MAKALAH

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

PENAMBAHAN ION Mn^{+2} DAN ION Fe^{+3} PADA PRODUKSI ASAM SITRAT DARI EKSTRAK UMBI BENGKUANG (*Pachyrrihizus arosus* L. Urb)

18-1-2010
Hd
K1
32/Hd/2010-P.1(1)
574.192 Isw p.1

Oleh

Iswendi, dkk.

Disampaikan pada Seminar dan Rapat Tahunan (Semirata) XX BKS

Perguruan Tinggi Negeri Wilayah Barat Bidang MIPA

Bertempat di Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

Tanggal 9 – 10 Juli 2007

JAKARTA

PENAMBAHAN ION Mn^{+2} DAN ION Fe^{+3} PADA PRODUKSI ASAM SITRAT DARI EKSTRAK UMBI BENGKUANG (*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) SECARA FERMENTASI

(Iswendi[1], dan Iryani[1])
[1] Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA UNP

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang penambahan ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} pada produksi asam sitrat dari ekstrak umbi bengkuang (*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) secara fermentasi di laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Negeri Padang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} terhadap produksi asam sitrat terbanyak dari ekstrak umbi bengkuang secara fermentasi dengan menggunakan *Aspergillus niger*. Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimen dengan desain penelitian rancanagn acak lengkap (RAL), dengan dua kali pengulangan, menggunakan dua faktor yaitu konsentrasi ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3}. Konsentrasi ion Mn^{+2} divariasikan 0,5 ; 1,0 ; dan 1,5 ppm, sedangkan ion Fe^{+3} divariasikan 0,05; 0,25 ; 0,5 ; dan 0,75 ppm untuk 50 mL media yang mengandung 12,5 mL ekstrak umbi bengkuang. Data yang diperoleh dinalisis secara statistik. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa penambahan ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} berpengaruh nyata terhadap produksi asam sitrat pada taraf kepercayaan 95% dan $\alpha = 0,05$, dimana $F_{hitung} > F_{tabel}$ (F_{hitung} 7,3091 dan F_{tabel} 2,28). Asam sitrat terbanyak yang dihasilkan pada variasi konsentrasi ion Mn^{+2} 1,0 ppm dan ion Fe^{+3} 0,25 ppm yaitu sebanyak 0,15575 g/ 50 mL media.

Key word: ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3}, Umbi bengkuang, Asam sitrat, *Aspergillus niger*, dan fermentasi.

Pendahuluan

Tanaman bengkuang (*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) adalah tanaman spesifik Kota Padang dengan sentra produksi di kecamatan Pauh dengan rata rata produksi ± 490 kwintal/ha (BPS, 2003).. Kandungan kimianya dari umbi bengkuang tergantung pada jenisnya, seperti *Pachyrrhizuz ahipa* mengandung 49% pati, 31% gula, dan 12,5% protein sedangkan *Pachyrrhizuz erosus* mengandung 56% pati, 16% gula, dan 6% protein (Forsyith, 2002; 361). Berdasarkan kandungan pati yang cukup tinggi, maka umbi bengkuang berpotensi diolah untuk menghasilkan senyawa kimia seperti asam sitrat, asam amino, asam glukonat , dan metabolit lainnya.

Selama ini umbi bengkuang selama ini dikonsumsi dalam keadaan segar, bahan pembuat rujak, dan asinan. Untuk dapat meningkatkan nilai ekonomis umbi bengkuang, perlu dilakukan penangan pasca panen seperti pemanfaatan teknologi fermentasi untuk menghasilkan asam sitrat. Asam sitrat merupakan produksi metabolit primer yang

terbentuk dalam siklus Krebs yang secara alami tidak diproduksi oleh mikroorganisme dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Asam sitrat banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman, antara lain berfungsi sebagaai bahan pemicu rasa, pengasaman, antioksidan dan pengemulsi. Asam sitrat juga dimanfaatkan dalam industri farmasi, kosmetika, detergen dan industri kimia (Rahman, 1992;65-66).

Asam sitrat dapat diperoleh dari hasil fermentasi karbohidrat seperti glukosa, fruktosa, molasses (tetes tebu) dan pati dengan melibatkan mikroorganisme. Diantara galur-galur tersebut di atas hanya mutan *Aspergillus niger, A wenti* yang banyak digunakan untuk memproduksi asam sitra secara komersial. Disamping itu *Aspergillus* juga dapat menekan pembentukan produk-produk samping yang tidak diinginkan seperti asam oksalat (Rahman, 1992; 66-67).

Proses fermentasi berlangsung beberapa tahap yaitu proses hidrolisis pati, glikolisis, dan siklus Krebs. Asam piruvat yang dihasilkan akan berubah menjadi asetil KoA dan masuk ke siklus Krebs. Dari jalur siklus Krebs akan dihasilkan salah satunya asam sitrat (Strayer, .1981). Produksi asam sitrat dapat dilakukan dengan menghambat aktivitas enzim *akonitase.* Fungsi enzim *akonitase* adalah mengubah asam sitrat menjadi asam isositrat. Penghambatan aktivitas enzin *akonitase* dapat dilakukan diantaranya dengan penambahan ion seperti ino Cu^{+2} , ion Fe^{+3} , Mn^{+2} .

Banyak penelitian yang telah dilakukan mengenai produksi asam sitrat dari berbagai sumber karbohidrat seperti fermentasi limbah pati dari pabrik taioka dimana dari 300 ton limbah pati dihasilkan asam sitrat sebanyak 15,6 ton (Dharma,200). Fermentasi air kelapa menghasilkan asam sitrat sebanyak 14,13% (Murniati,2003), dan produksi asam sitrat dari ampas tapioka menghasilkan 6,634 g/L media (Yarsi; 2002). Kemudian Rusta (2004) diketahui bahwa fermentasi pati bengkuang dapat menghasilkan asam sitrat sebanyak 9,664 g/L media dengan lama fermentasi 10 hari dan jumlah inokulum 2,5 mL dengan optical density (OD) adalah 0,1.

Untuk mendapatkan hasil yang optimal dalam memproduksi asam sitrat ini, maka diperlukan ion-ion seperti Cu^{+2}, Mn^{+2}, dan Fe^{+3} dalam kisaran part per million (ppm). Secara umum ion-ion tersebut berfungsi sebagai kofaktor pada akumulasi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* . Penambahan ion-ion ini tergantrung pada jenis substrat (starting material) yang digunakan dan suhu inkubasi (Rahman, 1992, 71). Ali (2000) juga telah melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan ion Mn^{+2} pada produksi asam sitrat dari gula tebu oleh *Aspergillus niger* $NG^{GCB}101$, dengan penambahan ion Mn^{+2} 2×10^{-6}M

dalam 4 liter substrat, dihasilkan asam sitrat 128,68 g/L. Lock dan Scweinger dalam Rahman (1992;73) menyatakan bahwa pada produksi asam sitrat dari sukrosa oleh *Aspergillus niger* dalam kultur terendam dengan penambahan ion Fe^{+3} 0,5 ppm menghasilkan 88% (% berat) asam sitrat. Penambahan Cu^{+} sebanyak 100 ppm pada produksi asam sitrat akan menghasilkan 81,1% asam sitrat (Gruger and Anneliese, 1984;116). Dari uraian di atas , maka dilakukan penelitian dengan judul " Penambahan Ion Mn^{+2} dan Ion Fe^{+3} pada Produksi Asam Sitratdari Ekstrak Umbi Bengkuang (*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) Secara Fermentasi.

Berdasarkan latar belakang masalah diatas perumusan masalahnya adalah "bagaimana pengaruh penambahan konsentrasi ion Mn^{+2} dan Ion Fe^{+3} pada Produksi Asam Sitratdari Ekstrak Umbi Bengkuang (*Pachyrrhizuz erosus* L. Urb) Secara Fermentasi. Mikroorganisme yang digunakan selama proses fermentasi adalah *Aspergillus niger.*

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah penelitianeksperimen , dengan objek penelitian adalah umbi bengkuang dari jenis *Pachyrrhizuz erosus* L. Urb dari ladang rakyat di Tunggul Hitam Kota Padang Sumatera Barat yang telah diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas.

Variabel Penelitian

Variabel penelitian ada dua yaitu variabel terikat adalah jumlah asam sitrat yang dihasilkan, dan variabel bebas adalah konsentrasi ion Mn^{+2} dan Ion Fe^{+3}.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini didesian dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan dua faktor yang dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Faktor 1 adalah konsentrasi ion Mn^{+2} dengan 3 variasi dan faktor 2 adalah konsentrasi Ion Fe^{+3} dengan 4 variasi. Jadi desain penelitian adalah 3 x 4 .

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: blender, neraca analitik, jarum ose, pemanas, spektronik-20, inkubator, kulkas, autoklav, shaker, sentifugasi, hot plate, melting point aparaus, dan peralatan gelas.

Bahan yang digunakan adalahUmbi bengkuang, biakan murni ***Aspergillus niger,*** media PDA, NaCl, NaOH, $(NH_4)_2SO_4$, KH_2PO4, MnSO4, $FeCl_3$.$6H_2O$, H_2SO_4, HCl, $K_4(FeCN)_6$, $Ca(OH)_2$, $CaCl_2$, KI, I_2, $AgNO_3$, amilum, dan aquades.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

Prosedur Penelitian

1. Penyediaan reagen

Tahap pertama yang dilakukan adalah penyedian reagen yang dibutuhkan selama penelitian.

2. Ekstraksi Umbi Bengkuang

Umbi bengkuang yang telah dikupas kulitnya ditimbang seberat 100 g, dipotong kecil-kecil dan diblender dengan 75 mL NaCl 1%, disimpan satu malam dan diperoleh homogenat. Homogenat disaring. Sisa penyaringan diuji dengan larutan iodium 0,1 M, hasilnya positif. Sisa saringan diekstraksi lagi dengan 75 mL NaCl 1% dan dibiarkan satu jam. Pengekstraksian dilakukan sebanyak tiga kali. Ampas ketiga dengan uji iodium diperoleh hasil negatif. Hasil ekstraksi dicampur dan dihomogenkan.

3. Pembauatn Medium Potato Dextro Agar (PDA)

PDA ditimbang sebanyak 11,7 g, dilarutkan kedalam air suling steril sebanyak 300 mL, dipanaskan sampai mendidih, sehingga volume menjadi 250 mL. Dimasukkan kealam tabung reaksi steril (kira-kira 25 buah tabung rekasi), kemudian disterilkan dengan autoclav pada tekana 15 lb selama 15 menit. Setelah itu didinginkan dalam posisi miring (Purwandi, 1998;20).

4. Penyediaan Inokulum *Aspergillus niger*.

Aspergillus niger dibiakan pada media PDA miring , kemudian disimpan dalam inkubator selama 4 hari pada suhu 37^0C (Purwadi, 1998; 20).

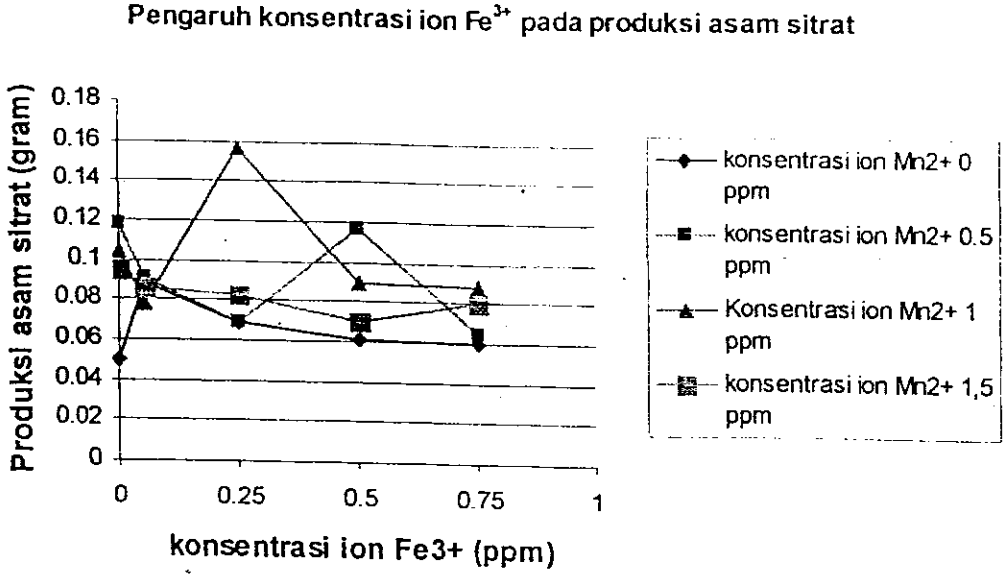
5. Pembuatan Inokulum

Inokulum atau suspensi spora dibuat dengan jalan menambahkan 10 mL aquades steril ke dalam tabung reaksi yang berisi ***Aspergillus niger***, kemudian digesek dengan jarum ose untuk melepaskan sporanya, dan dihomogenkan .

6. Preparasi Bahan Media

Media fermentasi yang mengandung ion Mn^{+2} 0,5 ppm dan ion Fe^{+3} 0,05 ppm dibuat dengan cara melarutkan 0,3 g $(NH_4)_2 SO_4$ 0,1 g, 0,1 g $KH_2 PO_4$, dan 0,02 g $K_4Fe(CN)_6$ dengan aquades 50 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL. Ditambahkan 0,5 mL larutan Fe^{+3} 10 ppm dan 5 mL larutan Mn^{+2} 10 ppm, ditambahkan aquades sampai tanda batas.dan dihogenkan. Diambil 50 mL media dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 mL. Masing-masing media ditambahkan ekstrak umbi bengkuang 12,5 mL, kemudian disterilkan.. Hal diatas juga berlaku sama untuk konsentrasi ion Mn^{+2} dengan variasi 0,05;

32/Hd/2010-P.1(1)



Gambar 2. Grafik Pengaruh [Fe^{+3}] pada Produksi Asam Sitrat

Pembahasan

1. Pengaruh Penambahan ion Mn^{+2} terhadap Pruduksi Asam Sitrat

Untuk memperoleh hasil yang optimal dalam memproduksi asam sitrat diperlukan unsur-unsur kelumit seperti ion Mn^{+2} dalam kisaran ppm. Jumlah ion Mn^{+2} yang diperlukan tergantung pada jenis substrat yang digunakan dan suhu inkubasi. Penambahan Mn^{+2} dalam kultur pertumbuhan tidak saja akan meningkatkan produksi asam sitrat, tetapi juga mengurangi waktu inkubasi sehingga lebih efektif (Ali;20020. Dati DATA yang diperoleh pada Tabel 2, bahwa tanpa penambahan ion Mn^{+2} (kontrol) diperoleh asam sitrat sebanyak 0,0500 g/50 mL media, sedangkan dengan penambahan ion Mn^{+2}jumlah asam sitrat yang dihasilkan lebih besar. Dengan demikian penambahan ion Mn^{+2} dapat meningkatkan produksi asam sitrat. Dati data , maka konsentrasi ion Mn^{+2} 0,5 ppm menghasilkan jumlah asam sitrat yang paling banyak. Penambahan ion Mn^{+2} dapat mendegradasi protein intraseluler dari *Aspergillus niger* dengan membebaskan ion NH_4 yang berguna untuk pengaktifan Fosfofruktokinase (PFK) . PFK berperan merubah fruktosa-6-P menjadi fruktosa 1,6-biposfat. Dengan aktifnya PFK , maka proses glikolisis akan semakin cepat dan meningkat, sehingga akhirnya asam sitrat yang dihasilkan lebih besar jumlahnya.

2. Pengaruh Penambahan ion Fe^{+3} terhadap Pruduksi Asam Sitrat

Dari tabel 2 diperoleh bahwa tanpa penambahan konsentrasi ion Fe^{+3}(kontrol) kadar asam sitrat yang dihasilkan 0,05005 g/50 mL media, sedangkan dengan penambahan

MILIK PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG

ion Fe^{+3} mempengaruhi jumlah asam sitrat yang diproduksi. Konsentrasi ion Fe^{+3} 0,05 ppm menghasilkan asam sitrat yang paling banyak, sedangkan dengan penambahan ion Fe^{+3} yang lebih besar mengakibatkan terjadinya pengrangan produksi asam sitrat. Menurut Rahman (1991; 71) ion Fe^{+3} berfungsi dalam pertumbuhan optimal sel dan sekaligus berfungsi sebagai penghambat aktivitas enzinm akonitase, yaitu enzim yang berfungsi mengkatalis asam sitrat menjadi asam isositrat.

3. Pengaruh Penambahan ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} terhadap Pruduksi Asam Sitrat

Dari Tabel 2 diperoleh bahwa penambahan konsentrasi ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} mempengaruhi jumlah asam sitrat yang dihasilkan. Penambahan ion Mn^{+2} sebesar 1,0 ppm dan ion Fe^{+3} 0,25 ppm menghasilkan asam sitrat terbanyak yaitu 0,15575 g/ 50 mL media. Dengan penggabungan penambahan ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} akan mempercepat degradasi protein intraseluler dari *Aspergillus niger* dan menghasilkan ion NH_4 yang berfungsi mengaktifan PFK, sehingga memacu laju glikolisis, dan menginhibisi aktifitas enzim akonitase.

4. Analisa Kemurnian Asam Sitrat.

Asam sitrat yang dihasilkan diidentifikasi yaitu terbentuk endapan putih setelah direaksikan dengan larutan $CaCl_2$. Pengujian dengan perak nitrat juga menunjukkan uji positif. Berdasarkan pengujian titik leleh dengan menggunakan *Melting Point Apparaturs* ternyata kristal hasil fermentasi berubah warnanya menjadi coklat pada suhu di atas 180 ^{0} C. Hal menendakan asam sitrat yang dipeoleh belum murni, hal ini kemungkinan disebabkan adanya asam lain yang diperoleh akibat hasil samping fermentasi seperti asam oksalat. Asam oksalat dapat terbentuk dari pemecahan hidrolitik oksaloasetat dan aksidasi asetat (Cheland, 1955: 1). Asam oksalat yang terdapat pada kristal kemungkinan disebabkan belum tepatnya penambahan $CaSO_4$, sehingga asam oksalat tidak mengendap seluruhnya dan masih terbawa sampai proses pengkritalan. Kemungkinan lain juga disebabkan penambahan $Ca(OH)_2$ dan asam sulfat belum tepat, sehingga asam oksalat yang ada dalam larutan fermentasi tidak mengendap seluruhnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dikemukakan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Teradapat pengaruh yang signifikan dari konsentrasi ion Mn^{+2} dan ion Fe^{+3} pada produksi asam sitrat dari ekstrak umbi bengkuang dengan taraf kepercayaan 95%.

574.192
Isw
p.1

32/Hd/2010-p.1

2. Asam sitrat terbanyak dihasilkan pada variasi konsentrasi ion Mn^{+2} 1,0 ppm dengan ion Fe^{+3} 0,25 ppm sebanyak 0,15575 gram dengan ekstrak umbi bengkuang 12,5 mL/50 mL media.

DAFTAR PUSTAKA

Ali , Sikandar. 2002. *The Role of Mn^{+2} Ions for Hight and Consistent Yield of Citric Acid in Recycling Fed-Batch Bioreactor System and Its Novetely on Kinetic Basic.* Online Journal of Biological Science.

BPS. 2003. *Kecamatan pauh dalam Angka 2002.* Dinas Pertanian Tk. II Kota Padang

Cheland. W.W. , Marvin J. Johnson. 1955. *" Studies on the Fermentation of Oxalic Acyd by Aspergillus niger". Online Journal of Biochemistry.*

Cruger, Wulf and A. Cruger. 1984. *Biotecnology: A Text Book of Industrial Microbilogy.* Science Tech. Inc. USA.

Dharma, Abdi. 2000. *"Seleksi Mutan Aspergillus niger Unggul untuk Fermentasi Pati Limbah Menjadi Metabolit Bernilai Ekonomi". Jurnal.* Program Studi Pascasarjana Univ Andalas. Padang.

Forsyith, Jane L, et.all. 2002. *"Characterarization of Starch from Tubes of Yamm Bean (Pachyrrizuz ahipa"). Journal of Agrycultural and Food Chemistry.* Volume 50. 361-367.

Murniati. 2003. *" Penentuan Kondisi Optimum Pembuatan Asan Sitrat dari Air Kelapa secara Fermentasi oleh Aspergillus niger. Skripsi.* Universitas Negeri Padang.

Puwardi. 1998. *" Pembuatan Enzim Alfa amilase pada Substrat Campuran Tepung Tapioka". Majalah Ilmiah Balai Industri.* Tanjung Karang . Volume 5, 20-27.

Rahman, Ansyori. 1992. *Teknologi Fermentasi Industrial: Produk Metabolit Primer.* Arcan. Jakarta.

Rusta. Ida. 2004. *"Pengaruh Lama Fermentasi danJumlah Inokulum terhadap Kadar Asam Sitrat yang Dihasilkan dari Pati Bengkuang (Pachyrrhizus erosus* .L. Urb *). Skripsi.* Universitas Negeri Padang. Padang.

Salisbury. Frank B and Cleon . W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan.* Penerbit ITB . Bandung.

Strayer . Luber . 1981. *Biochemitry.* California . Lange Medical.

Yarsi. Budi. 2002. *" Produksi Asam Sitrat dari Ampas Tapioka secara Sakarafikasi dan Fermentasi Simultan oleh Aspergillus niger dan Trichoderma virive. Skripsi.* Universitas Andalas Padang.

PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG