

**PEMBUATAN ASAM SITRAT
DARI LIMBAH KULIT PISANG
DENGAN MENGGUNAKAN *ASPERGILLUS NIGER***



Disusun Oleh :

LASTIANA SHINTA MATANA

45 12 044 027

PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA FAKULTAS TEKNIK

UNIVERSITAS BOSOWA

MAKASSAR

2017

HALAMAN PENGESAHAN

PEMBUATAN ASAM SITRAT DARI LIMBAH KULIT PISANG DENGAN MENGGUNAKAN *ASPERGILLUS NIGER*

Disusun oleh:

Lastiana Shinta Matana (45 12 044 027)

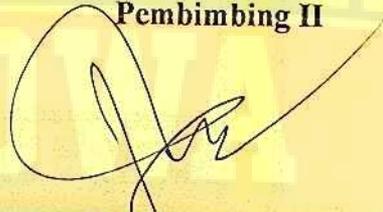
Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal 28 Agustus 2017 dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Pembimbing I



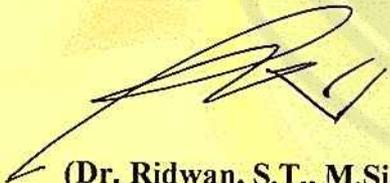
(Dr. Hamsina, S.T., M.Si.)
NIDN : 09-2406-7601

Pembimbing II



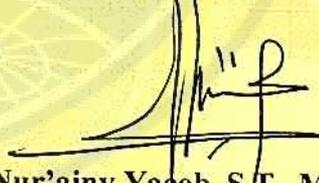
(Dr. A. Zulfikar Syaiful, S.T., M.T.)
NIDN : 09-1802-6902

Penguji I



(Dr. Ridwan, S.T., M.Si.)
NIDN : 09-1012-7101

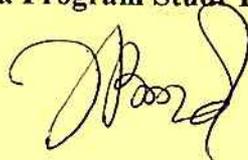
Penguji II



(Nur'ainy Yacob, S.T., M.Si.)
NIDN : 09-1311-5802

Makassar, 28 Agustus 2017

Ketua Program Studi Teknik Kimia



(Hermawati, S.Si, M.Eng)
NIDN : 00-2407-7101

LEMBAR PENGESAHAN

Mahasiswa Fakultas Teknik jurusan Teknik Kimia Universitas Bosowa Makassar yang tersebut di bawah ini :

Nama / Nim : Lastiana Shinta Matana / (4512044027)

Judul Tugas Akhir : **PEMBUATAN ASAM SITRAT DARI LIMBAH
KULIT PISANG DENGAN MENGGUNAKAN
ASPERGILLUS NIGER**

Telah diperiksa dan dinyatakan memenuhi syarat untuk mengikuti Ujian Seminar Tugas Akhir.

Pembimbing I



(Dr. Hamsina, S.T., M.Si.)
NIDN : 09-2406-7601

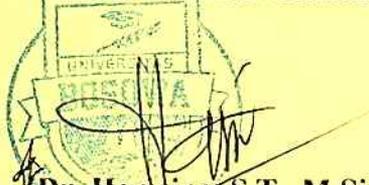
Pembimbing II



(Dr. A. Zulfikar Syaiful, S.T., M.T.)
NIDN : 09-1802-6902

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Teknik



(Dr. Hamsina, S.T., M.Si.)
NIDN : 09-2406-7601

Ketua Jurusan Teknik Kimia



(Hermawati, S.Si., M.Eng.)
NIDN : 00-2407-7101

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penelitian dan penulisan tugas akhir ini dapat terselesaikan. Tugas akhir yang berjudul "*Pembuatan Asam Sitrat Dari Limbah Kulit Pisang Dengan Menggunakan Aspergillus Niger*" ini merupakan salah satu syarat penyelesaian studi jenjang Strata 1 (S-1) dan mendapatkan gelar Sarjana Teknik Kimia di Universitas Bosowa Makassar.

Atas terselesaikannya tugas ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua tercinta yang tak pernah lelah mendoakan dan memberikan bantuan moril maupun materil.
2. Ibu Dr. Hamsina, S.T., M.Si. selaku Dekan Fakultas Teknik Universitas Bosowa Makassar dan Dosen Pembimbing I.
3. Ibu Hermawati, S.Si., M.Eng. selaku Ketua Program Studi Teknik Kimia Universitas Bosowa Makassar.
4. Bapak Dr. A. Zulfikar Syaiful, S.T., M.T. selaku Dosen Pembimbing II.
5. Segenap Bapak dan Ibu dosen serta karyawan Fakultas Teknik Universitas Bosowa Makassar.
6. Teman-teman jurusan Teknik Kimia Unibos yang telah memberikan motivasi dan bantuan selama penyelesaian skripsi ini.
7. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung.

Dalam penyusunan tugas ini, penulis menyadari bahwa masih terdapat keterbatasan didalamnya. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan. Semoga tugas ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Makassar, 28 Agustus 2017

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR GRAFIK.....	ix
INTISARI	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Asam Sitrat	4
2.2 Struktur Kimia dan Sifat-Sifat Asam Sitrat.....	5
2.3 Manfaat Asam Sitrat.....	6
2.4 Syarat Mutu Asam Sitrat berdasarkan SNI.....	8
2.5 <i>Aspergillus Niger</i>	8
2.6 Kulit Pisang.....	10
2.6.1 Kandungan Kimia dalam Kulit Pisang.....	10
2.6.2 Pemanfaatan Kulit Pisang.....	11
2.6.3 Pisang Kepok (<i>Musa Paradisiaca Linn</i>).....	12
2.6.4 Pisang Ambon (<i>Musa paradisiaca var. Sapientum</i>).....	13
2.7 Produksi Asam Sitrat oleh Kapang.....	14
2.7.1 <i>Surface Fermentation</i> (Fermentasi Permukaan).....	14
2.7.2 <i>Submerged Fermentation</i> (Fermentasi Terendam).....	15
2.7.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Asam Sitrat.....	16
2.8 Titrimetri.....	18

BAB III METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat.....	19
3.2 Alat dan Bahan.....	19
3.2.1 Alat – alat.....	19
3.2.2 Bahan – bahan	19
3.3 Metode Kerja	19
3.3.1 Persiapan Wadah.....	19
3.3.2 Persiapan Sampel.....	20
3.3.3 Pembuatan Suspensi Jamur <i>Aspergillus Niger</i>	20
3.3.4 Pembuatan Media Pertumbuhan.....	20
3.3.5 Penentuan Biomassa dan pH Media Fermentasi.....	20
3.3.6 Penentuan Kadar Asam Sitrat.....	21
3.3.7 Spektroskopi <i>infrared</i>	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap Biomassa.....	22
4.2 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap pH	24
4.3 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap Produksi Asam Sitrat.....	26
4.4 Analisis <i>infrared (IR)</i> Media Fermentasi.....	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Syarat mutu asam sitrat berdasarkan SNI.....	8
Tabel 2.2	Komposisi zat gizi kulit pisang per 100 gram bahan.....	10
Tabel 2.3	Kandungan nilai gizi pada beberapa varietas pisang.....	14



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur asam sitrat.....	5
Gambar 2.2	Koloni dan morfologi <i>Aspergillus niger</i>	9
Gambar 2.3	Buah Pisang Kepok (<i>Musa paradisiaca</i> Linn)	12
Gambar 2.4	Buah Pisang Ambon (<i>Musa paradisiaca</i> var. <i>Sapientum</i>)	13



DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1	Perubahan nilai biomassa media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30 ⁰ C	22
Grafik 4.2	Perubahan nilai biomassa media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30 ⁰ C	23
Grafik 4.3	Perubahan pH media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30 ⁰ C.....	24
Grafik 4.4	Perubahan pH media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30 ⁰ C.....	25
Grafik 4.5	Perubahan kadar asam sitrat media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30 ⁰ C	27
Grafik 4.6	Perubahan kadar asam sitrat media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30 ⁰ C	27
Grafik 4.7	Spektrum <i>Infrared</i> Asam Sitrat	30
Grafik 4.8	Spektrum <i>Infrared</i> Asam Sitrat dari <i>Aspergillus niger</i> pada media fermentasi kulit pisang kepok	31
Grafik 4.9	Spektrum <i>Infrared</i> Asam Sitrat dari <i>Aspergillus niger</i> pada media fermentasi kulit pisang ambon.....	31

INTISARI

Asam sitrat adalah suatu asam trikarboksilat, banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman, deterjen rumah tangga, farmasi, tekstil, kosmetik, dan lainnya. Tujuannya untuk membuat asam sitrat melalui proses fermentasi oleh *Aspergillus niger* dari limbah kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* Linn) dan kulit pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dengan menggunakan karakteristik yang meliputi penentuan derajat keasaman (pH), waktu fermentasi, biomassa total, kadar asam sitrat setelah fermentasi, serta pengaruh penambahan nutrisi NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ terhadap kadar asam sitrat yang diperoleh. Metode yang dilakukan yaitu metode fermentasi kultur permukaan kulit pisang pada kondisi pH 3.5 ; 3.0 ; 2.5 ; 2.0 dan suhu 30°C menggunakan *shaker* inkubator berkecepatan 250 rpm selama 10 hari. Dari hasil penelitian diperoleh kadar asam sitrat dan nilai biomassa pada media fermentasi kulit pisang kepok lebih tinggi dan tetap meningkat dibandingkan media kulit pisang ambon. Persen asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang kepok sesuai urutan kondisi pH berturut-turut adalah 57.52%, 61.18%, 62.33%, dan 59.09%, sedangkan pada media kulit pisang ambon sebesar 37.20%, 38.61%, 39.50% dan 37.88%. Dilihat dari pembentukan dan akumulasi asam sitrat selama 10 hari proses fermentasi, kondisi pH 2.0 merupakan kondisi yang optimal untuk memproduksi asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan limbah kulit pisang kepok dan ambon sehingga dapat meningkatkan nilai tambah dan nilai guna kulit pisang tersebut dan juga tentang penerapan kultur permukaan dalam proses fermentasi.

Kata kunci : asam sitrat, kulit pisang, fermentasi



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam sitrat berperan penting dalam industri modern. Kurang lebih 65% dari total produksi asam sitrat digunakan dalam industri makanan, dan 25% digunakan dalam industri deterjen rumah tangga, sedangkan sisanya digunakan dalam industri tekstil, farmasi, kosmetik, dan lainnya. Saat ini, asam sitrat diproduksi secara komersial dengan jumlah permintaan semakin bertambah setiap tahunnya, yaitu sekitar 7 juta ton/tahun. Akibat besarnya permintaan terhadap asam sitrat, maka dilakukan upaya perbanyak asam sitrat yang lebih cepat, murah dan tidak harus menggunakan buah sitrus sebagai sumber utama.

Wehner (1893) telah berhasil menemukan cara meningkatkan produksi asam sitrat dengan menggunakan mikroba tertentu. Mikroba yang mampu memproduksi asam sitrat cukup banyak. Diantaranya adalah *Aspergillus niger*, *A. wentii*, *A. clavatus*, *Penicillium luteum*, *P. citrinum*, *Mucor priformis*, *Paeocilomyces dicaricatum*, *Citromeaces prefferianus*, *Candida guillermundii*, *Sacharaecopsis lipolytica*, *Trichoderma viride*, *Arthroacter paraffimeaus* dan *Corynebacterium sp.* Wehner (1893) pertama kali melaporkan produksi asam sitrat sebagai hasil samping pada fermentasi produksi asam oksalat dengan menggunakan *Penicillium glaucum*. Tahun 1916, Currie juga melaporkan bahwa *Aspergillus niger* dapat menghasilkan asam sitrat pada medium pH rendah dengan kadar gula tinggi (Austin, 1986). Currie juga menegaskan bahwa strain-strain dari *Aspergillus niger* merupakan fungi yang paling baik untuk digunakan dalam produksi asam sitrat.

Produksi asam sitrat menggunakan *Aspergillus niger* dilakukan melalui proses fermentasi. 80% produksi asam sitrat di dunia menggunakan metode fermentasi terendam (*submerged fermentation*). Namun menurut Carlos *et al.* (2006), cara fermentasi kultur permukaan (*surface culture fermentation*) dapat juga digunakan untuk menumbuhkan *Aspergillus niger*.

Berbagai jenis limbah pertanian dan perkebunan dapat digunakan sebagai media tumbuh (substrat) untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*, misalnya kulit pisang, kulit nenas, ampas singkong, kulit jeruk, wortel, kulit kiwi dan kulit pir. Dengan teknologi fermentasi, hasil limbah ini dapat dimanfaatkan lebih lanjut menjadi produk lain yang berguna seperti pakan ternak, pelarut organik, asam-asam organik seperti asam sitrat dan lain-lain (Judoamidjojo *et al.*, 1989).

Saat ini, kulit pisang merupakan bahan buangan (limbah buah pisang) yang cukup banyak jumlahnya. Menurut Lubiz (2012) jumlah dari kulit pisang yaitu kira-kira 1/3 dari buah pisang yang belum dikupas. Pada umumnya kulit pisang belum dimanfaatkan secara nyata, hanya dibuang sebagai limbah organik saja atau digunakan sebagai makanan ternak seperti kambing, sapi dan kerbau. Terlebih khusus di kota Makassar, limbah kulit pisang yang dihasilkan belum dimanfaatkan secara maksimal, melainkan hanya sebagai limbah tak berguna. Jumlah kulit pisang yang cukup banyak akan memiliki nilai jual yang menguntungkan apabila bisa dimanfaatkan sebagai bahan baku industri masa kini.

Menurut Lim (2012), terdapat beberapa kandungan senyawa yang terdapat di dalam kulit pisang, diantaranya adalah air, gula, protein, antosianin, karotenoid, sterol, serat, inhibitor peroksidasi lipid dan vitamin B₆. Berbagai kandungan tersebut, misalnya air, gula, protein dan vitamin mendukung pertumbuhan *Aspergillus niger* sebagai mikroba penghasil asam sitrat.

Penelitian pemanfaatan kulit pisang dalam memproduksi asam sitrat telah dilakukan oleh Maktsum (2015) dengan cara fermentasi kultur permukaan menggunakan media kulit pisang ayam (*Musa acuminata*), kulit pisang raja (*Musa paradisiaca* cv. *Pisang Raja*, genom *AAB*) dan kulit pisang nipah aceh (*Musa balbisiana*) dengan kondisi pH 3,5 dan suhu 30⁰C. Penelitian ini yang akan menjadi acuan fermentasi dalam penelitian ini.

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan penentuan karakteristik pada proses pembuatan asam sitrat dari limbah kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* Linn) dan kulit pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) menggunakan jamur *Aspergillus niger* yang meliputi penentuan derajat keasaman (pH), waktu fermentasi, biomassa total, dan kadar asam sitrat setelah fermentasi, serta melihat

bagaimana pengaruh nutrisi yang ditambahkan yaitu NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ saat fermentasi terhadap kadar asam sitrat yang diperoleh.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang diperoleh yaitu :

- a. Bagaimana karakteristik masing-masing media fermentasi kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon yang digunakan untuk memproduksi asam sitrat ?
- b. Bagaimana perbandingan nilai pH, waktu fermentasi, biomassa total, dan kadar asam sitrat yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* pada kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon ?
- c. Bagaimana pengaruh nutrisi yang ditambahkan saat fermentasi terhadap kadar asam sitrat yang diperoleh ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuannya adalah :

- a. Menentukan karakteristik masing-masing media fermentasi kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon yang meliputi nilai pH, waktu fermentasi, biomassa total, dan kadar asam sitrat yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*.
- b. Membandingkan nilai pH, waktu fermentasi, biomassa total, dan kadar asam sitrat yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* pada kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon.
- c. Mengamati pengaruh nutrisi (ammonium, fosfat dan magnesium) yang ditambahkan terhadap kadar asam sitrat yang diperoleh.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan limbah kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon sehingga dapat meningkatkan nilai tambah dan nilai guna kulit pisang tersebut dan juga tentang penerapan fermentasi permukaan dalam proses.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Sitrat

Asam Sitrat diyakini ditemukan oleh alkimiawan Arab-Yemen (kelahiran Iran) yang hidup pada abad ke-8, Jabir Ibnu Hayyan. Pada zaman pertengahan, para ilmuwan Eropa membahas sifat asam sari buah lemon dan limau; hal tersebut tercatat dalam Ensiklopedia *Speculum Majus* (Cermin Agung) dari abad ke-13 yang dikumpulkan oleh Vincent dari Beauvais. Asam Sitrat pertama kali diisolasi pada tahun 1784 oleh kimiawan Swedia, Carl Wilhelm Scheele, yang mengkristalkannya dari sari buah lemon (Apelblat, 2014). Pembuatan Asam Sitrat skala industri dimulai pada tahun 1860, terutama mengandalkan produksi jeruk dari Italia. Pada tahun 1893, C. Wehner menemukan bahwa kapang *Penicillium* dapat membentuk Asam Sitrat dari gula. Namun demikian, pembuatan Asam Sitrat dengan mikroba secara industri tidaklah nyata sampai Perang Dunia I mengacaukan ekspor jeruk dari Italia. Pada tahun 1916, kimiawan pangan Amerika, James Currie menemukan bahwa galur tertentu kapang *Aspergillus niger* dapat menghasilkan Asam Sitrat secara efisien, dan perusahaan kimia *Pfizer* memulai produksi Asam Sitrat skala industri dengan cara tersebut dua tahun kemudian. (Carlos *et al.*, 2006)

Di alam, Asam Sitrat tersebar luas sebagai bahan penyusun rasa dari berbagai macam buah-buahan (sitrun, nenas, pir, dan lain-lain). Asam Sitrat terdapat pada berbagai jenis buah dan sayuran, namun ditemukan pada konsentrasi tinggi, yang dapat mencapai 8 % bobot kering, pada jeruk lemon dan limau (misalnya jeruk nipis dan jeruk purut). Karena sifat-sifatnya yang tidak beracun, dapat mengikat logam-logam berat (besi maupun bukan besi), dan dapat menimbulkan rasa yang menarik, Asam Sitrat banyak dimanfaatkan di dalam industri pengolahan alkyd resin. Asam Sitrat alami juga banyak diproduksi di Sisilia, India Barat, Kalifornia, Hawaii, dan di berbagai wilayah lainnya. Produksi Asam Sitrat dengan proses fermentasi diterapkan secara besar-besaran dalam skala industri oleh Jerman pada awal abad ke-20 dan sekarang hampir 90% dari

seluruh produksi Asam Sitrat di Amerika Serikat dihasilkan dengan cara fermentasi (Rahmatullah, 2014).

2.2 Struktur Kimia dan Sifat-Sifat Asam Sitrat

Asam sitrat mempunyai struktur yang dibentuk dari atom C, O dan H. Rumus asam sitrat yaitu $(\text{COOH})\text{CH}_2\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})\text{CH}_2\text{COOH}$ atau $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ dikenal sebagai 2-hidroksi-1,2,3-propana asam trikarboksilat. Asam sitrat mempunyai gugus enam karbon asam trikarboksilat. Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil COOH yang dapat melepas proton dalam larutan. Jika hal ini terjadi, ion yang dihasilkan adalah ion sitrat.



Gambar 2.1. Struktur Asam Sitrat; A. 3 dimensi, B. 2 dimensi
Sumber : NIST Chemistry Webbook, 2017

Asam sitrat memiliki titik didih 219 F dengan pH 0,6. Sitrat sangat baik digunakan dalam larutan penyangga untuk mengendalikan pH larutan. Ion sitrat dapat bereaksi dengan banyak ion logam membentuk garam sitrat. Selain itu, sitrat dapat mengikat ion-ion logam dengan pengkelatan, sehingga digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan air (Puspita *et al.*, 2013).

Pada temperatur kamar, asam sitrat berbentuk serbuk kristal berwarna putih. Serbuk kristal tersebut dapat berupa bentuk *anhydrous* (bebas air), atau bentuk monohidrat yang mengandung satu molekul air untuk setiap molekul asam sitrat. Bentuk *anhydrous* asam sitrat mengkristal dalam air panas, sedangkan bentuk monohidrat didapatkan dari kristalisasi asam sitrat dalam air dingin. Bentuk monohidrat tersebut dapat diubah menjadi bentuk *anhydrous* dengan pemanasan di atas 74 °C. Secara kimia, asam sitrat bersifat seperti asam karboksilat lainnya. Jika dipanaskan di atas 175 °C, asam sitrat terurai dengan melepaskan karbon dioksida dan air (Pratama, 2015).

- **Sifat-sifat Umum**
 Nama Asam sitrat
 Rumus kimia C₆H₈O₇
 Bobot rumus 192,13.
 Nama lain asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat
- **Sifat perubahan fase**
 Titik lebur 426 K (153 °C)
 Temperatur penguraian termal 448 K (175 °C)
- **Sifat asam-basa**
 pK_{a1} 3,15
 pK_{a2} 4,77
 pK_{a3} 6,40
- **Sifat padatan**
 $\Delta_f H^0$ -1543,8 kJ/mol S^0 252,1 J/(mol·K)
 C_p 226,5 J/(mol·K)
 Densitas $1,665 \times 10^3$ kg/m³
- **Keamanan**
 Efek akut menimbulkan iritasi kulit dan mata.
 Efek kronik Tidak ada.

2.3 Manfaat Asam Sitrat

Berbagai macam manfaat asam sitrat telah berhasil diteliti oleh para ilmuwan dunia. Asam sitrat sering digunakan dalam industri makanan dan minuman. Sifat alamiah asam ini membuatnya tidak hanya dapat digunakan secara umum sebagai bahan pengasam, namun juga sebagai pencita rasa, pengatur pH, pengawet, stabilisator dan antioksidan. Asam sitrat pada minuman digunakan sebagai pengatur rasa asam pada berbagai jenis minuman ringan (*soft drink*), jus buah dan sayuran, *wine*, cuka dan bermacam bubuk minuman. Keuntungan dari penambahan asam sitrat di minuman adalah mampu membuat rasa asam yang seimbang dalam buah, serta mengatur pH minimum tetap berkisar 2,5-4,5. Kandungan asam sitrat dalam minuman berkarbon rasa buah berkisar 0,10-0,25% dan 0,25-0,40% dalam minuman tanpa karbon, tergantung pada rasa minuman

tersebut. Bubuk minuman mengandung 1,5-5,0% asam sitrat (Hui & Khachatourians, 1995).

Selain minuman, asam sitrat juga berperan penting dalam industri makanan. Buah, sayuran dan makanan laut biasanya ditambahkan pengasam asam sitrat selama proses pengalengan maupun pembekuan. Asam sitrat akan menurunkan pH makanan dan merubah proses kimia makanan. Selain itu, pH rendah akan mencegah pertumbuhan organism tertentu yang sangat berbahaya, terutama *Clostridium botulinum*. Asam sitrat ini akan melambatkan aksi enzimatis alami makanan dan menghambat perubahan rasa dan warna makanan (Arora *et al.*, 1991). Dalam resep makanan, asam sitrat dapat digunakan sebagai pengganti sari jeruk.

Asam sitrat dalam industri kosmetik digunakan pada produk *skin care* yang mengandung asam alfa-hidroksi (glikolik, laktat, tartarat dan asam sitrat). Produk ini dapat membantu mengurangi pori-pori yang besar, bintik hitam, kerutan, alergi dan lainnya (Ashour *et al.* 2014).

Sifat sitrat sebagai larutan penyangga juga digunakan sebagai pengendali pH dalam larutan pembersih dalam rumah tangga dan obat-obatan. Kemampuan asam sitrat untuk mengkelat logam menjadikannya berguna sebagai bahan sabun dan deterjen. Dengan mengkelat logam pada air sadah, asam sitrat memungkinkan sabun dan deterjen membentuk busa dan berfungsi dengan baik tanpa penambahan zat penghilang kesadahan. Demikian pula, asam sitrat digunakan untuk memulihkan bahan penukar ion yang digunakan pada alat penghilang kesadahan dengan menghilangkan ion-ion logam yang terakumulasi pada bahan penukar ion tersebut sebagai kompleks sitrat. Asam sitrat digunakan di dalam industri bioteknologi dan obat-obatan untuk melapisi (*passivate*) pipa mesin dalam proses kemurnian tinggi sebagai ganti asam nitrat, karena asam nitrat dapat menjadi zat berbahaya setelah digunakan untuk keperluan tersebut, sementara asam sitrat tidak. Asam sitrat dapat pula ditambahkan pada es krim untuk menjaga terpisahnya gelembung-gelembung lemak (Rachman, 2015).

2.4 Syarat Mutu Asam Sitrat Berdasarkan SNI

No.	Uraian	Persyaratan
1.	Kadar asam sitrat, %	min, 99.5
2.	Sisa pemijaran, %	maks, 0.05
3.	Logam berat, sebagai Pb, ppm	maks, 10
4.	Zat yang mudah mengarang	memenuhi syarat uji
5.	Kalsium	memenuhi syarat uji
6.	Asam iso sitrat	memenuhi syarat uji
7.	Oksalat	memenuhi syarat uji
8.	Sulfat	memenuhi syarat uji
9.	Hidrokarbon aromatik polisiklik	memenuhi syarat uji

Tabel 2.1. Syarat mutu asam sitrat (*Badan Standarisasi Nasional, 2017*)

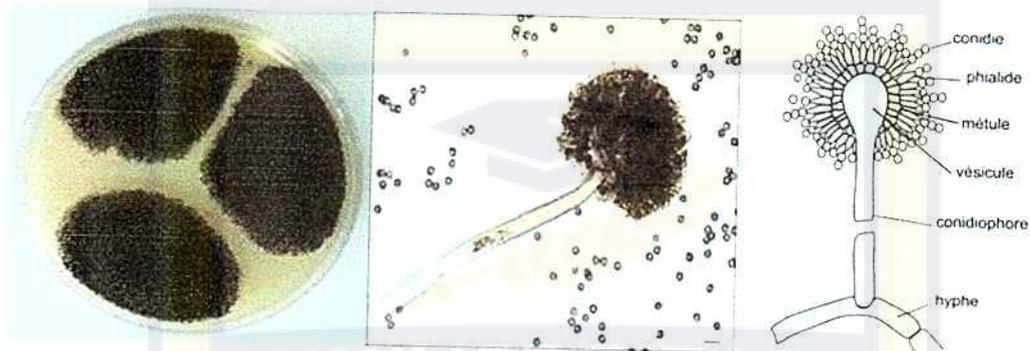
2.5 *Aspergillus Niger*

Aspergillus niger dikenal sebagai salah satu mikroorganismenya yang memiliki kemampuan tinggi untuk menghasilkan enzim asparaginase. Kedudukan *Aspergillus niger* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi
Filum : Ascomycota
Klas : Ascomycetes
Ordo : Eurotiales
Famili : Trichocomaceae
Genus : *Aspergillus*
Spesies : *Aspergillus niger* (Samson, *et al.*,1996)

Ciri-ciri *Aspergillus niger* yaitu mempunyai kepala konidia yang besar, bulat dan berwarna hitam, coklat hitam atau ungu coklat. Konidiana kasar dan mengandung pigmen, hifa septat dan miselium bercabang. Konidiofora membengkak membentuk vesikel pada ujungnya membawa sterigmata dimana tumbuh konidia. Konidia membentuk rantai berwarna hijau, coklat atau hitam, Jamur ini tumbuh baik pada suhu kamar dan pada medium pH asam. *Aspergillus niger* dapat tumbuh cepat dengan menggunakan nutrisi yang ada di sekelilingnya.

Molekul–molekul sederhana seperti monosakarida yang terlarut di sekeliling hifa dapat diserap langsung oleh hifa, tetapi polimer–polimer seperti amilum atau selulosa harus dipecah dulu oleh enzim-enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* menjadi molekul–molekul yang lebih sederhana sebelum diserap ke dalam sel (Tohir, 2014).



Gambar 2.2. Koloni dan Morfologi *Aspergillus Niger*

Berdasarkan Amriani (2014), karakteristik umum dari *Aspergillus niger* antara lain :

- a) Warna konidia hitam kelam atau hitam kecoklatan dan berbentuk bulat.
- b) Termofilik, tidak terganggu pertumbuhannya karena adanya peningkatan suhu.
- c) Dapat hidup dalam kelembaban nisbi 80 %.
- d) Dapat menguraikan benzoat dengan hidroksilasi menggunakan enzim benzoat-4 hidroksilase menjadi 4-hidroksibenzoat.
- e) Memiliki enzim 4-hidroksibenzoat hidroksilase yang dapat menghidrolisa 4-hidroksibenzoat menjadi 3,4-dihidroksi benzoat.
- f) Menghasilkan lebih banyak enzim endoglukanase dan β -glukosidase dan sedikit enzim eksoglukanase.
- g) Pertumbuhannya dihambat oleh Natrium & Formalin.
- h) Dapat merusak bahan pangan yang dikeringkan atau bahan makanan yang memiliki kadar garam tinggi.
- i) Dapat mengakumulasi asam sitrat.

2.6 Kulit Pisang

2.6.1 Kandungan Kimia dalam Kulit Pisang

Kandungan unsur gizi kulit pisang cukup lengkap, seperti karbohidrat, lemak, protein, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin B, vitamin C dan air. Unsur-unsur gizi inilah yang dapat digunakan sebagai sumber energi (Lubiz, 2012).

Buah pisang banyak mengandung karbohidrat baik isinya maupun kulitnya. Pisang mempunyai kandungan khrom yang berfungsi dalam metabolisme karbohidrat dan lipid. Khrom bersama dengan insulin memudahkan masuknya glukosa ke dalam sel-sel. Kekurangan khrom dalam tubuh dapat menyebabkan gangguan toleransi glukosa. Umumnya masyarakat hanya memakan buahnya saja dan membuang kulit pisang begitu saja. Di dalam kulit pisang ternyata memiliki kandungan vitamin C, B, kalsium, protein, dan juga lemak yang cukup. Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa komposisi kulit pisang banyak mengandung air yaitu 68,90 % dan karbohidrat sebesar 18,50 %. Komposisi zat gizi kulit pisang dapat dilihat pada tabel 2.2 di bawah ini:

No.	Zat Gizi	Kadar
1	Air (g)	68,90
2	Karbohidrat (g)	18,50
3	Lemak (g)	2,11
4	Protein (g)	0,32
5	Kalsium (mg)	715
6	Fosfor (mg)	117
7	Zat besi (mg)	1,60
8	Vitamin B (mg)	0,12
9	Vitamin C (mg)	17,50

Tabel 2.2. Komposisi Zat Gizi Kulit Pisang per 100 gram bahan (Munadjim, 1988)

Karbohidrat atau Hidrat Arang yang dikandung oleh kulit pisang adalah amilum. Amilum atau pati ialah jenis polisakarida karbohidrat (karbohidrat kompleks). Amilum (pati) tidak larut dalam air, berwujud bubuk putih, tawar dan tidak berbau. Pati merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) dalam jangka panjang. Hewan dan manusia juga menjadikan pati sebagai sumber energi yang penting. Amilum merupakan sumber energi utama bagi orang dewasa di seluruh penduduk

dunia, terutama di negara berkembang oleh karena di konsumsi sebagai bahan makanan pokok. Disamping bahan pangan kaya akan amilum juga mengandung protein, vitamin, serat dan beberapa zat gizi penting lainnya (Lubiz, 2012).

2.6.2 Pemanfaatan Kulit Pisang

Umumnya buah pisang dapat dinikmati dalam keadaan segar atau dalam bentuk olahan. Hampir semua bagian dari tanaman pisang dapat dimanfaatkan, seperti daun, batang, bonggol pisang, bunga pisang, dan kulit buah pisang sekalipun. Begitu banyak makanan tradisional khas daerah yang memerlukan pengemasan dengan daun pisang, sehingga begitu besar ketergantungannya pada tanaman pisang.

Bagian dari pisang yang selama ini masih jarang dimanfaatkan adalah kulit pisang. Melalui cara pengolahan yang cukup sederhana, kulit pisang dari jenis pisang raja dan pisang ambon dapat diolah menjadi bahan baku minuman anggur (*wine*).

Menurut Nurhadi (2013), kulit pisang bisa dijadikan alternatif bahan dasar pembuatan tisu. Kulit pisang memiliki tekstur yang tebal dan mengandung selulosa yang merupakan bahan pembuatan tisu. Selain itu, kulit pisang memiliki kandungan vitamin C, B, kalsium, Protein dan juga lemak yang cukup baik. Sehingga kulit pisang memiliki banyak manfaat untuk kulit seperti menghilangkan jerawat, menyembuhkan psoriasis, menghilangkan kutil kecil, membantu luka kering lebih cepat dan lain lain.

Berdasarkan penelitian Julfan *et al.* (2016), ternyata kulit pisang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan dodol. Hasil uji organoleptik penelitian tersebut menunjukkan dodol berwarna agak coklat, aroma agak harum khas kulit pisang, rasa manis dan bertekstur kenyal. Dodol tersebut secara umum telah diterima panelis dengan tingkat kesukaan secara keseluruhan sebesar 3,67.

Selain itu, kulit pisang juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan jelly, sirup glukosa, asam cuka, bioetanol, zat pektin, dan sebagainya.

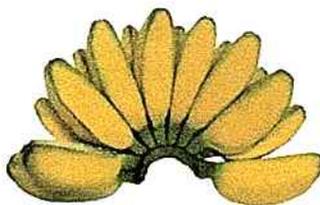
2.6.3 Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn)

Klasifikasi tanaman pisang kepok menurut Tjitrosoepomo (1991), adalah sebagai berikut :

<i>Regnum</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Sub divisio</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Classis</i>	: <i>Monocotyledoneae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Musales</i>
<i>Familia</i>	: <i>Musaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Musa</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Musa paradisiaca</i> L.

Tanaman pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) merupakan tanaman dalam golongan terna monokotil tahunan berbentuk pohon yang tersusun atas batang semu. Batang semu ini merupakan tumpukan pelepah daun yang tersusun secara rapat dan teratur. Percabangan tanaman bertipe simpodial dengan meristem ujung memanjang dan membentuk bunga lalu buah. Bagian bawah batang pisang menggembung berupa umbi yang disebut bonggol. Pucuk lateral (*sucker*) muncul dari kuncup pada bonggol yang selanjutnya tumbuh menjadi tanaman pisang. Buah pisang umumnya tidak berbiji atau bersifat partenokarpi.

Pisang kepok merupakan salah satu buah pisang yang enak dimakan setelah setelah diolah terlebih dahulu. Pisang kepok memiliki buah yang sedikit pipih dan kulit yang tebal, jika sudah matang warna kulit buahnya akan menjadi kuning. Pisang kepok memiliki banyak jenis, namun yang lebih dikenal adalah pisang kepok putih dan pisang kepok kuning. Warna buahnya sesuai dengan nama jenis pisangannya, yaitu putih dan kuning. Pisang kepok kuning memiliki rasa yang lebih enak, sehingga lebih disukai masyarakat (Prabawati *et al.*, 2008).

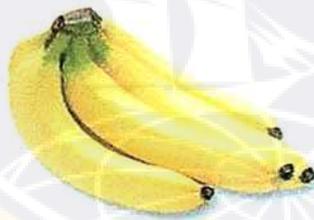


Gambar 2.3. Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* Linn)

2.6.4 Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*)

Pisang ambon tumbuh dan berkembang subur di daerah tropis (30⁰ LU – 30⁰ LS) suhu optimum untuk tumbuh 27-30⁰C dan suhu maksimum 38⁰C. Curah hujan antara 1400-2450mm pertahun dengan penyebaran yang merata. Tanaman pisang memerlukan pengairan di daerah dengan musim kering yang panjang. Klasifikasi botani tanaman pisang ambon (Prasetyo, 2008) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Sub divisi	: <i>Angiosperma</i>
Kelas	: <i>Monocotyledone</i>
Sub kelas	: <i>Commelinidae</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Familia	: <i>Musaceae</i>
Genus	: <i>Musa</i>
Spesies	: <i>Musa paradisiacal</i>
Varietas	: <i>Sapientum</i>



Gambar 2.4. Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*)

Pisang ambon kuning ukurannya lebih besar dari jenis pisang ambon lainnya. Biasanya dalam satu tandan berisi 9 sisir atau 129 buah. Warna kulit kuning muda, tidak terlalu tebal. Daging buah dari buah pisang yang sudah matang berwarna kuning putih kemerahan, pulen, manis, dan mempunyai aroma yang harum (Nuswamarhaeni *et al.*, 1999). Kandungan gizi buah pisang ambon antara lain kaya akan vitamin dan mineral seperti kalium, magnesium, fosfor, besi, kalsium dan vitamin C. Kandungan nilai gizi pada beberapa varietas pisang (per 100 gram) dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. Kandungan nilai gizi pada beberapa varietas pisang (per 100 gram)

Zat Gizi	Ambon	Nangka	Kepok	Raja Sereh	Siam
Energi (Kal)	92	121	115	108	268
Protein (g)	1,0	1,0	1,2	1,3	4,3
Lemak (g)	0,3	0,1	0,4	0,3	12,6
Karbohidrat (g)	24,0	28,9	26,8	28,2	58,1
Kalsium (mg)	20	9	11	16	20,4
Fosfor (mg)	42	37	43	38	44,2
Besi (mg)	0,5	0,9	1,2	0,1	1,6
Vitamin A (RE)	0	0	0	0	17
Vitamin B (mg)	0,05	0,13	0,10	1,002	20,4
Vitamin C (mg)	3,0	3,4	2,0	2	0,01
Air (g)	73,8	68,9	70,7	69,3	62,0
Bagian yang dapat dimakan (%)	70	72	62	86	75

Sumber : Depkes RI, 1990

2.7 Produksi Asam Sitrat oleh Kapang

Dalam proses produksi asam sitrat yang sampai saat ini lazim digunakan, biakan kapang *Aspergillus niger* diberi sukrosa agar membentuk asam sitrat. Setelah kapang disaring dari larutan yang dihasilkan, asam sitrat diisolasi dengan cara mengendapkannya dengan kalsium hidroksida membentuk garam kalsium sitrat. Asam sitrat diregenerasikan dari kalsium sitrat dengan penambahan asam sulfat.

Cara lain adalah dengan menggunakan metode fermentasi. Proses fermentasi terbagi menjadi dua macam, yaitu:

- a. *Surface fermentation* (fermentasi permukaan)
- b. *Submerged fermentation* (fermentasi terendam)

(Puspita *et al.*, 2013).

2.7.1 *Surface Fermentation* (Fermentasi Permukaan)

Pada proses *surface fermentation* digunakan kapang *Aspergillus niger*. Proses fermentasi permukaan ini diterapkan dalam dunia industri sejak tahun 1920-an. Sebelum mengalami proses fermentasi bahan baku diencerkan terlebih dahulu hingga konsentrasi gula 30% dalam mixer. Setelah itu ditambahkan asam sulfat, pospor, potassium dan nitrogen dalam bentuk asam atau garam sebagai

nutrien. Campuran ini kemudian disterilkan lalu diencerkan kembali hingga konsentrasi gula mencapai 15% dan selanjutnya difermentasikan.

Proses fermentasi dilakukan didalam tangki-tangki yang terbuat dari alumunium. Inokulum (*Aspergillus niger*) disebarkan bersama-sama dengan udara. Waktu inkubasi selama 9 – 11 hari. Lapisan lendir yang terbentuk dipermukaan medium diambil dan diekstraksi, sedangkan cairan hasil fermentasi diberi perlakuan panas dan penambahan kalsium hidroksida (pH 8,5) sehingga dihasilkan kalsium sitrat. Kebutuhan energi untuk *surface fermentation* tidak banyak karena proses aerasi menggunakan peralatan yang sederhana yaitu berupa kipas yang menghasilkan udara dan digerakkan oleh motor elektrik, energi yang dibutuhkan 1,3 – 2,6 mJ/m³.

2.7.2 *Submerged Fermentation (Fermentasi Terendam)*

Pada proses *submerged fermentation*, proses fermentasi ini terbagi dua macam berdasarkan mikroorganisme yang digunakan diantaranya adalah *submerged fermentation* menggunakan kapang *Aspergillus niger* dan *submerged fermentation* menggunakan yeast dalam hal ini adalah *Candida guilliermondii*.

Pada proses fermentasi menggunakan kapang, mikroorganisme *Aspergillus niger* ditumbuhkan dengan mendispersikannya dalam media cair. Bejana fermentasi tersusun atas tangki - tangki steril yang berkapasitas beberapa ratus kubik meter (1000 galon) dengan dilengkapi pengaduk mekanik serta pemasukan sejumlah udara steril. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh amelung-perquin, dimana produksi asam sitrat dengan proses biakan celup mempertimbangkan penggunaan phospat yang terbatas. Proses fermentasi asam sitrat terdiri dari dua tahap. Pertama fase pertumbuhan miselium dan kedua fase fermentasi pembentukan produk. Keduanya dikarakteristikan oleh laju penyerapan karbohidrat. Pada fase pertama digunakan untuk pembentukan miselium dan pada tahap kedua karbohidrat diubah menjadi asam sitrat. 80% produksi asam sitrat dunia menggunakan metode ini.

Dalam skala industri *Aspergillus niger* adalah strain yang paling tepat untuk fermentasi, walaupun pada awalnya menghasilkan sedikit yield, namun

dalam perkembangan selanjutnya penambahan methanol dalam larutan fermentasi akan menghasilkan yield yang besar. Sampai sekitar tahun 1969 atau 1970, *Aspergillus niger* dianggap sebagai satu-satunya asam sitrat dalam skala industri.

Pada tahun 1970, sebuah inovasi baru yang mendemonstrasikan bahwa produksi asam sitrat dapat dilakukan dengan menggunakan yeast seperti *Candida guilliermondii* yang mengandung glukosa atau molasses hitam pekat yang ekuivalen dengan sejumlah glukosa. Waktu fermentasi lebih singkat daripada *Aspergillus niger*. Penggunaan strain candida sangat efektif untuk pembuatan asam sitrat dari hidrokarbon, dimana konversi yang dihasilkan dapat mencapai lebih dari 10%. Secara umum proses submerged fermentation membutuhkan suplai energi yang cukup banyak, karena mencakup proses pengadukan, aerasi, serta pendinginan. Kebutuhan energi berkisar 8–16 mJ/m³ (28,5–57 Btu/gal) (Kirk Othmer 1945).

2.7.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Asam Sitrat

Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi asam sitrat adalah pemilihan strain; konsentrasi substrat; dan pengaruh kondisi fermentasi yang meliputi temperatur, derajat keasaman, serta luas permukaan. Pemilihan strain dalam industri fermentasi harus memenuhi syarat-syarat tertentu yaitu murni, unggul, stabil dan bukan patogen. Konsentrasi substrat harus diatur dengan tepat (tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah). Substrat akan dirombak oleh mikroorganisme dengan bantuan enzim membentuk asam sitrat. Substrat yang terlalu pekat mengakibatkan naiknya tekanan osmosis. Apabila tekanan osmosis lingkungan lebih tinggi dari sitoplasma, akan mengakibatkan sitoplasma kehilangan air yang selanjutnya isi sel akan mengecil dan struktur sel akan hancur. Substrat yang terlalu encer akan mengakibatkan laju pertumbuhan menjadi lambat.

Temperatur sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan produksi asam sitrat. Agar dihasilkan konsentrasi asam sitrat yang tinggi maka fermentasi harus berlangsung pada temperatur optimal berkisar 25 – 30°C. Di atas temperatur optimum, kecepatan tumbuh sel akan menurun secara cepat yang berlawanan dengan kenaikan temperatur. Temperatur yang terlalu tinggi akan mempengaruhi

membran sel mikroorganisme, di mana membran sel akan menjadi cair sehingga sel kehilangan strukturnya. Sedangkan pada temperatur rendah akan menyebabkan membran sel menjadi padat. Hal ini berkaitan dengan struktur membran yang terdiri dari lapisan lemak dan protein yang akan mengeras pada temperatur rendah sehingga proses pemasukan makanan melalui lapisan membran sel tidak terjadi dan dapat menyebabkan kematian dari sel mikroorganisme tersebut.

Pengaturan pH penting bagi keberhasilan proses fermentasi. Untuk fermentasi asam sitrat pH optimum adalah 3, sedangkan pH optimum untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah 2,5 – 3,5. Penurunan pH menyebabkan produksi asam sitrat berkurang. Hal ini disebabkan pada pH rendah ion ferrosinida lebih toksik bagi pertumbuhan miselium. Pada pH yang tinggi terjadi akumulasi asam oksalat.

Pada metode fermentasi permukaan, faktor luas permukaan juga harus diperhatikan. Karena proses fermentasi hanya berlangsung pada permukaan bidang media, maka untuk mendapatkan hasil yang maksimal, luas permukaan diusahakan seluas mungkin dengan memperkecil ketebalan cairan (pada media cair) atau memperkecil ukuran partikel pada media padat (Schlegel 1986).

Parameter lain yang menentukan produksi asam sitrat maksimum adalah adanya oksigen. Oleh karena itu proses aerasi saat fermentasi harus dikontrol untuk dapat menghasilkan rendemen asam sitrat yang maksimum. Kadar oksigen harus antara 20-25%, dengan laju aerasi 0,2-1 vvm. Sedangkan untuk pengadukan, karena viskositas larutan tidak tinggi dan kultivasi yang dilakukan juga pada skala kecil, maka tidak perlu dilakukan pengadukan yang terus menerus dan hanya dibantu dengan shaker saja agar oksigen yang berada diatas permukaan substrat dapat tercampur merata ke substrat sehingga aliran oksigen merata.

Mekanisme pembentukan asam sitrat seperti dinyatakan dengan siklus Krebs atau siklus asam trikarboksilat, yaitu bahwa asam piruvat yang diperoleh dari glukosa menghasilkan *Acetil CoA* yang berkondensasi dengan asam oxaloasetat yang telah terbentuk dalam siklus menghasilkan asam sitrat. Pada *Aspergillus niger* fosfoenol piruvat dapat diubah langsung menjadi oksaloasetat

(tanpa melalui piruvat) oleh enzim fosfenol piruvat karboksilase. Reaksi tersebut membutuhkan ATP sebagai sumber energi, Mg^{2+} atau Mn^{2+} dan K^+ atau NH_4^+ .

Biomassa mikroorganime juga menjadi faktor yang terlibat dalam pengujian pembuatan asam sitrat ini. Berdasarkan Li dan Orduna (2010), biomassa merupakan parameter yang diperlukan untuk penentuan laju pertumbuhan dan banyaknya produksi dari metabolit. Metode standar yang digunakan untuk menghitung biomassa adalah perhitungan berat kering menggunakan oven.

2.8 Titrimetri

Perhitungan kadar asam sitrat pada penelitian ini menggunakan metode titrasi. Menurut Alam (2013), titrimetri merupakan suatu metode analisa kuantitatif didasarkan pada pengukuran volume titran yang bereaksi sempurna dengan analit. Titran merupakan zat yang digunakan untuk mentitrasi dan dalam penelitian ini adalah NaOH. Analit adalah zat yang akan ditentukan konsentrasi atau kadarnya. Selanjutnya akan dikatakan titik ekuivalen dari titrasi telah dicapai. Larutan standar merupakan larutan yang telah diketahui konsentrasinya. Agar diketahui kapan harus berhenti menambahkan titran, kimiawan dapat menggunakan bahan kimia, yaitu indikator, bereaksi terhadap kehadiran titran yang berlebih dengan melakukan perubahan warna. Perubahan warna ini bisa saja terjadi persis pada titik ekuivalen, tetapi bisa juga tidak. Titik dalam titrasi dimana indikator berubah warnanya disebut titik akhir. Tentu saja diharapkan, bahwa titik akhir ini sedekat mungkin dengan titik ekuivalen. Pemilihan indikator untuk membuat kedua titik sama (atau mengoreksi perbedaan di antara keduanya) adalah satu aspek yang penting dalam metode titrimetri.



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian telah dilaksanakan dari bulan Maret hingga April tahun 2017 di Unit PCR Laboratorium Sains Terpadu Fakultas MIPA dan Laboratorium Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin, Makassar.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat - Alat

Alat-alat yang digunakan adalah : inkubator merek Memmert, *shaker incubator* merek Jisico, erlenmeyer, autoklaf merek Tomy SX-500, cawan petri, oven merek Memmert, timbangan analitik merek Mettler Toledo, buret, rak tabung reaksi, batang statif, gelas kimia, pipet tetes, saringan, blender merek Maspion, alat spektrofotometri merek Shimadzu, alat sentrifugasi merek Tomy MX-305, tabung *centrifuge*, ose bulat, tabung reaksi, pH meter merek Lutron, spektrofotometer merek Optima SP-300, dan *Laminar Air Flow* merek Esco.

3.2.2 Bahan – Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah : biakan murni *Aspergillus Niger*, kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca Linn*), kulit pisang ambon (*Musa paradisiaca var. Sapientum*), NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaCl 0.9%, $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 70%, HCl 5 N, NaOH 0.9790 N, indikator phenolptalein, akuadest, kapas, kain kasa steril, aluminium foil, kertas buram dan kertas pH merek Merck.

3.3 Metode Kerja

3.3.1 Persiapan Wadah

Alat-alat gelas yang digunakan dalam penelitian mikrobiologi disterilkan dari segala jenis mikroorganisme dengan cara semua alat tersebut dibungkus dengan kertas buram dan disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C . Meja yang digunakan dalam penelitian ini disemprot dengan alkohol 70% agar tidak terjadi kontaminasi.

3.3.2 Persiapan sampel

Kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pedagang gorengan di Makassar. Karakteristik kulit pisang yang digunakan adalah kulit pisang yang sudah tua secara alami, masih segar dan ditandai warna kuning keemasan pada kulitnya. Selanjutnya masing-masing kulit pisang tersebut dibersihkan, dipotong-potong, dan dikeringkan menggunakan oven selama ± 24 jam dengan suhu 60°C . Kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menyerupai bubuk. Lalu bubuk diayak menggunakan saringan.

3.3.3 Pembuatan Suspensi Jamur *Aspergillus niger*

Biakan murni *Aspergillus Niger* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar. Biakan dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0.9% menggunakan ose bulat yang telah disterilkan. Tabung reaksi kemudian dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer hingga diperoleh tingkat transmitansi 75% terhadap blanko larutan NaCl 0.9%.

3.3.4 Pembuatan Media Pertumbuhan

Bubuk kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon digunakan sebagai media pertumbuhan (substrat) dan sumber nutrisi bagi *Aspergillus niger*. Masing-masing substrat pisang diambil sebanyak 30 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan beberapa komponen nutrisi yaitu NH_4NO_3 0.625 g, KH_2PO_4 0.75 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.0625 g. Kemudian ditambahkan akuades hingga 250 ml. Masing-masing media disesuaikan pada varian pH 2,0; 2,5; 3,0 dan 3,5 menggunakan HCl 5N. Lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 120°C dan tekanan 15 psi. Suspensi *Aspergillus niger* yang telah diperoleh tingkat kekeruhannya sebesar 75%T ditambahkan ke dalam media dengan perbandingan 1:10. Media difermentasikan di dalam *shaker* inkubator dengan suhu 30°C , kecepatan 250 rpm, selama 10 hari.

3.3.5 Penentuan Biomassa dan pH Media Fermentasi

Penentuan biomassa dan pH media dilakukan setiap hari ke-2, 4, 6 dan 8 dan 10 hari fermentasi. Masing-masing sampel media diambil sebanyak 3 ml dan

disentrifus pada putaran 10.000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan endapan sel. Selanjutnya supernatan digunakan untuk menentukan pH media selama fermentasi dan dibuat kurva perbandingan pH selama fermentasi. Endapan yang diperoleh selanjutnya dicuci dengan akuadest dan dikeringkan di oven pada suhu 80°C selama 24 jam, lalu ditimbang dengan timbangan analitik.

3.3.6 Penentuan Kadar Asam Sitrat

Setiap hari ke-2, 4, 6, 8 dan 10 sampel media hasil fermentasi diambil sebanyak 25 ml, kemudian dilarutkan dengan akuadest hingga 100 ml ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes indikator Phenolptalein dan ditentukan persen kandungan asam sitrat secara titrimetrik menggunakan NaOH 0.9790 N.

3.3.7 Spektroskopi *Infrared*

Sampel untuk analisis *infrared* diambil pada hari ke-6 fermentasi. Sebanyak ±5 ml sampel diambil dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse, lalu disentrifugasi. Selanjutnya supernatan digunakan untuk analisis *infrared*. Alat spektrofotometer yang digunakan dari Laboratorium Instrumen Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang.

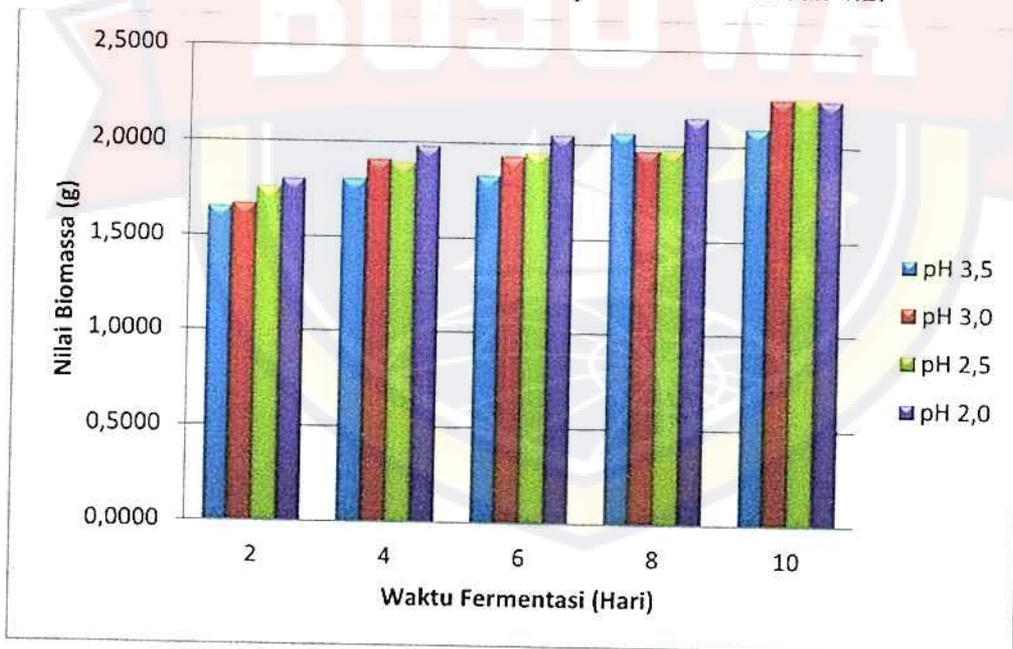
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

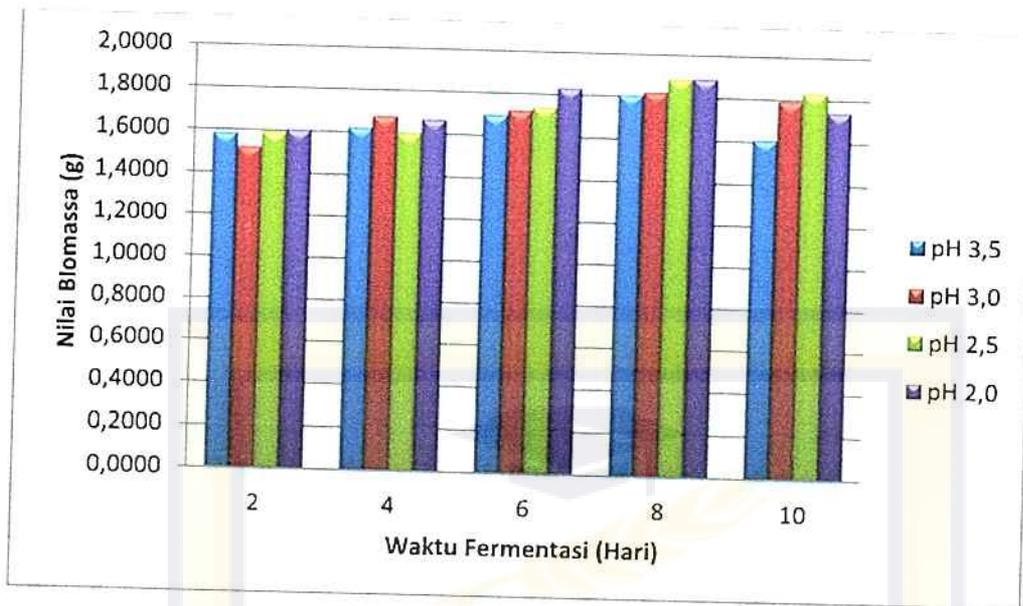
4.1 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap Biomassa

Pada prinsipnya, pembuatan asam sitrat ini adalah mengubah sukrosa (yang merupakan substratnya) menjadi asam sitrat melalui proses fermentasi dengan bantuan jamur *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* digunakan dalam proses ini karena *Aspergillus niger* memiliki enzim amilase, glucoamilase atau amiloglukosedase sehingga senyawa karbohidrat akan dipecah menjadi glukosa, dan melalui jalur glikolisis glukosa akan diubah menjadi asam piruvat. Asam piruvat melalui siklus kreb akan diubah menjadi asam sitrat (Pagianni, 2007).

Dua jenis media yang digunakan sebagai media fermentasi untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* adalah kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon. Masing-masing media fermentasi terdapat perubahan nilai biomassa. Perbedaan nilai biomassa selama 10 hari dapat dilihat pada Grafik 4.1 dan 4.2.



Grafik 4.1. Perubahan nilai biomassa media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30⁰C



Grafik 4.2. Perubahan nilai biomassa media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30⁰C

Berdasarkan Grafik 4.1, pada hari ke-10 nilai biomassa pada media fermentasi kulit pisang kepok terus meningkat di semua varian media. Sedangkan dilihat pada Grafik 4.2, nilai biomassa media fermentasi kulit pisang ambon mengalami penurunan. Perbedaan ini disebabkan oleh banyak sedikitnya sumber karbon dalam masing-masing media fermentasi. Media fermentasi kulit pisang kepok memiliki kandungan gula yang lebih tinggi dibandingkan kulit pisang ambon. Menurut Munadjim (1988) pada kulit pisang kepok terdapat kandungan gula 7.62%, sedangkan pada pisang ambon sebesar 5.44%. Berdasarkan Yigitoglu (1992) dan Emeka *et al.* (2012) terdapat hubungan antara sumber karbon dalam media fermentasi dengan pertumbuhan *Aspergillus niger*. Semakin tinggi sumber karbon yang ada pada media fermentasi, maka semakin besar tingkat pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam menghasilkan asam sitrat. Namun, bila karbon mengalami penurunan, maka pertumbuhan akan terhambat dan *Aspergillus niger* berada dalam fase stasioner sebelum akhirnya mati.

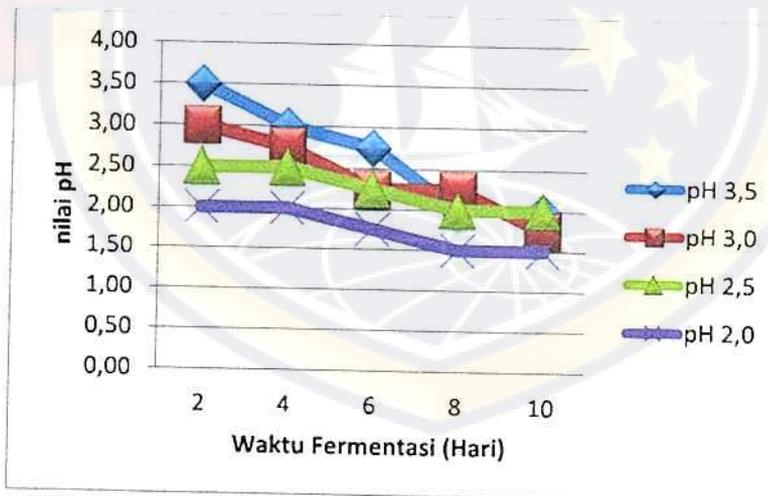
Peningkatan biomassa pada media fermentasi kulit pisang kepok dapat juga disebabkan karena kulit pisang kepok memiliki persentase bahan organik yang lebih tinggi dibandingkan kulit pisang ambon. Bahan organik yang terdiri

dari protein, karbohidrat dan lemak dijadikan sumber energi bagi pertumbuhan dan aktifitas kapang *Aspergillus niger*. Menurut Merlina (2012), *Aspergillus niger* selama fermentasi melakukan perombakan bahan organik pada media tumbuh yang ditandai dengan tumbuhnya miselia sehingga terjadi pembentukan massa sel.

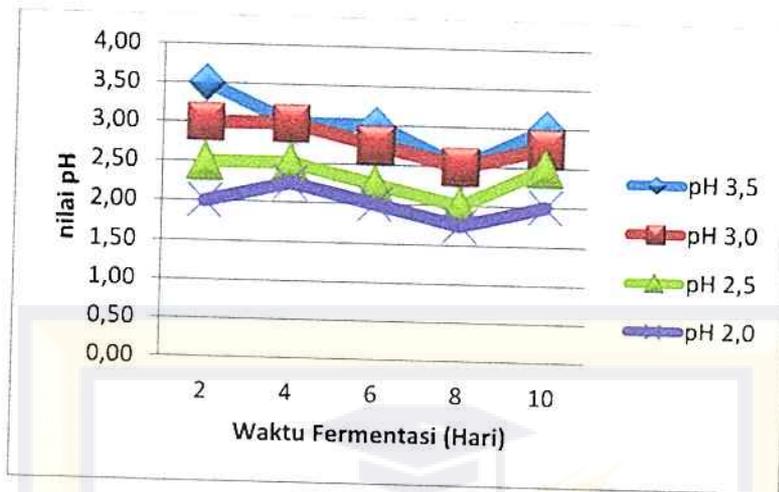
Media fermentasi kulit pisang kepok dianggap memenuhi nutrisi dasar bagi *Aspergillus niger*. Hal ini didukung oleh Kareem *et al.*(2010) yang menyatakan bahwa sumber karbon pada media mempengaruhi perubahan persentase asam sitrat dan nilai biomassa dari pertumbuhan *Aspergillus niger*.

4.2 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap pH

pH medium dalam proses fermentasi sangat penting. Papagianni (1995) menyatakan bahwa pH mempengaruhi morfologi dan produktivitas asam sitrat dari *Aspergillus niger*. Pada proses awal fermentasi diketahui bahwa pH medium masing-masing sebesar 3.5, 3.0, 2.5, dan 2.0. Pengamatan pengaruh media fermentasi terhadap pH yang dilakukan selama 10 hari dapat dilihat pada Grafik 4.3 dan 4.4.



Grafik 4.3. Perubahan pH media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30⁰C



Grafik 4.4. Perubahan pH media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30⁰C

Grafik 4.3 menunjukkan pH pada media fermentasi kulit pisang kepok menurun hingga pada hari ke-10 mencapai 2.0 hingga 1.5, sedangkan pada Grafik 4.4 kulit pisang ambon mengalami peningkatan pada masing-masing varian media fermentasi. Penurunan pH pada media fermentasi kulit pisang kepok diduga karena kandungan mineral yang terdapat dalam kulit pisang kepok lebih tinggi dibandingkan pada kulit pisang ambon. Menurut Saraswati (2015), kandungan fosfor dalam kulit pisang kepok sebesar 0.05%/100g sedangkan dalam kulit pisang ambon hanya mengandung 0.01%/100g. Selain itu pisang kepok memiliki kandungan zat besi 1.2 mg/100g, lebih tinggi jika dibandingkan pisang ambon yang memiliki 0.5 mg/100g. Soccol *et al.*(2006) menyatakan bahwa, besarnya nilai mineral dalam media akan mendukung produksi optimal asam sitrat sehingga kondisi media fermentasi menjadi lebih asam dan pH terus menurun seperti pada kulit pisang kepok.

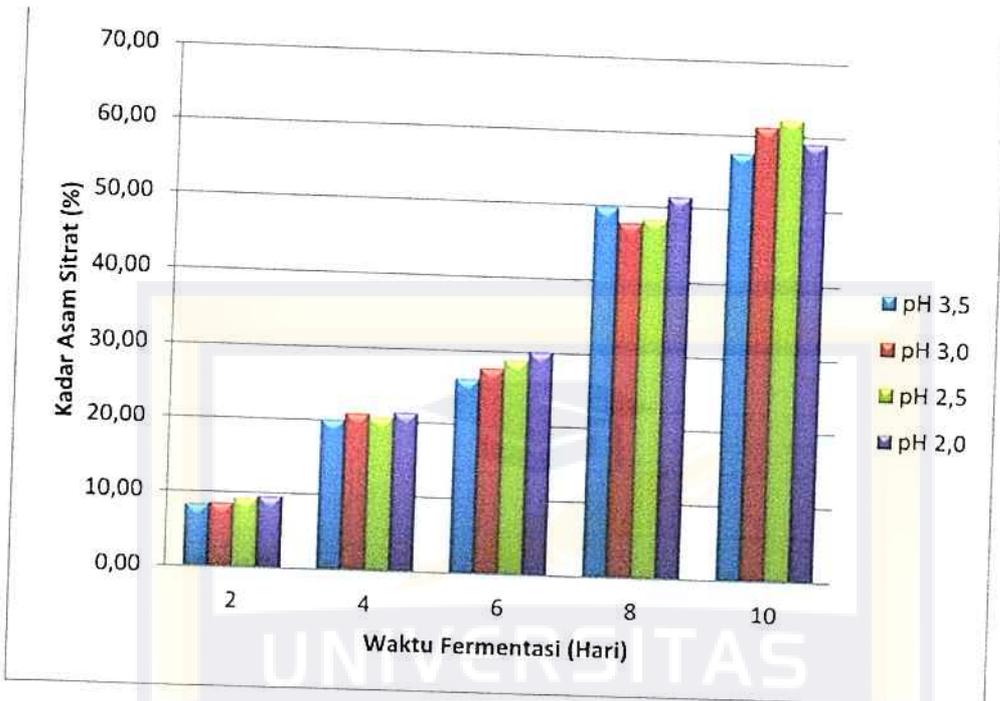
Namun pada kulit pisang ambon tidak terjadi hal yang demikian karena kadar nutrisi yang kurang bagi pertumbuhan *Aspergillus niger*. Kurangnya nutrisi dalam media fermentasi kulit pisang ambon akan menyebabkan *Aspergillus niger* memasuki fase stasioner dan fase kematian lebih cepat dibandingkan pada media fermentasi kulit pisang kepok. Hal ini disebabkan karena nutrisi merupakan unsur penting untuk pembentukan protein, metabolisme, faktor tumbuh dan berperan

dalam perubahan nilai asam sitrat yang mempengaruhi kadar pH pada media fermentasi (Yigitoglu, 1992). Saat fase stasioner, *Aspergillus niger* mulai kekurangan nutrisi dan memproduksi racun yang dapat merusak asam sitrat sehingga nilai pH pada media fermentasi kulit pisang ambon menjadi meningkat. (Haider, 2014).

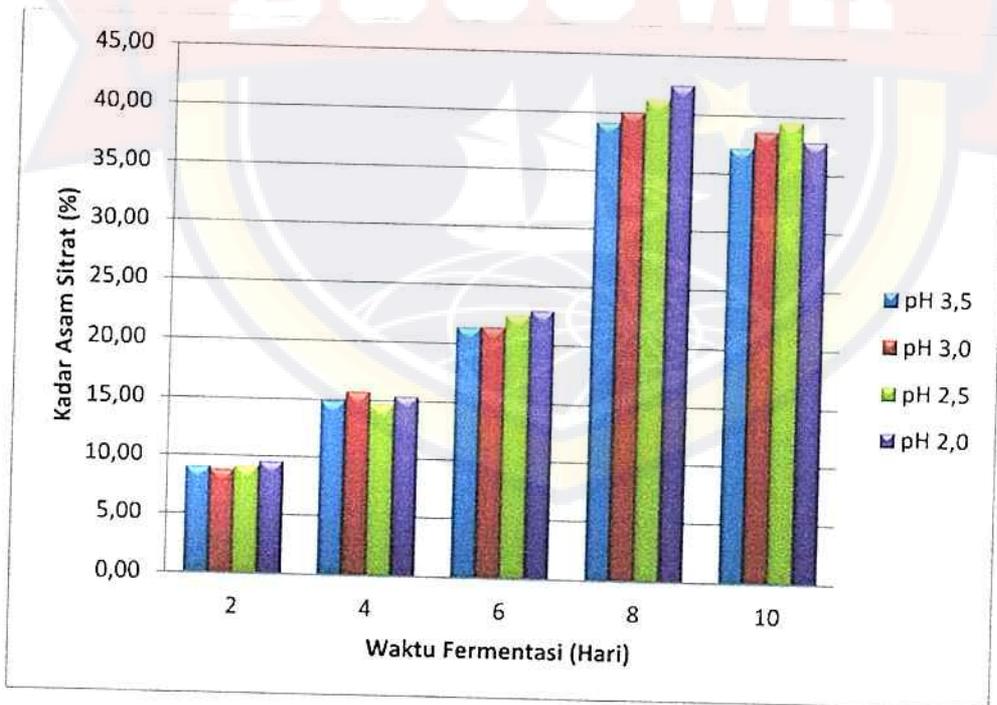
Dilihat dari pembentukan dan akumulasi asam sitrat selama proses fermentasi, nilai pH yang optimal untuk produksi asam sitrat sekitar 2.0. pH yang rendah akan mengurangi resiko kontaminasi oleh mikroorganisme lain pada saat fermentasi. pH yang rendah juga menghambat produksi dari asam organik yang tidak diinginkan, misalnya asam glukonat dan asam oksalat (Mattey, 1992). Penurunan pH pada masing-masing media fermentasi sebanding dengan peningkatan produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger*. Hubungan antara perubahan nilai pH tersebut terhadap produksi asam sitrat adalah semakin rendah nilai pH, maka semakin banyak kadar asam sitrat yang dihasilkan.

4.3 Pengaruh Media Fermentasi Terhadap Produksi Asam Sitrat

Dua jenis kulit pisang (kepok dan ambon) digunakan sebagai media fermentasi untuk pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam menghasilkan asam sitrat. Masing-masing media fermentasi terdapat perubahan nilai persentase asam sitrat. Produksi asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon berbanding terbalik dengan nilai pH pada media. Semakin rendah nilai pH media, maka semakin tinggi asam sitrat yang dihasilkan. Pengaruh media terhadap persentase produksi asam sitrat selama 10 hari fermentasi dapat dilihat pada Grafik 4.5 dan 4.6.



Grafik 4.5. Perubahan kadar asam sitrat media fermentasi kulit pisang kepok pada suhu 30°C



Grafik 4.6. Perubahan kadar asam sitrat media fermentasi kulit pisang ambon pada suhu 30°C

Grafik 4.5 menunjukkan pada hari ke-8 terjadi peningkatan kadar asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang kepok. Persentase pada media fermentasi kulit pisang kepok adalah 49.79% (pH 3.5), 47.81% (pH 3.0), 48.28% (pH 2.5), dan 51.41% (pH 2.0). Selanjutnya pada hari ke-10 terus mengalami peningkatan produksi asam sitrat, yaitu 57.52% (pH 3.5), 61.18% (pH 3.0), 62.33% (pH 2.5), dan 59.09% (pH 2.0). Sedangkan pada Grafik 4.6 terlihat media fermentasi kulit pisang ambon juga mengalami peningkatan produksi pada hari ke-8 tetapi mengalami penurunan pada hari ke-10, yaitu dari 39.18% (pH 3.5), 40.07% (pH 3.0), 41.17% (pH 2.5) dan 42.48% (pH 2.0) menjadi 37.20% (pH 3.5), 38.61% (pH 3.0), 39.50% (pH 2.5) dan 37.88% (pH 2.0). Hal ini dipengaruhi oleh perubahan biomassa dan pH dari masing-masing media fermentasi.

Tingginya asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang kepok dipengaruhi oleh besarnya kandungan gula, lemak dan zat mineral dibandingkan pada media fermentasi kulit pisang ambon (Yigitoglu, 1992). Perbedaan persentase ini juga diakibatkan oleh besarnya nilai kandungan nutrisi pada masing-masing media fermentasi sebagaimana yang telah dijelaskan sebelumnya. Nutrisi ini berperan untuk mendukung pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam menghasilkan asam sitrat. Nutrisi yang diperlukan *Aspergillus niger* yaitu karbohidrat, protein, vitamin dan lainnya sudah terdapat dalam media fermentasi kulit pisang. Selain itu, sumber karbon pada media fermentasi kulit pisang secara umum yaitu glukosa, fruktosa, sukrosa, selulosa dan pati. Menurut Yigitoglu (1992), sumber karbon seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa merupakan jenis gula yang mampu memaksimalkan produksi asam sitrat dari *Aspergillus niger*. Selain karbon, diperlukan nitrogen dan magnesium yang didapatkan dari penambahan NH_4NO_3 dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ke dalam media fermentasi.

Grafik 4.6 memperlihatkan bahwa selain terdapat peningkatan kadar asam sitrat, terjadi juga penurunan produksi pada media fermentasi kulit pisang ambon. Penurunan ini disebabkan oleh penuaan sel dan berkurangnya nutrisi akibat lamanya masa fermentasi sehingga *Aspergillus niger* memasuki fase kematian. Hal ini didukung oleh Emeka *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa penurunan produksi asam sitrat disebabkan oleh penuaan sel *Aspergillus niger*, berkurangnya

nutrisi dan sumber nitrogen, terjadinya efek inhibitor pada metabolisme oleh kadar asam sitrat yang tinggi dan rusaknya enzim metabolisme yang berperan dalam penghasilan asam sitrat. Menurut Haider (2014), rusaknya enzim metabolisme ini akibat berkurangnya sumber karbon pada fermentasi. Selain itu, penurunan asam sitrat ini juga dipengaruhi oleh efek racun akibat terakumulasinya produk sampingan dan habisnya sumber energi yang ada pada media fermentasi.

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi naik turunnya kadar asam sitrat, yaitu waktu, komponen nutrisi tambahan pada media fermentasi, agitasi, suhu, nutrisi dan inisiasi pH awal. Waktu 10 hari yang digunakan untuk fermentasi berpengaruh positif terhadap pembentukan asam sitrat pada media kulit pisang kepok dibandingkan media fermentasi kulit pisang ambon. Media fermentasi kulit pisang ambon menghasilkan asam sitrat paling maksimal dalam jangka waktu 8 hari. Berdasarkan penelitian Ashour *et al.* (2014), bahwa asam sitrat paling maksimal dihasilkan pada jam 192 atau hari ke-8. Hal ini juga didukung Maktsum (2015) yang mendapatkan hasil bahwa hari ke-8 merupakan waktu dimana produksi asam sitrat paling maksimal pada media fermentasi kulit pisang ayam dan nipah aceh.

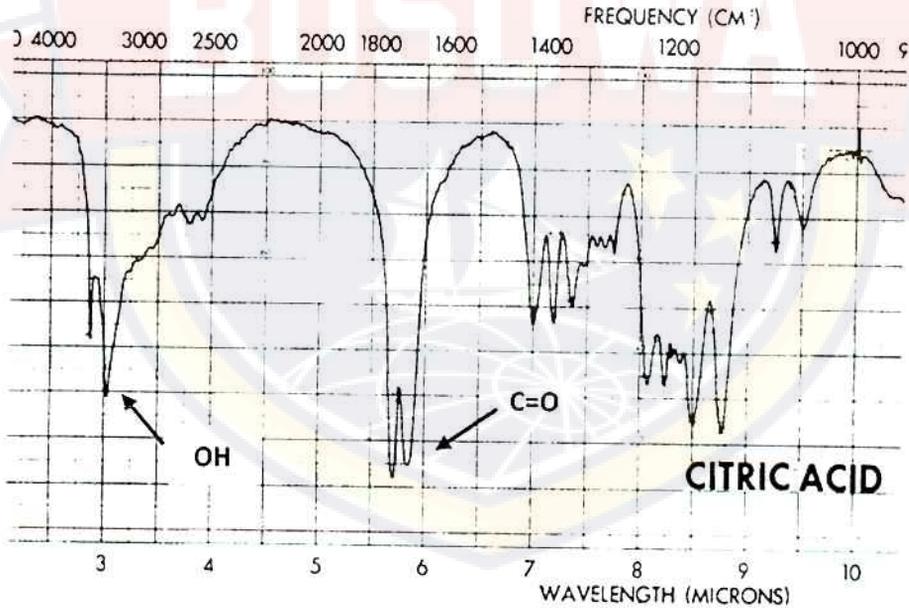
Selain faktor waktu, terdapat komponen nutrisi tambahan yang diberikan pada media fermentasi, yaitu NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Komponen tambahan ini mendukung pertumbuhan dan produksi maksimal asam sitrat dari *Aspergillus niger*. Ammonium dan magnesium dipilih karena berpengaruh pada penambahan produksi asam sitrat. Sedangkan fosfat berperan pada pertumbuhan *Aspergillus niger* (Yigitoglu, 1992).

Faktor agitasi juga berpengaruh terhadap maksimalnya produksi asam sitrat. Kecepatan putaran *shaker* inkubator yang digunakan pada saat fermentasi ini adalah 250 rpm. Menurut Papagianni (2007), agitasi berperan dalam penyebaran pertumbuhan *Aspergillus niger* dengan cara menghindari terjadinya sedimentasi hifa pada satu titik di media fermentasi sampel. Sedimentasi hifa ini akan mencegah produksi asam sitrat yang tidak merata yang diakibatkan pertumbuhan kapang yang tidak tersebar secara menyeluruh ke semua bagian media fermentasi. Selain agitasi, suhu juga berpengaruh besar pada produksi asam

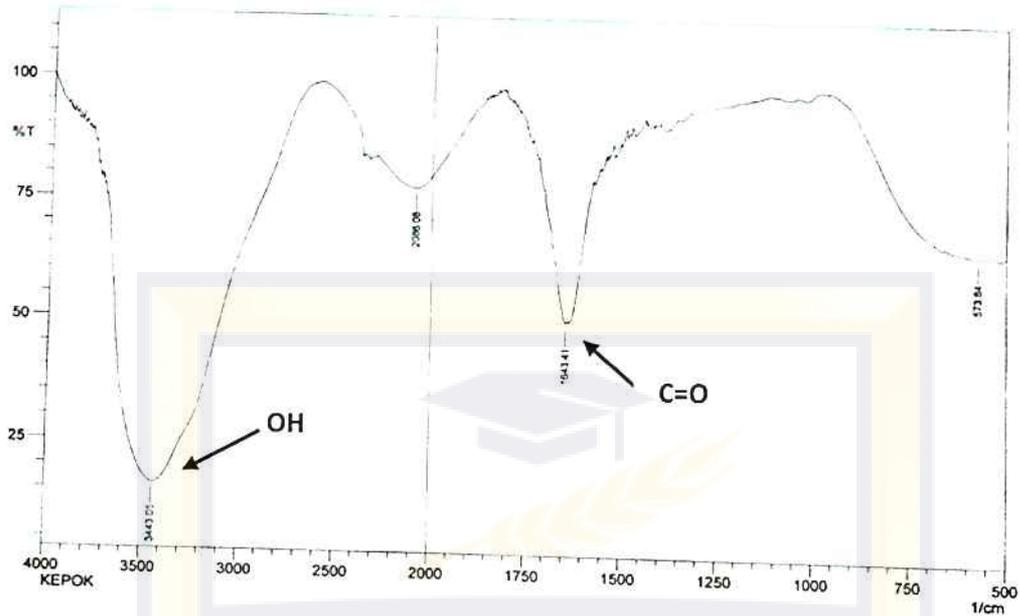
sitrat. Hal ini dikarenakan adanya sensitifitas enzim terhadap suhu yang berpengaruh pada maksimalnya kerja enzim. Berdasarkan Yigitoglu (1992), Emeka *et al.*(2012), dan Maktsum (2015), produksi asam sitrat paling maksimal didapatkan pada suhu 30°C.

4.4 Analisis Infrared (IR) Media Fermentasi

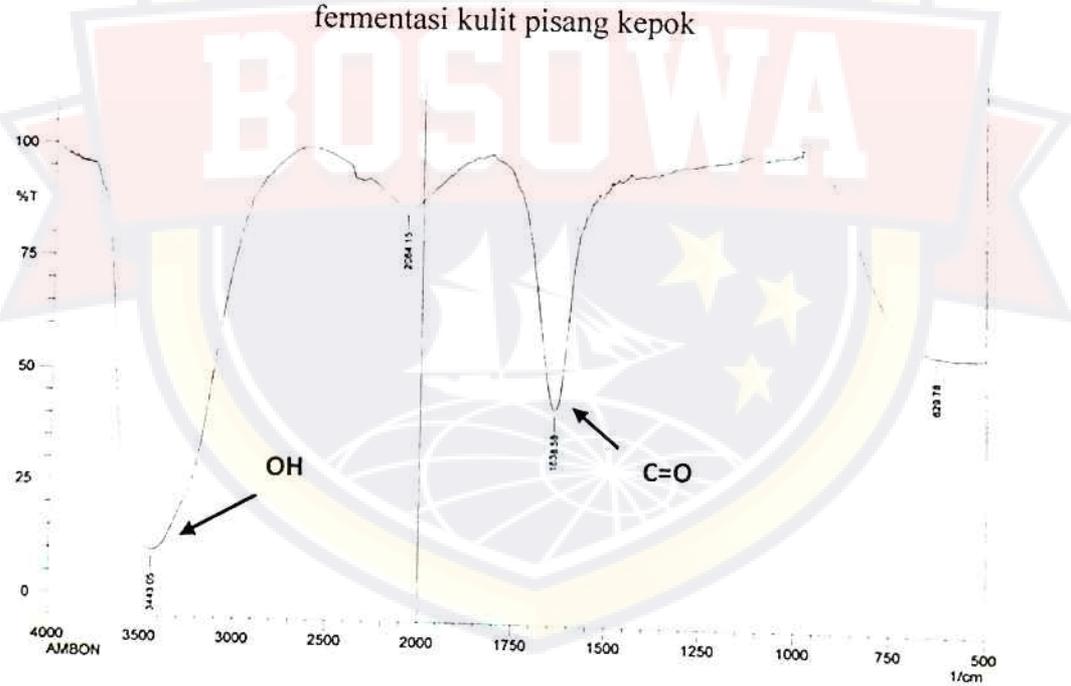
Kedua media fermentasi (kulit pisang kepok dan ambon) dianalisa menggunakan alat spektrofotometri *infrared* untuk melihat bahwa terdapat asam sitrat pada masing-masing media dari fermentasi *Aspergillus niger*. Gugus-gugus yang dianalisis adalah gugus fungsional dari asam sitrat, yaitu gugus OH dan C=O (gambar 2.1). Sebagai perbandingan, spektrum *infrared* asam sitrat dapat dilihat pada Grafik 4.7. Sedangkan spektrum *infrared* asam sitrat hasil fermentasi *Aspergillus niger* menggunakan media kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon dapat dilihat pada Grafik 4.8 dan 4.9.



Grafik 4.7. Spektrum *Infrared* Asam Sitrat (NIST Chemistry WebBook, 2017)



Grafik 4.8. Spektrum *Infrared* asam sitrat dari *Aspergillus niger* pada media fermentasi kulit pisang kepok



Grafik 4.9. Spektrum *Infrared* asam sitrat dari *Aspergillus niger* pada media fermentasi kulit pisang ambon

Dilihat dari Grafik 4.8 dan 4.9, sampel masing-masing media fermentasi mengandung asam sitrat karena menunjukkan adanya gugus fungsional OH pada

panjang gelombang 3100-3400 cm^{-1} . Selain itu, gugus C=O juga terlihat saat pengujian *infrared* tersebut dengan luas spektrum pada panjang gelombang 1600-1700 cm^{-1} . Menurut Moreira dan Santos (2005), spektrum gugus C=O asam karboksilat pada senyawa asam sitrat hasil fermentasi berada pada panjang gelombang 1600-1750 cm^{-1} .





BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Untuk memproduksi asam sitrat, karakteristik media fermentasi kulit pisang kepok lebih bagus dibandingkan kulit pisang ambon. Hal ini disebabkan oleh nilai pH pada media fermentasi kulit pisang kepok tetap menurun hingga hari ke-10 dan kadar asam sitrat serta nilai biomasanya lebih tinggi dan tetap meningkat dibandingkan media kulit pisang ambon.
2. Nilai pH yang optimal untuk memproduksi asam sitrat pada media fermentasi kulit pisang kepok dan kulit pisang ambon adalah 2.0.
3. Ammonium, fosfat, dan magnesium yang ditambahkan ikut mendukung pertumbuhan dan produksi maksimal asam sitrat dari *Aspergillus niger*.

5.2 Saran

Perlu adanya pengujian tahap awal terhadap kandungan nutrisi pada masing-masing sampel kulit pisang sehingga didapat perbandingan data yang maksimal, juga dilakukan regenerasi jamur *Aspergillus niger* untuk memperoleh kadar asam sitrat yang optimal dalam waktu fermentasi yang lebih lama.



DAFTAR PUSTAKA

- Alam. 2013. Metode Titrimetri. *www.ilmualampercak.blogspot.co.id*. Diakses 9 Januari 2017.
- Amriani, F. 2014. Pembuatan Enzim Selulase dari *Aspergillus Niger* dengan Substrat Eceng Gondok. Universitas Sumatera Utara. Available at *www.repository.usu.ac.id*. Diakses 9 Januari 2017.
- Apelblat, A. 2014. *Citric Acid*. Springer International Publishing, Switzerland.
- Arora, D.K., Mukerji K.G., and Marth E.H. 1991. *Handbook of Applied Mycology : Foods and Feeds, vol. 3*. Marcel Dekker Inc. New York.
- Ashour, A., El-Sharkawy S., Amer M., Marzouk A., Zaki A., Khisikawa A., Ohzono M., Kondo R., and Shimizu K. 2014. Production of Citric Acid from Corncobs with Its Biological Evaluation. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Application*. 4:141-149.
- Austin, G. T. 1986. *Shreve's Chemical Process Industries*. 5th ed, Int'l Student Edition, Mc Graw Hill Book Co, Singapore.
- Carlos, R., Vandenberghe L.P.S., Rodrigues C., and Pandey A. 2006. New Perspectives for Citric Acid Production and Application. *Food Technology and Biotechnology Journal*. 44(2):141-149.
- Emeka, G.N., James C.O., Matthias C.O., Kingsley E.N., and Gibson-Umeh G. 2012. Isolation of Citric Acid-Producing Fungi and Optimalization of Citric Acid Production By Selected Isolates. *Global Journal of Bioscience and Biotechnology*. 1 (2):261-270.
- Haider, M.M. 2014. Citric Acid Production from Carob Pod Extract by *Aspergillus Niger*. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 9 (3):112-116
- Hui, Y.H, and Khachatourians G.G. 1995. *Food Biotechnology: Microorganisms*. Willey-VCH Inc. Canada.
- Judoamidjojo M, E.G. Sa'id, dan L. Hartoto. 1989. Biokonversi. PAU-BIOTEK. IPB. Bogor.
- Julfan, Harun N., dan Rahmayuni. 2016. Pemanfaatan Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca Linn*) dalam Pembuatan Dodol. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Kareem, S.O., Akpan I., and Alebiowu O.O. 2010. Production of Citric Acid by *Aspergillus Niger* Using Pineapple Waste. *Malaysian Journal of Microbiology*. 6(2):161-165.
- Kirk – Othmer. 1945. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3rd Edition. John Wiley and Sons, Inc. New York.

- Li, E., and Orduna M. 2010. A Rapid Method for The Determination of Microbial Biomass by Dry Weight Using A Moisture Analyzer with An Infrared Heating Source and An Analytical Balance. *Letters in Applied Microbiology*. 50:283-288.
- Lim, T.K. 2012. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*, 3rd vol.: *Fruit*. Springer Science and Bussiness Media. New York.
- Lubis, Z. 2012. Pengaruh Penambahan Tepung Kulit Pisang Raja Terhadap Daya Terima Kue Donat. Universitas Sumatera Utara. Available at www.repository.usu.ac.id. Diakses 9 Januari 2017.
- Maksum, A. 2015. Produksi Asam Sitrat dari *Aspergillus Niger* Menggunakan Media Kulit Pisang. Sarjana Skripsi. FMIPA UNSYIAH. Aceh.
- Mattey, M. 1992. The Production of Organic Acids. *Crit Rev Biotechnol* 12:87-132
- Merlina, Suci. 2012. Perubahan Kandungan Nutrient *Wheat Bran* Yang Difermentasi Menggunakan Level Starter *Aspergillus Niger* Yang Berbeda. Sarjana Skripsi. IPB. Bogor.
- Moreira, J.L., and Santos L. 2005. Analysis of Organic Acids in Wines by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. *Anal Bioanal Chem*. 382:421-425.
- Munadjim. 1988. Teknologi Pengolahan Pisang. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Nurhadi. 2013. Pemanfaatan Limbah Kulit Pisang Sebagai Bahan Baku Pembuatan Tisu. FMIPA UNY. www.uny.ac.id. Diakses 9 Januari 2017.
- Nuswamarhaeni, S., Prihatini, D., Pohan, E.P. 1999. Mengenal Buah Unggul Indonesia. Bogor. Penebar Swadaya.
- Papagianni, Maria. 1995. *Morphology and Citric Acid Production of Aspergillus Niger in Submerged Culture*. PhD Thesis, University of Strathclyde.
- Papagianni, Maria. 2007. *Advances in Citric Acid Fermentation by Aspergillus Niger: Biochemical Aspects, Membrane Transport and Modeling*. *Biotechnology Advances*, 25: 244–263.
- Prabawati, S., Suyanti dan Setyabudi, D. A. 2008. Teknologi Pascapanen dan Teknik Pengolahan Buah Pisang. Penyunting: Wisnu Broto. Balai Besar Penerbitan dan Pengembangan Pertanian.
- Prasetyo, B.F. 2008. Aktivitas dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Mencit. IPB. Bogor.

- Pratama, A. 2015. Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus Niger L51* Menggunakan Media Molase. www.colapteknikkimia.blogspot.co.id. Diakses 9 Januari 2017.
- Puspita Y.C, Melinda V., Hadba A.N., dan Poly C.D. 2013. Asam Sitrat. www.makalahbioproses.blogspot.co.id. Diakses 7 Januari 2017.
- Rachman, Arif. 2015. Asam Sitrat (Fungsi dan Manfaat). www.resepkimiaindustri.blogspot.co.id. Diakses 9 Januari 2017.
- Rahmatullah. 2014. Produksi Asam Sitrat oleh Kapang. www.rahmatsains.blogspot.co.id. Diakses 4 Januari 2017.
- Samson, R. A., Hoekstra, E. S., and Oorschot, C. A. N., 1996, "Introduction to Food Borne Fungi", Centra Albureau for Schimmel Cultures, Netherland.
- Saraswati, I.A.P.D. 2015. Eksperimen Pembuatan Abon Kulit Pisang Dari Jenis Kulit Yang Berbeda dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Abon Kulit Pisang. Sarjana Skripsi. UNNES. Semarang.
- Schlegel, Hans G. 1986. Mikrobiologi Umum. UGM Press. Yogyakarta.
- (SNI) Standar Nasional Indonesia 06-0079-1987. Syarat Mutu Asam Sitrat Teknis. Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
- Socol, C.R., Vandenberghe L.P.S., Rondrigues C., Pandey A. 2006. New Perspectives for Citric Acid Production and Application. *Food Technol. Biotechnology Journal*. 44 (2):141-149.
- Tjitrosoepomo, G. 1991. Taksonomi Tumbuhan (Schizophyta, Thallophyta Bryophyta. Pteridophyta). Yogyakarta: Gadjahmada University Press.
- Tohir. 2014. Bioindustri Fermentasi Asam Sitrat. www.chyrun.com. Diakses 9 Januari 2017
- Wehner. 1893 dalam Rusmana I. 2005. Petunjuk Praktikum Bioteknologi Mikrobial. FMIPA IPB. Bogor.
- Yigitoglu, M. 1992. Production of Citric Acid by Fungi. *Journal of Islamic Academy of Sciences*. 5 (2):100-106.
- , 2017. Citric Acid. Webbook.nist.gov, National Institute of Standards and Technology.



Lampiran 1. Data Pengamatan

Hasil penimbangan biomassa selama 10 hari waktu fermentasi

Varian Media Fermentasi		Nilai Biomassa (g)				
		Hari ke – 2	Hari ke – 4	Hari ke – 6	Hari ke – 8	Hari ke – 10
Kepok	pH 3.5	1.6536	1.8071	1.8315	2.0637	2.0952
	pH 3.0	1.6738	1.9102	1.9347	1.9722	2.2464
	pH 2.5	1.7619	1.8944	1.9553	1.9810	2.2538
	pH 2.0	1.8057	1.9826	2.0492	2.1506	2.2442
Ambon	pH 3.5	1.5820	1.6219	1.6964	1.8077	1.6103
	pH 3.0	1.5196	1.6779	1.7201	1.8226	1.7918
	pH 2.5	1.5911	1.6006	1.7389	1.8845	1.8312
	pH 2.0	1.6034	1.6674	1.8310	1.8893	1.7417

Hasil titrasi penentuan kadar asam sitrat selama 10 hari waktu fermentasi

Varian Media Fermentasi		Volume Titran NaOH (ml)				
		Hari ke – 2	Hari ke – 4	Hari ke – 6	Hari ke – 8	Hari ke – 10
Kepok	pH 3.5	4.00	9.63	12.53	23.83	27.53
	pH 3.0	4.10	10.08	13.25	22.88	29.28
	pH 2.5	4.43	9.83	13.83	23.10	29.83
	pH 2.0	4.58	10.23	14.43	24.60	28.28
Ambon	pH 3.5	4.33	7.13	10.23	18.75	17.80
	pH 3.0	4.23	7.53	10.25	19.18	18.48
	pH 2.5	4.38	7.03	10.78	19.70	18.90
	pH 2.0	4.58	7.38	10.95	20.33	18.13

Lampiran 2. Perhitungan Kadar Asam Sitrat

Untuk menghitung kadar asam sitrat dapat menggunakan rumus (Kareem, 2010) :

$$\% \text{asam sitrat} = \frac{\text{Normalitas NaOH} \times \text{volume NaOH} \times \text{berat equivalen asam sitrat}}{\text{berat sampel}}$$

$$\% \text{asam sitrat} = \frac{0.9790 \text{ N} \times \text{ml NaOH} \times 64.04}{30 \text{ g}}$$

Sehingga diperoleh data sebagai berikut :

Varian Media Fermentasi		Kadar Asam Sitrat (%)				
		Hari ke – 2	Hari ke – 4	Hari ke – 6	Hari ke – 8	Hari ke – 10
Kepok	pH 3.5	8.36	20.11	26.18	49.79	57.52
	pH 3.0	8.57	21.06	27.69	47.81	61.18
	pH 2.5	9.25	20.53	28.89	48.28	62.33
	pH 2.0	9.56	21.37	30.15	51.41	59.09
Ambon	pH 3.5	9.04	14.89	21.37	39.18	37.20
	pH 3.0	8.83	15.73	21.42	40.07	38.61
	pH 2.5	9.14	14.68	22.52	41.17	39.50
	pH 2.0	9.56	15.41	22.88	42.48	37.88

Lampiran 3. Kegiatan Penelitian



Persiapan sampel kulit pisang



Pengeringan sampel menggunakan oven selama \pm 24 jam



Penghalusan sampel



Pembuatan suspensi jamur *Aspergillus niger*



Spektrofotometer untuk mengukur tingkat transmittansi suspensi



Penimbangan sampel kulit pisang



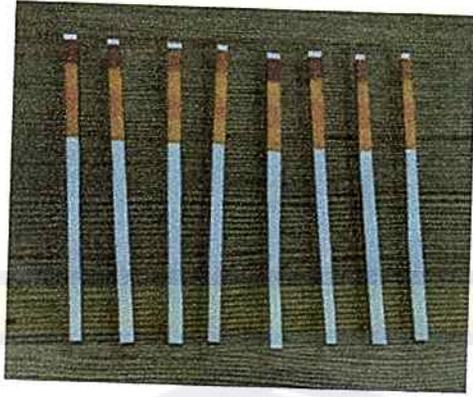
Pembuatan media pertumbuhan



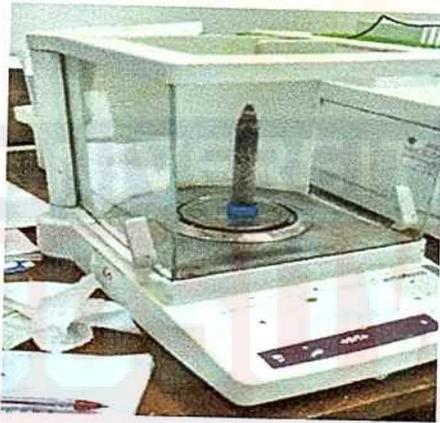
Shaker inkubator yang digunakan selama proses fermentasi



Pemisahan supernatan dan endapan sampel media fermentasi



Penentuan pH media fermentasi



Penimbangan bobot biomassa



Sampel sebelum dititrasi



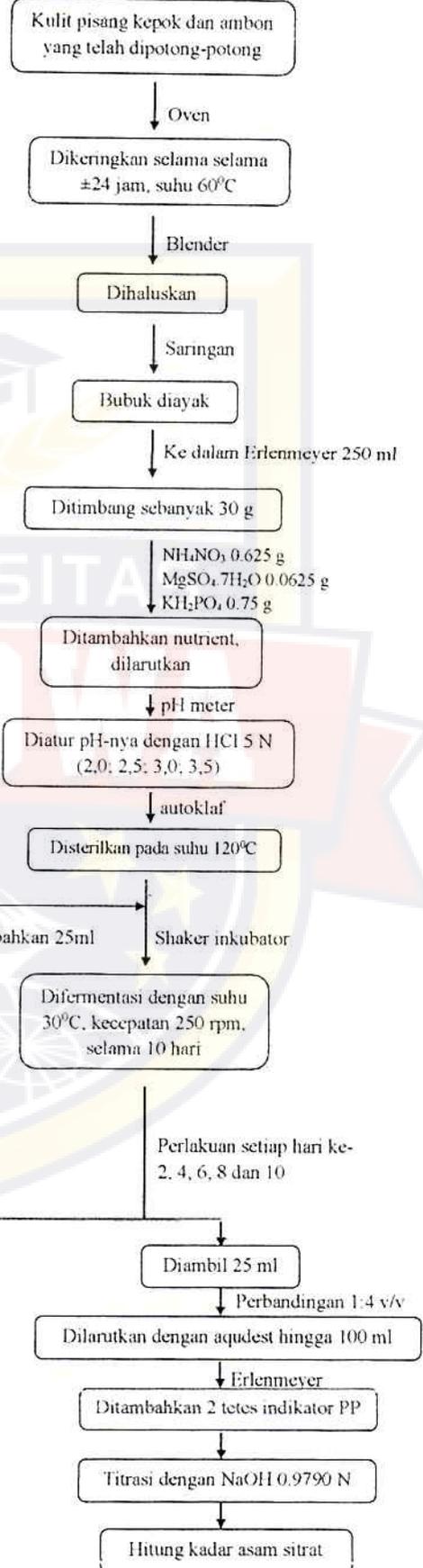
Sampel sesudah dititrasi

Lampiran 4. Diagram Alir Penelitian

A. Pembuatan Suspensi Jamur *Aspergillus Niger*



B. Proses Fermentasi Media





UNIT PCR LABORATORIUM SAINS TERPADU
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dr.Zaraswati Dwyana M.Si

Jabatan : Kepala Unit Lab PCR Laboratorium Sains Terpadu

Menyatakan bahwa mahasiswa : Lastiana Shinta Matana (Stb. 45 12 044 027) telah melakukan penelitian di Lab PCR Laboratorium Sains Terpadu selama 1 minggu (April 2017) dengan judul Pembuatan Asam Sitrat dari Limbah Kulit Pisang Dengan Menggunakan *Aspergillus niger*



Dr. Zaraswati Dwyana M.Si



**LABORATORIUM BIOTEKNOLOGI TERPADU
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

SURAT KETERANGAN

Nomor: 002/Lab.Biotek/IV/2017

Yang bertandatangan di bawah ini, menerangkan bahwa mahasiswa tersebut, dibawah ini :

Nama : Lastiana Shinta Matana
Nomor Pokok : 45 12 044 027
Fakultas : Teknik (Universitas Bosowa) Makassar
Jurusan : Teknik Kimia
Judul Penelitian : **Pembuatan Asam Sitrat dari Limbah Kulit Pisang
Menggunakan Aspergillus Niger**

Benar telah melakukan penelitian pada **Lab. Bioteknologi Terpadu Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin**, telah menyelesaikan administrasi lab dan tidak memiliki pinjaman alat, bahan maupun hal lain yang berhubungan dengan lab.

Demikian surat keterangan ini diberikan kepada yang bersangkutan untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Makassar, 27 April 2017



[Handwritten signature]

Devianti Anggar Kusuma, A.Md.AK

NIK : 19880104 2013 076 001