PENGARUH PENAMBAHAN KALIUM FEROSIANIDA PADA PEMBUATAN ASAM SITRAT DARI TETES SECARA FERMENTASI

Oleh: Ir. Karsini*)

Abstract

Molases the by-product of sugar mild, usually contain metal ions mainly Fe, Zn, Cu and Mn.

In the citric acid making process, low concentration of these ions do help the micellium growth, however the high concentration of these metal ions will cause an uneffective fermentation process.

The use of potasium ferocyanide in the treatment of molasses, which is one way to reduce this negative effect, is being reviewed.

Intisari

Tetes yang dihasilkan dari pabrik gula, biasanya mengandung ion-ion logam terutama Fe, Zn, Cu dan Mn.

Dalam proses pembuatan asam sitrat, adanya ion-ion logam tersebut dengan konsentr asi rendah akan membantu proses pertumbuhan miselium, namun jika konsentr asinya terlalu tinggi ion-ion ini akan mengganggu terjadinya proses fermentasi.

Penggunaan kalium ferosianida dalam pengolahan tetes, ditinjau ulang sebagai salah satu cara untuk mengurangi pengaruh negativ ini.

I. PENDAHULUAN

Tetes tebu sebagai salah satu bahan dasar pembuatan asam sitrat cukup tersedia di Indonesia dan produksinya pada tahun 1982 sebesar 507.923 ton (3). Produksi tetes terus bertambah setiap tahun sesuai dengan peningkatan produksi gula yang telah dicanangkan oleh pemerintah.

Tetes yang dihasilkan biasanya masih mengandung kotoran-kotoran dalam bentuk abu, protein, bahan anorganik dan ion-ion logam dalam konsentrasi yang tinggi. Adanya ion-ion logam terutama besi, seng, tembaga dan mangan dengan konsentrasi yang cukup tinggi atau melewati batas yang telah ditetapkan akan mengganggu fermentasi asam sitrat sehingga produksinya menurun (7,15).

Namun demikian logam-logam tersebut dibutuhkan sebagai unsur tambahan untuk pertumbuhan miselium dari Aspergillus niger, sehingga ion logam harus ada dalam media fermentasi walaupun dalam konsentrasi yang sangat kecil, karena secara tidak langsung akan merangsang produksi asam sitrat selama fermentasi berlangsung (2).

Untuk mengurangi pengaruh ion logam ada beberapa cara, tetes dimurnikan dengan arang aktif serta resin penukar ion dan K_4 Fe(CN)₆ sebagai garam pengompleks ion logam. Penggunaan K_4 Fe(CN)₆ ini mempunyai banyak keuntungan, di samping sebagai pengompleks ion logam sehingga konsentrasi ion logam cukup untuk pertumbuhan kapang dan menon — aktifkan enzim akonitase (11, 13), juga sebagai penghambat perkembangan selanjutnya dari miselium jamur sehingga tidak terbentuk spora. Penghambatan ini akibat terbentuknya sianida dari ferosianida dalam suasana asam (5). Tetapi bila konsentrasi K_4 Fe(CN)₆ cukup tinggi justru akan mematikan kapang.

^{*)} Staf Balai Penelitian Kimia Organik dan Fermentasi, Balai Besar Industri Kimia.

Oleh karena sangat kompleksnya pengaruh ion logam yang di satu pihak diperlukan untuk pertumbuhan kapang, sedang di lain pihak akan mengganggu fermentasi, untuk itu penambahan kalium ferosianida perlu diperhatikan terutama waktu penambahannya dan konsentrasi yang tepat.

Jika penggunaan K_4 Fe(CN)₆ dalam fermentasi asam sitrat sudah diketahui dengan baik, tidak demikian halnya dengan waktu penambahan K_4 Fe(CN)₆. Kapan waktu penambahannya yang tepat dan berapa konsentrasinya yang sesuai berkenaan dengan waktu penambahan tersebut belum ada kesepakatan bersama.

Berbagai cara telah diajukan untuk menjelaskan hal tersebut di atas, misalnya penambahan K_4 Fe(CN)₆ langsung ke dalam media fermentasi pada konsentrasi rendah dan penambahan K_4 Fe(CN)₆ pada media dasar dengan konsentrasi tinggi sebelum inokulasi, akan dibahas dalam tulisan ini.

II. PENGARUH PENAMBAHAN KALIUM FEROSIANIDA

Ferosianida sangat reaktif, beberapa reaksi yang mungkin terjadi dapat ditunjukan di bawah ini:

- a. Reaksi dengan kation: H_4 Fe(CN)₆ + $M^+ \rightarrow$ garam seperti: Fe₄ [Fe(CN)₆]₃: Fe₂ Fe(CN)₆; Zn₂ Fe(CN)₆ yang sangat tidak larut.
- b. Dekomposisi dalam lautan asam menghasilkan asam sianida: $7H_4 \operatorname{Fe}(\operatorname{CN})_6 \to 12 \operatorname{HCN} + \operatorname{Fe}_2 \operatorname{Fe}(\operatorname{CN})_6$
- c. Oksidasi dengan oksigen dari udara dalam larutan aasm menghasilkan asam sianida. da.

$$7H_4 \text{ Fe(CN)}_6 + O_2 \rightarrow 24 \text{ HCN} + \text{Fe}_4 [\text{Fe(CN)}_6]_3 + 2H_2 O_3$$

- Reaksi-reaksi dengan aldehid dan keton menghasilkan produk tambahan yang tidak larut.
- e. Reaksi dengan protein dalam larutan asam menyebabkan penghadapan protein.

Jadi sebagai tambahan terhadap adanya penghilangan atau pengompleks logamlogam, ferosianida dapat meracuni melalui terbentuknya sianida (b, c) (1.5).

Jika ferosianida dalam konsentrasi yang tinggi pada kultur dengan media dasar sucrosa p.a., umumnya diperoleh kecepatan yang rendah pada produksi asam. Tetapi pengaruh ini tidak akan timbul jika digunakan sianida sebagai inhibitor. Hal ini berarti bahwa sianida dan ferosianida sangat berbeda dan keduanya tidak ada hubungan. Dan apabila ferosianida dengan konsentrasi rendah ditambahkan ke dalam media dasar sukrosa p.a. pada saat inokulasi, produksi asam akan dihalangi dengan sempurna. Tetapi penambahan logam akan mengalahkan penghambatan ini. Jadi ada hubungan langsung antara ferosianida dan logam (8).

Sianida ini akan meracuni pertumbuhan kapang, tetapi bila penambahan kalium ferosianida pada konsentrasi tertentu dan pengaturan waktu penambahannya tepat maka pengaruh racun sianida ini tidak akan merugikan, bahkan sebaliknya akan meningkatkan hasil asam sitrat (7).

Menurut CLARK dan HORITZU (1966) pertumbuhan yang kurang subur memberi hasil asam yang rendah, pertumbuhan yang sangat subur sebagian besar pertumbuhannya digunakan untuk pembentukan miselium kapang sehingga kadar asamnya berkurang. Tetapi jika pertumbuhannya agak dibatasi akan meningkatkan kadar asam sitrat. Oleh karena itu untuk memperoleh hasil asam sitrat yang maksimal pertumbuhan kapang perlu dibatasi sampai berada pada keadaan yang optimal dalam tingkat produksi asam sitrat (14). Pertumbuhan aspergillus niger yang diharapkan adalah terbentuknya miselium yang tipis dan hampir tidak ada pembentukan spora (11).

Penambahan K₄ Fe(CN)₆ bertujuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan besi dan mangan dengan menyertakan dua atau lebih kation lainnya. Beberapa kompleks multi-kation adalah mungkin, sehingga sitrat yang terbentuk tidak terurai menjadi asam-asam lainnya dalam siklus asam sitrat (12).

Demikian halnya dengan mangan, berkurangnya mangan ini menyebabkan kadar NH₄³ meningkat dan ini dapat mengurangi pengaruh penghambatan fosfofruktokinase oleh sitrat sehingga pada gilirannya akan meningkatkan akumulasi asam sitrat (14).

Karena begitu rumitnya peranan K₄Fe(CN)₆ dalam fermentasi asam sitrat, penelitian-penelitian yang berhubungan dengan penggunaan garam pengompleks ini terus dilakukan terutama mengenai konsentrasi dan waktu penambahannya.

Penggunaan garam pengompleks ini dalam fermentasi asam sitrat tergantung dari bahan dasar yang digunakan dan strain kapang. Untuk itu ada dua cara penambahan K₄ Fe(CN)₆ dalam fermentasi asam sitrat, yaitu:

 Penambahan K₄ Fe(CN)₆ pada media dasar (media tetes) dengan konsentrasi tinggi sebelum inokulasi.

Perlakuan pendahuluan pada bahan dasar ini bertujuan untuk mengurangi pengaruh logam-logam yang merugikan dalam proses fermentasi, sehingga dalam media fermentasi konsentrasi logam ini akan berkurang (7).

Adapun cara yang dilakukan menurut SUHARTO dan SUMARSONO (1966) adalah sebagai berikut:

- Tetes diencerkan dengan air dengan perbandingan 1:2 lalu dipanaskan pada suhu 70°-80°C selama 15 menit.
- Kemudian ditambahkan K_4 Fe(CN) $_6$ dalam konsentrasi tinggi lalu didihkan dan didiamkan selama satu malam.
- Setelah itu cairan ini diendap-tuangkan untuk memisahkan endapan kotoran yang terjadi. Akhirnya hasil endap-tuang tersebut disaring dan dianalisa kadar gulanya sampai 15%.

Penambahan K_4 Fe(CN)₆ pada media dasar hanya berlaku bila bahan dasar yang digunakan mengandung kotoran dan ion logam dalam konsentrasi yang tinggi seperti halnya tetes (7). Dalam hal ini sebagian K_4 Fe(CN)₆ akan mengkomplekskan logam-logam sehingga pada waktu endap-tuang dan penyaringan akan dipisahkan endapan dan cairannya.

Endapan dibuang sedangkan cairannya akan dipakai untuk proses fermentasi selanjutnya. Cairan hasil endap-tuang dan penyaringan ini hanya mengandung konsentrasi ion logam yang rendah yang cukup untuk pertumbuhan kapang dan produksi asam sitrat (16). Sedangkan sebagian dari K₄ Fe(CN)₆ yang masih tersisa dalam media fermentasi akan berfungsi menghambat pertumbuhan kapang melalui terbentuknya sianida dalam suasana asam (7). Tetapi karena konsentrasi kalim ferosianida ini sekarang sudah rendah atau sedikit maka pengaruh racun tersebut tidak kuat dan berubah fungsinya menjadi membatasi perkembangan selanjutnya dari kapang bersama-sama dengan adanya konsentrasi mangan yang rendah dalam medium fermentasi, sehingga pada akhirnya akan merangsang akumulasi asam sitrat (14). Menurut OTHMER (1964) adanya fosfat dalam medium fermentasi akan mengurangi sifat toksik dari sianida. Mekanisme mengurangi sifat toksik dari sianida oleh fosfat belum diketahui, tetapi kehadirannya bersama-sama dengan kalium ferosianida dalam media fermentasi akan meningkat-kan hasil asam sitrat.

Konsentrasi kalim ferosianida yang dibutuhkan untuk 8 kg tetes adalah 150 g/6,5 liter larutan (7). Sedangkan menurut ATKINSON dan MAVITUNA (1983) konsentrasi kalium ferosianida yang ditambahkan untuk 150 gram tetes adalah 1,2 gram/liter larutan.

Apabila menggunakan strain kapang yang dapat beradaptasi dengan baik pada media tetes di mana konsentrasi ion logamnya cukup tinggi maka konsentrasi kalium ferosianida dapat diperkecil (14). Hal ini disebabkan karena Aspergillus niger dapat membentuk sistem enzim yang baru. Konsentrasi kalium ferosianida yang dibutuhkan jika menggunakan strain Aspergillus niger CO adalah 0,85g/1, di mana kapang tersebut akan tumbuh baik dalam media tetes dan menghasilkan asam sitrat yang maksimal (16).

2. Penambahan kalium ferosianida langsung ke dalam media fermentasi dengan konsentrasi rendah.

Pada metoda ini bahan dasar yang digunakan harus mengandung konsentrasi ion logam yang rendah seperti hasil hidrolisat pati maupun tetes yang mengandung konsentrasi ion logam yang rendah seperti yang diproduksi di Amerika Serikat di mana kadar abunya sudah termasuk kotoran dan ion logam sebesar 4—7%. Jadi bahan dasar yang mengandung jumlah jenis logam dan kotoran lainnya yang rendah sangat baik menggunakan metoda ini (14).

Menurut PERRY (1963) penambahan K₄ Fe(CN)₆ pada media fermentasi di mana setelah media dasar disterilisasi dan didiamkan selama 12 jam dan didinginkan, ditambahkan nutrisi secukupnya. Setelah itu disterilisasi lagi selama 15 menit pada suhu 121°C. Segera setelah disterilisasi K₄ Fe(CN)₆ ditambahkan dan langsung diinokulasi dengan Aspergillus niger.

Fungsi kalium ferosianida di sini sebagian besar adalah untuk menghambat perkembangan selanjutnya dari kapang. Sedangkan fungsinya sebagai pengompleks ion logam hanya sedikit terutama untuk mengendapkan ion besi dan mangan bila konsentrasinya melebihi batas yang telah ditentukan (7).

Konsentrasi K₄ Fe(CN)₆ pada media fermentasi ini adalah 0,3g/1(15). Sedangkan menurut ROHR dkk. (1983) adalah 0,01—0,20g/1 setiap 150g tetes.

III. KESIMPULAN

Dari uraian mengenai peranan Kalium ferosianida dalam akumulasi asam sitrat dari tetes tebu dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- Fungsi K₄ Fe(CN)₆ dalam fermentasi asam sitrat adalah untuk mengkomplekskan ion logam, menonaktifkan enzim akonitase dan penghambat perkembangan selanjutnya dari kapang.
- Penambahan K₄ Fe(CN)₆ pada media dasar dengan konsentrasi tinggi hanya berlaku untuk bahan baku yang mengandung ion-ion logam yang tinggi, sedangkan penambahan K₄ Fe(CN)₆ pada media fermentasi dengan konsentrasi rendah hanya berlaku untuk bahan baku yang mengandung konsentrasi ion-ion logam yang rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- 1. ASEAN REPORT: Utilization of molasse, citric acid fermentation of ferrocyanide treated molasse by Aspergillus niger, Asean Working Group on The Management and Utilization of Food Waste Materials, Asian Committee on Science and Technology, 1983, h. 23.
- 2. ATKINSON, B. and MAVITUNA, F: Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook. The Nature Press, Great Britain, 1983, h. 424.
- 3. BIRO PUSAT STATISTIK: Buletin statistik perdagangan luar negeri, ekspor Nopember, BBS Jakarta Indonesia, 1982.
- 4. CLARK, D.S. and HORITZU, H: Effect of ferrocyanide on growth and citric acid production by Aspergillus niger, Can. J. Microbiol., 12; 901, 1966.
- 5. CLARK, D.S., ITO, K. and TYMCHUK, P.: Effect of potassium ferrocyanide on the chemical composition of molasse mash used in the citric acid fermentation, Biotechnol. Bioeng., 7:269, 1965.
- CLARK, D.S., ITO, K. and HORITZU, H.: Effect of maganese and other the heavy metals on submerged citric acid fermentation on molasse. Biotechnol. Bioeng., 8:465, 1966.
- KAPOOR, K.K., CHAUDHARY, K. and TAURO, P.: Citric acid, Dalam: Industrial Microbiology. Fourth ed. Reed, G.(ed), Avi Publishing Company Inc., Winconsin, 1983, h. 709.
- 8. MARTIN, S.M.: Citric acid production by submerged fermentation. Ind. Eng. Chem., 49:1231, 1975.
- 9. OTHMER, K.: Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley and Sons Inc., 1964, h. 524.
- 10. FERRY, J.H.: Chemical Engineering Handbook. 4th ed. McGraw Hill, New York, 1964.
- 11. RESCOTT, S.C. and DUNN, C.G.: Industrial Mikrobiology. 3rd ed. McGraw Hill, New York, 1959, h. 533.
- RAHARDJO, A.A., ENDANG, S.M.S., SUHARTO, I. and TSAURI, S.: Producing citric acid from molasse by fermentation. Proceeding of Firs ASEAN Workshop on Fermentation Technology Applied to the Utilization of Food Waste Materials. Malaysia 23—24 February, 1982.
- RAHARDJO, A.A., MULIAWATI, S. dan TSAURI, S.: Pengaruh komposisi media pada pembuatan asam sitrat secara fermentasi. Proceeding Seminar Teknologi Pangan IV, Bogor, 16—17 Mei, 1979.
- ROHR, M., KUBICHEK, C.P. and KOMINEK, J.: Citric Acid. Dalam: Biotechnology. Vol. 3. Rehm, H.J. and Reed, G. (Eds), Verlag Chemie, Florida, 1983, h. 420.
- SANGKANPARAN: Penelitian kemungkinan memurnikan tetes dari zat warna, pengotoran lain dan garam-garam melalui membran polysulfon. Bul. Limbah pangan Institut Teknologi Bandung, 1 No. 2, Oktober 1985.
- SUHARTO dan SUMARSONO: Fermentasi permukaan asam sitrat dari tetes gula oleh Aspergillus niger Co. skala semi pilot plant. Lembaga Kimia Nasional — LIPI Bandung, 1986.
- 17. SUMARSONO, SUHARTO, I. dan ADI, R.: Fermentasi permukaan asam sitrat dari tetes tebu. Puslitbang Kimia terapan LIPI Bandung. Bul. Limbah