bahan pengubah, bahan penetrat, nutrisi mikrobial, antisептик, aerasi, pH dan sumber karbon.

Pada penelitian ini digunakan variabel tetap : tekanan, laju aerasi, suhu, pH, konsentrasi mikroba dan nutrisi. Sedangkan untuk variabel berubah ada 2 macam yaitu : konsentrasi gula (10%, 15%, 20%) dan waktu fermentasi dilakukan selama 7 hari dengan pengambilan sampel setiap 8 jam untuk dianalisa konsentrasi mikroba dan konsentrasi asam total. Reaktor yang digunakan adalah reaktor air-lift external loop dan bahan bakunya berupa limbah bonggol dan kulit nanas.

Dari hasil percobaan diperoleh bahwa pada konsentrasi 10% mempunyai laju tumbuh spesifik yang lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%. Laju tumbuh spesifik pada konsentrasi 10% sebesar $0,0429 \text{ jam}^{-1}$, sedangkan pada konsentrasi 15% dan 20% masing-masing sebesar $0,0396 \text{ jam}^{-1}$ dan $0,0385 \text{ jam}^{-1}$. Pada konsentrasi 10% juga diperoleh asam total yang lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%.

Kata kunci: Limbah kulit nanas, Reaktor air-lift external loop, Fermentasi asam sitrat, Kinetika pertumbuhan *Aspergillus niger*

PENDAHULUAN

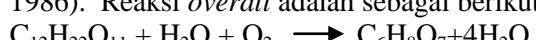
Nanas (*Ananas comosus*, L. Mer) merupakan buah tropis yang banyak di produksi hampir di seluruh pelosok nusantara dan mempunyai prospek yang cukup cerah untuk dikembangkan lebih lanjut. Buah nanas banyak dimanfaatkan dalam industri makanan untuk dijadikan buah dalam kaleng. Dari berbagai macam pengolahan buah nanas yang bisa dikonsumsi hanya sebesar 53%, sedangkan sisanya berupa limbah kulit nanas. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk meningkatkan nilai ekonomis dari limbah kulit nanas dengan cara fermentasi sehingga dapat dihasilkan asam sitrat dalam jumlah banyak.

Asam sitrat adalah salah satu asam organik penting dalam kehidupan manusia. Secara alami asam sitrat terdapat dalam buah – buahan terutama jeruk; akan tetapi juga banyak terdapat pada nanas, pir dan sebagainya. Sebagian besar

asam sitrat digunakan sebagai pengasam dalam minuman berkarbonasi, selai, jelly, dan makanan lainnya. Kegunaan lainnya sebagai bahan pengemulsi, anti oksidan, antikoagulan darah, komponen tablet effervescent (dapat larut dalam air), plasticizer, dan masih banyak lagi.

Asam sitrat pertama kali diisolasi oleh Sheeles dengan mengkristalisasinya dari sari buah lemon. Tahun 1903 Wehmer's melakukan percobaan fermentasi asam sitrat secara komersial menggunakan penicillia (Sienko dan Plane, 1979).

Thom dan Currie mengembangkan riset tentang fermentasi asam sitrat menggunakan *Aspergillus niger* pada tahun 1916 (Austin, 1986). Reaksi overall adalah sebagai berikut :



Sucrose



Dextrose

Fermentasi asam sitrat telah dikembangkan dengan fermentor berpengaduk. Dengan adanya transfer massa akibat pengadukan, *yield* yang diperoleh cukup tinggi. Dalam reaktor *Air – Lift*, proses yang terjadi mengalami transfer massa yang lebih merata dibandingkan dengan reaktor berpengaduk sehingga fermentasi dapat berjalan lebih baik karena oksigen yang terlarutpun menjadi lebih merata ke seluruh reaktor.

Variabel yang berpengaruh pada fermentasi asam sitrat (Kirk dan Othmer, 1951) adalah : bahan pengubah, bahan penetral, nutrisi mikrobial, antiseptik, aerasi, pH, dan sumber karbon.

Asam sitrat merupakan produk metabolit primer yang terbentuk dari siklus TCA(*Tricarboxylic Acid Cycle*). Glukosa merupakan sumber carbon utama dalam produksinya. Pada sebagian besar mikroba 80 % glukosa dipecah melalui reaksi – reaksi dalam lintasan *Embden Meyerhof Parnas (EMP)*. Asam piruvat yang merupakan produk akhir dari lintasan EMP akan dioksidasi lebih lanjut dan kemudian dengan bantuan enzim dekarboksilase membentuk asetat (dekarboksilasi). Asetat yang terbentuk berikatan dengan koenzim-A menghasilkan *Acetyl – CoA*. Selanjutnya *Acetyl – CoA* dan oksaloasetat yang merupakan salah satu senyawa antara siklus TCA berkondensasi membentuk asam sitrat dengan bantuan enzim pengoksidasi nitrat sintase.

Selama tahap produksi asam sitrat berlangsung (idiofase), aktivitas enzim sitrat sintase meningkat sampai 10 x. Sebaliknya aktivitas enzim yang memecah asam sitrat (katabolisme asam sitrat) seperti *aconitase* dan isositrat dehidrogenase menurun tajam bila dibandingkan dengan aktivitasnya pada saat tropofase. Siklus asam TCA akan terhenti jika asam sitrat diambil dan enzim sintase tidak dapat berperan sendiri untuk mempertahankan agar siklus TCA tetap berlangsung.

Fermentasi asam sitrat ini menggunakan reaktor *air- lift* external loop sebagai fermentor. Reaktor *air lift* berbentuk kolom dengan sirkulasi aliran merupakan kolom yang berisi cairan atau *slurry* yang terbagi menjadi dua bagian dan pada salah satu dari kedua daerah tersebut yang selalu disemprotkan gas. Bagian reaktor yang mengandung cairan dengan aliran ke atas disebut zona *riser* dan yang bagian reaktor mengandung aliran fluida turun adalah zona *downcomer*.

Beberapa parameter yang penting dalam perancangan reaktor *air lift* adalah *hold up* gas, *hold up* gas pada bagian *riser* dan *downcomer*, yang besarnya dipengaruhi oleh laju sirkulasi cairan dan koefisien dispersi berbagai daerah dalam cairan. Dalam reaktor *air-lift* external loop dimana *riser* dan *downcomer* merupakan dua tabung yang terpisah dan dihubungkan secara horizontal antara bagian atas dan bagian bawah reaktor. Beberapa parameter yang penting dalam perancangan reaktor *air-lift* adalah (van't Riet dan Tramper, 1991) : pengadukan (*mixing*), fraksi kosong (*void fraction/hold-up*), perpindahan massa (mass transfer) dan busa (foam).

Kinetika fermentasi menggambarkan pertumbuhan dan pembentukan produk oleh mikroorganisme. Tidak hanya sel yang aktif tetapi juga sel yang istirahat bahkan sel yang mati, karena banyak produk – produk komersial yang dihasilkan setelah berhentinya pertumbuhan. Model pertumbuhan mikroba dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu model terstruktur dan tak terstruktur. Model tak terstruktur adalah model yang sangat sederhana; yaitu menggunakan massa sel yang seragam tanpa memperhitungkan kelakuan dinamik internal, yang mana laju reaksi hanya bergantung pada fase liquid dalam reaktor. Jika keadaan bagian dalam sel harus juga diperhitungkan maka digolongkan sebagai model terstruktur. Model pertumbuhan struktur dapat digambarkan dalam persamaan 1 dan 2 :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (1)$$

atau

$$\frac{dN}{dt} = \mu_a N \quad (2)$$

Persamaan (1) menggambarkan peningkatan massa sel dengan waktu dan persamaan (2) menggambarkan pertambahan jumlah sel dan waktu. Sebagian besar pertumbuhan diukur dengan peningkatan massa, jadi yang akan digunakan adalah μ . Nilai μX adalah laju pertumbuhan volumetrik (produktivitas volumetrik) g/l-jam.

METODOLOGI PERCOBAAN

Bahan yang digunakan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit nanas yang diperoleh dari pedagang buah di pasar Jati daerah Banyumanik Semarang, sedangkan *Aspergillus niger* diperoleh dari Lab Mikrobiologi UKSW

Salatiga. Selain bahan baku digunakan juga bahan-bahan pembantu seperti: potato dextrose agar, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, HCl, NaOH, Aquadest, H_2SO_4 , H_2SO_4 , Etanol yang diperoleh dari Laboratorium penelitian Teknik Kimia Universitas Diponegoro.

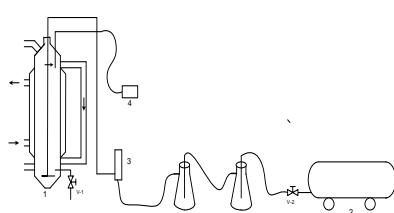
Alat yang Digunakan

Beaker glass, spektrometer C-20, pipet, erlenmeyer, labu takar, stop watch, pH meter, patridisk, tabung reaksi, wettest meter, buret, autoclave, statif, klem, kawat Ose.

Pelaksanaan Percobaan

Percobaan pendahuluan dimulai dengan mengkalibrasi flowmeter. Sebelum melakukan percobaan maka perlu adanya perlakuan awal pada peralatan, kemudian menyiapkan media fermentasi yang telah mendapatkan pengolahan awal. Fermentasi dilakukan dengan memasukkan media fermentasi yang sudah ditambah nutrien dan suspensi mikroba kedalam reaktor. Laju aerasi diatur sebesar 18,33 cc/dt. Pengambilan sampel dilakukan setiap 8 jam sebanyak 2 ml yang diencerkan menjadi 10 ml untuk dianalisa hasilnya. Fermentasi dilakukan pada tekanan 1 atm, suhu 28°C, pH 4, konsentrasi mikroba 2×10^7 spora/ml selama 7 hari.. Konsentrasi nutrient: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,18 gr/l, KH_2PO_4 0,1 gr/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0,025gr/L Konsentrasi gula divariasi 10%, 15% dan 20%.

~~~~Gambar peralatan secara lengkap seperti disajikan dalam gambar 1:



Gambar 1 Gambar Rangkaian Alat Utama Proses Fermentasi

### Keterangan :

1. Reaktor air-lift external loop
2. Kompressor
3. V-1, V-2 : Valve
4. Rotameter
5. pH meter
6. Erlenmeyer
7. erlenmeyer

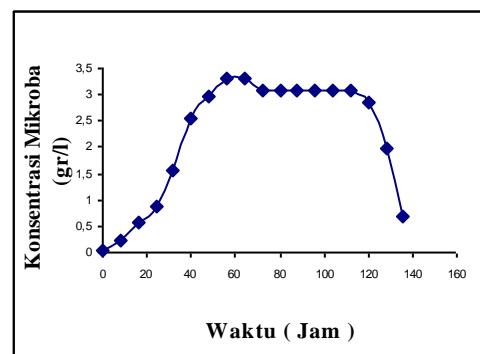
### Respon / Pengamatan

Respon yang diamati Konsentrasi Mikroba, Konsentrasi asam total pada berbagai perbandingan kadar gula dan waktu fermentasi. Analisa tersebut dilakukan tiap waktu fermentasi yang telah ditentukan sesuai variabel.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kinetika pertumbuhan *Aspergillus niger* pada konsentrasi gula 10%,15%,dan 20% dapat dijelaskan pada grafik1,2,dan3. Perbandingan kinetika pertumbuhan *Aspergillus niger* pada konsentrasi gula 10%,15%,dan 20% dapat dijelaskan pada grafik 4 sedangkan perbandingan konsentrasi asam total pada konsentrasi gula 10%,15%dan20% dapat dijelaskan pada grafik 5.

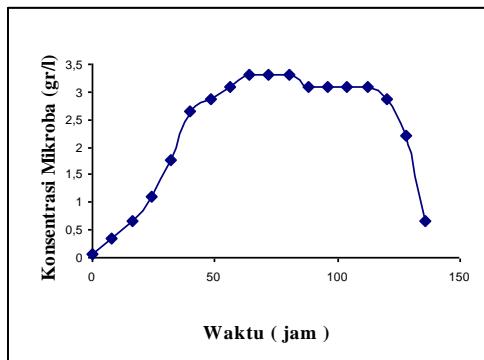
#### A. Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Konsentrasi Gula 10%



Grafik 1. Hubungan waktu terhadap konsentrasi mikroba pada konsentrasi gula 10%

Pada grafik 1 menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mengalami massa pertumbuhan eksponensial sampai jam ke-56, selanjutnya memasuki massa stationer pada jam ke-64 hingga jam ke-112, kemudian memasuki death fase (fase mati). Pada konsentrasi ini, kinetika pertumbuhan mikroba secara regresi linier dihitung laju tumbuh fisiknya ( $\mu$ ) sebesar  $0,0429 \text{ jam}^{-1}$ .

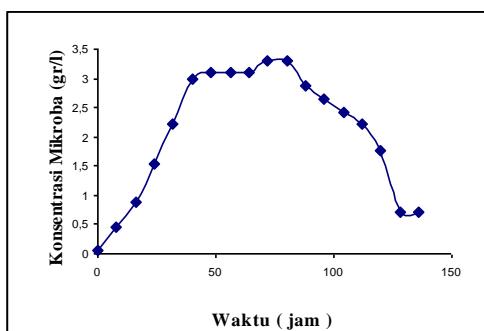
### B. Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Konsentrasi Gula 15%



Grafik 2. Hubungan waktu terhadap konsentrasi mikroba pada konsentrasi gula 15%

Pada grafik 2 menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mengalami massa pertumbuhan eksponensial sampai jam ke-56, selanjutnya memasuki massa stationer pada jam ke-64 hingga jam ke-128, kemudian memasuki death fase atau fase mati. Pada konsentrasi ini, kinetika pertumbuhan mikroba secara regresi linier dihitung laju tumbuh fisiknya ( $\mu$ ) sebesar  $0,0396 \text{ jam}^{-1}$ .

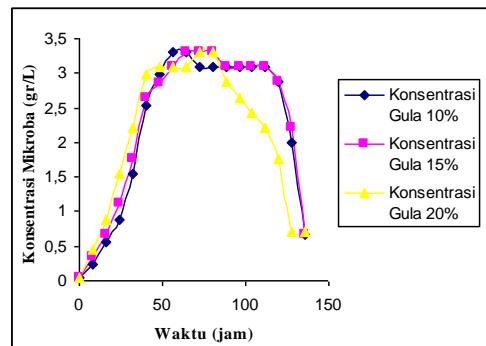
### C. Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Konsentrasi Gula 20 %



Grafik 3. Hubungan waktu terhadap konsentrasi mikroba pada konsentrasi gula 20%

Pada grafik 3 menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mengalami massa pertumbuhan eksponensial sampai jam ke-48, selanjutnya memasuki massa stationer pada jam ke-56 hingga jam ke-96, kemudian memasuki death fase (fase mati). Pada konsentrasi ini, kinetika pertumbuhan mikroba secara regresi linier dihitung laju tumbuh fisiknya ( $\mu$ ) sebesar  $0,0385 \text{ jam}^{-1}$ .

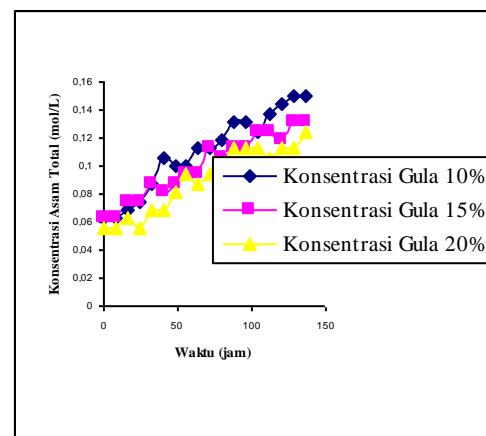
### D. Perbandingan Kinetika Pertumbuhan *Aspergillus niger* pada Konsentrasi Gula 10%, 15% dan 20%.



Gambar 4. Hubungan waktu terhadap konsentrasi mikroba pada konsentrasi gula 10%,15%,20%

Pada grafik 4 menunjukkan bahwa konsentrasi 10% memberikan hasil yang optimal atau lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%. Dalam arti bahwa pada konsentrasi 10% ini, pertumbuhan mikroba yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%, hal ini dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 10% mempunyai laju tumbuh spesifik ( $\mu$ ) yang lebih besar yaitu  $0,0429 \text{ jam}^{-1}$ . Pada konsentrasi 10% mempunyai viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%, sehingga sirkulasi cairan menjadi lebih optimal. Jika sirkulasi cairan optimal maka transfer oksigen menjadi lebih merata sehingga fermentasi berjalan lebih baik.

### E. Perbandingan Konsentrasi Asam Total pada Konsentrasi Gula 10% , 15%, dan 20%.



Gambar 5. Hubungan waktu terhadap konsentrasi asam total pada konsentrasi gula 10%,15%,20%

Pada grafik 5 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%, hal ini terlihat pada konsentrasi 10% mempunyai konsentrasi asam total yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 15% dan 20%. Hal ini disebabkan pada konsentrasi 10% mempunyai viskositas yang lebih rendah sehingga sirkulasi cairan menjadi lebih lancar dan transfer oksigen menjadi lebih optimal. Jika transfer oksigen berjalan optimal maka fermentasi berjalan baik sehingga konsentrasi asam total yang diberikan menjadi maksimal.

### KESIMPULAN DAN SARAN

Penelitian tentang studi kinetika pertumbuhan mikroba pada pembuatan asam sitrat dalam reaktor *air-lift* external loop dilakukan pada konsentrasi gula 10%, 15% dan 20% pada suhu kamar, tekanan 1 atm, pH 4 dengan laju udara masuk 18,33 cc/dt. Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan :

1. Semakin besar konsentrasi gula maka laju tumbuh spesifik semakin turun
2. Semakin besar konsentrasi gula maka konsentrasi asam total yang didapatkan menjadi semakin kecil

Penelitian ini merupakan penelitian yang berkelanjutan. Dalam penelitian kinetika pertumbuhan mikroba ini masih banyak lagi yang perlu dipelajari. Terutama pengaruh laju aerasi, konsentrasi gula, pH dan pengaruh lain terhadap hasil penelitian.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Devona Candrawati yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- 1.Austin, G. T., “*Shreve's Chemical Process Industries*”, 5<sup>th</sup> ed, Int'l Student Edition, Mc Graw Hill Book Co., Singapore, 1986
- 2.Bell, G. H.; Davidson, J. N. ; Scarborough, H., “*Textbook of Physiology and Biochemistry*”, 7<sup>th</sup> ed, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1968
- 3.Hiby, J.W, “*Definition and Measurement of The Degree of Mixing in Liquid Mixtures*”, International Chemical Engineering, 1981
- 4.Judoamidjojo, M., Darwis, A. A., Sa'id, E. G. , “*Teknologi Fermentasi*”, Ed 1, CV Rajawali, Jakarta, 1992
- 5.Kirk, R. E., and Othmer, R. F. , “*Encyclopedia of Chemical Technology*”, vol. 6, The Interscience Encyclopedia Inc., New York, 1951
- 6.Lewis, W. K., and Whitman, W. G., “*Principles of Gas Absorption*”, Ind. Chem. Eng., 1924
- 7.Moch. Busairi, Abdullah, “*Lactic Acid Fermentation Of Pineapple Wastes by Lactobacillus Delbrueckii*”, Malaysia, 2002
- 8.Nasmaidi dan Setyowati,”*Pembuatan Asam Sitrat secara Fermentasi Submerged dengan Bahan Baku Limbah Nanas Padat*”, 2002
- 9.Widyanto,A.,dan Lazuardi,P.,”*Pembuatan Asam Sitrat dari Limbah Buah Nanas* “, 2002
- 10.Anonim, “*Statistik Perusahaan Perkebunan*”, Biro Pusat Statistik, Jakarta, 1998