

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Asam Sitrat

Asam sitrat atau asam-2-hidroksipropan-1,2,3-trikarboksilat, dengan rumus molekul $\text{HOOCCH}_2\text{-C(OH)(COOH)-CH}_2\text{COOH}$ mempunyai berat molekul 192,12. Ditemukan dalam buah-buahan seperti lemon. Terdapat dalam dua bentuk yaitu asam sitrat monohidrat dan anhidrat.⁽⁶⁾ Kristal asam sitrat monohidrat diperoleh dari larutan asam dalam keadaan dingin. Berupa kristal ortorombik tak berwarna dan tembus cahaya. Asam sitrat monohidrat adalah kristal yang stabil tetapi akan kehilangan molekul air pada udara kering atau bila divakum menggunakan asam sulfat. Kristal ini melunak pada $70\text{-}75^\circ\text{C}$. Dengan pemanasan yang cepat pada 100°C kristal ini membentuk kristal anhidrat, meleleh secara tajam pada 153°C dengan spesifik gravity 1,542.^(6,7)

Asam sitrat anhidrat terbentuk dari larutan dalam keadaan panas. Kristal ini tidak berwarna dan tembus cahaya, termasuk dalam kelas holohedral pada sistem monoklinik. Titik leleh 153°C , dengan spesifik gravity 1,665.^(6,7)

Asam sitrat termasuk asam organik kuat dengan konstan disosiasi $K_1: 8,2 \times 10^{-4}$ pada 18°C , $K_2: 1,77 \times 10^{-5}$ dan $K_3: 3,9 \times 10^{-6}$.⁽⁶⁾

2.2 Jamur *Aspergillus niger* ⁽⁸⁾

Jamur *Aspergillus* tersebar luas di alam, kebanyakan spesiesnya sering menyebabkan kerusakan makanan, tetapi beberapa spesies digunakan dalam fermentasi makanan. Beberapa galur *Aspergillus niger* digunakan dalam produksi asam sitrat, asam glukonat dan enzim.

Kedudukan *Aspergillus niger* dalam taksonomi adalah sebagai berikut :

Divisio : *Thallopyta*

Klas : *Ascomycetes*

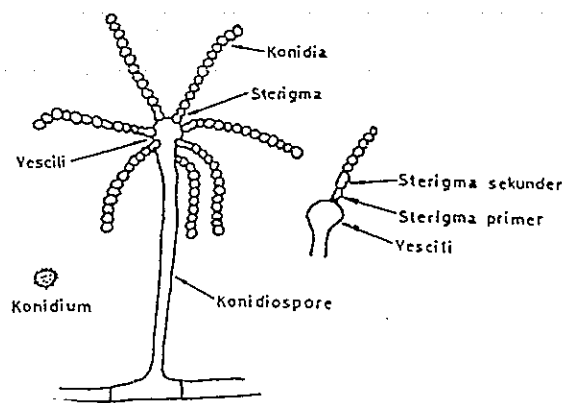
Ordo : *Moniliales*

Famili : *Monoliaceae*

Genus : *Aspergillus*

Spesies : *Aspergillus niger*

Ciri-ciri spesifik *Aspergillus niger* yaitu mempunyai kepala konidia yang besar, bulat dan berwarna hitam, coklat hitam atau ungu coklat. Konidianya kasar dan mengandung pigmen. Hifa septat dan miselium bercabang. Konidiofora septat atau nonseptat yang muncul dari sel kaki. 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.



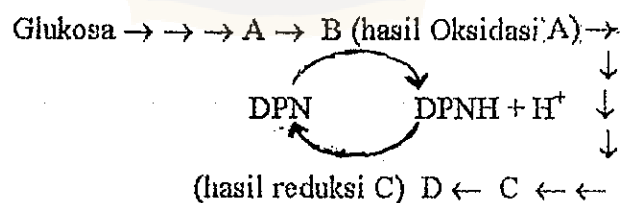
Gambar 2.1 Jamur *Aspergillus niger*

2.3 Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata latin “fervere” yang artinya mendidih, digunakan untuk menyebut adanya aktifitas pada ekstrak buah. Peristiwa pendidihan tersebut terjadi akibat terbentuknya gelembung CO₂ oleh proses katabolisme gula dalam ekstrak. Secara biokimia fermentasi diartikan sebagai pembentukan energi melalui katabolisme senyawa organik, sedang dalam industri diartikan sebagai proses untuk mengubah bahan dasar menjadi produk oleh sel mikroba.⁽⁹⁾

Dalam pengertian lain fermentasi adalah suatu reaksi yang melibatkan reaksi redoks dalam sistem biologi dimana sebagai donor dan akseptor elektron digunakan senyawa organik. Senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi reduksi dengan katalis enzim menjadi suatu bentuk lain misalnya aldehid dan dapat dioksidasi menjadi asam.⁽¹⁰⁾

Sel yang melakukan fermentasi mempunyai enzim-enzim yang akan mengubah hasil dari reaksi oksidasi (asam) menjadi senyawa yang bermuatan lebih positif sehingga dapat menangkap elektron atau bertindak sebagai akseptor elektron terakhir dan menghasilkan energi.⁽¹⁰⁾



Gambar 2.2 Skema Fermentasi

2.4 Tipe-tipe Proses Fermentasi ⁽⁹⁾

Fermentasi dikelompokkan menjadi empat macam :

- a. Fermentasi untuk memproduksi sel mikrobia, seperti baker's yeast
- b. Fermentasi untuk menghasilkan enzim, termasuk didalamnya produksi amilase, protease, pektinase, laktase dan lain-lain
- c. Fermentasi untuk memproduksi metabolit primer maupun sekunder. Yang termasuk metabolit primer diantaranya etanol, asam organik seperti asam sitrat , asam glukonat, nukleotida, vitamin, sedang metabolit sekunder adalah steroid, antibiotik, poliketida.
- d. Fermentasi untuk memodifikasi senyawa kimia tertentu menjadi produk yang lebih mempunyai nilai ekonomi. Proses ini disebut proses transformasi. Sebagai contoh transformasi hidrotetrasiklin menjadi tetrasiklin

2.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Asam Sitrat

a. Komposisi medium

Kondisi fermentasi untuk memperoleh asam sitrat adalah : ⁽⁴⁾

- Konsentrasi gula tinggi
- Konsentrasi fosfat rendah
- pH rendah, dibawah 2,0
- Tekanan oksigen tinggi
- Tidak terdapat ion Mn^{++} , Fe^{++} , Zn^{++}

Gula

Pada umumnya gula dalam fermentasi asam sitrat digunakan oleh jamur sebagai sumber karbon.⁽⁴⁾ Untuk itu yang sering digunakan hanya gula yang dapat dengan cepat berfungsi sebagai sumber karbon.⁽¹⁾ Beberapa jenis gula dengan jumlah karbon 3,4,5,6,7 dan 12 digunakan dalam fermentasi asam sitrat.⁽²⁾ Pada umumnya berbagai jenis bahan seperti pati kentang, hidrolisat pati, sirup glukosa, sukrosa, sirup gula tebu, molase tebu dan molase bit dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat.⁽¹⁾

Konsentrasi gula yang tinggi diperlukan dalam produksi asam sitrat. Asam sitrat maksimum dihasilkan pada medium yang mengandung 14-22% (W/V) gula.^(1,4) Menurut Doegler dan Prescott apabila konsentrasi gula kurang dari 15% total medium, sejumlah besar gula ini tidak bisa diubah menjadi asam sitrat.⁽²⁾

Disamping sebagai sumber karbon, gula juga dibutuhkan dalam optimasi produksi jamur, karena satu galur jamur yang berproduksi secara baik dalam suatu sumber gula tertentu pada umumnya tidak dapat digunakan pada sumber gula lain tanpa mengalami penurunan hasil.⁽¹⁾

Garam-garam anorganik

Selain karbohidrat didalam medium fermentasi harus tersedia unsur-unsur seperti nitrogen, potasium, fosfat, sulfur dan magnesium.⁽²⁾

Biasanya sumber nitrogen yang digunakan adalah garam ammonium sulfat atau nitrat. Garam ammonium lebih disukai karena akan mengakibatkan pH medium turun, yang merupakan syarat bagi terbentuknya asam sitrat.^(1,4)

Jika ion logam dibatasi dengan tepat dalam medium, maka konsentrasi fosfat tidak perlu dibatasi. Tetapi dalam keadaan unsur-unsur kelumit tidak bisa dikontrol secara tepat, maka fosfat sebaiknya dalam konsentrasi rendah.^(1,4)

b. pH medium

Medium fermentasi dengan pH rendah sangat penting bagi suksesnya fermentasi.^(1,4) Penggunaan pH yang rendah menguntungkan dalam pembentukan asam sitrat karena pada pH rendah produksi asam oksalat akan terhambat dan zat-zat kontaminan dapat diminimalkan.⁽²⁾

Pada umumnya pH kurang dari 3, asam sitrat merupakan produk utama, sedang pada pH yang lebih tinggi asam oksalat dan asam glukonat juga diproduksi dalam jumlah yang cukup tinggi. Untuk produksi asam sitrat pH optimum berkisar antara 1,7 - 2,0.

c. Aerasi⁽¹⁾

Aerasi merupakan faktor yang sangat penting, produksi asam sitrat meningkat dengan penambahan aerasi. Sebaliknya, jika pemberian udara dihentikan selama beberapa menit, maka produksi asam sitrat akan berhenti dan tidak dapat dikembalikan lagi ketinggian semula walaupun aerasi dilanjutkan lagi.

d. Temperatur⁽²⁾

Temperatur yang digunakan tergantung pada organisme dan kondisi fermentasi. Temperatur yang digunakan biasanya berkisar antara 25 - 35°C. Doegler dan Prescott mengusulkan suhu 26 - 28°C sebagai temperatur optimum, dimana pada suhu 8 sampai 28°C produksi asam sitrat akan meningkat sedang pada suhu 30°C ke atas produksi asam sitrat turun dan akan terbentuk juga asam oksalat.

2.6 Analisis Spektrofotometri Sinar Ultra violet-Tampak

Analisis spektrofotometri Sinar Ultra violet-Tampak didasarkan kenyataan bahwa semua molekul dapat menyerap energi radiasi karena molekul tersebut mengandung elektron, baik berpasangan maupun elektron mandiri, yang dapat tereksitasi ke tingkat yang lebih tinggi.⁽¹¹⁾

Penyerapan radiasi oleh molekul dapat dianalisis secara kualitatif maupun kuantitatif. Secara kualitatif dapat diketahui dari kemampuan molekul untuk menyerap energi radiasi untuk eksitasi.⁽¹²⁾ Energi radiasi ini sebanding dengan jumlah foton persatuan waktu. Absorpsi terjadi ketika foton bertabrakan dengan molekul dan mengakibatkan molekul tereksitasi. Absorpsi cahaya oleh foton ini tergantung panjang medium yang dilewatinya.⁽¹²⁾

Hubungan antara serapan radiasi dan panjang jalan yang melewati media (tebal media) dirumuskan oleh Bouger (1729) dan Lambert (1768) sebagai berikut.⁽¹¹⁾

Jika P_0 adalah radiasi masuk dan P daya yang keluar dari lapisan medium sebesar b :

$$\ln \frac{P_0}{P} = k_1 b \quad (1)$$

Sedangkan hubungan antara spesies penyerap dan tingkat absorpsi dirumuskan oleh Beer (1859) :

$$\ln \frac{P_0}{P} = k_2 C \quad (2)$$

dengan menyamakan konstanta k_1 sebagai $f(c)$ yaitu konstanta pada saat konsentrasi konstan dan k_2 sebagai $f(b)$ konstanta pada saat tebal media dibuat tetap, maka penggabungan hukum Bouger dan Beer didapat :

$$\ln \frac{P_0}{P} = f(c) b \quad \text{dan} \quad \ln \frac{P_0}{P} = f(b) C$$

(Bouger) (Beer)

jika keduanya disamakan dengan suatu konstanta K , maka :

$$f(c) = K C \quad \text{dan} \quad f(b) = K b$$

sehingga

$$\ln \frac{P_0}{P} = K b C$$

atau

$$A = a b C$$

A sama dengan $-\log \frac{P_0}{P}$ disebut Absorbansi dan a disebut Absorbtivitas jika C dalam satuan g/L sedang jika C dalam bentuk mol/L maka didapat rumus :

$$A = \varepsilon b C$$

dimana ε adalah absorbtivitas spesifik.

