



**PENINGKATAN NILAI TAMBAH ONGGOK SINGKONG DAN
DEDAK PADI SEBAGAI SUBSTRAT PADA PRODUKSI ASAM
SITRAT**

***Added Value Improvement by Cassava Dregs and Rice Bran as
Substrates for Citric Acid Production***

Kirana Sanggrami Sasmitaloka*, Maritsya Dita Kurnia Putri
Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Pascapanen Pertanian
Jalan Tentara Pelajar Nomor 12, Bogor, 16122, Indonesia
e-mail: ks.sasmitaloka@gmail.com

DOI: 10.33830/fsj.v3i2.5106.2023

Diterima: 12 April 2023, Diperbaiki: 11 September 2023, Disetujui: 26 Oktober 2023

ABSTRACT

*Worldwide demand for citric acid is increasing faster than production, so a more economical process is needed. *Aspergillus niger* is capable of producing citric acid from agroindustrial by-products. Utilization of cassava dregs and rice bran as substrates in citric acid fermentation can increase the added value of these agroindustrial by-products. This research aims to study the utilization of cassava dregs and rice bran as citric acid production substrates by *Aspergillus niger* on solid state fermentation and the characteristics of the citric acid they produce. The study was designed using a completely randomized design with treatment combinations between the percentage of inoculum volume w/v (x_1 : 2.5%; x_2 : 5%; and x_3 : 7.5%) and incubation time (y_1 : 1 day; y_2 : 2 days; y_3 : 3 days; y_4 : 4 days; y_5 : 5 days; y_6 : 6 days; and y_7 : 7 days), repeated four times. The addition of *Aspergillus niger* inoculum volume as much as 5% w/v with an incubation time of five days can produce optimal citric acid. In this combination of treatments, a pH value of 2.65, a total acid of 13.91 g/L, and a citric acid content of 9.74 g/L were produced.*

Keywords : *Aspergillus niger, cassava dregs, citric acid, rice bran, solid state fermentation.*

ABSTRAK

*Permintaan asam sitrat di seluruh dunia meningkat lebih cepat daripada produksinya sehingga diperlukan proses yang lebih ekonomis. *Aspergillus niger* mampu memproduksi asam sitrat dari hasil samping agroindustri. Pemanfaatan onggok dan dedak padi sebagai substrat pada fermentasi asam sitrat dapat meningkatkan nilai tambah hasil samping agroindustri tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pemanfaatan onggok dan dedak padi sebagai substrat produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat beserta karakteristik asam sitrat yang dihasilkannya. Kajian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap dengan perlakuan kombinasi antara persentase volume inokulum b/v (x_1 : 2,5%; x_2 : 5%; dan x_3 : 7,5%) dan waktu inkubasi (y_1 : 1 hari; y_2 : 2 hari; y_3 : 3 hari; y_4 : 4 hari; y_5 : 5 hari; y_6 : 6 hari; dan y_7 : 7 hari), diulang empat kali. Penambahan volume inokulum *Aspergillus niger* sebanyak 5% (b/v) dengan waktu inkubasi selama lima hari dapat menghasilkan asam sitrat yang optimal. Pada kombinasi perlakuan tersebut, dihasilkan nilai pH 2,65, total asam 13,91 g/L, dan kandungan asam sitrat 9,74 g/L.*

Kata Kunci : *Aspergillus niger*, dedak padi, asam sitrat, kultivasi padat, onggok.

PENDAHULUAN

Asam sitrat merupakan salah satu jenis asam organik lemah yang secara alami banyak terdapat pada buah dan sayuran, terutama jeruk. Asam sitrat juga dikenal sebagai asam trikarboksilat 2-hidroksil-1, 2, 3-propana. Senyawa ini diproduksi melalui proses fermentasi dengan tingkat produksi berkisar antara 1,4-1,7 juta ton per tahun (Adeoye *et al.*, 2015) dan tingkat permintaan berkisar 3,5-5,0% per tahun (Roukas & Kotzekidou, 2020). Pada umumnya, asam sitrat digunakan dalam industri makanan dan minuman, farmasi/kimia, tekstil, kosmetik, serta deterjen (Show *et al.*, 2015; Chergui *et al.*, 2021). Menurut Vandenberghe *et al.* (2017), sebanyak 70% dari total produksi asam sitrat digunakan industri makanan, 12% digunakan industri farmasi, dan 18% diaplikasikan pada industri lainnya. Asam sitrat dapat diproduksi secara mekanik (pengepresan), kimia, dan fermentasi. Metode produksi secara mekanik dan kimia tidak ekonomis untuk diterapkan saat ini (Abbas *et al.*, 2016). Sintesis secara kimia belum bisa sepenuhnya diterima konsumen karena terkendala pada faktor keamanan pangan produk. Produksi asam sitrat melalui proses fermentasi dinilai sebagai proses yang ekonomis sehingga berpotensi untuk diterapkan di industri. Pada umumnya, lebih dari 90% asam sitrat yang digunakan di seluruh dunia saat ini dihasilkan dari fermentasi (Show *et al.*, 2015).

Aspergillus niger merupakan kapang yang paling banyak digunakan untuk menghasilkan asam sitrat karena rendemennya yang relatif tinggi, kemudahan dalam pertumbuhan dan pemanenan produk, serta kemampuan menggunakan berbagai bahan

baku. *Aspergillus niger* menghasilkan lebih banyak asam sitrat per satuan waktu dan kemampuannya untuk memproduksi asam sitrat dari bahan yang murah (Abbas *et al.*, 2016; Sasmitaloka, 2017). Produksi asam sitrat menggunakan *Aspergillus niger* menghasilkan rendemen lebih dari 70% (Adeoye *et al.*, 2015).

Umumnya, asam sitrat dapat diproduksi dengan kultivasi media cair dan media padat. Kultivasi media padat memiliki beberapa keunggulan, yaitu medium yang digunakan relatif sederhana, ruang yang diperlukan untuk peralatan fermentasi relatif kecil karena air yang digunakan sedikit, inokulum dapat disiapkan secara sederhana, kondisi medium tempat pertumbuhan fungi mendekati kondisi habitat alaminya, aerasi dihasilkan dengan mudah karena ada ruang udara diantara tiap partikel substrat, dan produk yang dihasilkan dapat dipanen dengan cara sederhana (Show *et al.*, 2015; Sasmitaloka *et al.*, 2016; Roukas & Kotzekidou, 2020; Sasmitaloka *et al.*, 2022).

Pada proses fermentasi tersebut, diperlukan sumber karbon dan nitrogen yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Karbon digunakan sebagai bahan utama penyedia energi, sedangkan nitrogen digunakan untuk pembentukan biomassa dan pertumbuhan spora (Sasmitaloka *et al.*, 2016). Hasil samping agroindustri mengandung karbon dan nitrogen yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa asam sitrat dapat diproduksi menggunakan substrat hasil samping agroindustri seperti campuran onggok singkong dan 0,4% dedak padi dengan *yield* asam sitrat terbaik sebesar 36,58 g/100 g ampas tapioka (Syamsuriputra *et al.*, 2006), kulit singkong dengan penambahan inokulum 6% menghasilkan *yield* asam sitrat terbaik sebesar 88,73 g/l (Adeoye *et al.*, 2015) serta kulit pisang dengan penambahan inokulum 5% menghasilkan *yield* asam sitrat terbaik sebesar 28,5 g/l (Abbas *et al.*, 2016; Kareem & Rahman, 2011). Lebih lanjut, pemanfaatan hasil samping agroindustri sebagai substrat pada proses fermentasi tidak hanya bermanfaat secara ekonomi, tetapi juga dapat mengurangi masalah lingkungan yang ditimbulkan dari penanganan yang tidak tepat. Selain itu, pemanfaatan hasil samping agroindustri pada produksi asam sitrat juga dapat meningkatkan nilai tambahnya (Roukas & Kotzekidou, 2020).

Onggok merupakan hasil samping dari industri tapioka, yang dihasilkan dari penyaringan singkong dengan cara pengepresan. Onggok singkong dimanfaatkan menjadi bahan pakan ternak namun sering terkendala dengan tingginya senyawa

sianida yang berbahaya karena dapat menyebabkan keracunan pada hewan ternak (Kiramang, 2011). Pada proses produksi tapioka, dihasilkan onggok sekitar 75 % dari bahan mentahnya (Sari *et al.*, 2013). Menurut Fibriyani *et al.*, (2017), onggok berpotensi menjadi polutan karena dapat menimbulkan bau asam dan busuk, serta mempunyai nilai ekonomi yang rendah. Mengingat tingginya hasil samping dari produksi tapioka, maka sangat menguntungkan jika onggok tersebut dapat dimanfaatkan menjadi produk yang lebih berdayaguna. Onggok masih mengandung bahan organik sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan *Aspergillus niger* (Ummi & Aviantara, 2019). Oleh karena itu, untuk meningkatkan nilai tambah dari onggok singkong maka dimanfaatkan sebagai substrat dan sumber karbon pada produksi asam sitrat.

Selain onggok, hasil samping agroindustri yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat pada produksi asam sitrat adalah dedak padi. Dedak padi dihasilkan dalam tahapan proses pengupasan kulit gabah dan penyosohan beras pecah kulit dan selama ini pemanfaatannya hanya sebatas digunakan sebagai pakan ternak (Suryani & Luthfi, 2022). Gabah jika digiling akan menghasilkan beras sebanyak 50-60%, sisanya menir 1-17%, sekam 20-25%, dedak 10-15% dan bekatul 3% (Marbun *et al.*, 2018). Dedak padi berfungsi sebagai sumber vitamin, asam amino, dan mineral bagi pertumbuhan jamur yang akan mempengaruhi produksi asam sitrat. Pada umumnya, vitamin berperan dalam pembentukan koenzim. Vitamin B dan asam amino tertentu diperlukan sebagai faktor pertumbuhan mikroorganisme; sedangkan mineral berfungsi sebagai makronutrien dan mikronutrien.

Kajian ini bertujuan untuk mempelajari pemanfaatan onggok dan dedak padi sebagai substrat produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat beserta karakteristik asam sitrat yang dihasilkannya.

METODE

Bahan dan Alat

Isolat yang digunakan adalah *Aspergillus niger* yang berasal dari IPB *Culture Center*. Substrat dalam penelitian ini adalah onggok yang berasal dari Ciampea, Kabupaten Bogor, Jawa Barat dan dedak padi yang didapat dari Pasar Anyar, Kota Bogor, Jawa Barat. Media pertumbuhan yang digunakan adalah *nutrient agar*, *potato dextrose agar* dan *nutrient broth*. Mineral yang digunakan adalah $MgSO_4 \cdot 7H_2O$,

(NH₄)₂SO₄ dan KH₂PO₄. Semua bahan kimia yang digunakan berjenis *pro analysis*. Alat yang digunakan adalah serta, tabung reaksi, autoklaf (Hirayama), labu erlenmeyer, neraca analitik (Ohaus), inkubator goyang (N-Biotek), inkubator (Memmert), kertas saring, spektrofotometer (Agilent), pH meter (Hanna), buret, dan gelas kimia..

Karakterisasi Substrat Onggok dan Dedak Padi

Karakterisasi substrak onggok dan dedak padi meliputi parameter kadar air, abu, protein, dan lemak dengan SNI Cara Uji Makanan dan Minuman nomor 01-2891-1992 sebagai acuan.

Isolat *Aspergillus niger*

Penyegaran Isolat *Aspergillus niger*

Isolat *Aspergillus niger* disegarkan dengan cara diinokulasikan pada media agar miring *potato dextrose agar* (PDA) dalam tabung reaksi secara aseptis. Biakan selanjutnya diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 5 hari pada inkubator (Sugiwati *et al.*, 2018).

Karakterisasi Isolat *Aspergillus niger*

Isolat *Aspergillus niger* dikarakterisasi jumlah sel hidup yang tumbuh. Sebanyak 1 g kultur diencerkan dengan 9 mL larutan garam fisiologis. Kultur yang sudah diencerkan selanjutnya diambil 1 mL dan dilakukan pengenceran dengan 9 mL larutan garam fisiologis. Setiap pengenceran diambil 1 mL dan ditumbuhkan pada medium agar dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 24 jam pada inkubator. Jumlah koloni yang tumbuh kemudian dihitung (Sasmitaloka *et al.*, 2016).

Penyiapan Inokulum

Satu lup biakan *Aspergillus niger* diinokulasikan dalam 50 mL medium *nutrient broth* (NB) dan diinkubasikan dalam inkubator goyang pada kecepatan 150 rpm, suhu 28-30°C selama 2-3 hari.

Fermentasi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger*

Onggok sebanyak 25 g ditambahkan dengan 5 g dedak padi halus (5:1) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Campuran tersebut kemudian ditambah dengan akuades sampai terendam. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium

foil kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, diinokulasikan dengan suspensi *Aspergillus niger* sesuai dengan perlakuan (v/b) dan diinkubasi pada suhu kamar.

Penyiapan Inokulum

Satu lup biakan *Aspergillus niger* diinokulasikan dalam 50 mL medium *nutrient broth* (NB) dan diinkubasikan dalam inkubator goyang pada kecepatan 150 rpm, suhu 28-30°C selama 2-3 hari.

Fermentasi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger*

Onggok sebanyak 25 g ditambahkan dengan 5 g dedak padi halus (5:1) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Campuran tersebut kemudian ditambah dengan akuades sampai terendam. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dingin, diinokulasikan dengan suspensi *Aspergillus niger* sesuai dengan perlakuan (v/b) dan diinkubasi pada suhu kamar.

Karakterisasi Asam Sitrat Hasil Fermentasi pH

Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan dengan pH meter. Alat pH meter yang telah dinyalakan dan distabilkan kemudian distandarisasi dengan larutan buffer pada pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dan dikeringkan dengan kertas tisu kemudian dicelupkan ke dalam sampel. Nilai pH meter dibiarkan hingga menunjukkan suatu angka yang stabil, angka ini dicatat sebagai nilai pH terukur.

Total asam (SNI, 1992)

Sampel yang digunakan sebanyak 1 g diencerkan dengan akuades dan diambil filtratnya sebanyak 25 mL. Sampel dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N dengan indikator *phenolphthalein* 1%. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya warna merah muda yang stabil.

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{fp} \times 100\%}{\text{berat sampel (gram)}}$$

Produksi Asam sitrat (Abbas *et al.*, 2016)

Sebanyak 10 g sampel dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring. Filtrat diambil 50 mL dimasukkan dalam Erlenmeyer dan ditambahkan indikator *phenolphthalein* 1% sebanyak 3 tetes, kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda. Kadar asam sitrat yang dihasilkan diperoleh dengan rumus:

$$\text{Asam sitrat (\%)} = \frac{V \times N \times \text{BM asam sitrat} \times \text{fp} \times 100\%}{W \times 1000}$$

Keterangan:

V = volume NaOH (mL)

N = Normalisasi NaOH

fp = Faktor pengenceran

W = berat sampel (gram)

Analisis Statistik

Kajian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap dengan variabel terikatnya adalah komposisi substrat dan jenis inokulum serta variabel bebasnya terdiri dari persentase volume inokulum b/v dan waktu inkubasi. Setiap perlakuan diulang empat kali. Analisis substrat onggok dan dedak padi dilakukan sebanyak empat ulangan. Data yang diperoleh diolah menggunakan uji sidik ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf nyata 5% ($\alpha = 0,05$) menggunakan paket SPSS 21.0 *Statistic Software* untuk mengetahui pengaruh perlakuan penambahan inokulum dan waktu inkubasi terhadap produksi asam sitrat.

HASIL PEMBAHASAN

Karakterisasi Substrat Onggok dan Dedak Padi

Hasil samping agroindustri dapat digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan pada kultivasi *Aspergillus niger*. Onggok digunakan sebagai sumber karbon selama proses kultivasi, sedangkan dedak padi digunakan sebagai sumber nitrogen dan mineral. Sebelum digunakan sebagai substrat onggok dan dedak padi dikeringkan terlebih dahulu pada suhu 50 °C selama 6 jam dengan menggunakan oven blower. Proses pengeringan ini bertujuan agar proses pembentukan asam sitrat berlangsung dengan baik.

Onggok adalah limbah yang dihasilkan pada pengolahan ubi kayu menjadi tapioka, berupa limbah padat utama setelah pengepresan. Onggok masih mengandung karbohidrat yang cukup tinggi, namun protein kasar dan lemaknya rendah (Apriyani & Sedyadi, 2015). Komposisi onggok dipengaruhi oleh jenis singkong, daerah asal serta cara yang dipergunakan dalam pembuatan tepung tapioka. Komposisi kimia onggok disajikan pada Tabel 1.

Secara morfologi, dedak adalah campuran *perikarp*, yaitu lapisan pelindung butir padi bagian luar yang merupakan susunan lapisan sel yang berbeda, dan *tegmen*, yaitu lapisan bagian dalam yang merupakan susunan dua lapisan yang berbeda. Kualitas dedak padi dipengaruhi oleh jenis padi yang digunakan sebagai bahan baku. Komposisi kimia dedak padi disajikan pada Tabel 1. Akan tetapi, dalam dedak padi juga terkandung mineral fosfor (P) dan nitrogen (N) yang merupakan faktor pembatas (*limiting factor*) bagi *Aspergillus niger* dalam merangsang pembentukan asam sitrat, sehingga pada penambahan dedak padi yang berlebih diperoleh penurunan perolehan asam sitrat (Syamsuriputra *et al.*, 2006).

Kadar air pada substrat dapat mempengaruhi pertumbuhan kapang. Pada kadar air yang tinggi, proses hidrolisis enzimatis sitrat sintase dalam membentuk asam sitrat berlangsung dengan baik. Sebaliknya, kadar air yang rendah dapat menyebabkan aktivitas metabolik kapang terganggu dan pertumbuhannya menjadi tidak optimum. Kadar air substrat pada percobaan ini lebih kecil daripada kadar air optimum pada percobaan yang dilakukan oleh Syamsuriputra *et al.* (2006) yakni sebesar 60% dengan ampas tapioka sebagai substrat. Hal ini disebabkan oleh perbedaan komposisi substrat sehingga mempengaruhi kandungan serat. Kadar serat yang tinggi dipengaruhi oleh kadar air (Soedirga *et al.*, 2018).

Kadar abu yang tinggi pada substrat dapat menghambat pertumbuhan kapang. Kadar abu substrat pada percobaan ini tergolong rendah seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1. Hal ini mempengaruhi keefektifan proses fermentasi karena berkaitan dengan peningkatan bahan organik akibat proses degradasi substrat oleh *Aspergillus niger* (Styawati, 2014).

Lemak yang terhidrolisis tidak dapat membentuk gula, tetapi akan berubah menjadi asam lemak dan gliserol, sehingga kandungan lemak yang tinggi akan mempengaruhi kadar gula yang diperoleh menjadi lebih sedikit. Kandungan lemak

pada substrat onggok dan dedak padi akan digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan *Aspergillus niger*. Hal ini sesuai dengan hasil percobaan yang dilakukan oleh Komari (1996), menyebutkan bahwa penggunaan lemak sebagai sumber energi untuk pertumbuhan kapang *Rhizopus sp.* yang cukup tinggi sehingga menggunakan cadangan lemak yang ada dalam ampas tahu.

Protein yang terhidrolisis akan melepas asam-asam amino penyusunnya. Asam amino yang sesuai bagi enzim dapat berfungsi sebagai energi enzim untuk bekerja, diantaranya enzim amilase yang bekerja merombak pati menjadi gula. Meskipun hasil hidrolisis protein bukan berupa gula, namun dengan protein yang banyak terhidrolisis maka energi bagi enzim bekerja juga semakin banyak, sehingga enzim dapat bekerja maksimal sesuai tugasnya (Musita, 2018). Kadar protein substrat dedak padi pada percobaan ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan substrat kulit durian pada proses fermentasi oleh *Aspergillus niger* yakni sebesar 0,3931% (Ariyani *et al*, 2014). Dengan demikian tingginya jumlah protein ini, khususnya pada substrak dedak padi dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen sehingga fase eksponensial pada percobaan ini lebih cepat dibandingkan substrat kulit durian yang terjadi di waktu inkubasi 120 jam.

Tabel 1. Komposisi Kimia Onggok dan Dedak Padi

| Komponen (%) | Hasil Samping Agroindustri | |
|----------------------------------|----------------------------|------------|
| | Onggok | Dedak padi |
| Air | 13,13±0,43 | 10,60±0,57 |
| Abu | 1,02±0,05 | 8,50±0,49 |
| Lemak | 1,42±0,27 | 13,82±1,10 |
| Protein | 2,09±0,09 | 11,51±0,55 |
| Karbohidrat <i>by difference</i> | 82,35±0,76 | 55,58±1,75 |

Karakterisasi Isolat *Aspergillus niger*

Aspergillus niger merupakan kapang yang memiliki pertumbuhan cepat, menghasilkan protein tinggi dan memproduksi enzim selulase yang cukup efisien sehingga mampu memanfaatkan selulosa untuk pertumbuhannya serta dapat menghidrolisis selulosa kristal (Auta *et al.*, 2014). Enzim yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* seperti α -amilase, β -amilase, dan selulase berperan sebagai penggerak pembentukan asam sitrat. Enzim ini termasuk jenis enzim invertase yaitu enzim yang terikat membran dan mampu menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa untuk diangkut ke dalam sel sebagai jalur reaksi dari sukrosa menjadi asam sitrat dimulai ekstraseluler

(Vandenberghé *et al.*, 2017). Oleh karena itu *Aspergillus niger* dapat digunakan sebagai biokatalis dalam produksi asam sitrat secara fermentasi.

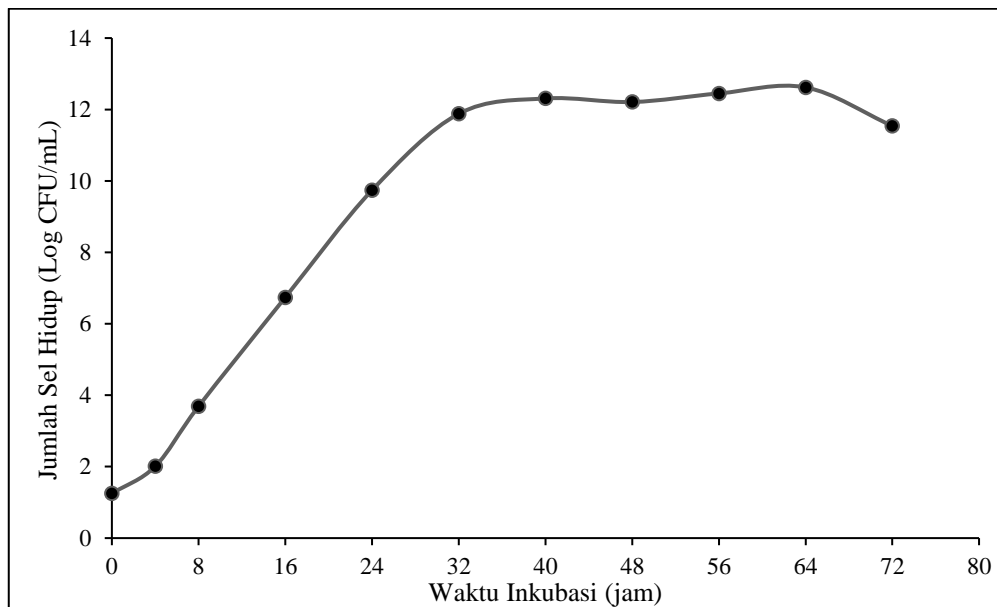
Pertumbuhan kapang berkorelasi dengan perkembangbiakan yang berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel. Jumlah sel hidup dipengaruhi oleh ketersediaan sumber karbon dan sumber nitrogen. Ketika nutrisi dan kondisi lingkungan mendukung untuk pertumbuhan isolat, spora tumbuh menjadi sel vegetatif dan berkembang biak dengan cara membelah diri (Sasmitaloka *et al.*, 2016). Jumlah sel hidup menunjukkan total sel vegetatif, spora yang sedang tumbuh dan jumlah spora. Kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media *nutrient broth* disajikan pada Gambar 1. Kurva pertumbuhan digunakan untuk menentukan waktu optimal *Aspergillus niger* dalam memproduksi senyawa metabolit primer, seperti asam sitrat. Agar asam sitrat dapat terakumulasi dalam jumlah yang cukup untuk dikomersialkan, maka di dalam proses tidak boleh terjadi tahap sporulasi ataupun pertumbuhan yang maksimal (Behera, 2020).

Fase lag (adaptasi) merupakan fase penyesuaian isolat dengan media dan kondisi lingkungan baru. Berdasarkan data pada Gambar 1, dapat diketahui bahwa fase lag terjadi pada waktu inkubasi 0-4 jam. Lama waktu fase lag dipengaruhi oleh media pertumbuhan, lingkungan, dan jenis inokulum. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan tidak berbeda jauh dengan medium dan lingkungan sebelumnya, maka tidak diperlukan waktu adaptasi yang lama. Menurut Sasmitaloka (2017), *Aspergillus niger* merupakan jenis kapang yang memiliki kemampuan cepat dalam pertumbuhannya. Oleh karena itu, waktu penyesuaian yang dibutuhkan untuk tumbuh di media baru menjadi lebih singkat. Pada saat fase lag, selain bertambah biomassa, ukuran dari sel kapang juga mengalami peningkatan serta terjadi pula perubahan komposisi kimia dari kapang tersebut. Jika sudah menyesuaikan diri, selanjutnya kapang mulai membelah diri dengan kecepatan yang rendah (fase akselerasi). *Aspergillus niger* mulai memasuki fase akselerasi pada waktu inkubasi 4-8 jam (Gambar 1).

Fase eksponensial terjadi pada waktu inkubasi 8-32 jam (Gambar 1). Pada fase ini kapang membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pertumbuhan kapang sangat dipengaruhi oleh medium pertumbuhannya dan kondisi lingkungannya, seperti pH, kandungan nutrisi, suhu dan kelembaban udara. Pada fase

ini, kebutuhan energi semakin meningkat dibandingkan pada fase lag. Pada fase logaritmik hingga awal fase stasioner umumnya dihasilkan senyawa metabolit primer yang diproduksi.

Aspergillus niger mulai memasuki fase deselerasi pada waktu inkubasi 32-40 jam dan mulai stationer pada waktu inkubasi 40-64 jam. Pada fase ini, gula sederhana yang terdapat pada substrat mulai berkurang dan mulai habis, sehingga akan terjadi penguraian sumber karbon dan nitrogen yang lebih kompleks seperti pati dan protein menjadi gula-gula sederhana dan asam amino (Sasmitaloka *et al.*, 2016). Selain itu, ukuran sel menjadi lebih kecil meskipun nutrisi sudah berkurang. Pada fase stationer, akan dihasilkan metabolit sekunder.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Isolat *Aspergillus niger*

Selanjutnya, *Aspergillus niger* memasuki fase kematian pada waktu inkubasi 64-72 jam. Sebagian besar populasi kapang mulai mengalami kematian karena nutrisi di dalam medium sudah habis, adanya zat racun dan habisnya energi cadangan di dalam sel. Kecepatan kematian tergantung dari kondisi nutrisi, lingkungan dan jenis mikroba.

Media *nutrient broth* memberikan laju tumbuh spesifik *Aspergillus niger* yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan media bekatul. Pada media bekatul, fase lag terjadi pada waktu inkubasi 24 jam, fase akselerasi terjadi pada waktu inkubasi 48 jam,

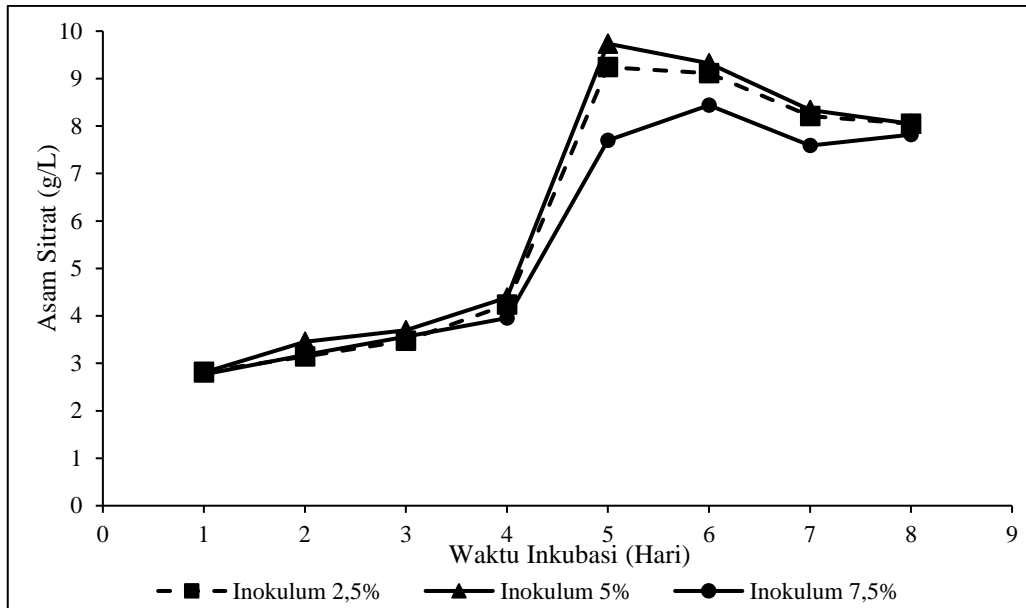
fase eksponensial terjadi pada waktu inkubasi 72 jam dan fase deselerasi terjadi pada waktu inkubasi 96 jam (Naim, 2016)..

Produksi Asam Sitrat

Kandungan asam sitrat yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat disajikan pada Gambar 4. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antara persentase volume inokulum dan waktu inkubasi menghasilkan kandungan asam sitrat yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

Selama proses fermentasi, kapang akan tumbuh dan berkembang terus menerus sampai fase kematian. Hal ini disebabkan oleh *Aspergillus niger* selama waktu fermentasi terus menghasilkan asam dengan cara membelah diri sehingga jumlahnya meningkat dan cepat. Kandungan 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.

Nilai kadar asam sitrat berkorelasi dengan nilai pH. Nilai kadar asam sitrat yang tinggi menunjukkan pH yang rendah. Semakin rendah nilai pH, maka semakin tinggi asam sitrat yang dihasilkan. Selain nilai pH, kadar asam sitrat pun berkorelasi dengan total asam. Kadar asam sitrat meningkat seiring meningkatnya total asam. Hal ini disebabkan bahwa asam sitrat merupakan golongan asam lemah yang dihasilkan dari proses fermentasi oleh *Aspergillus niger*.



Gambar 2. Asam Sitrat yang Diproduksi oleh *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Padat

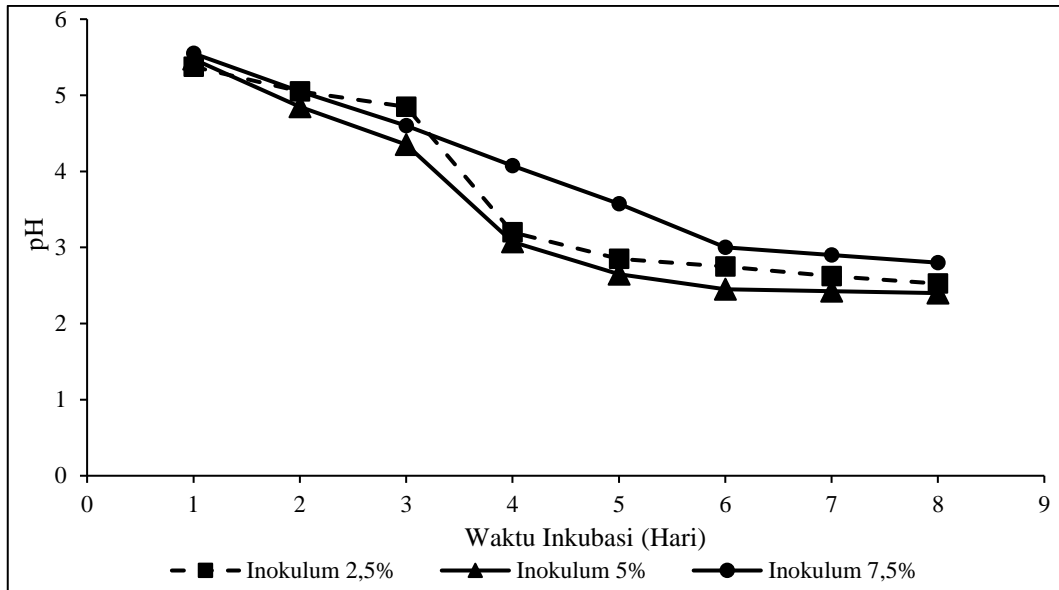
Dalam penelitian ini, kadar asam sitrat tertinggi pada waktu fermentasi berlangsung selama 5 hari atau 120 jam. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Carolina *et al.* (2015) dan Ul-Haq *et al.* (2002) yang menemukan bahwa produksi asam sitrat tertinggi pada waktu 144 jam dengan menggunakan substrat molases. Dengan demikian, substrat campuran onggok dan dedak padi memiliki tingkat efisiensi waktu yang lebih tinggi dalam proses produksi asam sitrat.

Karakterisasi Asam Sitrat Hasil Fermentasi pH

pH pada media fermentasi *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat disajikan pada Gambar 2. Berdasarkan informasi dari Gambar 2, pada hari ke-1 fermentasi, pH pada media fermentasi berkisar antara 5,38-5,55. Penurunan nilai pH terjadi hingga waktu inkubasi selama 5 hari. Selanjutnya, nilai pH cenderung konstan. Hal ini disebabkan bahwa terbentuknya asam-asam lemah sebagai produk samping dari proses fermentasi asam sitrat, yaitu asam oksalat. Keberadaan asam oksalat ini akan membentuk garam ketika proses pengendapan, garam tersebut bersifat bufer yang bersifat mempertahankan pH (Carolina *et al.*, 2015). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antara persentase volume inokulum dan waktu inkubasi menghasilkan nilai pH yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

Persentase volume inokulum mempengaruhi penurunan pH, dimana semakin banyak volume inokulum yang ditambahkan cenderung dapat mempercepat terjadinya penurunan pH. Namun penambahan starter pada persentase yang tinggi tidak efektif dalam mempercepat penurunan pH karena kapang dalam persentase yang tinggi (7,5% (b/v)) tidak mampu tumbuh dan bekerja secara optimal. Penurunan pH yang optimal terdapat pada perlakuan dengan penambahan inokulum 5% (b/v). Selama fermentasi berlanjut penurunan pH masih terus berlangsung dan penurunan tersebut seiring dengan meningkatnya keasaman produk. Penurunan pH juga berkorelasi dengan penurunan jumlah kapang. Penurunan jumlah kapang mengakibatkan berkurangnya pelepasan amonia yang diikuti dengan penggunaan asam amino oleh mikroorganisme perangsang fermentasi.

Penurunan pH menunjukkan proses kultivasi berlangsung dengan baik dan pati didegradasi menjadi gula sederhana oleh *Aspergillus niger* untuk memproduksi asam sitrat. pH rendah dibutuhkan dalam proses pembentukan asam sitrat, tingginya nilai pH dapat memicu akumulasi produk lain, yaitu asam oksaloasetat (Prihastuti *et al.*, 2021). Vandenberghe *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa *Aspergillus niger* aktif menghasilkan asam sitrat pada rentang pH 2-4. Pada pH di bawah 2, dapat menyebabkan inhibisi enzim yang membantu dalam pembentukan asam sitrat, sedangkan pada pH > 4 akan terbentuk asam lain yaitu asam oksaloasetat atau asam glukonat. pH awal media fermentasi pada kajian ini melebihi rentang pH optimal untuk produksi asam sitrat. Penerapan pH awal media yang rendah hanya efektif jika fermentasi dilakukan dalam dua tahapan proses. Hal ini karena pH rendah cenderung menghambat perkecambahan spora dan pertumbuhan kapang. Nilai pH yang rendah menandakan terbentuknya asam sitrat selama fermentasi. Beberapa enzim yang berperan dalam siklus TCA (*Tricarboxylic Acid*) sensitif terhadap pH.



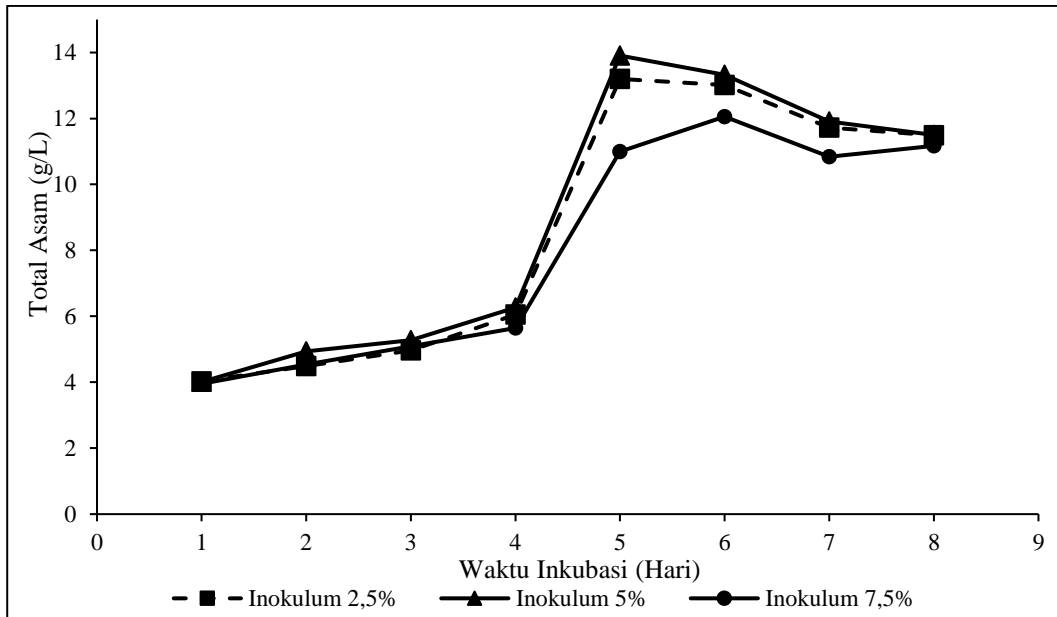
Gambar 3. pH pada Media Fermentasi *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Padat

Total Asam

Total asam pada asam sitrat yang diproduksi oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan antara persentase volume inokulum dan waktu inkubasi menghasilkan total asam yang berbeda nyata ($p < 0,05$).

Keasaman pada asam sitrat terjadi karena adanya aktivitas *Aspergillus niger* yang mengubah karbohidrat menjadi senyawa metabolit primer, berupa asam sitrat. Selama proses fermentasi, total asam meningkat pada hari pertama hingga hari kelima lalu mengalami penurunan dari hari keenam hingga hari kesembilan. Fluktuatif nilai total asam ini disebabkan oleh populasi *Aspergillus niger* (Kusmarwati *et al.*, 2011).

Fermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger* akan menghasilkan asam-asam organik. Asam-asam organik merupakan hasil dari pemecahan glukosa dan fruktosa dan akan berlangsung terus menerus hingga sumber nutrisi habis.



Gambar 4. Total Asam pada Asam Sitrat yang Diproduksi oleh *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Padat

KESIMPULAN

Pemanfaatan onggok dan dedak padi sebagai substrat pada produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media padat dapat meningkatkan nilai tambah karena efisiensi waktu yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh tingginya nutrisi yang terkandung pada onggok dan dedak padi, khususnya kandungan lemak, protein dan karbohidrat. Penambahan volume inokulum *Aspergillus niger* sebanyak 5% (b/v) dengan waktu inkubasi selama lima hari dapat menghasilkan asam sitrat yang optimal. Pada kombinasi perlakuan tersebut, dihasilkan nilai pH 2,65, total asam 13,91 g/L, dan kandungan asam sitrat 9,74 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, N., Safdar, W., Ali, S., Choudhry, S., & Ilahi, S. (2016). Citric Acid Production from *Aspergillus niger* using Banana Peel. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 7(1), 1580–1583.
- Adeoye, A. ., Lateef, A., & Gueguim-Kana, E. . (2015). Optimization of Citric Acid Production Using A Mutant Strain of *Aspergillus niger* On Cassava Peel Substrate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 568–574. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000002945>
- Apriyani, M., & Sedyadi, E. (2015). Sintesis dan Karakterisasi Plastik Biodegradable dari Pati Onggok Singkong dan Ekstrak Lidah Buaya (Aloe vera) dengan Plasticizer Gliserol. *Jurnal Sains Dasar*, 4(2), 145–152.
- Ariyani, S.B., Asmawit, Utomo, P.P. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus niger* Menggunakan Fermentasi

- Substrat Padat. Biopropal Industri, 5(2) 61-67.
<http://202.47.80.55/biopropal/article/view/825/736>
- Auta, H. S., Abidoye, K. T., Tahir, H., Ibrahim, A. D., & Aransiola, S. A. (2014). Citric Acid Production by *Aspergillus niger* Cultivated on *Parkia biglobosa* Fruit Pulp. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2014/762021>
- Behera, B. C. (2020). Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(6), 727–749.
<https://doi.org/10.1080/1040841X.2020.1828815>
- Carolina, A., Sidik, A., Maksum, I. P., Rachman, S. D., Safari, A., & Ishmayana, S. (2015). Fermentasi Biak Rendam Molases dengan *Aspergillus niger* untuk Produksi Asam Sitrat. In *Chimica et Natura Acta* (Vol. 3, Issue 1, pp. 25–29).
<https://doi.org/10.24198/cna.v3.n1.9171>
- Chergui, D., Akretche-kelfat, S., Lamoudi, L., Al-Rshaidat, M., Boudjelal, F., & Ait-amar, H. (2021). Optimization of Citric Acid Production by *Aspergillus niger* Using Two Downgraded Algerian Date Varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7134–7141.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.013>
- Fibriyani, D., Arinta, F., & Kusumaningtyas, R. D. (2017). Pengolahan Onggok Singkong Sebagai Plastik Biodegradable Menggunakan Plasticizer Gliserin Dari Minyak Jelantah. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 74–77.
<https://doi.org/10.17728/jatp.195>
- Kareem, S. ., & Rahman, R. . (2011). Utilization of Banana Peels for Citric Acid Production by *Aspergillus niger*. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 4(4), 384–387. <https://doi.org/10.5251/abjna.2013.4.4.384.387>
- Kiramang, K. (2011). Berat Badan Akhir, Konversi Ransum dan Income Over Feed and Chick Cost Ayam Broiler dengan Pemberian Ransum Komersil. *Jurnal Teknosains*. 5 (1), 15-25. <http://journal.uin-alaudin.ac.id/index.php/teknosains/article/view/163>
- Komari, Rozzana, R., Mahmud, M.K., 1996. Akumulasi Lemak pada *Rhizopus SP* melalui Proses Fermentasi Padat. Center for Research and Development of Nutrition and Food, NIHRD.
- Kusmarwati, A., Heruwati, E. S., Utami, T., & Rahayu, E. S. (2011). Pengaruh Penambahan *Pediococcus Acidilactici* F-11 sebagai Kultur Starter terhadap Kualitas Rusip Teri (*Stolephorus Sp.*). *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 6(1), 13–26.
<https://doi.org/10.15578/jpbkp.v6i1.84>
- Marbun, F. G. I., Wiradimadja, R., & Hernaman, I. (2018). Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Sifat Fisik Dedak padi. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 6(November), 163–166.
- Musita, N. (2018). Kajian Sifat Fisikokimia Tepung Onggok Industri Besar Dan Industri Kecil. *Majalah Teknologi Agro Industri*, 10(1), 19–24.
<https://doi.org/10.46559/tegi.v10i1.3990>
- Naim, Nurlia. Pemanfaatan Bekatul Sebagai Media Alternatif untuk Pertumbuhan *Aspergillus Sp.* *Media Analisis Kesehatan*, 7(2), 1-6.
<https://anakes.poltekkes-mks.ac.id/wp-content/uploads/2018/09/1-Hj-Nurlia-Naim-Jurnal-Nov-2016.pdf>

- Prihastuti, P., Aji, B. P., Fitriani, D. S., Maharani, F., & Hartati, I. (2021). Optimasi Asam Sitrat Limbah Batang Pisang (*Musa Paradisiaca* L.) dengan Metode Kultivasi Cair. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Ke-11*, 1(1), 67–71.
- Roukas, T., & Kotzekidou, P. (2020). Pomegranate Peel Waste: A New Substrate for Citric Acid Production by *Aspergillus niger* in Solid-State Fermentation Under Non-Aseptic Conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(12), 13105–13113. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07928-9>
- Sari, M., Warji, Novita, D. D., & Tamrin. (2013). Mempelajari Karakteristik Tepung Onggok Pada Tiga Metode Pengeringan Yang Berbeda. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 2(1), 43–48.
- Sasmitaloka, K. S. (2017). Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Cair. *Jurnal Integrasi Proses*, 6(3), 116–122.
- Sasmitaloka, K. S., Rahayuningsih, M., & Sunarti, T. C. (2022). Utilization of Agroindustrial by Product for Bioinsecticide Production. *Proceedings of the International Conference on Radioscience, Equatorial Atmospheric Science and Environment and Humanosphere Science*, 275, 507–515. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-03503-6>
- Sasmitaloka, K. sanggrami, Sunarti, T. C., & Rahayuningsih, M. (2016). Produksi Bioinsektisida Oleh *Bacillus thuringiensis* subs. aizawai Pada Kultivasi Media padat Menggunakan Limbah Agroindustri. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 13(1), 1–10.
- Show, P. L., Oladele, K. O., Siew, Q. Y., Zakry, F. A. A., Wei Lan, J. C., & Ling, T. C. (2015). Overview of Citric Acid Production from *Aspergillus niger*. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 271–283. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1033653>
- SNI. (1992). *Cara Uji Makanan dan Minuman* (SNI 01-289). Badan Standarisasi Nasional.
- Soedirga, L. C., Cornelia, M., & Vania. (2018). Analisis Kadar Air, Kadar Serat Dan Rendemen Tepung Singkong dengan Menggunakan Berbagai Metode Pengeringan. *Sains dan Teknologi. FaST Jurnal Sains dan Teknologi*. 2(2), 8–18. <https://ojs.uph.edu/index.php/FaSTJST/article/download/1322/pdf>
- Styawati, Nur, E., Muhtarudin, Liman. (2014). Pengaruh Lama Fermentasi *Trametes* Sp. Terhadap Kadar Bahan Kering, Kadar Abu, dan Kadar Serat Kasar Daun Nenas Varietas Smooth Cayene. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*. 2(1), 19-24. <http://dx.doi.org/10.23960/jipt.v2i1.p%25p>
- Sugiwati, S., Suhartono, M. T., Hanafi, M., & Lioe, H. N. (2018). Produksi β -Glukosidase *Aspergillus niger* Bio 2173 dengan Fermentasi Padat menggunakan Substrat Dedak. *Jurnal Selulosa*, 8(1), 33–42.
- Suryani, H. F., N. Luthfi. 2022. Evaluasi Kualitas Nutrisi Dedak Padi Dari Pemasok Bahan Pakan Di Kabupaten Semarang. *Journal of Animal Center (JAC)*., 4(1) 26-32. DOI: <https://doi.org/10.36378/jac.v4i1.2189>
- Syamsuriputra, A. A., Setiadi, T., Kushandayani, R., & Yunus, R. F. (2006). Pengaruh Kadar Air Substrat dan Konsentrasi Dedak Padi pada Produksi Asam Sitrat dari Ampas Tapioka Menggunakan *Aspergillus niger* ITBCCL74. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, 1–8.

- Ul-Haq, I., Ali, S., Qadeer, M. A., & Iqbal, J. (2002). Citric acid fermentation by mutant strain of *Aspergillus niger* GCMC-7 using molasses based medium. *Electronic Journal of Biotechnology*, 5(2), 125–132. <https://doi.org/10.2225/vol5-issue2-fulltext-5>
- Umami, N., & Aviantara, D. B. (2019). Waste Exchange Limbah Onggok Tapioka dengan Proses Biologik untuk Periptaan Polyunsaturated Fatty Acid. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*, 12(2), 136–154.
- Vandenbergh, L. P. ., Rodrigues, C., de Carvalho, J. ., Medeiros, A. B. ., & Soccol, C. . (2017). Production and Application of Citric Acid. *Current Development in Biotechnology and Bioengineering*, 557–575.