

(Review Article)

Proses Produksi Asam Sitrat Melalui Fermentasi: Metode dan Strategi

Nanda Aurelia Salsabila S¹ and Cicilia Putri Meylani¹

¹ Program Studi Teknik Kimia, Universitas Singaperbangsa Karawang

* Correspondence author: nandaaurelia347@gmail.com

Article History:

Received: 3 Juni 2024

Revised: 1 November 2024

Accepted: 5 November 2024

Published: 15 November 2024

Keyword:

Aplikasi, Asam sitrat,
Fermentasi, Mikroba, Substrat



Abstract: Citric acid, a widely used organic acid, is predominantly produced through fermentation by microorganisms. This review article provides an overview of the citric acid production process, focusing on the methods and strategies employed in fermentation. It explores various fermentation strategies, including Liquid Surface Fermentation Cultures, Solid-State Fermentation Cultures, and Submerged Fermentation, and their optimization for citric acid production. The choice of fermentation strategy is influenced by factors such as desired yield, available resources, and environmental considerations. The article also emphasizes the importance of post-fermentation extraction and purification stages, particularly precipitation methods like calcium citrate precipitation, which effectively recover high-purity citric acid. Further purification steps, such as ion exchange and crystallization, are discussed as means to achieve the desired purity level. The review concludes by highlighting the diverse properties of citric acid, including its preservative, flavoring, and pH-regulating abilities, which make it essential in various consumer products. It also underscores the ongoing research efforts to optimize production and purification processes, ensuring a sustainable and efficient supply of citric acid for industrial applications.

1. PENDAHULUAN

Dalam dunia kimia, hanya sedikit senyawa yang memiliki keserbagunaan dan keberadaan yang luas seperti asam sitrat yang dapat ditemukan di berbagai tempat. Pertama kali dikristalisasi dari jus lemon dan diberi nama oleh Scheele di Swedia pada tahun 1784 [1], asam sitrat memiliki Struktur molekul yang terdiri dari tiga gugus fungsi asam karboksilat [2]. Secara kimiawi, asam sitrat adalah asam lemah [3], dengan mudah menyumbangkan proton dalam larutan tetapi tidak sekuat asam mineral seperti asam sulfat atau asam klorida. Karakteristik ini membuatnya menjadi asam yang ideal dalam berbagai produk makanan dan minuman, di mana ia memberikan rasa asam yang segar. Di luar perannya sebagai penguat rasa, asam sitrat berfungsi sebagai chelating agent [4], antioksidan serta antibakteri [2], dan bahkan sebagai dasar bagi inisiatif kimia yang berkelanjutan.

Selain itu, karena sifatnya sebagai monomer yang serbaguna, tidak beracun, mudah digunakan, dan ekonomis [5], asam sitrat memiliki peran yang signifikan dalam sektor farmasi. [2,3,6]. Kemampuannya untuk menjalani berbagai transformasi kimia, termasuk reaksi esterifikasi dan kondensasi [7], membuatnya tak tergantikan dalam formulasi dan produksi obat. Sebagai contoh, asam sitrat digunakan dalam produksi tablet efervesen, di mana ia bereaksi dengan natrium bikarbonat untuk melepaskan karbon dioksida, memberikan sensasi berbusa yang membantu dalam penguraian dan pengiriman obat [8]. Selain itu, ia digunakan sebagai pengatur pH dan agen buffering dalam formulasi farmasi [2], memastikan stabilitas dan efektivitas obat-obatan. Disamping aplikasi langsungnya dalam makanan, farmasi, asam sitrat memainkan peran penting dalam berbagai proses industri, mulai dari pengolahan air hingga pembersihan logam dan deskalasi [9]. Kemampuannya untuk melarutkan endapan mineral dan karat membuatnya menjadi agen pembersih yang efektif untuk peralatan rumah tangga, boiler, dan peralatan industri. Asam sitrat juga digunakan dalam produksi deterjen, di mana ia meningkatkan kelarutan surfaktan dan membantu dalam penghilangan noda air keras dan kerak sabun [10].

Penggunaannya yang semakin luas, terutama dalam berbagai proses industri, menunjukkan betapa pentingnya memproduksi asam sitrat dalam jumlah yang lebih besar. Sebagai respons terhadap permintaan yang meningkat, beberapa metode telah dikembangkan untuk meningkatkan produksi asam sitrat. Fermentasi asam sitrat oleh mikroba memiliki signifikansi besar dalam berbagai industri, menjadi pilar dalam produksi asam sitrat

secara industri. Kemampuan mikroorganisme dalam mengubah bahan baku yang ekonomis seperti gula atau molase menjadi asam sitrat berkualitas tinggi, membuka jalan bagi produksi yang lebih efisien dan memberikan akses yang lebih mudah terhadap senyawa yang bermanfaat ini. Di antara beragam mikroorganisme yang mampu melakukan fermentasi asam sitrat, spesies seperti *Aspergillus niger* dan *Candida spp.* menonjol karena efisiensinya dan penggunaan yang luas dalam produksi komersial. Proses fermentasi biasanya terjadi di bawah kondisi terkontrol, memanfaatkan parameter-parameter yang dioptimalkan seperti suhu, pH, dan ketersediaan nutrisi untuk memaksimalkan hasil dan produktivitas.

2. METODE

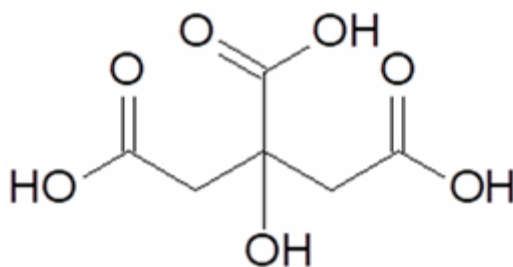
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah kualitatif dan deskriptif kuantitatif berdasarkan analisis pustaka. Penelitian dilakukan dengan metode studi literatur sistematis, yang melibatkan analisis berbagai literatur ilmiah yang terkait dengan topik produksi asam sitrat melalui fermentasi. Dalam proses pemilihan literatur, beberapa kriteria inklusi dan eksklusi diterapkan untuk memastikan kualitas dan relevansi artikel yang ditinjau. Artikel tersebut harus berfokus pada fermentasi produk asam dan mengatasi masalah metodologi, parameter proses, atau optimasi produk.

Analisis data melibatkan pengumpulan informasi penting dari setiap artikel, termasuk metode fermentasi yang digunakan, jenis mikroorganisme dan substrat, kondisi operasi terbaik, hasil produksi, dan faktor-faktor yang mempengaruhi proses. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan mengelompokkan informasi berdasarkan subtopik, membandingkan berbagai metode dan hasil, mengidentifikasi tren dan perkembangan terkini, serta menganalisis kekurangan dan kompleksitas dari masing-masing metode yang dibahas. Hasil ulasan disajikan secara metodis dengan gambaran umum tentang proses produksi asam sitrat, metode fermentasi yang umum digunakan, parameter kritis dan optimal, perkembangan baru dalam teknologi produksi, serta tantangan dan prospek ke depan.

3. HASIL DAN BEMBAHASAN

3.1 Sifat Fisik dan Sifat Kimia

Asam sitrat adalah asam organik yang dapat ditemukan secara alami dari berbagai macam buah-buahan dan sayur-sayuran. Contoh buah-buahan yang mengandung asam sitrat yaitu, jeruk, lemon, jeruk nipis, dan pomelo. Asam sitrat, dengan rumus kimia $C_6H_8O_7$, juga dikenal dengan beberapa nama lain, seperti asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat, asam hidrositrikarbalat, asam 3-karboksilat-3-hidroksipentanadioat, dan asam 3-karboksilat-3-hidroksipentana-1,5-dioat (Gambar 1) [11].



Gambar 1. Struktur kimia asam sitrat

Asam sitrat tidak berbau dan berbentuk bubuk kristal berwarna putih pada suhu kamar. Selain itu asam sitrat juga terdapat dalam dua bentuk lain yaitu bentuk anhidrat dan monohidrat. Asam sitrat yang pertama dikristalisasi dari air panas sedangkan yang kedua dari air dingin [14]. Kedua bentuk tersebut mempunyai massa molar yang berbeda yaitu masing-masing 192,123 g/mol dan 210,14 g/mol. Massa jenis asam sitrat kedua bentuk juga berbeda, anhidrat mempunyai massa jenis 1,665 g/cm³, sedangkan massa jenis monohidrat adalah 1,542 g/cm³. Titik leleh asam sitrat adalah 156 °C. Pada suhu 175 °C, asam sitrat mulai terurai melalui hilangnya karbon dioksida dan air [12]. Asam sitrat anhidrat larut dengan baik dalam air, etanol, dan eter. Sedangkan asam sitrat monohidrat larut dalam air tetapi hanya sedikit larut dalam eter. Kelarutannya meningkat dengan meningkatnya suhu 20,55–60,05 °C [13]. Produksi asam organik terbesar yaitu melalui fermentasi [14].

Tabel 1. Sifat Fisik dan Sifat Kimia Asam Sitrat

Sifat	Karakteristik	Referensi
Massa molar	Anhidrat: 192,123 g/mol Monohidrat: 210,14 g/mol	[12]
Tampilan	tidak berbau dan berbentuk bubuk kristal tidak berwarna	[14]
Titik lebur	Anhidrat: 153°C Monohidrat: 100°C	[6]
Titik didih	156 °C, Terurai menjadi air dan CO ₂ > 175 °C	[12]
Kelarutan	larut dengan baik dalam air, etanol, dan eter Kelarutannya meningkat dengan meningkatnya suhu 20,55–60,05 °C	[13]
Densitas	Anhidrat: 1,665 g/cm ³ Monohidrat: 1,542 g/cm ³	[12]

3.2 Sumber-sumber mikroorganisme

3.2.1 Bakteri

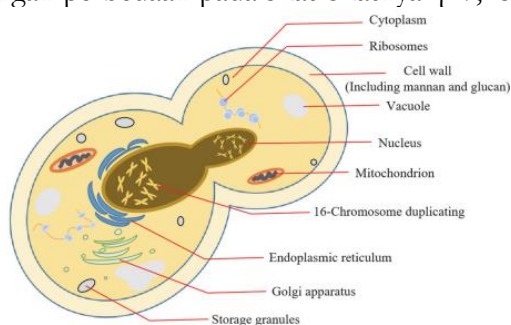
Bakteri memiliki peran penting dalam menghasilkan asam sitrat yang merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam industri seperti makanan, minuman, farmasi. Adapun faktor yang mempengaruhi proses produksi asam sitrat meliputi kadar air optimal, suhu inkubasi, pH awal substrat, waktu inkubasi dan lainnya. Namun sejumlah besar mikroorganisme seperti bakteri tidak semuanya mampu memberikan hasil yang komersial dalam menghasilkan sitrat. Asam sitrat yang dihasilkan membutuhkan kondisi tertentu dengan akumulasi yang cukup besar [15].

3.2.2 Fungi

Fungi atau jamur merupakan alternatif dan sumber karbon dalam peningkatan produksi sitrat. Fungi memasuki tahap fermentasi oleh substrat yang dipengaruhi oleh pH, suhu, dan umur jamur. Di mana perubahan umur jamur dan kinetika pH mempengaruhi efisiensi proses teknik produksi [3]. Sehingga pH harus di optimalkan dengan baik sesuai dengan mikroorganisme dan substrat. [15]. Penggunaan ragi dapat menghasilkan asam isositik dalam jumlah besar merupakan produk sampingan yang tidak diinginkan sehingga diperlukan strain mutan yang memiliki aktivitas aconitase rendah. [16].

3.2.3 Yeast

Penggunaan yeast atau ragi merupakan sumber karbon yang memiliki peran dalam mempercepat produksi asam sitrat karena komponen utamanya berupa bahan dinding sel dan isi sel. Penggunaan ragi bergantung pada jenis dan karakteristik sumber limbah ragi dalam pembuatannya. Komposisi bahan dalam ekstrak ragi yang bervariasi dapat menghasilkan karakteristik yang berbeda. Pengaruh lainnya yaitu proses metode pembuatannya seperti autolisis, plasmolisis, lisis enzimatis, dan metode fisik. Proses menghasilkan ragi yang berbeda melalui proses produksi dan bahan baku ditandai dengan perbedaan pada sifat-sifatnya. [17,18].



Gambar 2. Diagram skema struktur Yeast [17]

3.3 Jenis-jenis Substrat

Produksi asam sitrat umumnya menggunakan bahan mentah yang murah seperti tebu dan molase bit, hidrokarbon yang digunakan sebagai substrat. Bahan lainnya berupa molase bit, gliserol, pati jagung, pati, minyak zaitun dan lainnya yang dapat digunakan sebagai substrat [15]. Penggunaan substrat mampu mengurangi biaya produksi dan mampu mengurangi waktu fermentasi seperti sukrosa, glukosa, molase, beberapa substrat dapat membuat ramah lingkungan tergantung pada kemurnian substrat yang digunakan. Molase memiliki kandungan gula yang tinggi sebesar 40-55% dalam offruktosa, glukosa dan sukrosa tergantung variasinya. Variasi molase disebabkan pada perbedaan varietas molase seperti budidaya, penyimpanan, dan jenis. Molase pada jenis tebu menunjukkan hasil yang lebih rendah dari bit yang dapat disebabkan oleh kandungan logam sisa seperti kalsium, besi, magnesium [20,21].

3.4 Jenis-jenis Strategi Fermentasi

Proses produksi asam sitrat telah banyak menggunakan proses fermentasi. Proses fermentasi tergolong ekonomis, sederhana dan prosesnya yang tidak rumit, tidak berpengaruh pada listrik dan membutuhkan sedikit energi. Sebagian besar proses fermentasi memiliki tahapan yang sama dengan berbagai fermentor yang digunakan seperti persiapan dan inokulasi, fermentasi, dan perolehan produk seperti asam sitrat.

3.4.1 *Liquid Surface Fermentation Cultures*

Produksi asam sitrat dengan *Liquid Surface Fermentation Cultures* merupakan fermentasi yang di mana pertumbuhan mikroorganismenya tumbuh di permukaan fermentasi, biasanya dilakukan dalam kultur permukaan cair yang biasanya digunakan dalam skala kecil dan menengah. [22]. Proses fermentasi batch ini memerlukan waktu 8-12 hari, proses ini tergolong lama dan memerlukan banyak tenaga kerja serta sensitif terhadap perubahan komposisi media. Namun, sensitivitas fermentasi menunjukkan hasil lebih rendah terhadap gangguan dan kerusakan aerasi, konsumsi energi listrik, biaya peralatan, dan hasil produktivitas yang lebih tinggi, menunjukkan bahwa fermentasi permukaan lebih unggul daripada fermentasi terendam [23].

Fermentasi dapat digunakan karbohidrat atau bahan mentah seperti singkong, jagung yang memasuki tahap pengolahan seperti digiling dan dicampur dengan air. Penambahan enzim diperlukan pada perlakuan ini seperti amilase, selulase, laktase dan bahan tambahan nutrisi. Karbohidrat yang sesuai dapat diubah menjadi asam sitrat dengan karbonat yang digunakan dalam bentuk cair. Mikroorganismenya juga berperan dalam prosesnya dengan dibiakkan dari karbohidrat tertentu dan mengubahnya menjadi produk. [16].

3.4.2 *Solid-State Fermentation Cultures*

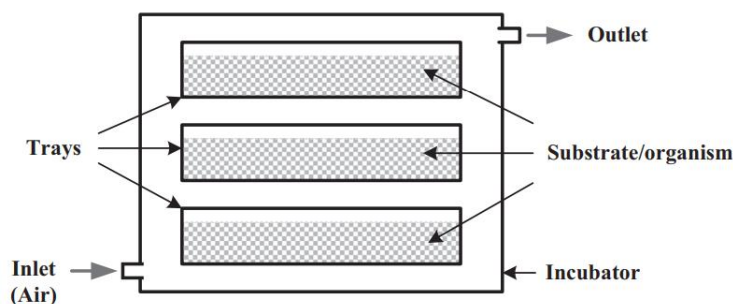
Fermentasi padat (SSF) telah didefinisikan sebagai proses biologis yang terjadi tanpa atau hampir tanpa keberadaan air bebas; meskipun demikian, substrat harus memiliki kadar kelembaban yang memadai untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolik mikroorganismenya [24]. Bahan padat bertindak sebagai pendukung fisik dan sumber nutrisi bagi mikroorganismenya. Di bawah kondisi optimal, prosesnya harus selesai dalam 4 hari [25]. Keuntungan utama dari fermentasi solid-state adalah hasil yang unggul dan kemampuan untuk memanfaatkan residu agroindustri yang murah dan tersedia secara luas sebagai substrat bio-produksi, membuatnya lebih ramah lingkungan dibandingkan SF [26]. SSF membutuhkan lebih sedikit air dan memiliki biaya pengoperasian yang lebih rendah, dan tidak memerlukan peralatan yang rumit.

Pada skala laboratorium, perangkat SSF terdiri dari media seperti cawan petri atau labu. Pada skala industri, berbagai jenis bioreaktor digunakan, jenis yang paling sederhana adalah bioreaktor tray ([Gambar 3](#)), di mana material padat ditempatkan di nampan yang terbuat dari logam atau plastik. Tray ditempatkan di dalam ruang di mana udara yang beredar mengatur suhu dan kelembaban. Jenis kedua dari budidaya dapat terjadi di dalam bioreaktor *packed-bed* ([Gambar 4](#)). Jenis ketiga adalah bioreaktor *stirred drum*, yang digunakan dalam SSF yang membutuhkan pencampuran lambat, berkelanjutan [27].

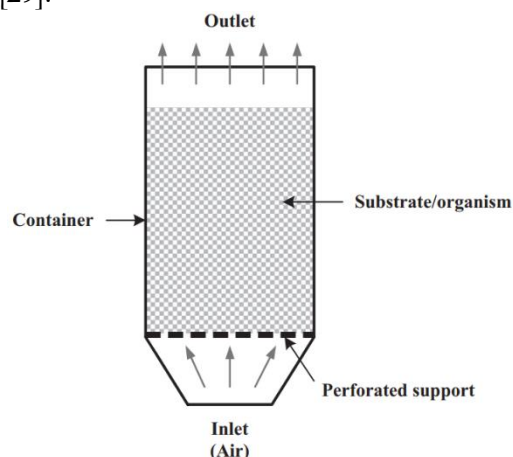
3.4.3 *Submerged Fermentation*

Submerged Fermentation (SF) dikembangkan setelah *Liquid Surface Fermentation Cultures*, dengan perkembangan ini fermentasi membutuhkan instalasi yang lebih canggih, biaya energi yang lebih tinggi dan pengendalian yang ketat sehingga proses ini biasa dilakukan dalam skala besar. [15]. Namun dapat meningkatkan produktivitas dan hasil yang lebih tinggi. *Submerged Fermentation* kurang sensitif terhadap perubahan komposisi, sehingga kontrol substrat yang dihasilkan lebih luas dan yang lebih baik. [24]. Fermentasi dapat dilakukan secara

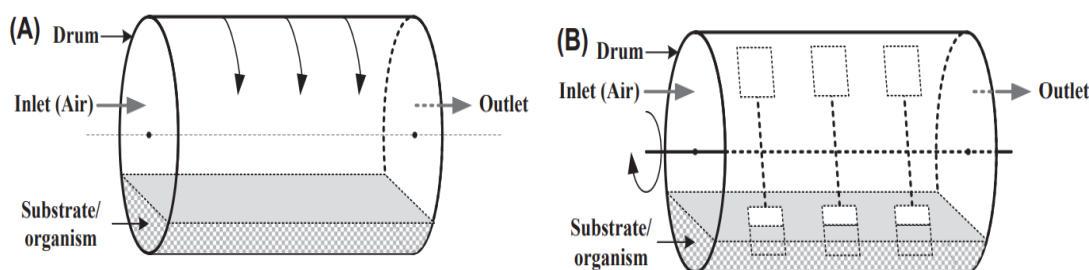
kontinyu, *batch* dan *fed-batch* namun *batch* lebih sering digunakan dan dilakukan pada tangki bioreaktor yang terbuat dari baja tahan korosi dengan waktu yang dibutuhkan 5-12 hari tergantung pada kondisi fermentasi. [22,28]. Parameter seperti suhu, pH, suplai oksigen, laju pengadukan, dan ketersediaan nutrisi dapat membantu meningkatkan produksi asam sitrat sehingga harus dioptimalkan. [29].



Gambar 5. Skema bioreaktor tray [27]



Gambar 4. Skema bioreaktor packed-bed



Gambar 3. Skema (A) Rotaring drum dan (B) Stirred-drum

3.5 Strategi Ekstraksi dan Purifikasi

Setelah fermentasi, ekstraksi dan pemurnian asam sitrat adalah proses kritis dalam aplikasi industri di mana asam sitrat digunakan sebagai aditif, pengawet, atau pengasam dalam berbagai produk mulai dari makanan dan minuman hingga farmasi dan kosmetik. Beberapa strategi digunakan untuk mengisolasi dan memurnikan asam sitrat dari kaldu fermentasi, yang umumnya mengandung campuran asam sitrat, asam organik lainnya, dan biomassa mikroba. Beberapa metode pemurnian asam sitrat setelah fermentasi yaitu, meliputi:

3.5.1 Precipitation

Presipitasi adalah metode klasik untuk pemulihan asam organik dari kaldu, yang telah digunakan untuk isolasi asam sitrat secara industri sejak abad terakhir. Presipitasi dapat memulihkan asam organik dari sejumlah besar kaldu fermentasi secara efisien, yang membuatnya lebih kompetitif, terutama dalam pemurnian awal [30]. Dalam produksi industri asam sitrat (CA), pemurnian kimia produk umumnya melibatkan pengendapan CA dengan garam kalsium (CaCO_3) atau Ca(OH)_2 pada suhu 50°C selama 20 menit, dan asam sitrat dapat dipulihkan dengan hasil hampir 100% [30], menghasilkan sitrat kalsium. Endapan tersebut kemudian dicuci dengan air suling panas untuk menghilangkan gula dan sisa media. Kemudian, endapan tersebut diperlakukan dengan H_2SO_4 , menghasilkan CA dan CaSO_4 (gypsum) sebagai produk sampingan. Karena CaSO_4 tidak larut pada suhu ruangan, ia dapat dipisahkan dengan mudah dengan penyaringan [31]. Keuntungan utama dari presipitasi adalah sangat selektif, tidak memiliki transisi fase, dan memiliki kemurnian produk yang tinggi [30].

3.5.2 Ekstraksi pelarut

Ekstraksi pelarut adalah teknologi pemisahan yang sangat efisien. Ini juga membutuhkan sedikit energi, yang membuatnya menjadi proses pemulihan tradisional. Selain itu, itu dapat digunakan dalam teknologi penghapusan produk in situ [30]. Pemurnian dan kristalisasi asam sitrat dari kaldu fermentasi dapat dilakukan secara alternatif

dengan metode ekstraksi pelarut di mana pelarut yang tidak larut atau kurang larut seperti Alanine 336 dalam heptana atau xilena, campuran butil asetat dan N, N-disubstituted alkylamide, alkohol alifatik, keton, eter, atau ester dan amina tidak larut dalam air atau campuran dua atau lebih amina [32]. Keuntungan dari metode ekstraksi pelarut adalah untuk mencegah penggunaan kapur dan H_2SO_4 sehingga produksi gipsum dapat dihindari. Dalam proses ini, asam sitrat dipulihkan dari larutan akuosos dengan mencuci ekstrak dengan air, kemudian dikristalkan dan dikonsentrasikan [32].

3.5.3 Membrane Separation

Teknologi membran telah digunakan dalam proses pemulihan asam organik karena keberdayaannya dan selektivitasnya. Sebuah membran pada dasarnya adalah penghalang buatan atau alami yang tipis, yang memungkinkan transportasi massa selektif dari zat terlarut atau pelarut melintasi penghalang untuk mencapai tujuan pemisahan fisik dan pengkayaan. Kemurnian tinggi dan hasil tinggi dapat diperoleh melalui pemisahan membran. Filtrasi membran utama yang digunakan untuk pemisahan asam organik termasuk mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, nanofiltrasi (NF), osmosis balik, pervaporasi, dan elektrodialisis [30].

Derajat ekstraksi asam asetat lebih dari 95% dan rasio pengkayaan sebesar 3,0 [32]. Meskipun metode pemisahan membran dapat mewujudkan pemisahan yang sangat efisien, proses ini membutuhkan energi yang tinggi, dan membran tersebut mahal. Selain itu, efisiensi pemisahan membran dapat menurun dengan peningkatan konsentrasi asam organik. Pencemaran membran adalah hambatan lain, yang menyebabkan pembentukan garam produk samping selama proses pertukaran ion [30].

3.6 Penerapan Asam Sitrat dalam Industri

Penerapan asam sitrat dalam industri digunakan sebagai bahan tambahan seperti dalam makanan dan minuman untuk memberikan rasa asam yang segar, hingga sebagai zat pengawet dan pengelola keasaman dalam produk-produk kosmetik dan perawatan tubuh. Selain itu, asam sitrat juga digunakan dalam proses pembuatan farmasi, sebagai pelarut, penstabil, dan pengatur pH dalam berbagai produk obat. Dengan sifatnya yang aman, efektif, dan multifungsi. Asam sitrat memiliki peranan penting dalam industri yang terdapat pada [table 2](#).

Tabel 2. Aplikasi Asam Sitrat di Industri

Aplikasi	Industri	Penggunaan	Referensi
Pertanian	Pupuk	- Meningkatkan fosfor sehingga mampu menghilangkan timbal untuk tanah terkontaminasi - Membentuknya kandungan Fe, Cu, Mg dan Zn	[33]
	Pakan hewan	- Sebagai pelengkap pakan dengan kandungan nutrisi mineral - Dapat meningkatkan penambah rasa pada hewan - Mengatur pH lambung dengan meningkatkan efektivitas pakan ternak	[34]
Kosmetik	Deterjen, Kosmetik	- Dapat mengatur pH sebagai penstabil pada produk kosmetik dan deterjen - Terdapat zat penyangga dan zat pengkelat dalam mencegah perubahan warna dan adanya antioksidan	[6], [2]
Farmasi	Obat-obatan	- Dapat memberikan rasa asam untuk menutupi rasa obat	[33]

Makanan	Produk Susu	<ul style="list-style-type: none"> - Dapat digunakan sebagai kombinasi karbonat, zat penyedap, antikoagulan - Sebagai pengemulsi dalam menstabilkan fase air dan minyak pada produk keju - Dapat membantu mencegah pembentukan krim dalam menstabilkan kasein 	[34]
	Produk Minuman	<ul style="list-style-type: none"> - Sebagai pengatur keasaman pada minuman berkarbonasi dan non-karbonasi - Sebagai pengatur pH dan zat penyangga 	
	Produk Daging	<ul style="list-style-type: none"> - Mampu mempertahankan warna alami dan mencegah perubahan warna - Sebagai antibakteri, antioksidan dan sinergis - Digunakan untuk mencegah koagulasi atau pembekuan darah 	

4. KESIMPULAN

Asam sitrat atau *citric acid* merupakan asam organik serbaguna dengan aplikasi luas di berbagai industri. *Citric acid* diproduksi melalui proses fermentasi menggunakan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi, yang mengubah karbohidrat menjadi asam sitrat. Proses fermentasi dapat dioptimalkan dengan mengontrol faktor-faktor seperti suhu, pH, dan ketersediaan nutrisi untuk memaksimalkan hasil dan produktivitas. Asam sitrat banyak digunakan pada industri, seperti dalam makanan dan minuman karena rasanya yang asam, sebagai zat pengkelat, anti-oksidan, dan zat antibakteri, serta dalam industri farmasi sebagai formulasi dan bantuan produksi. *Citric acid* juga berperan dalam pengolahan air, pembersihan logam, dan produksi deterjen. Pemilihan proses fermentasi, substrat, dan strain mikroorganisme dapat berdampak signifikan terhadap efisiensi dan keberlanjutan produksi asam sitrat.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Scheele, C. W. (1784). Anmärkning om Citron-Saft, samt sätt att crystallisera den samma. Note on lemon juice, as well as ways to crystallize the same). Kongliga Vetenskaps Academiens Nya Handlingar, 5, 105-109.
- [2] Nangare, S., Vispute, Y., Tade, R., Dugam, S., & Patil, P. (2021). Pharmaceutical applications of citric acid. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 7, 1-23.
- [3] A. Amato, A. Becci, and F. Beolchini, "Citric acid bioproduction: the technological innovation change," Critical Reviews in Biotechnology, vol. 40, no. 2. Taylor and Francis Ltd, pp. 199–212, Feb. 17, 2020.
- [4] Al-Qahtani, K. M. A. (2017). Extraction heavy metals from contaminated, water using chelating agents. Oriental journal of Chemistry, 33(4), 1698.
- [5] Salihu, R., Abd Razak, S. I., Zawawi, N. A., Kadir, M. R. A., Ismail, N. I., Jusoh, N., ... & Nayan, N. H. M. (2021). Citric acid: A green cross-linker of biomaterials for biomedical applications. European Polymer Journal, 146, 110271.
- [6] Lambros, M., Tran, T., Fei, Q., & Nicolaou, M. (2022). Citric acid: A multifunctional pharmaceutical excipient. Pharmaceutics, 14(5), 972.
- [7] Goel, A., Zhao, Z., Sørensen, D., Zhou, J., & Zhang, F. (2016). Esterification of pseudoephedrine hydrochloride by citric acid in a solid dose pharmaceutical preparation. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 129, 410-418.

- [8] Ipci, K., Öktemer, T., Birdane, L., Altintoprak, N., Muluk, N. B., Passali, D., ... & Cingi, C. (2016). Effervescent tablets: a safe and practical delivery system for drug administration. *ENT updates*, 6(1), 46. DOI:10.2399/jmu.2016001009
- [9] Obot, I. B., Meroufel, A., Onyeachu, I. B., Alenazi, A., & Sorour, A. A. (2019). Corrosion inhibitors for acid cleaning of desalination heat exchangers: Progress, challenges and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 111760. Obot, I. B., Meroufel, A., Onyeachu, I. B., Alenazi, A., & Sorour, A. A. (2019). Corrosion inhibitors for acid cleaning of desalination heat exchangers: Progress, challenges and future perspectives. *Journal of Molecular Liquids*, 296, 111760.
- [10] Behera, B. C., Mishra, R., & Mohapatra, S. (2021). Microbial citric acid: Production, properties, application, and future perspectives. *Food Frontiers*, 2(1), 62-76.
- [11] He, Z.; Umemura, K. Utilization of citric acid in wood bonding. In *Bio-Based Wood Adhesives: Preparation, Characterization, and Testing*; He, Z., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2017; pp. 221–238.
- [12] Apelblat, A. (Ed.) *Citric acid chemistry*. In *Citric Acid*; Springer: Cham, Switzerland, 2014; pp. 213–266.
- [13] Oliveira, M. L. N., Malagoni, R. A., & Franco Jr, M. R. (2013). Solubility of citric acid in water, ethanol, n-propanol and in mixtures of ethanol+ water. *Fluid Phase Equilibria*, 352, 110-113.
- [14] Behera, B. C. (2020). Citric acid from *Aspergillus niger*: a comprehensive overview. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(6), 727-749.
- [15] L. Vandenberghe, C. Rodrigues, and A. Pandey, “New Perspectives for Citric Acid Production and Application.” [Online]. Available: <https://www.researchgate.net/publication/228338285>
- [16] Show, P. L., Oladele, K. O., Siew, Q. Y., Aziz Zakry, F. A., Lan, J. C. W., & Ling, T. C. (2015). Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Frontiers in life science*, 8(3), 271-283.
- [17] Tao, Z., Yuan, H., Liu, M., Liu, Q., Zhang, S., Liu, H., ... & Wang, T. (2023). Yeast extract: characteristics, production, applications and future perspectives. *Journal of microbiology and biotechnology*, 33(2), 151.
- [18] Jacob, F. F., Striegel, L., Rychlik, M., Hutzler, M., & Methner, F. J. (2019). Spent yeast from brewing processes: a biodiverse starting material for yeast extract production. *Fermentation*, 5(2), 51.
- [19] Grewal, H. S., & Kalra, K. L. (1995). Fungal production of citric acid. *Biotechnology advances*, 13(2), 209-234.
- [20] Li, C., Xu, D., Zhao, M., Sun, L., & Wang, Y. (2014). Production optimization, purification, and characterization of a novel acid protease from a fusant by *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*. *European Food Research and Technology*, 238, 905-917.
- [21] Chen, H., He, X., Geng, H., & Liu, H. (2014). Physiological characterization of ATP-citrate lyase in *Aspergillus niger*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41(4), 721-731.
- [22] Singh Dhillon, G., Kaur Brar, S., Verma, M., & Tyagi, R. D. (2011). Recent advances in citric acid bio-production and recovery. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 505-529.
- [23] Darouneh, E., Alavi, A., Vosoughi, M., Arjmand, M., Seifkordi, A., & Rajabi, R. (2009). Citric acid production: Surface culture versus submerged culture. *African Journal of Microbiology Research*, 3(9), 541-545.
- [24] Costa, J. A., Treichel, H., Kumar, V., & Pandey, A. (2018). Advances in solid-state fermentation. In *Current developments in biotechnology and bioengineering* (pp. 1-17). Elsevier.
- [25] Drysdale, C. R., & McKay, A. M. (1995). Citric acid production by *Aspergillus niger* in surface culture on inulin. *Letters in applied microbiology*, 20(4), 252-254.
- [26] Lende, S. V., Karemore, H., & Umekar, M. J. (2021). Review on production of citric acid by fermentation technology. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 17(3), 085-093.
- [27] Ge, X., Vasco-Correa, J., & Li, Y. (2017). Solid-state fermentation bioreactors and fundamentals. In *Current developments in biotechnology and bioengineering* (pp. 381-402). Elsevier.
- [28] Książek, E. (2023). *Citric Acid: Properties, Microbial Production, and Applications in Industries*. *Molecules*, 29(1), 22.
- [29] Gaikwad, V., Panghal, A., Jadhav, S., Sharma, P., Bagal, A., Jadhav, A., & Chhikara, N. (2018). Designing of Fermenter and its utilization in food industries.
- [30] Li, Q. Z., Jiang, X. L., Feng, X. J., Wang, J. M., Sun, C., Zhang, H. B., ... & Liu, H. Z. (2016). Recovery processes of organic acids from fermentation broths in the biomass-based industry. *Journal of microbiology and biotechnology*, 26(1), 1-8.
- [31] Cavallo, E., Charreau, H., Cerrutti, P., & Foresti, M. L. (2017). *Yarrowia lipolytica*: a model yeast for citric acid production. *FEMS yeast research*, 17(8), fox084.

- [32] Lee, S. C., & Kim, H. C. (2011). Batch and continuous separation of acetic acid from succinic acid in a feed solution with high concentrations of carboxylic acids by emulsion liquid membranes. *Journal of membrane science*, 367(1-2), 190-196.
- [33] Ali, S. R., Anwar, Z., Irshad, M., Mukhtar, S., & Warraich, N. T. (2016). Bio-synthesis of citric acid from single and co-culture-based fermentation technology using agro-wastes. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 57-62.
- [34] Fiume, M. M., Heldreth, B. A., Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., ... & Andersen, F. A. (2014). Safety assessment of citric acid, inorganic citrate salts, and alkyl citrate esters as used in cosmetics. *International journal of toxicology*, 33(2_suppl), 16S-46S.