

# KAJIAN PRODUKSI ASAM GLUKONAT DARI STARCH SAGU MENGGUNAKAN ASPERGILLUS NIGER

M. E. Yulianto<sup>\*)</sup>, I. Hartati<sup>\*\*)</sup>

## Abstrak

Asam glukonat merupakan asam organik nonkorosif, asam lemah, tidak berbau, tidak beracun, dapat diuraikan dan nonvolatile. Asam glukonat  $C_6H_{12}O_7$  secara alami dapat ditemui dalam buah-buahan dan madu. Asam glukonat memiliki berbagai kegunaan dalam industri makanan, minuman dan farmasi, diantaranya sebagai food aditif, acid regulator maupun sebagai alkaline derusting agent. Kebutuhan dunia akan asam glukonat terus meningkat seiring dengan perkembangan industri-industri penggunaannya. Salah satu alternatif bahan baku pembuatan asam glukonat adalah starch sagu. Starch sagu yang digunakan adalah starch sagu yang diperoleh dari Metroxylon rumpii karena memiliki karakteristik yang lebih baik bila dibandingkan starch sagu yang didapat dari Arenga pinnata. starch dari sagu mengandung kadar pati (starch) yang tinggi, hingga mencapai 98.2%. Asam glukonat dapat diproduksi dari glukosa melalui proses kimia, elektrokimia, biokimia maupun bioelektrokimia dengan beberapa macam oxidizing agent. Proses fermentasi glukosa merupakan proses yang banyak dipakai karena proses fermentasi lebih efisien dengan biaya produksi yang lebih rendah. Sebagian besar asam glukonat dibuat dengan bahan baku molasses melalui proses fermentasi menggunakan Aspergillus niger maupun G.oxydans. Proses produksi asam glukonat dilakukan dengan menggunakan Aspergillus niger. Proses tersebut melibatkan kultivasi dengan umpan glukosa intermittent dan menggunakan sodium hidroksida sebagai agent penetral. pH dijaga antara 6-6.5 dan temperature sekitar  $34^{\circ}C$ . Produksi asam glukonat langsung berhubungan dengan aktivitas glukosa oxidase. Penambahan zat penetral, dipilih berdasarkan penentuan garam turunan asam glukonat yang diinginkan. Produktivitas proses ini sangat tinggi karena laju konversi glukosa mencapai 15 g/Lh. Proses recovery tergantung pada metode netralisasi serta sumber karbon yang digunakan. Proses recovery asam glukonat dari kalsium glukonat meliputi proses klarifikasi, dekolorisasi, pemekatan dan didinginkan hingga  $10^{\circ}C$  tanpa atau dengan adanya alkohol.

**Kata kunci:** asam glukonat, Aspergillus niger, starch sagu

## Pendahuluan

Asam glukonat, senyawa dengan rumus kimia  $C_6H_{12}O_7$ , merupakan asam organik lemah yang diturunkan dari glukosa melalui proses reaksi oksidasi. Nama IUPAC dari asam glukonat adalah ,3,4,5,6-pentahydroxyhexanoic acid. Asam glukonat secara alami dapat ditemui dalam buah-buahan, anggur dan madu. Rasa dari ester yang terkandung didalamnya, glucono A lactose berperan dalam memberikan rasa manis yang selanjutnya akan berubah menjadi agak asam. Asam glukonat digunakan dalam industri daging dan hasil-hasil peternakan . bahan-bahan makanan yang mengandung asam glukonat diantaranya yoghurt, keju, roti, permen dan daging.

Secara umum, asam glukonat dan garam-garamnya digunakan sebagai *food additive* dan sebagai *acid regulator* dalam formulasi makanan, farmasi, dan produk-produk pembersih. Selain itu asam glukonat juga digunakan sebagai suplemen untuk mencegah kekurangan kalsium, besi serta sebagai garam buffer. Garam-garam asam glukonat yang berbeda-beda memiliki aplikasi yang berbeda-beda sesuai dengan sifatnya masing-masing. Garam sodium dari asam glukonat memiliki sifat yang menakjubkan, dimana senyawa tersebut dapat meng-*chelasi* calcium dan ion logam bervalensi dua atau tiga. Senyawa tersebut digunakan dalam proses pembersihan botol, dimana senyawa tersebut membantu pembentukan endapan dan membantu penyingkiran endapan dari

<sup>\*)</sup> Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro Semarang

<sup>\*\*\*)</sup> Jurusan Teknik Kimia Universitas Pandanaran Semarang

botol. Senyawa tersebut membantu penyingkiran deposit calcareous dari permukaan logam dan permukaan gelas. Senyawa tersebut juga digunakan didalam industri tekstil, dimana senyawa tersebut membantu penghilangan deposit besi serta sebagai desizing agent pada pabrikasi polyester dan polyamide. Didalam industri logam senyawa tersebut digunakan sebagai *alkaline derusting agent* serta digunakan untuk membersihkan permukaan logam tanpa menyebabkan korosi. Dalam industri sement, garam asam glukonat digunakan sebagai pengontrol settling time meningkatkan ketahanan terhadap air. Calsium glukonat juga digunakan dalam industri farmasi, sebagai sumber calsium, pada pencegahan kekurangan calsium. Seng glukonat juga dapat digunakan dalam proses penyembuhan akibat kekurangan seng.

Asam organic menempati urutan ketiga dalam perdagangan hasil-hasil fermentasi setelah antibiotic dan asam amino. Nilai total perdagangan asam organic akan mencapai \$3 milyar. Asam sitrat mendominasi perdagangan asam organic karena aplikasinya yang luas. Perdagangan asam glukonat relative ebih kecil bila dibandingkan asam sitrat, namun demikian produksi asam glukonat mencapai 60.000 ton pertahun dan tersedia dipasar dalam larutan technical grade 50% berat.

Asam glukonat dapat diproduksi dari glukosa melalui proses kimia, elektrokimia, biokimia maupun bioelektrokimia dengan beberapa macam oxidizing agent. Diantara beberapa proses pembuatan asam glukonat tesebut, proses fermentasi glukosa merupakan proses yang banyak dipakai karena proses fermentasi lebih efisien dengan biaya produksi yang lebih rendah, terutama bila dibandingkan dengan proses elektrolisa. Saat ini sebagian besar asam glukonat dibuat dengan bahan baku molasses melalui proses fermentasi menggunakan *Aspergillus niger* maupun *G.oxydans*. Kebutuhan dunia akan asam glukonat terus meningkat seiring dengan perkembangan industri-industri penggunanya, dan pada tahun 2009, nilai perdagangan asam organik akan mencapai \$ 3 juta (Ramachandran,2005). Hingga kini, kebutuhan Indonesia akan asam glukonat masih dipenuhi melalui jalur import, mengingat saat ini di indonesia belum ada pabrik penghasil asam glukonat.

Penelitian-penelitian yang berkaitan dengan proses produksi asam glukonat terus dikembangkan, baik penelitian yang berkaitan dengan mikroba penghasil enzyme yang dapat mengkonversi glukosa menjadi asam glukonat maupun pencarian sumber-sumber bahan baku pembuatan glukosa selain mollasses. Vassilev dkk meneliti penggunaan hydrol (corn starch hydrolysis) sebagai sumber karbon pada pembuatan asam glukonat, sedangkan Rao dan Panda menggunakan indian cane mollasses.

Indonesia merupakan negara penghasil sagu terbesar di dunia dengan luas lahan yang ditanami sagu sebesar 1.25 juta Ha (Flach, 1999). Berdasarkan data Perhimpunan Pendayagunaan Sagu Indonesia (PPSI), produksi sagu nasional saat ini mencapai 200.000 ton per tahun atau baru mencapai sekitar 5 persen dari potensi sagu nasional. Rendahnya produksi nasional juga diakibatkan oleh teknologi pemanfaatannya masih sangat sederhana dan tradisional. Padahal teknologi budi daya sagu tergolong mudah dan sederhana serta lebih ekonomis dibandingkan budi daya kelapa sawit atau padi. Setiap batang sagu mengandung sekitar 200 kg sagu sehingga setiap hektar tanaman sagu memproduksi 20-25 ton per hektar. Secara ekonomi, nilai ekonomi budi daya sagu cukup tinggi. Yang diperlukan saat ini adalah teknologi pengolahan untuk menghasilkan beragam produk berbahan baku sagu (Nardiman, Suara Pembaharuan, 2004). Dikaitkan dengan kebutuhan kita akan asam-asam organik, khususnya asam glukonat, maka sagu sangat berpotensi sebagai bahan baku pembuatan asam glukonat.

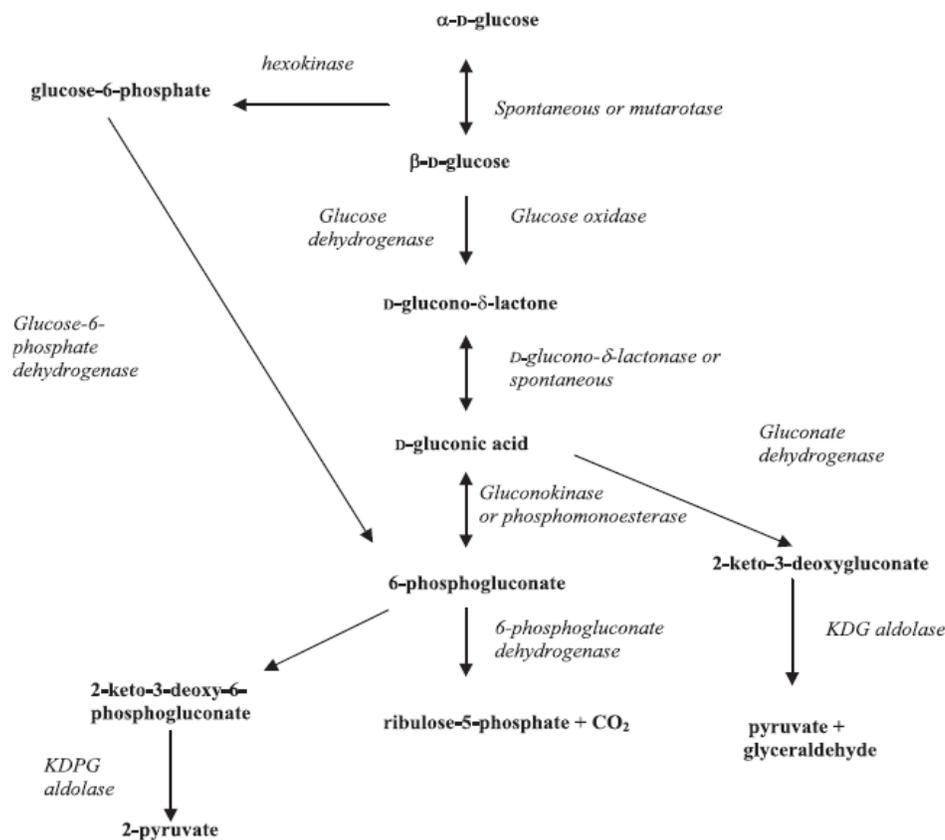
### Asam Glukonat

Asam glukonat (pentahidroksicaproic acid) diproduksi dari glukosa melalui reaksi dehidrogenasi sederhana yang dikatalisasi oleh enzyme glukosa oxidase. Oksidasi group aldehide pada atom karbon C-1 dari B-D glukosa oleh suatu group karbonil sehingga menghasilkan glukono A lactone ( $C_6H_{10}O_6$ ) dan hydrogen peroksida. Glukono A lactone selanjutnya di hidrolisa menjadi asam glukonat baik secara langsung atau melalui hidrolisa oleh enzyme lactone, sementara hydrogen peroksida terdekomposisi menjadi air dan hydrogen oleh enzyme peroksida. Pathway glukonat dapat dilihat pada gambar 1. Proses

konversi asam glukonat dapat dilakukan secara kimia tetapi umumnya melalui proses fermentasi. Proses enzymatic dapat dilakukan, dimana konversi glukosa menjadi asam glukonat berlangsung dengan adanya sel glukosa dengan memanfaatkan glukosa oksidase dan katalase yang diturunkan dari *A. niger*. Hampir 100% glukosa dikonversi menjadi asam glukonat pada kondisi tertentu. Produksi asam glukonat dengan menggunakan enzyme memiliki beberapa keuntungan dimana prosesnya tidak memerlukan proses purifikasi jika enzymentya diimobilisasi,

semisal menggunakan membran polimer atau ion exchange low density polyethylene dengan 4 viny pyridine.

Proses produksi asam glukonat dimulai pertama kali tahun 1870 oleh Hlasiwelt dan Haberman dimana mereka menemukan asam glukonat. Pada tahun 1880 Boutroux menemukan pertama kali bahwa bakteri asam asetat mampu memproduksi asam dari gula. Jalur pembentukan asam glukonat secara umum dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Jalur pembentukan glukonat secara umum

Pada tahun 1922, Mollard mendeteksi adanya asam glukonat pada *Aspergillus niger*. Selanjutnya proses produksi asam glukonat dapat dilakukan oleh beberapa spesies bakteri seperti *Pseudomonas*, *Glukonobacter*, *Acetobacter* dan beberapa spesies fungi. Penelitian yang dilakukan oleh Bermhaur menunjukkan bahwa, *Aspergillus niger* dapat menghasilkan asam glukonat dalam jumlah yang tinggi ketika dinetralkan dengan

menggunakan kalsium karbonat, penelitian tersebut juga menyebutkan bahwa proses fermentasi glukosa menjadi asam glukonat sangat bergantung pada pH. Namun bila proses fermentasi menggunakan *Penicillium sp.*, kondisi fermentasi tidak begitu tergantung pada pH sebagaimana pada penggunaan *Aspergillus niger*, hal tersebut mengindikasikan bahwa terdapat hubungan antara jumlah dan waktu terbentuknya asam glukonat,

asam sitrat dan asam oksalat yang terbentuk pada berbagai kondisi. Produksi asam glukonat sudah diteliti oleh May, Moyer, Well, stubb menggunakan *Aspeergilus niger*. Currie dkk mematenkan proses pembuatan asam glukonat dengan yield sebesar 90% dengan waktu fermentasi 48-60 jam. Moyer dkk menggunakan *Aspergillus niger*, mampu memproduksi asam glukonat dengan yield secara teori sebesar 95% dalam larutan glukosa 150-200 g/L dalam waktu 20 jam. Porges dkk menemukan bahwa proses fermentasi dapat dilakukan secara semikontinyu, dengan penggunaan kembali miselium 9 kali dimana inokulum direkoveri dengan proses filtrasi maupun centrifugasi. Moyer menyebutkan bahwa efisiensi 95% dapat dicapai dengan penambahan glukosa 250 g/L dan senyawa boron (1% dalam 250 g/L glukosa) dan pada langkah selanjutnya pertumbuhan fungi dengan penggunaan kembali miselium dengan siklus 24 jam.

Proses produksi asam glukonat dilakukan dengan menggunakan *Aspergillus niger* dan didasarkan pada proses yang telah dimodifikasi oleh Blon dkk. Proses tersebut melibatkan kultivasi

dengan umpan glukosa intermittent dan menggunakan sodium hidroksida sebagai agent penetral. pH dijaga antara 6-6.5 dan temperature sekitar 34<sup>0</sup>C. Produktivitas proses ini sangat tinggi karena laju konversi glukosa mencapai 15 g/Lh

**Sifat Fisika Dan Kimia Asam Glukonat**

Asam glukosa adalah asam organic yang tidak korosif dan nonvolatile. Asam gluonat menyebabkan ras asam pada berbagai makanan dan minuman seperti anggur, jus buah dsb. Sodium glukonat memiliki sifat sequestering yang tinggi. Senyawa ini merupakan chelator yang baik pada pH basa, aksinya lebih baik bila dibandingkan dengan EDTA, NTA dan chelator yang lain. Larutan sodium glukonat tahan terhadap oksidasi dan reaksi reduksi pada suhu tinggi. Asam glukonat merupakan plasticizer yang baik, dan dapat diuraikan(biodegradable, 98% dalam jangka waktu 48 jam). Asam glukonat dapat mencegah timbulnya ras pahit pada makanan. Larutan asam glukonat dengan struktur lactone (neutral cyclic ester) dapat berfungsi sebagai antiseptic. Karakteristik asam glukonat dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Karakteristik umum asam glukonat

Asam glukonat	
Sifat	Nonkorosif, asam lemah, tidak berbau, tidak beracun, dapat diuraikan, nonvolatile
Berat molekul relative	196.16
Rumus kimia	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>
Synonym	2,3,4,5,6 pentahydroxyhexanoic acid
pKa	3.7
Titik lebur (50% solution)	< 12 °C
Titik didih (50% solution)	100°C
Densitas	1.24 g/ml
Wujud	Jernih hingga coklat
Solubilitas	Larut dalam air
Derajat keasaman (asam sitrat sebagai acuan 100)	29-35

Ada beberapa metode pengukuran D-Glukonic acid dan D glucono lactone. Diantaranya adalah metode isotachoporotic method dan hydroxamate method. Konsentrasi asam gluonat juga dapat ditentukan dengan menggunakan Gas Chromatography dari turunan trimetysilyl (TMS) yang disiapkan dengan menggunakan inositol sebagai larutan standard. Metode enzymatic yang

banyak digunakan menerapkan prinsip : D- asam glukonat di posporilasi menjadi D-glukonate 6phosphate oleh ATP dengan adanya enzyme glukonate kinase dengan pembentukan ADP secara simultan. Dengan hadirnya NADP, D-glukonate 6phosphate di decarboksilasi secara oksidatif oleh 6-phosphogluconatedehydrogenase menjadi ribulose 5-phosphate dengan pembentukan NADPH

yang tereduksi. NADPH yang terbentuk secara stoikiometri memungkinkan penentuan langsung D asam glukonat yang terbentuk.

### Proses Produksi Asam Glukonat

Terdapat beberapa pendekatan pada proses pembuatan asam glukonat, yakni, proses pembuatan secara kimia, biokimia, elektrokimia, serta bioelektrokimia. Terdapat beberapa agent pengoksidasi, namun proses yang dirasa lebih rendah dalam hal biaya dan lebih efisien adalah proses fermentasi. Walaupun pada proses kimia, hanya melewati satu tahapan proses, namun metode kimia tidak disukai. Proses fermentasi merupakan metode yang telah banyak dipakai karena lebih efisien dan secara teknis lebih dominant. Diantara beberapa mikroba yang dipakai dalam proses fermentasi, fermentasi menggunakan fungi *Aspergillus niger* merupakan fungi yang banyak dipakai selain penggunaan *G. oxydans*. Pada proses fermentasi, pH akan terus menurun seiring dengan terbentuknya asam glukonat, sehingga pada proses fermentasi perlu ditambahkan basa untuk menetralkan asam glukonat yang terbentuk. Suasana yang terlalu asam akan mengnonaktifkan glucose oxidase. Kondisi operasi pada pembentukan sodium glukonat atau calcium glukonat berbeda-beda terutama pada konsentrasi glukosa awal, serta pada pengaturan pH medium. Pada proses yang melibatkan pembentukan calcium glukonat, pengontrolan pH diperoleh dari penambahan slurry calcium carbonat. Hal yang juga harus diperhatikan adalah kelarutan calcium glukonat didalam air (4% pada 30°C). Pada konsentrasi glukosa yang tinggi, diatas 15% terjadi supersaturasi dan jika batas tersebut terlampaui endapan garam calcium pada mycelia akan menghambat transfer oksigen. Senyawa penetral harus disterilisasi secara terpisah dari larutan glukosa untuk menghindari terjadinya reaksi samping yakni reaksi Lobry de brun van ekenstein, dimana akan menghambat proses konformasi glukosa sehingga akan menurunkan yield hingga sebesar 30%. Sebaliknya pada proses pembentukan sodium glukonat, konsentrasi glukosa yang tinggi lebih disukai, dengan konsentrasi glukosa hingga 350 g/L atau lebih tidak akan menimbulkan masalah. pH secara otomatis dikontrol dengan penambahan larutan NaOH. Sodium glukonat larut didalam air (39,6 % pada 30°C)

*Aspergillus niger* menghasilkan hampir semua enzyme yang diperlukan untuk proses konversi glukosa menjadi asam glukonat, yakni glukosa oksidase, catalase, lactonase, dan mutarotase. Walaupun kristal monohydrate glukosa, yang berada dalam bentuk alpha, dikonversi secara spontan kedalambentuk beta dalam larutannya, *Aspergillus niger* memproduksi enzyme mutarotase, yang memiliki fungsi mempercepat reaksi. Selama proses konversi glukosa, glukosa oksidase yang ada dalam *aspergillus niger*, mengalami autoreduksi dengan pemisahan dua ion hydrogen. Enzyme yang tereduksi selanjutnya dioksidasi oleh oksigen, yang akan menghasilkan terbentuknya hydrogen peroksida, suatu hasil samping pada reaksi konversi glukosa menjadi asam glukonat. *Aspergillus niger* memproduksi catalase yang beraksi pada hydrogen peroksida dan melepaskan hydrogen serta oksigen. Hidrolisis glukono a lactone menjadi asam glukonat difasilitasi oleh enzyme lactonase. Reaksi tersebut dapat berlangsung secara spontan mengingat enzyme lactonase beraksi sangat cepat pada pH yang mendekati netral, dimana kondisi tersebut akan terbentuk dengan penambahan calcium carbonat atau sodium hidroksida. Pengambilan lactone dari medium sangat disarankan karena akumulasi lactone pada media memiliki efek negatif terhadap laju reaksi pembentukan asam glukonat. Ada penelitian yang menyebutkan bahwa enzyme glukonolactonase terdapat dalam *Aspergillus niger* yang berakibat meningkatkan laju reaksi pembentukan asam glukonat.

Produksi asam glukonat langsung berhubungan dengan aktivitas glukosa oksidase. Penambahan zat penetral, dipilih berdasarkan penentuan garam turunan asam glukonat yang diinginkan, bila diinginkan garam calcium glukonat, maka ditambahkan calcium carbonat, bila diinginkan sodium glukonat, maka zat penetral yang digunakan adalah sodium hidroksida. Kondisi operasi yang umum bagi proses pembentukan asam glukonat adalah:

- Konsentrasi glukosa antara 110-250 g/L
- Konsentrasi sumber nitrogen dan fosfor sangat rendah, (20mM)
- pH medium berkisar antara 4.5-6.5

- Laju aerasi sangat tinggi, dengan mengalikasikan tekanan udara 4 bar

Ada dua parameter kunci pada proses produksi asam glukonat, yakni ketersediaan oksigen dan pH medium. Oksigen merupakan substrat kunci pada oksidasi glukosa, mengingat glukosa oksidase menggunakan molekul oksigen didalam biokonversi glukosa. Konsentrasi gradien oksigen dan koefisien transfer volumetrik oksigen merupakan faktor yang sangat penting, dimana dari koefisien transfer tersebut, kita dapat memonitor adanya oksigen didalam medium. Dua faktor yang mempengaruhi laju transfer oksigen didalam medium dari fase gas ke dalam fase aqueous. Laju aerasi dan kecepatan pengadukan adalah faktor yang mempengaruhi ketersediaan oksigen didalam medium. Produksi asam glukosa merupakan reaksi yang memerlukan konsumsi oksigen dalam jumlah yang cukup tinggi dalam proses konversinya. Jumlah oksigen dipengaruhi oleh oksigen terlarutnya. Biasanya pasokan oksigen diperoleh dari tekanan udara atmosferik. Walaupun demikian ada juga penelitian yang menggunakan oksigen dengan tekanan yang tinggi. Sakurai dkk melakukan penelitian dengan memberikan oksigen pada tekanan 6 bar dengan oksigen terlarut dijaga pada kisaran 150 ppm. Mereka menemukan bahwa mycelium *Aspergillus niger* yang diimobilisasi dengan menggunakan oksigen murni menghasilkan asam glukonat yang lebih banyak bila dibandingkan mycelium *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan dalam kondisi tekanan atmosferik. Kapal dkk menemukan bahwa kecepatan pengadukan pada 420 rpm dan aerasi 0.25 vvm, oksigen yang terlarut optimal untuk proses produksi asam glukonat. Nilai Km untuk glukosa oksidase berada pada kisaran udara saturasi didalam air. Lee dkk menemukan bahwa produktivitas proses produksi asam glukonat lebih tinggi pada tekanan 2-6 bar, yang akan meningkatkan oksigen terlarut hingga mencapai 150 ml/L. Biasanya selama pertumbuhan fungi, distribusi oksigen menjadi tidak seimbang, seiring dengan peningkatan ukuran gelembung gas, hal tersebut akan mengakibatkan kurangnya suplai oksigen. Laju absorpsi oksigen juga dipengaruhi oleh viskositas media culture, dimana akan terjadi penurunan laju absorpsi oksigen seiring dengan kenaikan konsentrasi myselial.

Selain jumlah oksigen terlarut, pH merupakan factor penting dalam proses produksi asam glukonat. *Aspergillus niger* menghasilkan asam organik lemah seperti asam sitrat, asam glukonat dan asam oksalat, dan akumulasinya tergantung pada pH medium. pH dibawah 3.5 akan memicu terjadinya siklus TCA, dimana siklus tersebut memfasilitasi terbentuknya asam sitrat. pH bagi pembentukan asam glukonat adalah berkisar antara 4.5-7. pH 5.5 biasanya dianggap sebagai pH yang optimum bagi terbentuknya asam glukonat. Franke dkk menyatakan bahwa pada pH 2.0 dan 3.0 persentase produktivitas proses pembentukan asam glukonat hanya 35% dari produktivitas produksi asam glukonat pada pH 5.6.

#### **Bahan Baku: Starch Sagu**

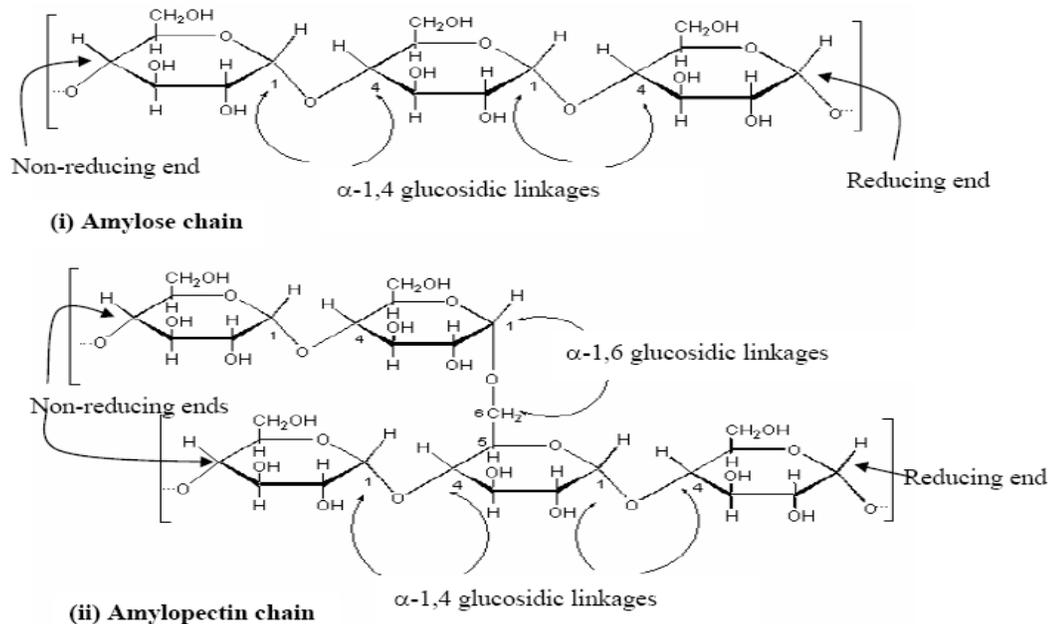
Bahan baku yang biasa digunakan sebagai sumber karbon pada proses produksi asam glukonat adalah glukosa. Bagaimanapun juga hasil hidrolisa dari berbagai bahan baku seperti limbah agroindustri bisa juga digunakan sebagai substrat. Kundu dan Das menemukan bahwa asam glukonat dapat dihasilkan dari starch hidrolisat dengan yield yang tinggi. Vassilev dkk menggunakan hydrol (corn starch hidrolisate) sebagai sumber karbon dengan menggunakan *aspergillus niger* yang diimobilisasi. Rao dan Panda menggunakan indian cane mollasses sebagai sumber karbon. Berbagai perlakuan awal yang berbeda diterapkan seperti perlakuan asam, perlakuan dengan potassium ferrocyanide, perlakuan dengan garam dsb. Sintesa asam glukonat dipengaruhi oleh berbagai ion logam seperti tembaga, besi magnesium, kalsium dsb. Mukhopaddhay dkk menggunakan gandum yang dideproteinisasi sebagai medium pada perose sproduksi asam glukonat. Lactose digunakan sebagai substrat dan 92 gram asam glukosa dihasilkan dari satu liter gandum yang mengandung 0.5% glukosa dan 9.5% lactosa dengan menggunakan *aspergillus niger* yang diimobilisasi dalam busa polyurethane. Ikeda dkk menggunakan larutan limbah kertas yang telah disakarifikasi dengan konsentrasi glukosa diatur antara 50-100 g/L untuk proses biokonversi dengan menggunakan *aspergillus niger*.

Salah satu sumber karbohidrat yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan asam glukonat adalah starch sagu. Ketersediaan sagu di

Indonesia sangat melimpah dengan luas area tanaman sagu yang mencapai 1.25 juta hektar pada tahun 1999.

Pada dasarnya, starch merupakan campuran dua tipe polimer yakni amylose dan amylopektin. Struktur amylose dan amylopektin dapat disajikan

pada gambar 2. Starch merupakan polisakarida yang terdiri dari unit anhidroglukosa ( $C_6H_{10}O_6$ ). Unit-unit glukosa berikatan melalui ikatan glukosidic. Ikatan tersebut dapat dihidrolisa oleh enzyme atau asam, namun tetap stabil dalam suasana basa.



**Gambar 2.** Struktur amylose dan amylopektin

Starch sagu diperoleh dari pith tanaman sagu yang tersebar di kawasan asia dan pasifik. Ada 11 spesies dari 8 genera yang telah diidentifikasi dapat menghasilkan starch dari batang pith, yakni *Arecastrum romanzofianum*, *Arenga pinnata*, *Caryota aequatorialis*, *Corypa umbraculifera*, *Corypa utan*, *Euggisona insignis*, *eugginosa utilis*, *Mauritia flexiusa*, *Metroxylon rumpii* dan *Roystonea oleraceae*. Diantara beberapa jenis tanaman palm tersebut *Metroxylon rumpii* dan *Arenga pinnata* merupakan sumber starch sagu terbesar. *Metroxylon rumpii* tumbuh liar serta dibudidayakan di Indonesia (terutama di papua), malaysia dan di papua newguniea. Starch sagu merupakan makanan pokok masyarakat maluku, serta papua. Starch sagu yang diperoleh dari *Metroxylon rumpii* memiliki karakteristik yang lebih baik bila dibandingkan starch sagu yang didapat dari *Arenga pinnata*, bahkan bila starch

sagu dari *Arenga pinnata* digunakan sebagai makanan pokok dapat menyebabkan sakit perut.

Kuantitas starch sagu yang dihasilkan dari *Metroxylon rumpii* sangat besar, dari sebatang tanaman sagu dapat diperoleh starch sebanyak 250 kg sementara dari *Arenga pinnata* dapat dihasilkan 75 kg per batang.

Ekstraksi starch sagu dari pith tanaman sagu meliputi beberapa tahap:

- Batang tanaman dipotong  $\pm 1$  meter
- Pemisahan pith dari batang
- Penumbukan atau pencacahan pith agar starch terlepas
- Pencucian dan penyaringan guna mengekstrak starch dari residu yang berupa serat
- Suspensi raw starch sagu dikumpulkan dan diendapkan didalam kontainer

- Melalui proses dekanter, lapisan endapan starch dipisahkan
- Starch sagu dikeringkan sehingga starch sagu berbentuk tepung.

Seperti halnya starch dari tanaman lain seperti singkong maupun jagung, starch dari sagu mengandung kadar pati (starch) yang tinggi.

Komposisi kimia starch sagu dapat dilihat pada Tabel 2. Bila dibandingkan dengan starch dari singkong kadar abunya lebih tinggi, namun kandungan serat, protein serta lemaknya relatif sama.

**Tabel 2.** Komposisi kimia berbagai starch

Sumber	starch	protein	lemak	serat	abu
Raw starch					
• Jagung	71	10.71	4.76	2.38	0.10
• Kentang	82	9.09	0.46	3.18	0.40
• Gandum	74	15.12	2.33	3.49	0.15
• Singkong	77	2.94	0.88	2.94	0.20
Refined starch					
• Jagung	98.9	0.51	0.17	0.25	0.11
• Sagu	98.2	0.63	0.33	0.36	0.26

Ratio amylosa-amylopektin spesifik untuk tiap-tiap jenis starch, seperti ditampilkan dalam Tabel 3. Ito dkk menemukan bahwa kandungan amylose dan kandungan amylopektin pada starch sagu adalah 27% dan 83%. Amylose pada starch dapat direcovery dengan jalan didisolusi dengan menggunakan dimetil sulfoxide (DMSO) kemudian dipresipitasi dengan menggunakan butanol. Reaksi antara amylosa dengan butanol akan membentuk kompleks kristal yang tidak larut.

**Tabel 3** Rasio amylose-amylopektin pada berbagai starch

Starch	Amylose	Amylopektin
Jagung	28	72
Kentang	21	79
Gandum	28	72
Singkong	17	83
Sagu	27	73

Swinkels, 1985

Sifat fisiokimia meliputi dispersi, gelatinisasi, pasting serta komposisi kimia dari starch. Struktur fisik dari granul starch berkaitan dengan kemampuannya menyerap air, berkaitan dengan kekuatan *sweelling*-nya, serta berkaitan dengan kelarutan komponen starch. Sementara komponen kimia minor seperti protein, lemak serta

serat akan mempengaruhi sifat, proses lanjutan serta kualitas produk.

Ukuran serta bentuk granul dari starch bervariasi tergantung pada sumber starch. Beberapa bentuk serta ukuran granul starch dapat dilihat pada tabel 4. Ukuran dari granul starch sagu bervariasi antara 15-65 mikron tetapi kebanyakan bervariasi antara 20-60 mikron. Bentuk granul kebanyakan oval namun terkadang ditemui bentuk *truncated*. Ito dkk melaporkan bahwa diameter rata-rata granul starch sagu adalah 31 mikron.

Dilihat dibawah sinar yang dipolarisasi, granul starch sagu menunjukkan interferensi silang (Maltese silang) yang berpusat di hilum. Starch sagu tidak larut didalam air dingin karena adanya ikatan hidrogen. Ketika granul starch sagu dipanaskan secara perlahan polarisasi silang tersebut akan menghilang pada hilum dan granul akan mulai menggelembung. Hal tersebut menandakan proses gelatinisasi mulai berjalan. Proses gelatinisasi dapat diukur serta diamati seiring dengan makin meningkatnya transmittance optik serta meningkatnya viskositas. Diantara beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengukur suhu gelatinisasi, Differential Scanning Calorimeter (DSC) serta Kofler-hot-stage microscope merupakan metode yang banyak diaplikasikan dalam pengukuran suhu gelatinisasi.

**Tabel 4.** Ukuran serta bentuk granule berbagai starch

Starch	Diameter granul (mikron)	Bentuk granul
Jagung	3-26	Bundar, poligonal
Kentang	5-100	Oval, spherical
Gandum	2-35	Bundar, lenticular
Singkong	4-35	Oval, truncated
Sagu	5-65	Oval, truncated

Karakteristik *pasting* dapat ditentukan dengan menggunakan Rapid Visco Analyzer (RVO). Temperatur *pasting* menunjukkan titik dimana viskositas mulai naik. Viskositas starch akan naik hingga mencapai suatu puncak. Titik puncak tersebut menandakan kekuatan *thickening*. Setelah mencapai puncak, viskositas akan turun

kembali seiring dengan pecahnya gelembung granul starch. Pada proses pendinginan, viskositas akan naik kembali, ini menunjukkan titik *retogradasi* (set back), dimana molekul starch kembali berasosiasi. Karakteristik *pasting* beberapa starch dapat dilihat pada tabel 5 berikut:

**Tabel 5.** Karakteristik *pasting* berbagai starch

Starch	Temperature <i>Pasting</i> (°C)	Puncak Viskositas (BU)	Swelling Power (95°C)	Laju retrogradasi
Jagung	75-80	700	24	Tinggi
Kentan	60-65	3000	1153	Medium
g	80-85	200	21	Tinggi
Gandu	65-70	1200	71	Rendah
m	65-70	1100	97	Tinggi
Singkon				
g				
Sagu				

### Proses Rekovery Asam Glukonat

Proses rekovery tergantung pada metode netralisasi serta sumber karbon yang digunakan. Biasanya proses down stream pada fermentasi menggunakan fungi dengan proses menggunakan bakteri hampir sama. Asam glukonat, glucono A lactone, kalsium glukonat dan sodium glukonat adalah produk-produk yang penting.

Proses rekovery asam glukonat dari kalsium glukonat meliputi proses klarifikasi, dekolorisasi, pemekatan dan didinginkan hingga 10<sup>0</sup> C tanpa atau dengan adanya alkohol. Garam kalsium dari asam glukonat akan mengkristal dan selanjutnya akan dapat dipurifikasi. Asam glukonat dapat juga diperoleh dengan jalan mengendapkan kalsium glukonat dari larutab lewat jenuhnya dengan menambahkan asam sulfur. Cara lain adalah dengan melewati larutan melalui suatu kolom cation exchanger yang kuat dimana ion kalsium akan teradsorpsi.

Guna memperoleh kalsium glukonat sebagai produk, kalsium hidroksida atau kalsium karbonat ditambahkan sebagai penetral. Keduanya ditambahkan diiringi dengan pemanasan serta pengadukan. Larutan kemudian dijadikan larutan lewat jenuh yang panas, kemudian didinginkan pada 20<sup>0</sup>C dan ditambahkan air sebagai solvent yang kemudian akan mengkristalkan senyawa tersebut. Perlakuan dengan menggunakan karbon yang diaktifkan akan memfasilitasi proses kristalisasi. Pada langkah terakhir, larutan dicentrifugasi dan dicuci beberapa kali dan dikeringkan pada 80<sup>0</sup>C.

### Kesimpulan

Asam glukonat merupakan asam organik lemah dengan tingkat kebutuhan terbesar kedua setelah asam sitrat. Salah satu alternatif bahan baku pembuatan asam glukonat adalah starch sagu. Starch sagu yang digunakan adalah starch sagu

yang diperoleh dari Metroxylon rumpii. starch dari sagu mengandung kadar pati (starch) yang tinggi, hingga mencapai 98.2%. Proses fermentasi merupakan metode yang telah banyak dipakai karena lebih efisien dan secara teknis lebih dominan. Fungi yang banyak dipakai pada proses fermentasi adalah *Aspergillus niger*. Proses tersebut melibatkan kultivasi dengan umpan glukosa intermittent dan menggunakan sodium hidroksida sebagai agent penetral. pH dijaga antara 6-6.5 dan temperature sekitar 34<sup>0</sup>C. Produksi asam glukonat langsung berhubungan dengan aktivitas glukosa oxidase. Penambahan zat penetral, dipilih berdasarkan penentuan garam turunan asam glukonat yang diinginkan. Produktivitas proses ini sangat tinggi karena laju konversi glukosa mencapai 15 g/Lh. Proses recovery tergantung pada metode netralisasi serta sumber karbon yang digunakan. Proses recovery asam glukonat dari kalsium glukonat meliputi proses klarifikasi, dekolorisasi, pemekatan dan didinginkan hingga 10<sup>0</sup> C tanpa atau dengan adanya alkohol.

#### Daftar Pustaka

Flach, M, 1977, "Yield Potential of the Sago Palm, Metroxylon sagu, and its Realisation in Sago: Paper of the First International Sago Symposium" Kemajuan Kanji Sdn Bhd, Kuala Lumpur Malaysia

Nardiman, 2004, "Potensi Sagu Indonesia", Suara Pembaharuan

Ramachandran S, Fontanill.P, Pande. A, 2006, "Gluconic Acid: Properties, Applications and Microbial Production" Food Technol. Biotechnol. 44 (2) 185–195

ZNAD, H.; MARKOS, J. and BALES, V. July 2004, "Production Of Gluconic Acid From Glucose By *Aspergillus Niger*: Growth And Non-Growth Conditions. "Process Biochemistry, vol. 39, no. 11, p. 1341-1345.