

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam sitrat merupakan salah satu asam organik yang paling banyak dimanfaatkan pada berbagai industri, baik di tingkat global maupun di Indonesia. Kebutuhan asam sitrat yang terus meningkat dari tahun ke tahun seiring dengan meluasnya penggunaannya pada berbagai sektor industri. Konsumsi asam sitrat di Indonesia dinyatakan sebanyak 65% untuk industri pangan, 20% untuk industri deterjen rumah tangga, dan 15% lainnya untuk industri tekstil, farmasi, kosmetik, dan lainnya. Menurut data perdagangan internasional, tercatat bahwa Indonesia mengimpor 50.118.400 kg/tahun, sementara pada tahun 2023 jumlah impor menurun menjadi 39.032.600 kg/tahun. Angka ini masih menunjukkan ketergantungan Indonesia yang tinggi terhadap pasokan dari luar negeri.

Berdasarkan data terakhir yang tersedia hingga tahun 2017, kebutuhan impor asam sitrat mencapai 38.402.185 kg/tahun, sementara produksi asam sitrat hanya sebesar 7.881.624 kg/tahun. Asam sitrat yang diekspor sebesar 248.281 kg/tahun, sedangkan kebutuhan konsumsi asam sitrat di Indonesia mencapai 208.200.607 kg/tahun dari berbagai sektor sehingga belum terpenuhi dengan baik (Amalia *et al.*, 2019). Sehubungan dengan tingginya permintaan asam sitrat dalam industri dan belum terpenuhinya kebutuhan konsumsi asam sitrat di Indonesia, penting untuk meninjau kembali metode produksi yang saat ini digunakan secara luas, salah

satunya yaitu diperlukannya bahan baku yang ekonomis dan mudah diperoleh untuk produksi asam sitrat (Samosir *et al.*, 2021).

Fermentasi dan reaksi kimia sintetis merupakan dua cara utama untuk memproduksi asam sitrat. Saat ini, proses fermentasi digunakan untuk hampir 99% produksi asam sitrat global. Pendekatan fermentasi dinilai lebih aman dan lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan metode sintetis (Wang *et al.*, 2018). Metode yang seringkali digunakan adalah *submerged fermentation* (SmF) dengan persentase *yield* sebesar 80-90%. Hal ini dikarenakan metode tersebut menghasilkan *yield* yang tinggi dan tidak mengandung produk sampingan yang beracun (Samosir *et al.*, 2021). Pada umumnya, produksi asam sitrat secara fermentatif menggunakan mikroorganisme berupa *Aspergillus niger* karena kemampuannya menghasilkan asam sitrat dengan efisiensi produksi yang tinggi. *A. niger* telah memiliki peran besar dalam produksi asam sitrat skala besar dan menjadi organisme pilihan untuk hasil maksimal asam sitrat. Asam sitrat merupakan produk utama metabolisme *A. niger* karena sistem enzim ekstraseluler homolog dan heterolognya yang berkembang dengan baik (Khurshid *et al.*, 2024). Penelitian Meng *et al.* (2014) membuktikan bahwa *A. niger* dapat mencapai konsentrasi asam sitrat hingga 97,45 g/L dengan rendemen 87,27% pada penggunaan media kaya sukrosa sehingga efisiensi tinggi tersebut menjadikannya pilihan yang disukai untuk produksi industri. Selain itu, *A. niger* dapat memanfaatkan berbagai macam substrat, termasuk limbah pertanian dan industri sehingga membantu mengurangi biaya

produksi. Misalnya, substrat seperti sekam padi, polong akasia arabica, dan tetes tebu telah berhasil digunakan untuk produksi asam sitrat (Aynalem *et al.*, 2024).

Bahan baku fermentasi menjadi aspek penting untuk menekan biaya produksi. Penggunaan bahan baku alternatif terus dieksplorasi dan dikembangkan agar tercapainya *sustainability development goals* pada berbagai sektor industri. Gliserol menjadi salah satu bahan baku alternatif potensial yang mudah untuk difermentasi oleh mikroorganisme asidogenik dari *anaerobic digestion* yang mengarahkan jalur metabolik mikroorganisme menuju produksi berbagai senyawa bernilai tambah, seperti asam organik yang mudah menguap (Dias *et al.*, 2021). Gliserol yang bersumber dari hasil samping produksi biodiesel menjadi salah satu bahan baku potensial yang dapat dimanfaatkan kembali pada proses produksi asam sitrat. Namun, pemanfaatan gliserol masih terbatas karena kandungan pengotor yang signifikan dan belum dimanfaatkan secara langsung dalam skala industri. Ketersediaan berlebih dan masalah pembuangan/remediasi yang belum memadai terkait telah menarik perhatian untuk pemanfaatannya sebagai bahan baku potensial dalam berbagai proses fermentasi alternatif (Gupta *et al.*, 2023). Pada penelitian ini, gliserol teknis (99%) digunakan sebagai sumber karbon dalam kombinasinya dengan sukrosa untuk mengevaluasi pengaruh penambahan gliserol terhadap produktivitas seluler asam sitrat oleh *A. niger*. Penggunaan gliserol teknis bertujuan untuk memperoleh gambaran awal mengenai efisiensi pemanfaatan gliserol sebagai ko-substrat dalam kondisi yang terkontrol. Pendekatan ini dilakukan sebagai

langkah awal dalam pengembangan proses fermentasi berbasis gliserol sebagai sumber karbon alternatif yang diketahui ketersediaannya melimpah sebagai produk samping industri biodiesel.

Upaya pengembangan proses fermentasi juga dilihat dari *strain improvement*, salah satunya dengan mutagenesis. Teknik mutagenesis menjadi salah satu cara yang masih digunakan karena menunjukkan hasil positif untuk meningkatkan efisiensi biosintesis asam sitrat. Mutagen yang paling umum digunakan adalah faktor fisik (radiasi gamma dan UV), faktor kimia, dan metode hibrida yang menggabungkan karakteristik fisik dan kimia (Książek, 2023). Strategi tersebut mencakup isolasi dan karakterisasi galur asli dengan indeks produksi asam sitrat yang lebih tinggi dan menciptakan mutan dengan kemampuan produksi yang tinggi. Efek mutagen mempengaruhi jumlah sel hidup yang akan menurun seiring waktu paparan mutagen (Hu *et al.*, 2017). Mutasi galur liar *A. niger* menjadi langkah krusial dalam perbaikan galur untuk meningkatkan produksi enzim dan mengoptimalkan proses industri (Demirci *et al.*, 2021).

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa mutan *A. niger* hasil induksi UV sebagai mutagen menghasilkan lebih banyak asam sitrat dengan konsumsi glukosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan galur induk. Berdasarkan penelitian Vasanthabharathi *et al.* (2013), mutasi yang diinduksi UV secara acak berpotensi untuk menghasilkan strain dengan kapasitas produksi asam sitrat lebih tinggi dibandingkan strain kontrol, yang membuktikan bahwa produksi asam sitrat

meningkat dengan paparan sinar UV dibandingkan dengan galur liar. Namun, kajian mengenai efektivitas mutan *A. niger* dalam menggunakan gliserol sebagai substrat utama dalam produksi asam sitrat masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan mutan *A. niger* hasil induksi mutasi dalam memanfaatkan gliserol sebagai substrat fermentasi. Melalui pendekatan ini, diharapkan produksi asam sitrat dapat ditingkatkan dengan efisien menggunakan bahan baku alternatif yang murah dan melimpah.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana pengaruh variasi durasi paparan radiasi UV terhadap produktivitas seluler asam sitrat oleh *A. niger*?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi gliserol dalam kombinasi dengan sukrosa terhadap produktivitas seluler asam sitrat yang dihasilkan oleh mutan *A. niger*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka tujuan dari penelitian sebagai berikut:

- 1.3.1 Mengevaluasi pengaruh durasi paparan mutagen UV pada *A. niger* terhadap produktivitas seluler asam sitrat.
- 1.3.2 Mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi gliserol sebagai ko-substrat dalam kombinasi dengan sukrosa terhadap produktivitas seluler yang dihasilkan oleh mutan *A. niger* terpilih.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan memiliki manfaat sebagai berikut:

- 1.4.1 Memberikan informasi ilmiah mengenai durasi paparan radiasi UV yang dapat menghasilkan mutan *A. niger* dengan produktivitas seluler asam sitrat yang lebih tinggi dibandingkan galur induknya.
- 1.4.2 Memberikan informasi mengenai kombinasi konsentrasi sukrosa dan gliserol sebagai ko-substrat yang optimal untuk meningkatkan produktivitas seluler oleh mutan *A. niger* sebagai acuan pengembangan fermentasi asam sitrat menggunakan gliserol sebagai bahan baku alternatif.