

**OPTIMASI PRODUKSI ASAM SITRAT DARI KULIT BUAH LOKAL
DENGAN METODE FERMENTASI PADAT: STUDI PENGARUH
KONSENTRASI SUBSTRAT, WAKTU INKUBASI DAN KONSENTRASI
INOKULUM**

TUGAS AKHIR

**Karya tulis sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik dari
Universitas Pasundan**

Oleh:

**MERY SOFIA
21.302.0075**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2025**

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI ASAM SITRAT DARI KULIT BUAH LOKAL DENGAN METODE FERMENTASI PADAT: STUDI PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT, WAKTU INKUBASI DAN KONSENTRASI INOKULUM

Oleh:

Mery Sofia

NPM: 21.302.0075

(Program Studi Teknologi Pangan)

Asam sitrat adalah asam organik lemah yang memiliki rumus molekul $C_6O_8H_7$. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimal fermentasi asam sitrat dari kulit buah lokal dengan variabel bebas konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan konsentrasi inokulum. Penelitian ini yang dilakukan menggunakan *Design Expert* metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Box Behnken Design* (BBD) yang terdiri dari 16 runs dengan 4 kali pengulangan titik Tengah. Tahapan pertama adalah Analisa proksimat bahan dan hidrolisis kulit buah menggunakan asam dengan pengujian gula pereduksi metode DNS. Tahapan kedua pembuatan inokulum *Aspergillus Niger*, perhitungan jumlah spora dengan metoda ALT. Tahapan ketiga fermentasi padat dengan variabel tetap suhu 30°C, pH 8,0, kelembaban 75%. Tahapan keempat proses ekstraksi dan pemurnian. Berdasarkan hasil penelitian kondisi optimum fermentasi asam sitrat menggunakan kulit nanas subang (*Ananas comusus*) adalah konsentrasi substrat sebesar 25 gram, waktu inkubasi selama 6 hari dan konsentrasi inokulum 0,5%. Kondisi optimum fermentasi menghasilkan kadar gula pereduksi sebesar 7,0847 mg/mL, kadar karbohidrat total sebesar 3,5579 mg/mL, dan kadar asam sitrat sebesar 5,2100 mg/mL. Rendemen asam sitrat yang dihasilkan adalah sebesar 7,10%.

Kata Kunci: Fermentasi Padat, Asam Sitrat, *Aspergillus Niger*, Kulit Buah Lokal

ABSTRACT

OPTIMATION OF CITRIC ACID PRODUCTION FROM LOCAL FRUIT PEELS BY SOLID FERMENTATION METHOD: STUDY OF THE EFFECT OF SUBSTRATE CONCENTRATION, INCUBATION AND TIME INOCULUM CONCENTRATION

By:

Mery Sofia

NPM: 21.302.0075

(Departement of Food Technology)

Citric acid is a weak organic acid with the molecular formula $C_6O_8H_7$. This study aims to determine the optimal conditions for citric acid fermentation from local fruit peels, with independent variables including substrate concentration, incubation time, and inoculum concentration. The study was conducted using the Design Expert method of Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken Design (BBD) consisting of 16 runs with 4 replicates at the center point. The first stage involved proximate analysis of the material and hydrolysis of the fruit peel using acid with DNS method testing for reducing sugars. The second stage involved the preparation of *Aspergillus Niger* inoculum and calculation of spore count using the ALT method. The third stage involved solid fermentation with fixed variables of temperature 30°C, pH 8.0, and humidity 75%. The fourth stage involves the extraction and purification process. Based on the research results, the optimal conditions for citric acid fermentation using Subang pineapple peel (*Ananas comusus*) are a substrate concentration of 25 grams, an incubation time of 6 days, and an inoculum concentration of 0.5%. Optimal fermentation conditions resulted in a reducing sugar content of 7.0847 mg/mL, total carbohydrate content of 3.5579 mg/mL, and citric acid content of 5.2100 mg/mL. The citric acid yield produced was 7.10%.

Keywords: *Solid fermentation, Citric acid, Aspergillus Niger, Local fruit peel*

**OPTIMASI PRODUKSI ASAM SITRAT DARI KULIT BUAH LOKAL
DENGAN METODE FERMENTASI PADAT: STUDI PENGARUH
KONSENTRASI SUBSTRAT, WAKTU INKUBASI DAN KONSENTRASI
INOKULUM**

**Oleh:
Mery Sofia
NPM: 21.302.0075
(Program Studi Teknologi Pangan)**



Pembimbing I

Pembimbing II

(Jaka Rukmana, S.T., M.T)

(Rossy Choerun N, S.T., M.Biotek)

**OPTIMASI PRODUKSI ASAM SITRAT DARI KULIT BUAH LOKAL
DENGAN METODE FERMENTASI PADAT: STUDI PENGARUH
KONSENTRASI SUBSTRAT, WAKTU INKUBASI, DAN KONSENTRASI
INOKULUM**

Oleh:

Mery Sofia

NPM: 21.302.0075

(Program Studi Teknologi Pangan)

Fakultas Teknik

Universitas Teknik

Menyetujui:

**Koordinator Pembelajaran Mahasiswa dan Budaya
Prodi Teknologi Pangan FT UNPAS**

(Rizal Maulana, S.T., M.T)

PEDOMAN TUGAS AKHIR

Tugas akhir yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Fakultas dan Universitas, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Universitas Pasundan. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai dengan kaidah ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Sitasi hasil penelitian Tugas Akhir ini dapat ditulis dalam bahasa Indonesia sebagai berikut:

Sofia, M., Rukmana, J., & Choerun, R. N. 2025. *Optimasi Produksi Asam Sitrat dari Kulit Buah Lokal dengan Metode Fermentasi Padat: Studi Pengaruh Konsentrasi Substrat, Waktu Inkubasi, dan Konsentrasi Inokulum* (Tugas Akhir Program Sarjana). Universitas Pasundan.

dan dalam bahasa Inggris sebagai berikut:

Sofia, M., Rukmana, J., & Choerun, R. N. 2025. *Optimisation of Citric Acid Production from Local Fruit Peels by Solid Fermentation Method: Study of the Effect of Substrate Concentration, Incubation Time, and Inoculum Concentration. Method, Bachelor's Thesis, Pasundan University.*

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh tugas akhir haruslah seizin Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan.

DAFTAR PENGANTAR

Bismillahirrahmaanirrahiim

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji dan Syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi Wassalam beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman. Tugas akhir ini berjudul **“Optimasi Produksi Asam Sitrat dari Kulit Buah Lokal dengan Metode Fermentasi Padat: Studi Pengaruh Konsentrasi Substrat, Waktu Inkubasi dan Konsentrasi Inokulum”**. Penulisan tugas akhir ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk menempuh program sarjana di Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas.

Tugas ini dapat diselesaikan atas bantuan doa dan dukungan motivasi baik secara langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak, oleh sebab itu penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. A.H. Dawam Abdulah, M.T. selaku Kepala Pusat Riset Biomassa dan Biopolimer yang telah mengizinkan penulis ikut serta dalam program penelitian.
2. Rossy Choerun Nissa, S.T., M. Biotek. selaku pembimbing lapangan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah memberikan bimbingan, arahan dan dukungan dalam melakukan penyusunan laporan tugas akhir ini.

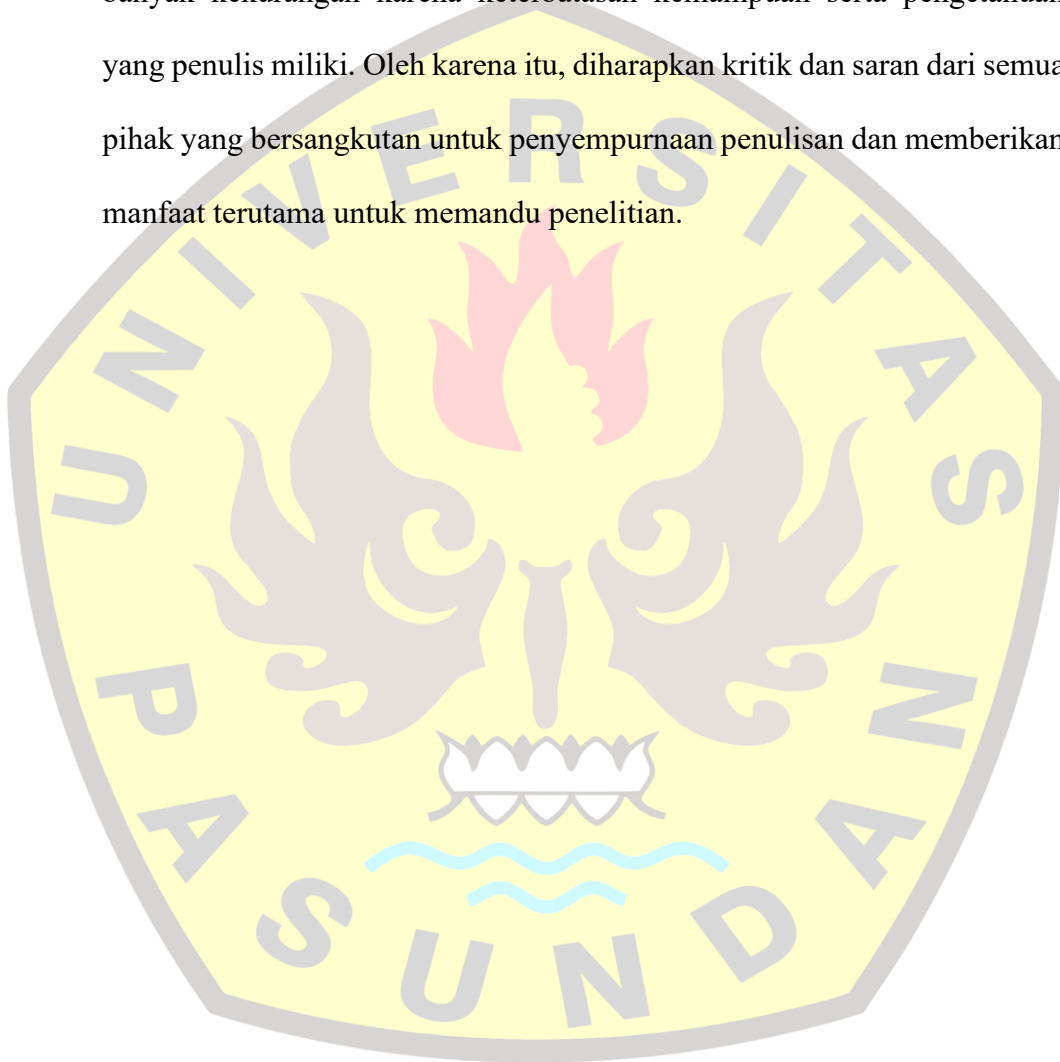
3. Jaka Rukmana S.T., M.T., selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan laporan tugas akhir.
4. Dr. Istiyati Inayah.,S.Si., M.Si., selaku dosen penguji pada sidang tugas akhir dan membimbing dalam penyusunan perbaikan tugas akhir.
5. Rizal Maulana, S.T., M.T., selaku Belmawa Prodi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan.
6. Teristimewa untuk kedua orang tua tercinta, Bapak Baharuddin dan Ibu Ratna Wida, serta kedua adik tersayang, Tomy Rifki dan Naufal Azka. Terima kasih atas cinta yang tak pernah putus, doa yang senantiasa mengiringi, dan semangat yang selalu menguatkan. Kepercayaan dan dukungan kalian adalah anugerah terindah dalam setiap langkah penulis.
7. Galuh Garda Rani Mardani, Shahnaz Naurelia Idhna Qhaleed, Firza Audina Khalisha, Nandita Riandra, M. Naufal Hanif, Mecca Wirayudha Arrasyid, Rifan Maulana, dan Rizky Akbar Putera Daiman selaku sahabat dekat penulis selama masa perkuliahan, yang selalu memberikan kebersamaan, dukungan, serta semangat yang tak ternilai sepanjang perjalanan akademik ini.
8. Sari Marlina dan Indah Permata Sari, terima kasih atas kesediaannya mendengarkan setiap keluh kesah penulis dengan penuh kesabaran, serta atas dukungan dan kehadirannya yang berarti sepanjang perjalanan ini.
9. Keluarga Divisi Tata Tertib, khususnya kepada Selvi Nanda Fatiah, serta keluarga TATIB 2021: Velya Regita, Muhammad Rakai, dan Adelina Putri,

yang telah memberikan semangat dan dukungan yang berarti kepada penulis.

10. Seluruh Angkatan 2021, yang telah menjadi teman seperjuangan penulis dalam menempuh perkuliahan dan menyelesaikan setiap kewajiban akademik bersama-sama.
11. Himpunan Mahasiswa Teknologi Pangan Periode 2022/2023 dan Periode 2023/2024 yang telah memberikan pengalaman berharga, pembelajaran, serta kesempatan berkembang yang tidak dapat penulis temukan di tempat lain.
12. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, terima kasih atas segala bentuk dukungan dan bantuan yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini dengan baik. Semoga segala kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan yang setimpal dari Allah SWT.
13. Terakhir kepada Mery Sofia, ya! Diriku sendiri. Terima kasih dan apresiasi sebesar-besarnya atas segala perjuangan untuk menyelesaikan tanggung jawab yang telah dimulai. Perjalanan yang ditempuh sejak awal tidaklah mudah, namun kamu berhasil melewatinya hingga detik ini. Terima kasih karena telah memilih untuk tetap bertahan, tetap hidup, dan terus merayakan diri sendiri, meskipun tak jarang dihampiri rasa putus asa di tengah segala yang sedang diperjuangkan. Tetaplah menjadi wanita yang pantang menyerah, ambisius, dan percaya diri bahwa kamu mampu melakukannya. Penulis ingin menyampaikan satu hal: *“Kamu hebat, dan aku bangga”*.

Ditunggu kabar baikmu, dan terbanglah setinggi-tingginya untuk mencapai cita-cita. Semoga kamu selalu menemukan kebahagiaan yang tiada henti. Terima kasih atas awal dari perjuangan panjang berikutnya.

Penulis menyadari bahwa dalam laporan tugas akhir ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan kemampuan serta pengetahuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, diharapkan kritik dan saran dari semua pihak yang bersangkutan untuk penyempurnaan penulisan dan memberikan manfaat terutama untuk memandu penelitian.



DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	xii
ABSTRACT.....	iii
DAFTAR PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xviii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah.....	5
1.3 Maksud dan Tujuan.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Kerangka Pemikiran	6
1.6 Hipotesis Penelitian	12
1.7 Tempat dan Waktu Penelitian	12
II TINJAUAN PUSTAKA.....	13
2.1 Asam Sitrat.....	13
2.2 Sumber Nutrisi.....	16
2.3 <i>Aspergillus niger</i>	18
2.4 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF)	20
2.5 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM).....	22
III METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1 Bahan dan Alat.....	26
3.1.1 Bahan-bahan Penelitian.....	26
3.1.2 Alat-alat Penelitian	26

3.2 Metodologi Penelitian.....	27
3.2.1 Penelitian pendahuluan	27
3.2.2 Penelitian Utama	27
3.2.3 Rancangan Perlakuan	27
3.2.4 Rancangan Percobaan	28
3.2.5 Rancangan Analisis	29
3.2.6 Rancangan Respon	29
3.3 Prosedur Percobaan.....	30
3.3.1 Prosedur Penelitian Pendahuluan Tahap I.....	30
3.3.2 Prosedur Penelitian Pendahuluan Tahap II.....	35
3.3.3 Penelitian Utama Tahap I	38
3.3.4 Penelitian Utama Tahap II.....	41
3.4 Jadwal Penelitian	45
IV PEMBAHASAN	46
4.1 Penelitian Pendahuluan Tahap I.....	46
4.1.1 Hidrolisis Asam.....	47
4.1.2 Gula Pereduksi Sampel Hidrolisis Asam	50
4.1.3 Karbohidrat Total Sampel Awal	53
4.1.4 Kadar Air	54
4.1.5 Kadar Abu	56
4.2 Penelitian Pendahuluan Tahap II	57
4.2.1 Pembuatan Inokulum 10% dan 20%.....	57
4.2.3 Analisis Hasil <i>Total Plate Count</i> (TPC)	59
4.4 Penelitian Utama Tahap I.....	61
4.4.1 Analisis Gula Pereduksi Optimasi Fermentasi.....	64
4.4.2 Karbohidrat Total Optimasi Fermentasi	68
4.4.3 Kadar Asam Sitrat Optimasi Fermentasi.....	72
4.4.4 Formulasi Optimalisasi Terpilih.....	76
4.5 Penelitian Utama Tahap II	84
4.5.1 Ekstraksi dan Pemurnian.....	84
4.5.2 Analisis Gugus Fungsi menggunakan FT-IR	84

V KESIMPULAN DAN SARAN.....	87
5.1 Kesimpulan	87
5.2 Saran	87
DAFTAR PUSTAKA.....	88
LAMPIRAN.....	96



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan kimia rata-rata kulit nanas per 100 gram	17
2. Kandungan kimia rata-rata kulit jeruk manis per 100 gram	17
3. Kandungan kimia rata- rata kulit pisang kepok kuning per 100 gram.....	18
4. Faktor dan Level yang diuji dengan Metode BBD	28
5. Rancangan Percobaan dengan Metode BBD	28
6. Jadwal penelitian.....	45
7. Hasil Analisis Penelitian Pendahuluan Tahap 1	46
8. Hasil <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	59
9. Hasil Penelitian Utama Tahap 1	61
10. ANOVA Respon Gula Pereduksi.....	65
11. ANOVA Respon Karbohidrat Total	68
12. ANOVA Respon Kadar Asam Sitrat.....	72
13. Komponen dan Respon yang Dioptimasi, Target, Batas dan Importance Pada Tahapan Optimasi Formula.....	76
14. Rekomendasi Tahapan Fermentasi Optimasi	78
15. Hasil Pengujian Optimasi Solusi Lanjutan	79
16. Perbandingan Hasil Nilai Respon Prediksi dengan Nilai Aktual	82
17. Persentase rendemen asam sitrat.....	84
18. Data Absorbansi Larutan Standar Gula Pereduksi Sampel Hidrolisis Asam	100
19. Perhitungan Hasil Analisis Gula Pereduksi dengan Hidrolisis Asam Oksalat	101

20. Perhitungan Hasil Analisis Gula Pereduksi dengan Hidrolisis Asam Sulfat.	102
21. Hasil Larutan Standar Gula Pereduksi Fermentasi Optimasi.....	102
22. Hasil Analisis Gula Pereduksi Optimasi	103
23. Hasil Larutan Standar Karbohidrat Total Sampel Awal	105
24. Hasil Analisis Karbohidrat Total Sampel Awal	105
25. Hasil Larutan Standar Karbohidrat Total Fermentasi Optimasi.....	106
26. Hasil Analisis Karbohidrat Total Hasil Optimasi.....	107
27. Tabel Pengolahan Sampel Kadar Air	108
28. Perhitungan Kadar Air Kulit Pisang.....	109
29. Perhitungan Kadar Air Kulit Jeruk.....	109
30. Perhitungan Kadar Air Kulit Nanas Pemalang.....	110
31. Perhitungan Kadar Air Kulit Nanas Subang	110
32. Perhitungan Kadar Abu Kulit Pisang	111
33. Tabel Perhitungan Kadar Abu Kulit Jeruk	111
34. Tabel Perhitungan Kadar Abu Kulit Nanas Pemalang	111
35. Perhitungan Kadar Abu Kulit Nanas Subang.....	111
36. Hasil Perhitungan <i>Total Plate Count</i> (TPC).....	113
37. Hasil Larutan Standar Asam Sitrat	113
38. Hasil Larutan Standar Gula Pereduksi Optimasi Solusi Lanjutan	116
39. Perhitungan Gula Pereduksi Optimasi Solusi Lanjutan	116
40. Hasil Larutan Standar Karbohidrat Total Optimasi Solusi Lanjutan	117
41. Hasil Larutan Standar Asam Sitrat Optimasi Solusi Lanjutan.....	117
42. Perhitungan Asam Sitrat Optimasi Solusi Lanjutan.....	118

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktural molekul asam sitrat	14
2. Reaksi Pembentukan Asam Sitrat	14
3. Mekanisme Daur Asam Sitrat (Siklus Krebs)	15
4. Kulit Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	16
5. Kulit Jeruk manis (<i>Citrus Sinensis</i>)	17
6. Kulit Pisang Kepok (<i>Musa Paradisiaca linn</i>)	17
7. Makroskopis <i>Aspergillus niger</i> yang tumbuh pada media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	20
8. Mikroskopis <i>Aspergillus niger</i> pada perbesaran 40x, 1. Konidia, 2. Konidiofor	20
9. Diagram Alir Pendahuluan Tahap I	34
10. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap II	38
11. Diagram Alir Penelitian Utama Tahap I	41
12. Diagram Alir Penelitian Utama Tahap Dua	44
13. Optimasi Fermentasi Asam Sitrat	62
14. Residual Plot Respon Gula Pereduksi	67
15. A. Grafik <i>Contour</i> B. <i>3D Surface</i> Respon Gula Pereduksi	68
16. Residual Plot Respon Karbohidrat Total	71
17. Grafik A. <i>Contour</i> dan B. Grafik <i>3D Surface</i> Respon Karbohidrat Total	72
18. <i>Residual Plot</i> Respon Kadar Asam Sitrat	74
19. Grafik A. <i>Contour</i> dan B. <i>3D Surface</i> Respon Asam Sitrat	75

20. Hasil Analisisa Gugus Fungsi menggunakan FT-IR	85
21. Kurva Larutan Standar Gula Pereduksi Sampel Hidrolisis Asam.....	100
22. Kurva Larutan Standar Gula Pereduksi Fermentasi Optimasi	103
23. Kurva Larutan Standar Karbohidrat Total Sampel Awal.....	105
24. Kurva Larutan Standar Karbohidrat Total Fermentasi Optimasi	107
25. Kurva Larutan Standar Asam Sitrat	113
26. Kurva Larutan Standar Gula Pereduksi Optimasi Solusi Lanjutan.....	116
27. Kurva Larutan Standar Karbohidrat Total Optimasi Solusi Lanjutan.....	117
28. Kurva Larutan Standar Asam Sitrat Optimasi Solusi Lanjutan	118
29. Dokumentasi Persiapan Sampel.....	119
30. Dokumentasi Hidrolisis Asam.....	121
31. Dokumentasi Analisis Gula Pereduksi	121
32. Dokumentasi Analisis Karbohidrat Total	121
33. Dokumentasi Analisis Kadar Air.....	121
34. Dokumentasi Analisis Kadar Abu	122
35. Dokumentasi Analisis Kadar Asam Sitrat.....	122
36. Dokumentasi Pembuatan Kultur <i>Aspergillus Niger</i>	122
37. Dokumentasi Pembuatan Inokulum	123
38. Dokumentasi Analisis <i>Total Plate Count</i> (TPC) 10%.....	123
39. Dokumentasi Analisis <i>Total Plate Count</i> (TPC) 20%.....	124
40. Dokumentasi Ekstraksi dan Pemurnian	124

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Analisis Pengujian Kadar Gula Pereduksi Metode DNS (Miller, G. L. 1959)	96
2. Prosedur Analisis Jumlah Mikroba (AOAC, 1995)	96
3. Prosedur Analisis Karbohidrat Total Metode Fenol Sulfat (Dubois et al. 1956)	97
4. Prosedur Analisis Pengujian Kadar Air Metode Gravimetri (AOAC, 2005)	98
5. Prosedur Analisis Kadar Abu menggunakan Metode Gravimetri (AOAC, 2005)	99
6. Prosedur Analisis Rendemen (AOAC, 2005)	99
7. Lampiran Hasil Analisis Gula Pereduksi	100
8. Hasil Analisis Karbohidrat Total	104
9. Perhitungan Kadar Air Sampel.....	108
10. Perhitungan Kadar Abu	110
11. Perhitungan Analisis <i>Total Plate Count</i> (TPC)	112
12. Perhitungan Kadar Asam Sitrat.....	113
13. Perhitungan Optimasi Solusi Lanjutan.....	116
14. Rendemen Asam Sitrat.....	118
15. Dokumentasi	118

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai: (1.1) Latar Belakang, (1.2) Identifikasi Masalah, (1.3) Tujuan Penelitian, (1.4) Manfaat Penelitian, (1.5) Kerangka Penelitian, (1.6) Hipotesis Penelitian, dan (1.7) Tempat dan Waktu Penelitian.

1.1 Latar Belakang

Asam sitrat merupakan salah satu produk komersial yang sangat penting di Indonesia (Sasmitoka et al. 2017). Sifat-sifatnya yang menguntungkan, seperti kelarutan tinggi, tidak beracun, serta rasa asam yang disukai banyak orang, membuat asam sitrat banyak digunakan dalam berbagai industri, terutama makanan dan minuman (Rekayasa et al., 2019). Permintaan global asam sitrat didominasi oleh industri makanan dan minuman sebesar 75%, industri farmasi sebesar 10%, dan 15% sisanya berasal dari industri lain (Zafar et al., 2021).

Seiring dengan meningkatnya permintaan, diperlukan bahan baku yang murah, berkelanjutan, dan mudah diperoleh. Buah-buahan merupakan sumber gula tinggi untuk asam sitrat (Zafar et al., 2021). Indonesia adalah salah satu negara penghasil buah-buahan komersial yang terkenal di kawasan Asia Tenggara. Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam yang melimpah, termasuk berbagai buah lokal yang kaya akan karbohidrat, yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk proses fermentasi. Beberapa buah lokal, seperti nanas, mangga, dan pisang, memiliki potensi yang belum sepenuhnya dieksplorasi dalam produksi asam sitrat. Oleh karena itu, pemanfaatan buah lokal tidak hanya dapat mengurangi biaya produksi, tetapi juga mendukung keberlanjutan dan pengembangan ekonomi lokal.

Produksi asam sitrat melalui fermentasi mikroba terus meningkat seiring dengan tingginya kebutuhan. Secara alami, asam sitrat merupakan produk dari siklus asam trikarboksilat (TCA) yang dihasilkan dalam metabolisme tanaman dan hewan dengan bantuan mikroorganisme (Ike et al., 2019).

Mikroorganisme yang telah digunakan dalam produksi asam sitrat termasuk seperti *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *Corynebacterium spp.*; fungi seperti *A. niger*, *A. awamori*, *A. foetidus*, *Penicillium restrictum*; dan yeast seperti *Candida lipolytica*, *C. intermedia* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Aspergillus niger* merupakan mikroorganisme yang banyak dipilih dalam produksi asam sitrat karena penanganannya yang mudah, menghasilkan lebih banyak asam sitrat per satuan waktu dan juga kemampuannya untuk memproduksi asam sitrat dari bahan yang murah (Kareem et al., 2010). *Aspergillus niger* sering digunakan mudah dimodifikasi dan dioptimalkan, pertumbuhannya cepat, menghasilkan lebih banyak asam sitrat, dapat difermentasi dari bahan baku murah, dan tidak menimbulkan toksin (racun) yang berbahaya. Kapang *Aspergillus niger* adalah mikroorganisme yang digunakan secara komersial untuk menghasilkan asam sitrat, asam glukonat, dan sejumlah enzim, seperti pektinase dan amilase. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan baik dengan konsentrasi gula yang tinggi pada pH 2,5–3,5. Di media fermentasi ekstraseluler yang memiliki kadar garam rendah dan mengandung gula sebagai sumber karbon, *Aspergillus niger* dapat mensintesis asam sitrat dalam jumlah yang cukup tinggi (Rekayasa et al., 2019). *Aspergillus niger* dapat mencegah terbentuknya produk yang tidak diinginkan seperti asam oksalat, asam isositrat dan asam glukogonat (Michael dkk, 2013).

Solid State Fermentation (SSF) atau fermentasi padat merupakan metode fermentasi yang paling menguntungkan dari pada *Submerged Fermentation* (SmF) atau fermentasi terendam. Hal ini dikarenakan bahwa metode fermentasi padat lebih ramah lingkungan, produktivitas fermentasi yang lebih tinggi, konsentrasi produk dan stabilitas yang lebih tinggi, penekanan katabolik yang lebih rendah, penanaman mikroorganisme khusus untuk substrat yang tidak larut dan juga aktifitas sterilitas yang lebih rendah karena aktivitas air yang digunakan sangat rendah. Oleh karena itu, metode fermentasi padat menggunakan strain murni seperti *Aspergillus niger* (fungi) banyak digunakan dalam proses produksi asam sitrat. Substrat yang digunakan umumnya terdiri dari produk sampingan nabati atau berasal dari limbah pertanian seperti *beet pulp*, dedak gandum, ampas tebu, sekam padi dan limbah kulit nanas. Substrat yang digunakan dalam *Solid State Fermentation* (SSF) merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, dan mengandung komponen penting seperti C dan N (Ningrum, 2015).

Dalam beberapa tahun terakhir, berbagai aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM) telah banyak digunakan oleh para peneliti dan ilmuwan di seluruh dunia. *Response Surface Methodology* (RSM) terutama didasarkan pada regresi, yang dikenal memiliki prinsip-prinsip regresi dan analisis variasi yang memungkinkan pengguna untuk meningkatkan, memperbaiki, dan mengoptimalkan proses atau produk yang sedang dipelajari. Informasi umum mengenai prinsip-prinsip teori *Response Surface Methodology* (RSM), strategi eksperimental, alat, dan komponen, serta aplikasi dan kelebihan dan kekurangannya, dijelaskan dalam matriks ini. Beberapa desain eksperimental

Response Surface Methodology (RSM) yang sering digunakan dibandingkan dengan karakteristik dan efisiensi pengujiannya membantu menyoroti pentingnya desain eksperimen (DOE) dalam optimasi *Response Surface Methodology* (RSM). Demonstrasi beberapa kasus optimasi menggunakan metodologi *response surface* dalam berbagai pertanyaan penelitian yang disajikan dalam penelitian ini juga memberikan pemahaman yang lebih akurat (Ningrum, 2015).

Penelitian-penelitian sebelumnya yang telah dilakukan untuk memproduksi asam sitrat dari berbagai karbon seperti fermentasi asam sitrat dari kulit pisang menggunakan *Aspergillus niger* dan *Candida tropicalis* menghasilkan *yield* 97,6 g/L menggunakan *Aspergillus niger* dan 113,6 g/L menggunakan *Candida tropicalis* (Odu et al., 2020), fermentasi asam sitrat dari *pomace* apel menggunakan *Aspergillus niger* NRRL 567 menghasilkan *yield* 158 g/kg (Akhter et al., 2022), fermentasi asam sitrat dari mikroba campuran menggunakan *pomace* apel menghasilkan *yield* 16,8 g/L (Alayat et al., 2019), fermentasi asam sitrat menggunakan kulit lemon segar dan kulit singkong kering menggunakan *Aspergillus niger* menghasilkan *yield* 34,4 g/kg untuk kulit lemon dan 32,7 g/kg untuk kulit singkong (Onyekwere Nwosu, n.d. 2019).

Penelitian ini akan berfokus pada optimasi menggunakan *Design Expert* metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan desain *Box Behnken Design* (BBD) dengan tiga faktor utama yang mempengaruhi efisiensi produksi asam sitrat, yaitu konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan konsentrasi inokulum. Pengoptimalan ketiga faktor ini diharapkan dapat meningkatkan *yield* asam sitrat yang dihasilkan, sekaligus memberikan solusi terhadap pemanfaatan limbah kulit

buah lokal. Melalui pendekatan *solid state fermentation* (SSF), penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimal fermentasi asam sitrat dari kulit buah lokal dengan variabel bebas konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan konsentrasi inokulum.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang penelitian, maka masalah yang dapat diidentifikasi adalah apakah kulit buah lokal yang kaya akan kandungan gula dan karbohidrat dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk produksi asam sitrat melalui metode fermentasi padat, dan bagaimana penerapan metode *Response Surface Method* (RSM) dengan desain *Box-Behnken Design* (BBD) untuk mengoptimalkan proses tersebut.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mempelajari optimasi faktor konsentrasi substrat, waktu inkubasi dan konsentrasi inokulum dalam proses pembuatan asam sitrat dari kulit buah lokal.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan asam sitrat dari kulit buah lokal dengan menggunakan metode *Response Surface Method* (RSM) dengan desain *Box-Behnken Design* (BBD) untuk menentukan kondisi optimal fermentasi asam sitrat dari kulit buah lokal dengan variabel bebas konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan konsentrasi inokulum.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah mengenai pemanfaatan kulit buah lokal sebagai salah satu bahan dalam pembuatan asam sitrat.
2. Dapat memberikan bahan pembanding bagi peneliti selanjutnya.
3. Dapat memberikan informasi kepada masyarakat tertentu tentang pemanfaatan kulit buah lokal sehingga dapat meningkatkan nilai guna dari limbah kulit buah serta dapat membantu membersihkan lingkungan, mengurangi polusi dan meningkatkan daur ulang limbah.

1.5 Kerangka Pemikiran

Meningkatnya populasi dunia telah menyebabkan peningkatan permintaan akan sumber pangan berprotein baru, tidak konvensional, dan alternatif. Di sisi lain, peningkatan produksi pangan juga berbanding lurus dengan meningkatnya jumlah limbah buah di seluruh dunia. Meskipun limbah buah dapat terurai secara hayati, pengelolaan yang tidak tepat dapat menimbulkan risiko kesehatan masyarakat dan masalah lingkungan. Oleh karena itu, upaya untuk mengubah limbah buah menjadi produk bernilai tambah menjadi penting guna mengurangi dampak negatif pembuangan limbah organik terhadap lingkungan. Berbagai produk seperti asam organik, protein sel tunggal (SCP), minyak sel tunggal, enzim, biowarna, perasa, ester, selulosa, pektin, antibiotik, biopestisida, serta pengatur pertumbuhan tanaman dapat dihasilkan dari limbah buah, sehingga berkontribusi terhadap produksi bioetanol, biogas, dan biohydrogen (Thiviya et al., 2022).

Salah satu produk bernilai tinggi yang dapat dihasilkan dari limbah buah adalah asam sitrat. Asam organik ini memiliki peran penting dalam berbagai industri, termasuk makanan, minuman, farmasi, kosmetik, pertanian, dan kimia. Dalam industri makanan dan minuman, asam sitrat digunakan sebagai agen pengawet, penambah cita rasa, dan penstabil pH. Sifatnya yang larut dengan baik, tidak beracun, serta mampu mencegah kehilangan warna dan aroma menjadikannya bahan tambahan pangan yang banyak diminati. Selain itu, asam sitrat juga berfungsi dalam mencegah oksidasi, mempertahankan turbiditas, serta mengatur reaksi pencoklatan dalam produk seperti kembang gula, selai, dan jelly (Sasmitaloka, K.S. 2017).

Potensi pemanfaatan limbah sebagai bahan baku industri tidak hanya terbatas pada produksi asam sitrat, tetapi juga meluas ke sektor bioetanol. Limbah kulit buah, yang kaya akan komponen lignoselulosa seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin, dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar fermentasi untuk menghasilkan bioetanol. Terdapat tiga kategori utama biomassa yang dapat digunakan dalam produksi bioetanol, yaitu biomassa yang mengandung gula, biomassa yang mengandung pati, dan biomassa lignoselulosa, di mana limbah kulit buah termasuk dalam kategori terakhir (Jahid et al., 2018). Dengan pemanfaatan yang tepat, limbah buah tidak hanya mengurangi dampak lingkungan tetapi juga memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan industri berbasis bioteknologi (Hu et al., 2011).

Dalam hal fermentasi, salah satu metode yang sering digunakan adalah *Solid State Fermentation* (SSF), di mana mikroorganisme tumbuh pada permukaan atau

dalam matriks padat tanpa adanya fase cair bebas. Efektivitas SSF sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor utama, seperti pemilihan substrat dan mikroorganisme yang sesuai, perawatan substrat sebelum fermentasi, ukuran partikel substrat yang menentukan luas permukaan dan ruang antar-partikel, serta kadar air dan aktivitas air (a_w) dalam substrat. Selain itu, faktor lingkungan seperti kelembaban relatif, jenis dan ukuran inokulum, kontrol suhu untuk menghindari akumulasi panas metabolik, serta atmosfer gas yang meliputi konsumsi oksigen dan laju evolusi karbon dioksida, juga berperan penting dalam menentukan keberhasilan fermentasi (Ponnuswamy et al., 2015). Dengan mempertimbangkan faktor-faktor ini, optimasi kondisi fermentasi dapat meningkatkan produksi enzim dan senyawa metabolit sekunder, termasuk asam sitrat dan bioetanol, yang dihasilkan dari limbah buah.

Sumber nitrogen, seperti garam amonium, serta ion logam seperti magnesium dan tembaga, diketahui memiliki pengaruh signifikan terhadap produksi asam sitrat. Kehadiran komponen-komponen ini dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme dan memengaruhi aktivitas enzimatis selama fermentasi, sehingga berdampak pada jumlah asam sitrat yang dihasilkan. Dengan demikian, pengaturan konsentrasi sumber nitrogen dan ion logam menjadi penting dalam upaya mengoptimalkan hasil produksi asam sitrat (Francisco et al. 2020). Jumlah dan komposisi karbon dan nitrogen menjadi salah satu faktor penting dalam proses pertumbuhan mikroorganisme. Dalam fermentasi, karbon merupakan penyusun utama pada polisakarida (sumber energi) yang akan sangat cepat

diasimilasi oleh mikroorganisme untuk menghasilkan *yield* yang diinginkan (Max et al. 2010).

Menurut Sasmitaloka, K.S. (2017) beberapa faktor, termasuk komponen makro dan *trace element*, memengaruhi pembentukan asam sitrat secara fermentasi dan memengaruhi komposisi medium. Faktor-faktor ini dapat memengaruhi proses ekskresi asam sitrat oleh mikroba. Gula pasir dan ekstrak tauge adalah sumber karbon yang digunakan, dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ adalah sumber nitrogen. Proses kultivasi cair untuk menghasilkan asam sitrat sangat umum di dunia bisnis. Hal ini disebabkan oleh beberapa keunggulan kultivasi cair, seperti rendemen yang tinggi, waktu fermentasi yang lebih singkat, biaya perawatan yang lebih rendah, dan risiko kontaminasi yang lebih kecil.

Produktivitas asam sitrat dipengaruhi oleh adanya mineral Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} . Didapat hasil bahwa produksi asam sitrat menggunakan *Aspergillus niger* dengan variasi penambahan konsentrasi trace metal, yaitu: Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} (Guilherme dkk., 2007), mempunyai laju produktivitas terus naik sampai proses fermentasi selama 10 hari, dan mengalami penurunan sampai proses fermentasi selama 20 hari.

Menurut Manfaati (2011), produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger* sangat dipengaruhi oleh komposisi media fermentasi. Konsentrasi gula yang ditambahkan untuk mencapai tingginya produksi asam sitrat yaitu 14-22% (w/v). Sumber nitrogen dalam bentuk ammonium ataupun urea tidak mempengaruhi produksi asam sitrat. Fe, Zn, dan Mn sangat terbatas maka konsentrasi fosfat tidak perlu dibatasi. Namun, Jika konsentrasi *trace element* tidak dapat dikendalikan maka konsentrasi fosfat harus rendah. Fosfat adalah makroelemen yang sangat

dibutuhkan dalam proses pertumbuhan sel untuk mensistensis senyawa nukleotida dan senyawa fosfor lainnya.

Penelitian yang dilakukan oleh Akhter et al., 2022 menunjukkan bahwa sejumlah parameter berperan penting dalam mempengaruhi produksi asam sitrat dan untuk mencapai nilai optimum. Salah satu temuan utama dari penelitian tersebut adalah jumlah substrat yang digunakan, yang optimal pada 15 gram substrat, dengan penggunaan 50 ml inokulum, dan waktu fermentasi selama 72 jam. Kondisi ini menghasilkan produksi asam sitrat yang maksimal, mengindikasikan pentingnya penyesuaian jumlah substrat dan inokulum untuk mencapai hasil fermentasi yang efisien.

Menurut Roukas & Kotzekidou (2020), limbah kulit delima yang tidak dikeringkan terbukti sebagai substrat yang lebih efektif untuk produksi asam sitrat dibandingkan dengan substrat lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi asam sitrat tertinggi yang diperoleh mencapai 306,8 g/kg kulit kering, yang mengindikasikan potensi besar dalam pemanfaatan limbah ini. Selain itu, penambahan metanol sebagai *inducer* turut meningkatkan hasil produksi asam sitrat, sehingga dapat menjadi strategi yang efektif dalam optimasi proses fermentasi. Lebih lanjut, penelitian ini menekankan bahwa penggunaan limbah pengolahan makanan, seperti kulit delima, merupakan pendekatan yang hemat biaya dan ramah lingkungan. Pendekatan ini tidak hanya berkontribusi pada upaya valorisasi limbah, tetapi juga membantu mengurangi biaya produksi dalam industri asam sitrat. Fermentasi dilakukan menggunakan *Aspergillus niger* dengan waktu inkubasi selama 8 hari, yang menghasilkan efisiensi tinggi dalam proses produksi.

Menurut Astrinia (2022) dengan penelitiannya yang berjudul “Produksi Asam Sitrat dari Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr) sebagai Diversifikasi Produk Agroindustri di Kabupaten Semarang” disimpulkan bahwa nanas dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan asam sitrat dengan metode *submerged fermentation* oleh *Aspergillus niger*. Asam sitrat yang dihasilkan dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi dan penambahan nutrisi. Semakin lama waktu fermentasi. Penambahan nutrisi yang berlebih dapat menurunkan produksi asam sitrat.

Penelitian yang dilakukan oleh Kalyani et al. (2017) menunjukkan bahwa resin penukar anion *Amberlite* IRA-402 efektif digunakan dalam pemisahan dan pemurnian asam sitrat dari larutan hasil fermentasi. Proses pemurnian dilakukan dengan metode kromatografi penukar ion, di mana pH optimal berada pada kisaran 5-6 dan elusi paling efektif dicapai dengan menggunakan larutan NaCl. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan resin penukar ion dapat meningkatkan efisiensi proses pemurnian asam sitrat dan berpotensi untuk diaplikasikan dalam skala industri.

Penelitian yang dilakukan oleh Odu et al., 2020 yang berjudul “Optimasi Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus Niger* dan *Candida Tropicalis* dengan Fermentasi Padat menggunakan Substrat Kulit Pisang” didapatkan dalam penelitiannya mengidentifikasi variabel-variabel kunci seperti pH, glukosa, seng, amonium klorida, dan metanol yang secara signifikan mempengaruhi hasil produksi asam sitrat. Kondisi optimal menghasilkan hasil maksimum 97,6 g/L untuk *Aspergillus niger* dan 113,6 g/L untuk *Candida tropicalis*, yang menunjukkan

potensi limbah pertanian untuk produksi asam sitrat yang hemat biaya dan menyoroti pentingnya mengoptimalkan kondisi fermentasi.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas, diduga akan didapatkan bahwa o fermentasi asam sitrat dengan konsentrasi substrat, waktu inkubasi dan konsentrasi inoculum yang optimal untuk menghasilkan asam sitrat dengan menggunakan *design expert* metode *Response Surface Method* (RSM) dengan rancangan *Box Behnken Design* (BBD).

1.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan November 2024 sampai dengan selesai, bertempat di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cistitu-Bandung, Jalan Sangkuriang, Dago, Kecamatan Coblong, Kota Bandung, Jawa Barat dan Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong-Bogor, Jalan Raya Bogor No.970, Nanggewer Mekar, kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, N. 2016. **Citric Acid Production from *Aspergillus niger* using Banana Peel**. <https://www.researchgate.net/publication/297120431>
- Aini, Nurul, and Triastuti Rahayu. 2015. “**Alternatif Media for Fungal Growth Using a Different Source of Carbohidrats.**” Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIO: 861–66.
- Andriansyah, I., Wijaya, H. N. M., & Purwaniati, P. 2021. **Analisis Adulteran pada Kopi Luwak dengan Metode Transform Infrared**. <https://doi.org/10.20473/jkr.v6i1.23397>
- AOAC. 2005. **Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists (18th ed.)**. AOAC, Inc.
- Adirestuti, P., Puspawati, R., Windyaswari, A. S., & Anugrah, R. 2015. **Biosintesis Asam Sitrat pada Kapang *Trichoderma viride* dalam Substrat Buah Nanas Limbah**. Di dalam: Prosiding Seminar Nasional Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Universitas Jenderal Achmad Yani 2015, Cimahi. hlm 118–124.
- Akhter, F., Aziz, S., & Jalal, F. 2022. **Effective Bioconversion of Locally obtained Apple Waste into Citric Acid using *Aspergillus Niger* (NRRL 567)**. Jurnal Kejuruteraan, 34(2), 317–323. [https://doi.org/10.17576/jkukm-2022-34\(2\)-15](https://doi.org/10.17576/jkukm-2022-34(2)-15).
- Alabduladhem, T. O., & Bordoni, B. 2022. **Physiology, Krebs cycle**. StatPearls. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538332/>
- Alayat, A. M., Sotoudehniakarani, F., & McDonald, A. G. 2019. **Cronicon EC Microbiology Fermentation of Apple Pomace Using Mixed Microbial Culture to Organic Acids**.
- Anderson, Mark J., dan Patrick J. Whitcomb. 2017. **RSM Simplified**. Boca Raton: CRC Press.
- Apelblat, Alexander. 2014. **Citric Acid**. Switzerland: Springer International Publishing.AK
- Arslan NP, Aydogan MN, Taskin M. 2016. **Citric acid production from partly deproteinized whey under non-sterile culture conditions using immobilized cells of lactose-positive and cold-adapted *Yarrowia lipolytica* B9**. J Biotechnol 231:32–39. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.05.033>

- Astrinia, D.A., 2022. **Produksi Asam Sitrat dari Ekstrak Buah Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) sebagai Diversifikasi Produk Agroindustri di Kabupaten Semarang**, 4, 58-69.
- Arziyah, D., Yusmita, L., dan Ariyetti, A. 2019. **Analisis mutu tahu dari beberapa produsen tahu di Kota Padang**. Jurnal Teknologi Pertanian Andalas Vol. 23, No.2, Hal. 143-148.
- Ayeni, A. O., Daramola, M. O., Omowonuola, O. T., Olanrewaju, Oyekunle, D. T., Sekoai, P. T. and Elehinafe, F. B. 2019. **Production of Citric Acid from the Fermentation of Pineapple Waste by *Aspergillus niger***. The Open Chemical Engineering Journal; 13: 88 – 96.
- Ba, D., & Boyaci, I. H. 2007. Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. Journal of Food Engineering, 78(3), 836–845. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.024>
- Bulal, I., Mandik, Y. I., Maryuni, A. E., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D., & Alam, P. 2021. **Produksi Gula Peredks dari Ampas Sagu (*Metroxylon sp.*) menggunakan Metode Hidrolisis Asam Selama 30 Menit** (Vol. 5, Issue 2).
- Erdiansyah, I., & Zaini, Q. 2023. **Identifikasi Karakteristik Agens Hayati *Aspergillus niger* dan Uji Daya Hambat terhadap Perkembangan Penyakit Bercak Daun pada Kacang Tanah**. *Agropross: National Conference Proceedings of Agriculture*, 296–306. <https://doi.org/10.25047/agropross.2023.483>
- Ernawati, E., Pratami, G., S, E., K, G., & A, D. 2021. **Karakterisasi Struktur Morfologi dan Viabilitas Polen dari Lima Kuktivar Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*)**. Buletin Kebun Raya, 24(1), 35-41.
- Fitri, A. S., Arinda, Y., & Fitriana, N. 2020. **Analisis Senyawa Kimia pada Karbohidrat Analysis of Chemical Compounds on Carbohydrates**. 17(1).
- Francisco, J. C. E., Rivera, W. L., & Vital, P. G. 2020. **Influences of carbohydrate, nitrogen, and phosphorus sources on the citric acid production by fungal endophyte *Aspergillus fumigatus* P316**. Preparative Biochemistry and Biotechnology 50(3): 292–301.
- Gaewchingduang, S dan Pengthemkeerati, P. 2010. **Enhancing Efficiency for Reducing Sugar from Cassava Bagasse by Pretreatment**. World Academy Science, Engineering and Technology.
- Ganda, k. A. 2014. **Penentuan Kadar Asam Sitrat Dalam Buah Jeruk Nipis Dibanding Dengan Jeruk Lemon Dengan Metode Titration AsidiAlkalimetri**. Dalam Karya Tulis Ilmiah Surabaya: Akademi Farmasi Surabaya.

- Gargul, K., Jarosz, P., & Małeck, S. 2018. **Leaching of Lead and Copper by Citric Acid from Direct to Blister Copper Flash Smelting Slag**. Preprints; 1 – 11.
- Haloho, M., & Handoko, Y. A. 2023. **The Effect of Sugar Concentration and Citric Acid on Physicochemical Characteristics of the Pumpkins Syrup (*Cucurbita moschata* Durh)**. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(1), 1-10. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2023.12.1.1>
- Histifarina, D., D. Musaddad, E. Murtiningsih. 2004. **Teknik Pengeringan dalam Oven untuk Irisan Wortel Kering Bermutu**. *J. Hortikultura*. 14(2): 107–112.
- Hu, J., Arantes, V., & Saddler, J. . 2011. **The Enhancement of Enzymatic Hydrolysis of Lignocellulosic Substrates by The Addition of Accessory Enzymes such as Xylanase: is it an Additive or Synergistic Effect?** *Biotechnology for Biofuels*, 4(1), 36.
- Ike, C. C., Onwuakor, C. E., Akwari, D. K., & Nwokorie, C. C. 2019. **Citric Acid production by *Aspergillus niger* using Banana and Plantain Peels**. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 8(2), 015–021. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.8.2.0111>.
- Imandi SB, Bandaru VVR, Somalanka SR, Bandaru SR, Garapati HR. 2008. **Application of statistical experimental designs for the optimization of medium constituents for the production of citric acid from pineapple waste**. *Bioresour Technol* 99:4445–4450. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.071>
- Indratiningsih, Wahyuni E, Ambar P dan Shanti A.S. 2013. **Identification of aspergillus species using morphological characteristic and the effect of temperature on the protease activity**. *International Journal of Biochemistry and Biotechnology* 2, no. 3 : 297-301.
- Iriawan N.S., & Astuti P. 2006. **Mengolah Data Statistik Dengan Mudah Menggunakan Minitab 14**. Yogyakarta : Andi.
- Irma. 2015. **“Optimasi Media Pertumbuhan *Aspergillus Niger* Dengan Menggunakan Tepung Singkong.”** 134(4): 7–11.
- Jahid, M., Gupta, A., & Sharma, D. K. 2018. **Production of Bioethanol from Fruit Wastes (Banana, Papaya, Pineapple and Mango Peels) Under Milder Conditions**. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 8(3), 1–11.
- Jannah, A. N., & Fuadi, A. M. 2022. **Effect of Hydrolysis Time and Sulfuric Acid Concentration on Reducing Sugar Content on Corn Cob Hydrolysis**. *CHEMICA: Jurnal Teknik Kimia*, 9(1), 10. <https://doi.org/10.26555/chemica.v9i1.20637>

- John, O. I., Dennis, O., & Hezekiah, A. 2019. **Two Stage Acid Hydrolysis of Corn Stalks for Production of Reducing Sugars**. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 12(8), 62–66. <https://doi.org/10.9790/5736-1208016266>
- Kalyani, K. A., Sharma, R. P., & Mahajani, S. M. 2017. **Ion exchange chromatographic separation and concentration of citric acid from aqueous solutions using Amberlite IRA 400 resin**. *Separation Science and Technology*, 52(3), 516–526. <https://doi.org/10.1080/01496395.2016.1248626>
- Kareem, S. O., Akpan, I., & Alebiowu, O. O. 2010. **Production of Citric Acid by *Aspergillus Niger* Using Pineapple Waste**. *Malaysian Journal of Microbiology*; 6(2): 161–165.
- Karthikeyan A, Sivakumar N. 2010. **Citric acid production by Koji fermentation using banana peel as a novel substrate**. *Bioresour Technol* 101:5552–5556. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.063>
- Katakojwala, R., Katakojwala, R., & Mohan, S. V. 2020. **Microcrystalline cellulose production from sugarcane bagasse: Sustainable process development and life cycle assessment**. *Journal of Cleaner Production*, v. 249, 119342--2020 v.249. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119342>
- Khadijah, Muchsin J.A., Umar S, Sasmita I., 2017. **Penentuan Total Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun samama (*Anthocephalus Macrophylus*) Asal Ternate, Maluku Utara**. *Jurnal Kimia Mulawarman* 15(1).
- Khootama, A., Putri, D. N., & Hermansyah, H. 2018. **Techno economic analysis of lipase enzyme production from *Aspergillus niger* using agro industrial waste by solid state fermentation**. *Energy Procedia*, 153, 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.10.054>
- Kusumaningrum, R., Supriadi, A. dan Hanggita, S.R.J. 2013. **Karakteristik dan mutu teh bunga lotus (*Nelumbo nucifera*)**. *Jurnal Fishtech*, Vol. 2, No. 1 Hal. 9-21.
- Liu, K. 2019. **Effects of sample size, dry ashing temperature and duration on determination of ash content in algae and other biomass**. *Algal Research*, Vol. 40, Hal. 1-5.
- Li, Z., Fei, B., & Jiang, Z. 2014. **Comparison of Dilute Organic and Sulfuric Acid Pretreatment for Enzymatic Hydrolysis of Bamboo**. *BioResources*, 9(3), 5652–5661. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.5652-5661>
- Manfaati, R. 2011. **Pengaruh Komposisi Media Fermentasi terhadap Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger***. *Jurnal Fluida*. 7(1): 23-27.

- Martin Sulistyani. 2018. Spektroskopi Fourier Transform Infra Red Metode Reflektansi (Atr-Ftir) Pada Optimasi Spektrum Vibrasi Vitamin <https://doi.org/https://doi.org/10.25077/temapela.1.2.39-43.2018>
- Max, B.; Salgado, J.M.; Rodriguez, N.; Cortés, S.; Converti, A.; Domínguez, J.M. 2010. **Biotechnological Production of Citric Acid**. Brazilian Journal of Microbiology. 41, 862-875.
- Michael., M. Dashen,., S. A. Ado., J. Ameh, T. Amapu., dan H. Zakari. 2013. **Screening and improvement of local isolates of *Aspergillus niger* for citric acid production**. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences. 6(1) : 105–111.
- Montgomery, D. C. 2012. **Design and analysis of experiments (8th ed.)**. John Wiley and Sons.
- Muhamad Mubiar Ramadana, Ingrie Laila, Mukhtar Ghulam Halim, Najmi Azalia Ubaedilah, & Ateng Supriyatna. 2024. **Pengaruh Konsentrasi dan Jenis Gula Terhadap Minuman Fermentasi Kulit Nanas (Tepache)**. *Algoritma : Jurnal Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, Kebumihan Dan Angkasa*, 3(1), 142–151. <https://doi.org/10.62383/algoritma.v3i1.36>
- Ningrum, E. F. 2015. **Pembuatan Bioetanol dari Mahkota Buah Nenas Varietas *Queen* dengan Menggunakan Mikroba *Saccharomyces cerevisiae***. Politeknik Negeri Sriwijaya. Palembang.
- Napitulu, P. M. 2008. **Pemisahan dan Penentuan Kadar Asam Sitrat Dari Buah Asam Jawa**. Dalam Skripsi Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Novitasari, R., 2018. **Studi Pembuatan Pikel Cabai Keriting Utuh (*Capsicum annum Var. Glabiusculum*)**. Jurnal Teknologi Pertanian, 7(1), 33-45.
- Novy, S.; Meriatna, H., **Kinetika Kulit Pisang Kepok Menjadi Glukosa menggunakan Katalis Asam Klorida**, Jurnal Teknologi Kimia Unimal 4, 2010, 51-65.
- Odu, N., Uzah, G., & Akani, N. 2020. **Optimization of Citric Acid Production by *Aspergillus niger* and *Candida tropicalis* for Solid State Fermentation Using Banana Peel Substrate**. *Journal of Life and Bio Sciences Research*, 1(02), 51–60. <https://doi.org/10.38094/jlbsr1214>
- Onyekwere Nwosu, F. (n.d.). 2019. **Production of Citric Acid from Lemon and Cassava Waste Peels**. In Nigerian Journal of Materials Science and Engineering (Vol. 6, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication/333359393>.
- Ponnuswamy, V., M. Kalaiyarasi., & Samuel, G. P. V. 2015. **Cow Dung is an Ideal Fermentation Medium for Amylase Production in Solid State Fermentation by *Bacillus cereus***. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 13, 111– 117.

- Prakash R dan Jha S.N. 2014. **Basic of The Genus *Aspergillus***. International journal of Research Botany 4, no. 2 : h. 26-30.
- Przybyl, A. K. 2013. **Natural Product and Phramateutical**. hal 68 - 69.
- Purbey, R., Bora, D., Bharadwaj, C., Chetia, P., Dutta, K., Maheswari R, U., Jarugala, J., Rotimi Sadiku, E., & Periyar Selvam, S. 2025. **Development of poly (lactic acid) nanocomposite films with kaolin/bentonite blended clay for packaging applications**. *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 30(3), 203–226. <https://doi.org/10.1080/1023666X.2024.2438724>
- Reji, M., & Kumar, R. 2022. **Response surface methodology (RSM): An overview to analyze multivariate data**. In *Indian Journal of Microbiology Research* (Vol. 9, Issue 4, pp. 241–248). IP Innovative Publication Pvt. Ltd. <https://doi.org/10.18231/j.ijmr.2022.042>
- Rekayasa, J., Agroindustri, M., Kusuma, G. A., Antara, N. S., & Suwariani, N. P. 2019. **Fermentasi Produksi Asam Sitrat menggunakan *Aspergillus Niger*** Abbas, N. 2016. **Citric Acid Production from *Aspergillus niger* using Banana Peel**. <https://www.researchgate.net/publication/297120431>
- Rekayasa, J., Agroindustri, M., Fitriani, R. O., Hartiati, A., & Suhendra, L. 2018. *Characteristics Of Liquid Sugar Made From Yam Gadung (*Dioscorea hispida* D.) In Variation Of Acid Types And Concentration* (Vol. 6, Issue 3).
- Roni, M. A. 2008. **Formulasi minuman herbal instan antioksidan dari campuran teh hijau (*Camellia sinensis*), pegagan (*Centella asiatica*), dan daun jeruk purut (*Cytus hystrix*)**, Skripsi, Institut Pertanian Bogor.
- Roukas, T., & Kotzekidou, P. 2020. **Pomegranate peel waste: a new substrate for citric acid production by *Aspergillus niger* in solid-state fermentation under non-aseptic conditions**. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(12), 13105–13113. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07928-9>
- Sari, F. P., Solihat, N. N., Anita, S. H., Fitria, F., & Hermiati, E. 2017. **Peningkatan Produksi Gula Pereduksi dari Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Praperlakuan Asam Organik pada Reaktor Bertekanan**. *REAKTOR*, 16(4), 199. <https://doi.org/10.14710/reaktor.16.4.199-206>
- Sasmitaloka, K.S. 2017. **Produksi Asam Sitrat oleh *Aspergillus niger* pada Kultivasi Media Cair**. *Jurnal Integrasi Proses*. 6 (3):116-122.
- Sastrahidayat, I. R. dan Djauhari, S. 2013. **Potensi Mikroba Sebagai Agens Hayati Bagi Pengendalian Penyakit Rebah Semai (*Sclerotium Rolfsii*) Pada Kedelai. Pertama**. ed. Edited by A. Mansur. Universitas Brawijaya Press (UB Press).

- Sudarmadji, D., B. Haryono, & Suhardi.1996. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**. Yogyakarta: Liberty.
- Surest, Azhary H dkk. 2013. **Fermentasi Buah Markisa Menjadi Asam Sitrat**. Jurnal Teknik Kimia Vol. 19, No. 3, halaman 15
- Syamsuriputra, A.A.; Setiadi, T.; Kushandayani, R.; Yunus, R.F., **Pengaruh Kadar Air Substrat dan Konsentrasi Dedak Padi pada Produksi Asam Sitrat dari Ampas Tapioka menggunakan Aspergillus Niger ITBCCL 74**. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia, Palembang, 19 – 20 Juli 2006.
- Thiviya, P., Gamage, A., Kapilan, R., Merah, O., & Madhujith, T. 2022. **Production of Single Cell Protein from Fruit Peel Wastes Using Palmyrah Toddy Yeast. Fermentation**, 8(8). <https://doi.org/10.3390/fermentation8080355>
- Utama, M. Z. 2015. **Budidaya Padi Pada Lahan Mar jinal Kiat Meningkatkan Produksi Padi**. ed. E. Risanto. Yogyakarta.
- Vardeman, S. B., & Jobe, J. M. 1998. *Statistical Quality Assurance Methods for Engineers*. New York: Wiley-Interscience.
- Wicaksono, D.R., **Pengaruh Konsentrasi Katalis H₂SO₄ Terhadap Reaksi Hidrolisis Polisakarida Dari Sampah Kota (Sayur dan Buah)**, Info-Teknik, 2008, vol. 9, 31-35.
- Winarno, F.G. 2004. **Kimia Pangan dan Gizi**. Jakarta: Gramedia.
- Xu, W., Liang, L., & Zhu, M. 2015. **Determination of sugars in molasses by HPLC following solid-phase extraction**. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 547–557. <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.837064>
- Zahra, N., Alim-un-Nisa, I., Kalim, M. K., Saeed, I., Ahmad, and S., Hina. 2017. **Nutritional Evaluation and Antioxidant Activity of Zest Obtained from Orange (*Citrus sinensis*) Peels**. *International Journal of Theoretical & Applied Sciences* 9(1): 07-10
- Zafar, M., Bano, H. S., & Anwar, Z. 2021. **Orange Peels Valorization For Citric Acid Production Through Single And Co-Culture Fermentation**. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 14(2), 261–266. <https://doi.org/10.54319/jjbs/140209>