

PENGARUH MEDIA MOLASE DAN MEDIA SUKROSA TERHADAP PERTUMBUHAN *ASPERGILLUS NIGER* DALAM MEMPRODUKSI ASAM SITRAT

Effect of Molasses and Sucrose Media on Growth of Aspergillus niger for Citric Acid Production

Angga Prasetyo^{1*} dan Rasmiyana¹

¹Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember,

*email: angga_prasetyo@polije.ac.id

Received: 06 Januari 2025 | Accepted: 21 Januari 2025 | published: 31 Januari 2025

ABSTRAK

Limbah molase sebagai hasil samping industri gula masih belum banyak dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme untuk memproduksi asam organik. Limbah ini berpotensi sebagai media pertumbuhan *Aspergillus niger* dalam memproduksi asam sitrat yang bisa dimanfaatkan sebagai pengawet dan pengatur nilai pH pada industri pangan. Penelitian ini bertujuan mengukur pertumbuhan dan produksi asam sitrat oleh *A. niger* yang ditumbuhkan dalam media molase dan media sukrosa sebagai pembanding. Metode penelitian dilakukan dengan inkubasi *A. niger* pada media molase dan media sukrosa selama 6 hari pada suhu ruang. Parameter yang diukur adalah biomassa dan kadar asam sitrat pada hari ke-0, 2, 4, dan 6. Hasil penelitian menunjukkan pada media molase, biomassa jamur mengalami kenaikan hingga hari ke-6 yaitu 0,295 gram dan kadar asam sitrat sebesar 10,24 mg/ml. Pada media sukrosa, biomassa jamur mengalami peningkatan hingga hari ke-6 yaitu 0,102 gram dan kadar asam sitrat sebesar 20,49 mg/ml. Berdasarkan hasil penelitian, molase memiliki potensi untuk dioptimalkan sebagai media untuk produksi asam sitrat oleh *A. niger*.

Kata Kunci: limbah molase; sukrosa; asam sitrat; *Aspergillus niger*

ABSTRACT

Molasses waste as a by-product of the sugar industry is still not widely used as a substrate for microorganisms for the production of organic acid. This waste has the potential as a growth medium for *Aspergillus niger* in producing citric acid which can be used as a preservative and pH value regulator in the food industry. This research aimed to measure the growth and production of citric acid by *A. niger* grown in molasses media and sucrose media as a comparison. The research method was carried out by incubating *A. niger* in molasses media and sucrose media for 6 days at room temperature. The parameters measured were biomass and citric acid content which were carried out on days 0, 2, 4 and 6. The results showed that on molasses media, fungal biomass increased until the 6th day, namely 0.295 gram and the citric acid level was 10,24 mg/ml. On sucrose media, fungal biomass increased until the 6th day, namely 0.102 gram and the citric acid content was 20,49 mg/ml. Based on the research results, molasses media has the potential to be optimized as a medium for citric acid production by *A. niger*.

Keywords: molasses waste; sucrose; citric acid; *Aspergillus niger*

1. PENDAHULUAN

Molase merupakan salah satu limbah yang dihasilkan dari industri pengolahan tebu. Molase banyak mengandung karbon sehingga bisa dimanfaatkan sebagai substrat oleh industri fermentasi dalam memproduksi etil alkohol, aseton, dan butanol (Jamir dkk., 2021). Molase mengandung karbohidrat dan sukrosa

yang tinggi serta beberapa asam amino seperti tirosin, glisin, prolin dan asam glutamat (Mohd Khairul dkk., 2022). Berdasarkan penelitian global, molase dalam jumlah besar digunakan untuk pembuatan etanol, padahal molase bisa juga dimanfaatkan untuk produksi asam organik melalui proses fermentasi (Castro-Montoya dkk., 2023; Jamir dkk., 2021) Asam organik yang berpotensi dihasilkan adalah

asam sitrat (Khurshid dkk., 2024; Marlinda dkk., 2019).

Asam sitrat atau 2-hidroksipropana-1,2,3-asam trikarboksilat memiliki rumus kimia $C_6H_8O_7$ termasuk asam organik lemah dan bisa ditemukan pada jaringan tumbuhan dan hewan. Asam sitrat banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi, pangan, kimia dan kosmetik (Ksiazek, 2024). Pada industri pangan, asam sitrat dimanfaatkan sebagai pengawet dan menjaga kestabilan antioksidan dalam produk pangan (Kilel dkk., 2019). Produksi asam sitrat melalui proses fermentasi bisa dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme yaitu jamur *A. niger* (Alhadithy & Yasin, 2023; West, 2023).

A. niger merupakan jamur dari golongan askomikota yang berfilamen, hifa bersekat, suhu optimal pertumbuhan sekitar 35-37°C dan pH optimal yaitu 5-6. Secara makroskopik, jamur ini akan berwarna hitam dan secara mikroskopik, kepala konidia akan berwarna hitam (George & Pramod, 2019). Jamur *A. niger* mampu menghasilkan asam sitrat ketika pH lingkungan sekitar 2,5 dan mampu menghidrolisis berbagai polimer sehingga berpotensi dimanfaatkan dalam proses fermentasi (Meyer dkk., 2015).

Mekanisme *A. niger* dalam produksi asam sitrat dipengaruhi oleh nutrisi dari lingkungan. Ketersediaan glukosa mampu memengaruhi proses transkripsi gen *cexA* (*citric acid exporter*) yang terkait dengan sekresi asam sitrat secara ekstraseluler (Zheng dkk., 2023). Suhu, nilai pH dan waktu fermentasi juga akan memberikan hasil produksi asam sitrat yang berbeda. Penelitian Shaimenova dkk. (2024) menunjukkan hasil konsentrasi asam sitrat tertinggi diperoleh ketika *A. niger* R5/4 ditumbuhkan pada medium maltodekstrin tepung jagung dengan suhu 30,4°C, nilai pH 5,2 dan waktu inkubasi 168 jam.

Penggunaan limbah molase sebagai medium *A. niger* untuk produksi asam sitrat telah diteliti oleh Marlinda dkk. (2019) dengan melakukan optimasi waktu fermentasi sehingga diperoleh waktu fermentasi terbaik yaitu

selama 9 hari untuk memperoleh kadar asam sitrat tertinggi. Optimasi terhadap strain *A. niger* juga telah dilakukan dengan menggunakan radiasi gama untuk meningkatkan produksi asam sitrat (Khattab dkk., 2022). Penelitian lain dilakukan oleh Khurshid dkk. (2024) dengan menambahkan magnesium sulfat, kalium ferrosianida dan amonium oksalat pada medium molase sehingga diperoleh hasil asam sitrat mencapai 77%.

Namun demikian, sejauh ini belum ada penelitian mengenai pengaruh medium molase dan medium sukrosa terhadap pertumbuhan dan produksi asam sitrat oleh *A. niger*. Oleh karena itu, penelitian ini akan mengukur biomasa *A. niger* dan produksi asam sitrat pada medium molase dan medium sukrosa dengan variasi waktu fermentasi sehingga diperoleh waktu yang optimal dalam produksi asam sitrat. Hasil penelitian ini diharapkan bisa menjadi referensi untuk optimalisasi medium *A. niger* dalam produksi asam sitrat.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Kegiatan dilaksanakan pada bulan Januari-Desember 2023 di laboratorium bioteknologi PAU Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, alat pH meter, mikropipet, gelas beker, cawan petri, tabung reaksi, buret, statif, oven, dan erlenmeyer.

Bahan yang digunakan adalah *A. niger*, molase, air destilasi, NaOH 1N, sukrosa, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ dan indikator PP.

2.3 Tahapan Penelitian

2.3.1 Pembuatan Media Molase Cair

Molase diambil sebanyak 100 ml dan diencerkan dengan air terdestilasi sebanyak 90 ml. Nilai pH diatur mendekati 6. Media molase kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf. (Khattab dkk., 2022 dengan modifikasi).

2.3.2 Pembuatan Media Sukrosa

Media sukrosa dibuat dengan komposisi sukrosa sebanyak 1,5 gram, NH_4NO_3 sebanyak 2,5 gram, KH_2PO_4 sebanyak 1 gram, dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,2 liter. Nilai pH diatur mendekati 6. Media kemudian disterilisasi dengan autoklaf (Aboyeji dkk., 2020 dengan modifikasi).

2.3.3 Inokulasi *A.niger* dan Inkubasi pada Media

Biakan *A. niger* diambil sebanyak satu ose kemudian diinokulasikan pada media molase dan media sukrosa. Setelah itu, media diinkubasi pada suhu ruang selama 6 hari. Proses fermentasi dilakukan dengan metode *batch culture* (Khattab dkk., 2022 dengan modifikasi).

2.3.4 Pengukuran Biomasa

Biomasa diukur pada hari ke-0, 2, 4, dan 6. Pengukuran dilakukan dengan menimbang kertas saring kosong yang telah dikeringkan di oven selama 48 jam pada suhu 105°C sebagai berat awal (W_0). Setelah itu, penyaringan miselium *A. niger* dari tiap medium menggunakan kertas saring baru, selanjutnya kertas saring dikeringkan di dalam oven selama 48 jam pada suhu 105°C dan ditimbang sebagai berat akhir (W_a). Perhitungan biomasa dengan menggunakan rumus: $W_a - W_0$ (Sasmitaloka, 2017 dengan modifikasi).

2.3.5 Pengukuran Nilai pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter. Nilai pH diukur pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

2.3.6 Pengukuran Total Asam

Pengukuran total asam pada hari ke-0, 2, 4, dan 6 menggunakan metode titrasi dengan mengambil media dan diberi indikator *phenolptalein* (PP) kemudian dititrasi dengan NaOH 1 N hingga warna medium tepat hilang. Penentuan kadar total asam sebagai berikut (Sasmitaloka, 2017).

$$\text{Total Asam (mg/ml)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{Normalitas NaOH} \times 192}{10 \text{ ml sampel}}$$

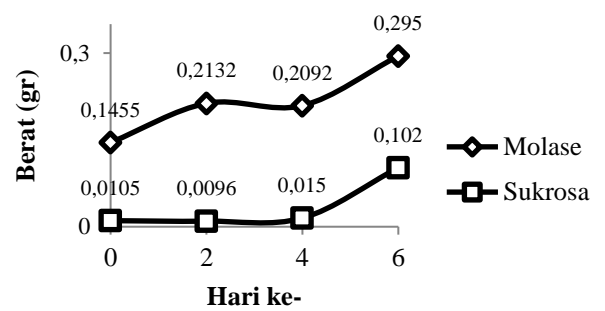
2.3.7 Analisa Data

Data pengukuran biomasa, nilai pH, dan asam total dihitung dan dibuat menjadi grafik menggunakan *Microsoft Excel*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengukuran Biomasa

Pengukuran biomasa bertujuan mengetahui berat kering dari *A. niger* selama proses fermentasi. Pertumbuhan *A. niger* pada media molase dan sukrosa dapat dilihat pada Gambar 1.



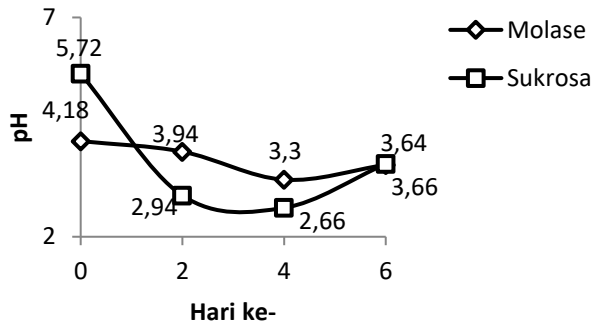
Gambar 1. Grafik pertumbuhan *A. niger* berdasarkan biomasa pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

Pada media molase, biomasa *A. niger* mengalami kenaikan hingga hari ke-6 dan biomasa tertinggi pada hari ke-6 yaitu 0,295 g. Pada media sukrosa, biomasa mengalami kenaikan hingga hari ke-6 dengan biomasa tertinggi yaitu sebesar 0,102 g. Berdasarkan parameter biomasa, media yang terbaik adalah media molase karena memiliki berat sel kering lebih tinggi dibandingkan media sukrosa. Media molase mengandung karbohidrat dan sukrosa yang tinggi serta beberapa asam amino yang bisa menjadi sumber pertumbuhan bagi *A. niger* dibandingkan media sukrosa yang komponen terbesarnya hanya sukrosa saja (Mohd Khairul dkk., 2022).

3.2 Pengukuran Nilai pH

Nilai pH pada tiap medium dapat dilihat pada Gambar 2 yang menunjukkan perubahan nilai pH selama fermentasi hingga hari ke-6.

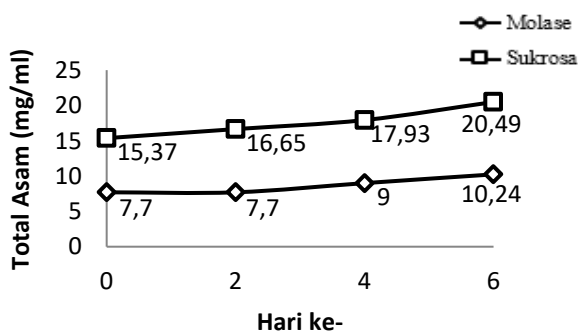
Pada medium molase, nilai pH cenderung turun hingga hari ke-4, dan hal yang sama terjadi pada medium sukrosa yaitu mengalami penurunan nilai pH dibandingkan hari ke-0. fermentasi berlangsung dan substrat mengalami degradasi menghasilkan asam sitrat (Sasmitaloka, 2017).



Gambar 2. Grafik hubungan waktu dan pH pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

3.2 Pengukuran Total Asam

Pengukuran total asam bertujuan mengetahui pengaruh waktu dan jenis media fermentasi terhadap kadar asam sitrat sehingga bisa diketahui waktu pemanenan terbaik dan media terbaik dalam produksi asam sitrat.



Gambar 3. Grafik hubungan waktu dan total asam pada hari ke-0, 2, 4, dan 6.

Pada Gambar 3, kadar asam sitrat pada media molase dan sukrosa mengalami peningkatan

Nilai pH yang turun menjadi lebih asam disebabkan oleh akumulasi asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi yaitu asam sitrat. Penurunan nilai pH menandakan proses hingga hari ke-6. Semakin lama waktu fermentasi, kadar asam sitrat yang dihasilkan cenderung meningkat, tetapi hal ini tergantung oleh mikroorganisme dan nutrisi yang diberikan (Khattab dkk., 2022). Dari berbagai parameter yang telah dilakukan, media sukrosa dan media molase menunjukkan hasil yang baik karena mampu menghasilkan biomasa *A. niger* dan asam sitrat.

Produksi asam sitrat pada media sukrosa terlihat lebih tinggi karena media sukrosa memiliki komposisi yang sudah diperhitungkan secara optimal, sementara media molase masih mengandung molekul kompleks sehingga memerlukan waktu untuk didegradasi oleh *A. niger*. Selain itu, pada penelitian ini tidak dilakukan pemurnian pada limbah molase sehingga molase masih mengandung logam berat yang menyebabkan proses produksi asam sitrat kurang efisien (Deme dkk., 2020).

4. KESIMPULAN

Media molase dan sukrosa dapat dijadikan sebagai media pertumbuhan dan produksi asam sitrat oleh *A. niger* berdasarkan parameter biomasa, nilai pH, dan total asam. Media molase dapat dilakukan pemurnian terlebih dahulu sebelum dijadikan sebagai media produksi asam sitrat oleh *A. niger*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada pihak-pihak yang telah terlibat dalam penelitian di laboratorium dan penyusunan naskah.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboyeji, O. O., J. K. Oloke, A.O. Arinkoola, M. A. Oke, M. M. I. (2020). Optimization of media components and fermentation conditions for citric acid production from sweet potato peel starch hydrolysate by *Aspergillus niger*. *Scientific African*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00554>.
- Alhadithy, D. A., Yasin, S. R. (2023).). Product concentration, yield percentage and productivity of citric acid formation using *Aspergillus niger* isolated from palm dates. *Journal of Ecological Engineering*, 24(11), 1–13.
- Castro-Montoya, A. J., Méndez-Romero, T., Vargas-Tah, A. A., Aguilar-Rivera, N., & Lazato-Mixteco, P. E. (2023). Sugarcane molasses-based biorefinery: Organic acids and ethanol production. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability*, 5(1), 1–9.
- Deme, G. D., Belete, T. A., and Meroda, T. G. (2020). Fabrication of citric acid using molasses by *Aspergillus niger*. *Journal of Modern Chemistry & Chemical Technology*, 11(1), 37–58.
- George, M. dan Pramod, W. R. (2019). Morphology, molecular identification and phylogenetic analysis based on internal transcribed spacer (ITS) of the ribosomal nuclear DNA (rDNA) sequence of a pathogenic fungal isolate *Aspergillus niger* LKO1. *Tropical Plant Research*, 6(2), 166–179.
- Jamir, L., Vikas, K., Jasleen, K., Satish, K. & Harminder, S. (2021). Composition, valorization and therapeutical potential of molasses: a critical review. *Environmental Technology Reviews*, 10(1), 131–142.
- Khattab, A., Emam, D., Swelim, M., Amer, M., Sehim, A., & Salem, A. (2022). Improvement of Citric Acid Production by Gamma Radiated *Aspergillus niger* Using Cane Molasses. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 55(4), 67–68.
- Khurshid S, Ashraf H, Hussain T, Iqbal M, Qureshi H, Anwar T, Salmen SH, A. M. (2024).). Enhanced citric acid production through *Aspergillus niger*: insights from fermentation studies using sugarcane molasses. *Life*, 14(6), 756.
- Kilel, E.C., Wanyoko, J.K., Faraj, A.K. and Ngoda, P. (2019). Effect of citric acid on the total monomeric anthocyanins and antioxidant activity of liquor made from unprocessed purple leafed TRFK 306 kenyan tea clone. *Food and Nutrition Sciences*, 10, 1191–1201.
- Ksiazek, E. (2024). Citric acid: properties, microbial production, and applications in industries. *Molecules*, 29(22), 1–38.
- Marlinda, Mardhiyah, N., Irwan, M., & Ramli. (2019). Citric acid production from molasses use biosynthesis *Aspergillus niger*. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 8(6), 357–360.
- Meyer V, Fiedler M, Nitsche B, K. R. (2015). The cell factory *Aspergillus* enters the big data era: opportunities and challenges for optimising product formation. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 149, 91–132.
- Mohd Khairul, S.-A., Mahyudin, N. A. ., Abas, F., Jamaludin, N.-S., & Mahmud Ab Rashid, N. K. (2022). The proximate composition and metabolite profiling of sugarcane (*Saccharum officinarum*) molasses. *Malays. Appl. Biol.*, 51(2), 63–68.
- Sasmitaloka, K. S. (2017). Produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* pada kultivasi media cair. *Jurnal Integrasi Proses*, 6(3), 116–122.

- Shaimenova, B., Gulnazym, O., Saule, S., Linara, M. dan Dana, T. (2024). Improving the citric acid production by mutant strains *Aspergillus niger* using carbohydrate-containing raw materials as a carbon source. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 18, 157–173.
- West, T. P. (2023). Citric acid production by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation of agricultural processing coproducts. *Appl. Biosci.*, 2, 1–13.
- Zheng, X., Yimou, D., Meiling, C., Hongjiang, Y., Peng, D., Timothy, C.C., Wei, Z. et. al. (2023). Genome-wide transcription landscape of citric acid producing *Aspergillus niger* in response to glucose gradient. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 11.