

Seasoning Berprobiotik : Inovasi *Fungsional Savory* dari Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) Terfermentasi oleh *Rhizopus* P119 melalui Mikrofiltrasi

Oleh :
Sri Moerniati

RINGKASAN

Perolehan produk pangan probiotik sebagai flavor gurih (*savory*) memungkinkan konsumsi probiotik secara inovatif. Seasoning berprobiotik adalah pekatan/konsentrat hasil pemurnian biomassa probiotik yang mengandung Bakteri Asam Laktat (BAL) dari campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan metabolitnya dengan substrat berupa kacang merah terfermentasi oleh kapang *Rhizopus*-PL19 sebagai kaldu nabati. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu proses pemurnian optimal biomassa probiotik melalui membran mikrofiltrasi 0.2 μm dengan berbagai parameter processing terhadap komposisi dan jumlah BAL terbaik yang mendukung peranannya sebagai ingredient probiotik dengan rasa dasar gurih (*umami*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu proses, maka pemisahan makin sempurna untuk untuk BAL, padatan kering, protein terlarut, lemak, garam tetapi kurang sempurna untuk total asam, gula pereduksi, total protein dan N-Amino, serta meningkatkan kandungan total solid, total asam, lemak, total protein namun menurunkan N-Amino dan fluks permeat. Sedangkan garam dan jumlah bakteri asam laktat cenderung tetap dalam retentat. Retentat mempunyai komposisi yang lebih baik dari pada permeat. Berdasarkan jumlah BAL dan efisiensi proses, waktu pemekatan 180 menit adalah optimal dalam menghasilkan konsentrat sebagai probiotik *savory*.

Kata-kata Kunci : *Konsentrat, probiotik, savory, kaldu kacang merah (Phaseolus vulgaris L.), mikrofiltrasi.*

I. PENDAHULUAN

Produk pangan fermentasi sebagai sumber protein nabati dan probiotik berpotensi bahan pangan fungsional dan penguat cita rasa (*flavor*) sekaligus. Perpaduan antara pangan fermentasi sebagai flavor *savory* dan probiotik memungkinkan dikonsumsi probiotik dengan cara yang berbeda. Kacang-kacangan terfermentasi oleh *Rhizopus* sp. yang dikenal sebagai *kaldu nabati* merupakan produk seasoning serupa *miso* di Jepang, *chiang* di China atau *tauco* di Indonesia (Susilowati, dkk., 2006). Pemilihan atas kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) disebabkan oleh kurangnya pemanfaatan kacang-kacangan lokal dalam industri pangan

sedangkan penggunaan kapang *Rhizopus* - PL19 dilakukan sebagai pengembangan kapang *Rhizopus* sp. yang biasanya digunakan sebagai inokulum dalam pembuatan tempe. Kapang *Rhizopus*-PL19 yang merupakan campuran dari berbagai starter *Rhizopus* sp. diisolasi dari Playen, Yogyakarta (Budiwati, dkk., 2002) berpotensi sebagai sumber enzim protease dalam mendegradasi protein kacang-kacangan melalui fermentasi garam. Asam-asam amino yang terbentuk, terutama L-Glutamat dalam fermentasi garam ini secara alami akan menghasilkan cita rasa gurih (*umami*).

Fermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan menggunakan campuran *Lactobacillus*

bulgaricus dan *Streptococcus thermophilus* pada kacang merah terfermentasi akan menghasilkan senyawa-senyawa organik. Komponen-komponen organik ini akan menghasilkan cita rasa (flavor) unik berupa kombinasi rasa nano-nano, yaitu gurih, asam dan manis yang menyerupai mayonnaise atau produk saus gurih berbasis susu lainnya (Susilowati, dkk., 2007). Flavor unik itu sering dikenal sebagai flavor savory. Oleh karena bahan pangan itu mengandung BAL, maka dia dapat berperan sebagai pangan fungsional berbasis probiotik. Produk seasoning berprobiotik ini dapat diaplikasikan dengan memfortifikasikannya pada aneka saus (sambal, tomat) atau sebagai bahan coating terhadap snack setelah melalui proses instanisasi pada suhu rendah. Aplikasinya dalam saus gurih-asam ini dapat menggantikan rasa asam yang biasanya diperoleh dari penambahan asam cuka (vinegar). Penggunaan ingredient probiotik ini akan memberi nilai tambah pada produk karena sifat probiotik dan fungsionalnya.

Pada perkembangannya, biomassa berprobiotik hasil fermentasi BAL dapat dimurnikan untuk memperoleh konsentrat yang lebih pekat dengan jumlah BAL dan komposisi fraksi gurih lebih optimal melalui membran mikrofiltrasi. Sistem ini dipilih karena beberapa kelebihan, di antaranya : mampu dioperasikan pada temperatur ruang dan rendah, tidak terjadi perubahan fasa, kinerja tidak dipengaruhi densitas, tidak menggunakan zat kimiawi, energi pengoperasian rendah dan proses dapat dilakukan secara kontinu (Zeman dan Zydny, 1996). Berdasarkan kisaran ukuran partikel-partikel yang secara efektif dipisahkan, mikrofiltrasi umumnya diterapkan pada suspensi yang mengandung koloidal atau partikel-partikel halus dengan kisaran ukuran 0,02 - 10 μm . Penggunaan membran mikrofiltrasi berukuran pori-pori 0,2 μm memungkinkan pemisahan fraksi gurih dan bakteri BAL dari komponen lain.

Kondisi operasi mikrofiltrasi dipengaruhi oleh jenis bahan, tekanan, waktu dan laju alir fluida. Kacang merah terfermentasi mengandung komponen-komponen dengan ukuran partikel dan berat molekul yang

beragam sehingga dengan waktu pemisahan berbeda memungkinkan diperolehnya tingkat kemurnian optimal. Dengan ukuran sel *L. bulgaricus* pada kisaran 0,5 - 1,2 x 1 - 10 μm dan *S. thermophilus* dengan diameter lebih kecil daripada 1 μm [(Batt, dkk., 1999); (Tamime dan Marshall, 1997)] dimungkinkan akan tertahan sebagai retentat sedangkan komponen dengan ukuran partikel lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran akan lolos sebagai permeat. Dengan umpan berupa biomassa kaldu kacang hijau berprobiotik dengan protein kacang hijau yang dominan dan kandungan padatan kering yang cukup tinggi, memungkinkan terjadinya penumpukan partikel padatan disekitar membran (fouling) selama proses berlangsung. Kinerja membran mikrofiltrasi, terutama dipengaruhi oleh tekanan, laju alir dan waktu proses. Waktu pemurnian yang semakin lama disertai frekuensi motor pompa dan tekanan operasi yang sesuai akan diperoleh laju alir bahan yang optimal sehingga kemungkinan terjadinya fouling lebih minimal. Hal ini akan memungkinkan dihasilkan produk probiotik dengan komposisi dan jumlah BAL total optimal.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh waktu proses pemurnian terhadap hasil konsentrat seasoning berprobiotik (kaldu kacang).

II. METODOLOGI

2.1 Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa *kaldu nabati* dari kacang merah terfermentasi oleh *Rhizopus* sp-PL19 selama 18 minggu pada suhu 30°C dan inokulum BAL yang mengandung isolat campuran *L. bulgaricus* dan *S. Thermophilus* dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI; Sukrosa dan susu skim; bahan kimia untuk analisis komposisi, media MRS Agar untuk analisis mikrobiologi dan membran Mikrofiltrasi 0,2 μm (GR-61-PP). Peralatan proses yang digunakan berupa sistem fermentasi BAL skala laboratorium, modul membran Lab Stak M-20 DSS (Denmark) (Anonim, 2005), peralatan untuk analisis komposisi kimia dan mikrobiologi dari produk.

2.2 Rancangan Penelitian

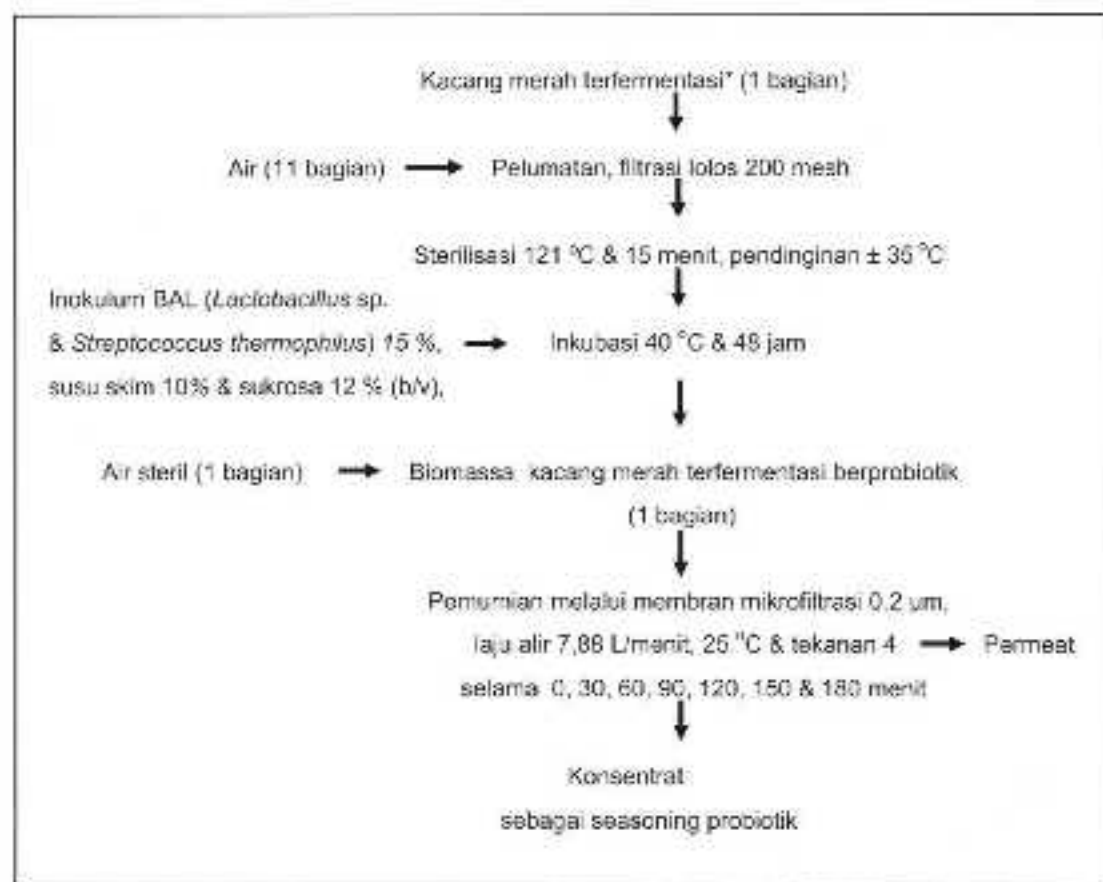
Penelitian ini dilakukan dengan variasi waktu pemurnian antara nol sampai 180 menit pada tekanan proses 4 Bar dengan kecepatan motor pompa tetap (20 Hz) menggunakan membran mikrofiltrasi 0.2 μm , suhu ruang. Umpan berupa biomassa kacang merah terfermentasi oleh *Rhizopus* sp PL 19 sebagai *kaldu nabati* yang selanjutnya difermentasi oleh inokulum BAL dari isolat campuran *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. Analisis dilakukan terhadap bahan baku dan hasil pemurnian meliputi padatan kering (Gravimetri), Total asam (Titrasi) (AOAC, 1995), N-Amino (Cu) (Pope dan Stevens, 1989) dan jumlah

mikroba (Fardiaz, 1989). Pengamatan kinerja membran mikrofiltrasi berupa (Gutman, 1987).

2.3 Tahapan Proses

a. Proses pembuatan biomassa kaldu kacang merah sebagai probiotik ingredient.

Satu bagian kacang merah terfermentasi oleh *Rhizopus* sp-PL 19 dilumatkan dengan 11 bagian air. Suspensi ini difiltrasi menggunakan High Separator Frequency, lolos 200 mesh. Filtrat selanjutnya difermentasi dengan inokulum BAL yang mengandung *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 15 % (v/v) yang diperkaya dengan susu skim 10% (b/v)



Keterangan : *Diperoleh dari fermentasi garam menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-PL19 dengan campuran 56 % kacang merah, 23 % inokulum & 21% garam pada 30°C selama 18 minggu.

Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan dan pemurnian kacang merah terfermentasi sebagai seasoning berprobiotik melalui membran mikrofiltrasi 0.2 μm .

dan sukrosa 12 % (b/v). Campuran ini kemudian diinkubasi pada suhu 40 oC selama 48 jam. Biomasa yang diperoleh selanjutnya diencerkan dengan rasio 1 bagian biomasa dengan 1 bagian air steril. Bahan ini merupakan umpan (feed) dalam proses pemurnian melalui membran mikrofiltrasi 0.2 µm.

b. Pemurnian biomassa kaldu kacang merah berprobiotik melalui membran mikrofiltrasi.

Fluida umpan berupa suspensi biomassa berprobiotik sebanyak 5 L pada tanki umpan berkapasitas 9 L dipompakan melalui rangkaian tabung saringan 200 mikron, sistem penukar panas/dingin dan modul membran serta keluar melalui selang pengeluaran sebagai retentat. Kemudian retentat disirkulasikan ke tanki umpan secara terus menerus hingga sistem perpipaan benar-benar terisi dengan fluida. Selama proses pengembalian fluida umpan ke tanki umpan, air pendingin pada chiller bertemperatur 23 - 24 oC dialirkan ke sistem penukar panas/dingin selama beberapa saat hingga temperatur fluida dalam tanki tetap stabil. Setelah kondisi proses stabil, frekuensi motor pompa ditetapkan pada 20 Hz (laju alir ~ 7,88 L/menit) dan temperatur kamar (25 oC) kemudian tekanan operasi diatur dengan mengatur katup retentat sampai alat penunjuk

umpan dan retentat masing-masing menunjukkan 4 bar. Fluida yang lolos dan berpenetrasi melalui membran berupa permeat, keluar melalui pembuluh permeat, ditampung ditempat tersendiri dan dicatat selama 180 menit dengan interval pengamatan seliap 30 menit.

Diagram alir proses pembuatan konsentrat kacang merah berprobiotik melalui pemurnian menggunakan membran mikrofiltrasi ditunjukkan pada Gambar 1.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik biomassa kacang merah berprobiotik

Biomassa berprobiotik berupa suspensi cukup kental (kadar padatan kering 13,56596 %), putih kekuningan, creamy dengan rasa gurih, asam dan sedikit manis. Biomassa ini merupakan hasil fermentasi BAL. Fermentasi menghasilkan biomassa yang cukup creamy karena menggunakan inokulum BAL (15 %) sebagai sumber agensia probiotik, gula (12 %) sebagai sumber karbohidrat dan susu skim (10 %) sebagai sumber laktosa. Hasil fermentasi BAL menghasilkan biomassa probiotik dengan kandungan fraksi gurih sebagai N-Amino, protein terlarut dan total protein masing-masing sebesar 4,9 mg/mL, 0,59 mg/mL dan 3,5286 % (berat kering).

Tabel 1. Karakteristik suspensi kaldu kacang merah berprobiotik sebagai umpan (feed) dalam proses pemisahan konsentrat melalui membran mikrofiltrasi pada laju alir 7,88 L/menit, suhu ruang dan tekanan 4 bar dari 1 bagian biomassa dan 1 bagian air.

Total LAB, cfu/mL.	1,295 x 10 ¹¹
N-amino, mg/mL.	4,90
Padatan kering, %.	13,56596
Total Acid, %.	3,1422
Protein terlarut, mg/mL.	0,590
Gula pereduksi, mg/mL.	30,250
Garam, %.	2,7825
Total Protein, % berat kering.	3,5286
Lemak, %.	0,723
pH	2,6

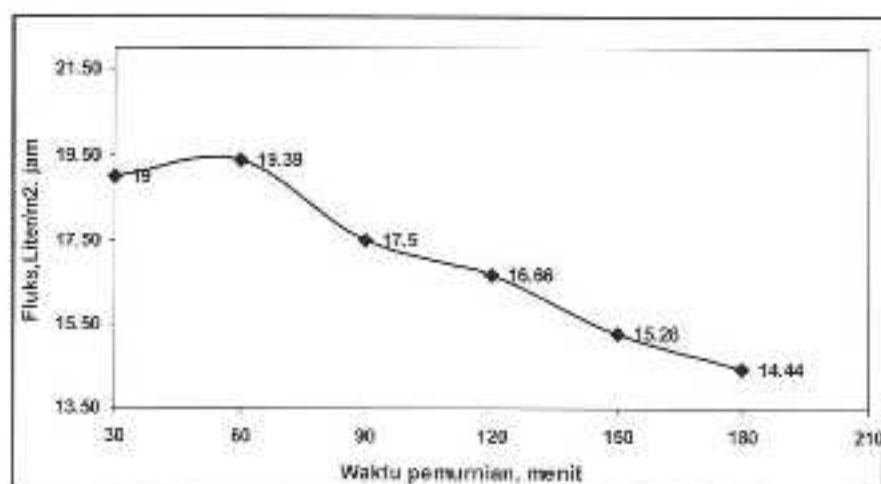
Komposisi ini cukup tinggi sebagai sumber flavor savory untuk bahan seasoning dengan diskripsi rasa gurih, asam manis dan sedikit creammy dan intensitas rasa yang disukai (Susilowati, 2007). Pada keseluruhan produk ini menghasilkan citarasa umami (Susilowati, dkk., 2006). Karakteristik biomassa kacang merah terfermentasi berprobiotik keseluruhan ditunjukkan pada Tabel 1.

3.2 Pengaruh Kondisi Proses Pemurnian Kacang Merah Terfermentasi Berprobiotik terhadap Fluks Permeat.

Proses pemisahan komponen suatu bahan melalui membran didasarkan atas perbedaan kemampuan membran semipermeabel untuk membedakan ukuran partikel atau zat yang dilewatkan. Membran berperan sebagai *barrier* selektif yang akan menolak komponen yang tidak dikehendaki dalam suatu aliran bahan (Mulder, 1996).

satuan waktu (t) atau $J = 1/(A \times t)$ (Cheryan, 1992). Proses pemisahan konsentrat kacang merah berprobiotik melalui membran mikrofiltrasi $0,2 \mu\text{m}$ pada frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu kamar dan tekanan 4 bar selama waktu yang bervariasi dari 30 sampai 180 menit, menghasilkan fluks yang semakin menurun, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.

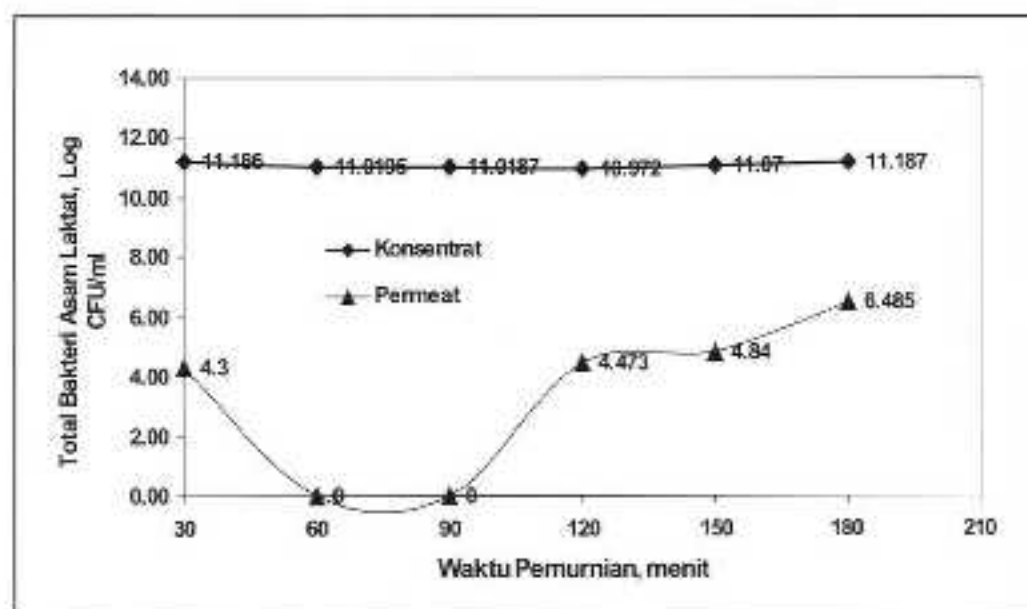
Umpan yang mengandung padatan kering cukup tinggi (13,56 %) merupakan akumulasi dari komponen-komponen terlarut dan tidak terlarut serta berpengaruh terhadap laju alir bahan sehingga dengan waktu proses yang semakin lama akan menghasilkan laju alir bahan berbeda. Semakin lama waktu proses pemisahan akan menghasilkan laju alir permeat melewati membran (fluks) yang semakin menurun, meskipun sempat terjadi kenaikan fluks permeat antara proses 30 - 60 menit (19 - 19,39 L/m².jam). Diduga hal ini disebabkan oleh gaya dorong yang cukup besar (4 bar)



Gambar 2. Hubungan antara waktu pemurnian dan fluks pada *kaldu* kacang merah berprobiotik menggunakan membran mikrofiltrasi $0,2 \mu\text{m}$ pada frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

Aliran yang mengandung komponen-komponen yang lolos dari membran disebut *permeate* sedangkan aliran yang mengandung komponen-komponen tertahan disebut *retentate*. Dalam proses ini kinerja membran ditentukan oleh fluks, yaitu sejumlah permeat yang lewat melalui satuan luas membran per satuan waktu. Fluks (J) merupakan jumlah filtrat yang keluar (l) per satuan luas (A) per

pada kecepatan motor pompa 20 Hz sehingga akumulasi masing-masing komponen bahan belum terjadi atau berinteraksi untuk saling melekat membentuk lapisan gel (*cake*). Pada waktu-waktu selanjutnya (60 - 180 menit) kemungkinan sudah mulai terjadi penumpukkan bahan pada permukaan membran (*fouling*) yang semakin lama akan terbentuk lapisan gel (*cake*) sehingga terjadi



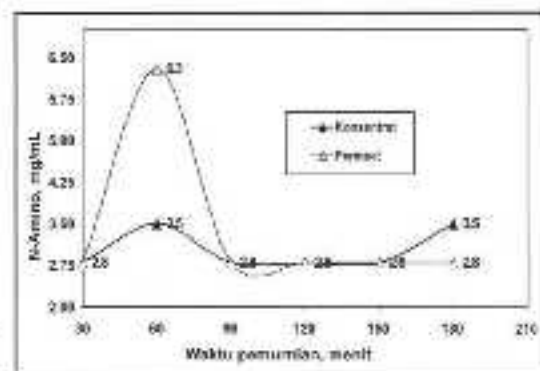
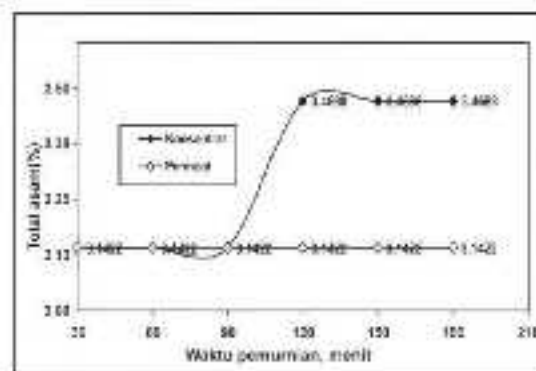
Gambar 3. Hubungan antara waktu pemurnian dan Total Bakteri Asam Laktat dalam konsentrat dan permeat sebagai hasil pemurnian *ka'du* kacang merah berprobiotik melalui membran mikrofiltrasi 0,2 μ m pada frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

polarisasi konsentrasi. Keadaan ini menyebabkan semakin sedikitnya permeat yang lolos melalui pori-pori membran. Penurunan tajam yang terjadi antara 60 - 180 menit juga disebabkan oleh terjadinya *drag force* karena sebagian lapisan gel pada waktu pemurnian sebelumnya mampu dihalau oleh partikel-partikel solut. Interaksi antara bahan dan membran juga kemungkinan berpengaruh terhadap laju alir umpan yang pada akhirnya mempengaruhi laju alir permeat. Tekanan berpengaruh terhadap laju alir permeat sedangkan frekuensi motor pompa berpengaruh terhadap laju alir bahan. Umumnya laju alir berkorelasi positif terhadap nilai fluks permeat sehingga semakin tinggi laju alir bahan maka nilai fluks permeat akan semakin tinggi (Paulson, 1995). Pada akhir pemurnian (180 menit) nilai fluks permeat sebesar 14,44 L/m²jam. Penurunan fluks ini dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi bahan serta jenis membran yang digunakan dan kondisi operasi terutama tekanan, suhu dan laju alir.

3.3 Pengaruh Kondisi Proses Pemisahan terhadap Jumlah BAL

Pertakuan mikrofiltrasi pada tekanan 4 bar dan waktu proses yang semakin lama menghasilkan konsentrat dengan total BAL cenderung konstan sedangkan total BAL dalam permeat semakin meningkat. Jumlah BAL pada konsentrat lebih tinggi daripada total BAL dalam permeat, seperti ditunjukkan pada Gambar 3. Sistem mikrofiltrasi mampu menahan BAL dalam retentat, sehingga menghasilkan total BAL lebih tinggi dalam retentat daripada permeatnya untuk seluruh perlakuan waktu.

Pertakuan dengan frekuensi 20 Hz dan tekanan 4 bar menunjukkan waktu proses optimal pada 180 menit (11,187 CFU log cycle/mL) pada retentat sedangkan pada permeat jumlah BAL juga cenderung meningkat sampai akhir proses. Efisiensi sistem mikrofiltrasi tampak pada waktu proses 60 dan 90 menit dimana tidak ditemukan lagi BAL dalam permeat. Dengan kata lain, membran mampu menahan seluruh BAL atau efisiensi proses pemisahan adalah sempurna (Anonim, 1999). Hal ini terjadi karena ukuran



(a)

(b)

Gambar 4. Hubungan antara waktu pemurnian dengan total asam (a) dan N-Amino (b) pada pemurnian kaldu kacang merah berprobiotik menggunakan membran mikrofiltrasi 0,2 μm dengan frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

Streptococcus thermophilus dan *Lactobacillus bulgaricus* lebih besar daripada pori-pori membran mikrofiltrasi (0,2 μm). Proses pemurnian ini memungkinkan terjadinya lisis sel BAL karena mengalami kerusakan dinding sel dan tidak aktifnya enzim intraseluler oleh interaksi faktor proses (tekanan, kecepatan laju alir, suhu dan waktu proses) (Ghayeni dkk., 1999). Dengan semakin lamanya waktu pemurnian tampak semakin banyak BAL yang lolos pada permeat dimana pada 120, 150 dan 180 menit masing-masing 4,473, 4,84 dan 6,485 CFU log cycle/mL. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan terjadinya gaya dorong fluida pada membran cukup tinggi, yang memungkinkan BAL lolos ke dalam permeat. Hal ini dapat disebabkan oleh terjadinya perubahan bentuk sel oleh tekanan tinggi sehingga BAL dapat melalui penghalang membran bahkan jika ukuran sel lebih kecil daripada pori-pori membran (Ghayeni dkk., 1999). Perbedaan jumlah BAL dalam retentat dan permeat juga kemungkinan disebabkan oleh faktor intern BAL misalnya terjadinya perubahan viabilitas BAL.

3.4 Pengaruh Kondisi Proses Mikrofiltrasi terhadap Komposisi Retentat dan Permeat Kacang Merah Berprobiotik.

a. Total acid dan N-amino

Asam laktat merupakan metabolit BAL dalam proses fermentasi yang dihasilkan dengan memanfaatkan karbohidrat sebagai

nutrisinya melalui proses Tagatsoka dan Embden Mayer Parnas (EMP). Asam laktat merupakan suatu parameter terjadinya proses metabolisme laktosa homofermentatif (Yukuguchi dan Okonogi, 1992) yang merupakan komponen bioaktif produk ini. Waktu pemisahan yang semakin lama menghasilkan total asam dalam konsentrat yang semakin tinggi, sementara keberadaan total asam dalam permeat cenderung tetap, seperti ditunjukkan dalam Gambar 4 a.

Secara keseluruhan konsentrasi total asam terfiltrasi dalam konsentrat adalah konstan sampai waktu proses 90 menit (3,14 %), selanjutnya meningkat sampai waktu proses 180 menit (3,47 %), sedangkan total asam yang lolos sebagai permeat cenderung tetap selama proses pemisahan (3,14 %). Perbedaan total asam ini menunjukkan bahwa interaksi antara kondisi proses dan ukuran partikel asam laktat cenderung berpengaruh terhadap kinerja membran mikrofiltrasi dalam memisahkan asam laktat. Dengan adanya gaya dorong pada tekanan 4 bar menyebabkan partikel asam laktat dalam permeat akan lebih mudah lolos melalui membran. Hal ini juga didukung dengan besarnya partikel asam laktat yang lebih kecil (0,0004 - 0,0008 μm (Anonim, 2005). daripada ukuran pori-pori membran mikrofiltrasi (0,2 μm). Pada suatu keadaan dimana terjadi *fouling*, makin lama akan terbentuk lapisan gel (*cake*) sehingga terjadi polarisasi konsentrasi (Michaels, 1989), di

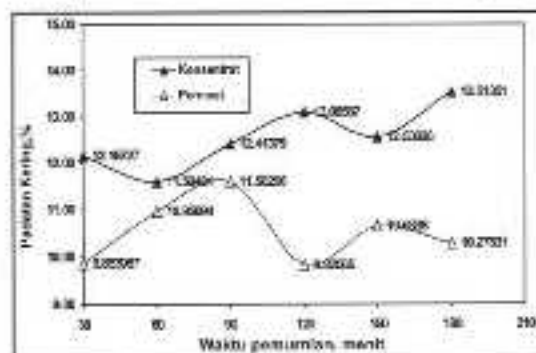
mana konsentrasi asam laktat lebih tinggi dalam retentat. Hal ini tampak pada waktu proses 120, 150 dan 180 menit masing-masing sebesar 3,47 % dalam retentat dan masing-masing sebesar 3,14 % dalam permeat. Perbedaan perolehan asam laktat ini tidak hanya dipengaruhi oleh ukuran partikel asam laktat tetapi juga oleh kemungkinan interaksi antara materi membran dengan massa suspensi. Materi membran berupa bahan komposit terdiri atas polisulfon dengan spesifisitas range pH antara 1 - 13 (Scot dan Hughes, 1996), sehingga konsentrat berprobiotik ini cukup aman dan tidak berpengaruh terhadap selektivitasnya karena bahan berada pada kisaran pH 2,5 - 4,5. Hal ini menjadi acuan bahwa perbedaan total asam pada waktu proses yang semakin lama hanya disebabkan oleh terjadinya fouling sehingga memungkinkan komponen asam laktat lolos sebagai permeat.

Pada kondisi proses yang sama memperlihatkan bahwa waktu pemisahan yang lama menghasilkan N-Amino lolos lebih banyak dalam permeat (6,3 mg/mL) daripada tertahan pada retentat (3,5 mg/mL) pada waktu proses 60 menit, selanjutnya N-Amino terdapat sama banyak dalam retentat dan permeat dan pada akhir proses (180 menit) terdapat lebih banyak dalam retentat (3,5 mg/mL) daripada lolos dalam permeat (2,8 mg/mL), seperti ditunjukkan dalam Gambar 4 b. N-Amino merupakan total asam-asam amino yang

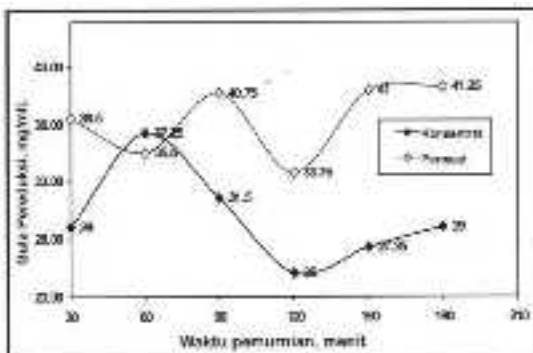
mempunyai sifat kelarutan dalam air tinggi. Dengan berat molekul rendah dan ukuran partikel pada kisaran 0,01 - 0,1 μm lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran mikrofiltrasi (0,2 μm) menyebabkan partikel-partikel asam amino mudah lolos sebagai permeat. Pada proses 60 menit, konsentrasi N-amino dalam permeat (6,3 mg/mL) lebih tinggi daripada dalam konsentrat (3,5 mg/mL), namun setelah proses selama 90, 120 dan 150 menit, konsentrasi N-amino dalam retentat sama dengan dalam permeat dan konstan masing-masing adalah 2,8 mg/mL. Keadaan ini menunjukkan bahwa sistem mikrofiltrasi berada dalam keadaan seimbang dimana banyaknya asam-asam amino yang lolos sama dengan banyaknya asam-asam amino yang tertahan pada permukaan membran. Setelah proses 180 menit terjadi fouling yang menyebabkan tertahannya asam-asam amino dalam retentat lebih banyak (3,5 mg/mL).

b. Padatan kering dan gula pereduksi

Konsentrasi padatan kering pada hasil proses mikrofiltrasi merupakan salah satu parameter keoptimalan kinerja membran. Padatan kering ini mengandung asam-asam amino, asam laktat, mineral, karbohidrat, senyawa volatil (alkohol, diasetildehid) dan mikroba hidup (BAL). Waktu pemisahan yang semakin lama akan meningkatkan padatan kering konsentrat dan permeat seperti, ditunjukkan pada Gambar 5 a. Konsentrat



(a)



(b)

Gambar 5. Hubungan antara waktu pemurnian dan padatan kering (a) dan gula pereduksi (b) pada pemurnian *kaldu* kacang merah berprobiotik menggunakan membran mikrofiltrasi 0,2 μm dengan frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

mengandung padatan kering lebih besar daripada permeat pada seluruh perlakuan waktu proses. Peningkatan padatan kering disebabkan oleh terjadinya pengurangan air yang lolos dan penetrasi melewati pori-pori membran yang menyebabkan terjadinya akumulasi bahan pada permukaan membran meskipun membran mempunyai batas maksimal pemisahan (30 % dari total bahan) (Mulder, 1996; (Cheryan, 1992). Kemampuan pemisahan ini terlihat dari konsentrasi padatan kering dalam retentat yang lebih tinggi apabila dibandingkan dalam permeat. Gaya dorong dengan frekuensi motor pompa 20 Hz dan tekanan operasi 4 bar menyebabkan partikel bahan dengan berat molekul lebih rendah dan ukuran partikel $< 0,2 \mu\text{m}$ akan lolos sebagai permeat dan sebaliknya partikel $> 0,2 \mu\text{m}$ akan tertahan pada permukaan membran.

Dengan semakin lamanya waktu pemisahan akan semakin tinggi konsentrasi partikel-partikel ini karena semakin menumpuk pada permukaan membran sebagai retentat dan masih memperlihatkan peningkatan konsentrasinya sampai akhir proses (180 menit). Sebaliknya partikel yang lolos pada permeat sampai pada batas optimasi waktu pemisahan yang selanjutnya padatan kering akan menurun. Hal ini tampak pada waktu proses 90 menit (11,58256 %), dimana padatan kering tampak berfluktuatif dan semakin menurun sampai akhir proses (180 menit), yaitu 10,27831 %.

Waktu pemisahan yang semakin lama juga menghasilkan konsentrasi gula pereduksi yang berfluktuatif baik pada konsentrat maupun permeat. Secara keseluruhan tampak bahwa gula pereduksi dalam permeat lolos lebih banyak daripada tertahan dalam retentat pada seluruh waktu proses, kecuali pada waktu proses 60 menit, seperti ditunjukkan pada Gambar 5 b. Kemungkinan hal ini disebabkan oleh besarnya partikel gula $0,0008 - 0,001 \mu\text{m}$ (200 - 400 Da.) yang lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran ($0,2 \mu\text{m}$). Meskipun demikian, oleh suatu keadaan pada proses 60 menit gula pereduksi tertahan lebih banyak dalam konsentrat (37,25 mg/mL) daripada lolos dalam permeat (35,5 mg/mL). Beberapa faktor lain yang diduga berpengaruh terhadap

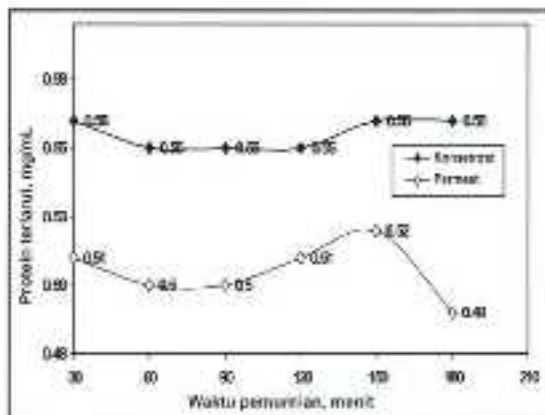
tingkat pemisahan gula pereduksi adalah sifat kelarutan gula dalam air yang tinggi sehingga oleh interaksi kondisi proses menyebabkan sebagian gula akan terurai membentuk unit-unit molekul-molekul lebih kecil dan lolos sebagai permeat. Rasa manis yang dihasilkan oleh gula memberi kontribusi keseluruhan terhadap sifat sensory produk probiotik ini.

c. Protein terlarut dan lemak

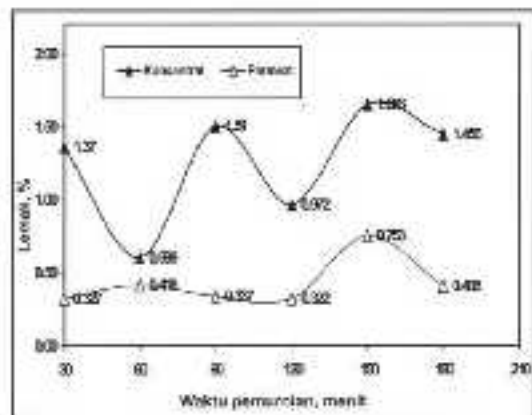
Proses pemurnian cenderung menghasilkan protein terlarut dalam retentat yang konstan pada seluruh perlakuan waktu proses namun semakin meningkat pada permeat sampai proses 150 menit diikuti dengan penurunan sampai akhir proses. Sistem mikrofiltrasi menunjukkan terjadinya pemisahan sempurna terhadap protein terlarut di mana konsentrasi protein terlarut dalam retentat daripada permeatnya, seperti ditunjukkan pada Gambar 6 a.

Peptida terlarut memiliki kisaran ukuran partikel $0,01 - 0,1 \mu\text{m}$ (Anonim, 2005) sehingga pada membran mikrofiltrasi $0,2 \mu\text{m}$ seharusnya akan lolos sebagai permeat dan pada peptida dengan ukuran $> 0,2 \mu\text{m}$ akan tertahan pada permukaan membran. Hal ini diduga terjadinya fouling. Dugaan lain adalah komponen-komponen dalam biomassa probiotik lebih banyak berukuran $> 0,2 \mu\text{m}$ daripada ukuran $< 0,2 \mu\text{m}$. Dalam fermentasi BAL, terjadi pembentukan asam laktat dari substrat yang menyebabkan tingkat keasaman yang tinggi dengan kisaran pH biomassa 2,5 - 4. Pada pH ini terbentuk koagulan menyerupai yogurt sehingga peptida terperangkap dalam masa protein dan tertahan lebih banyak dalam retentat daripada lolos dalam permeat.

Protein terlarut merupakan peptida dan asam-asam amino dengan BM rendah hasil dari proses fermentasi garam sebagai fraksi gurih. Fermentasi selama 48 jam pada 40°C memungkinkan terbentuknya senyawa-senyawa hasil fragmentasi berupa peptida terlarut yang diduga berpengaruh terhadap konsentrasi protein terlarut pada proses mikrofiltrasi. Pada akhir proses (180 menit), konsentrasi protein terlarut dalam retentat sebesar 0,56 mg/mL dan permeat sebesar 0,49 mg/mL.



(a)

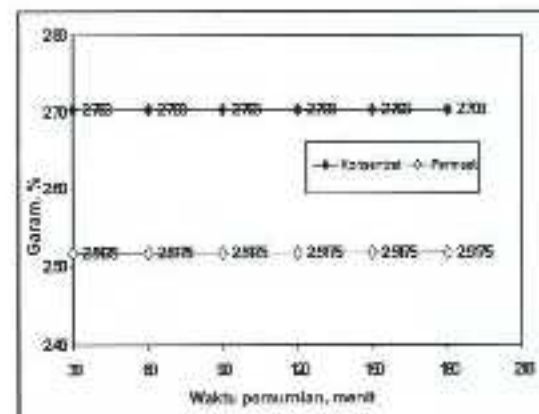


(b)

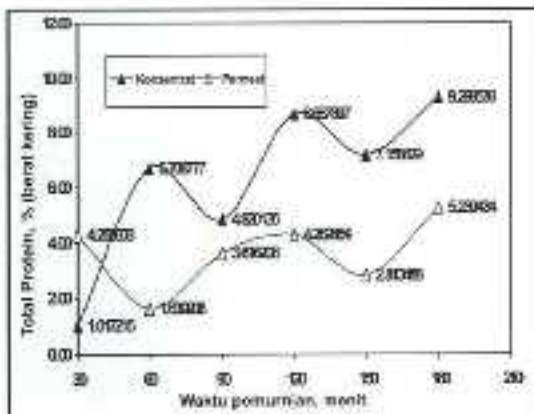
Gambar 6. Hubungan antara waktu pemurnian dan protein terlarut (a) dan lemak (b) pada pemurnian kaldu kacang merah berprobiotik menggunakan membran mikrofiltrasi 0,2 μm dengan frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

Lamanya waktu pemurnian juga menghasilkan pemisahan lemak yang sempurna seperti, ditunjukkan pada Gambar 6 b. Secara keseluruhan, konsentrasi lemak dalam retentat lebih tinggi daripada konsentrasi lemak dalam permeat pada seluruh perlakuan waktu pemurnian. Hal ini diduga disebabkan besarnya partikel lemak antara 1 - 10 μm (Anonim, 2005) sehingga memungkinkan untuk tertahan pada permukaan membran. Lemak pada biomassa diperoleh dari kacang merah terfermentasi oleh aktifitas lipolitik *Rhizopus-PL19* terdiri dari asam-asam lemak dan gliserol

yang diperoleh sebagai aktifitas lipolitik dalam pembuatan kaldu nabati (Susilowati, dkk., 2006) yang tidak larut dalam air, namun sistem mikrofiltrasi dengan frekuensi motor pompa 20 Hz dan tekanan 4 bar secara model aliran cross-flow memungkinkan terjadinya proses emulsifikasi dimana sebagian dari lemak akan larut dalam suspensi sehingga lebih menyerupai sistem emulsi minyak dalam air (o/w). Pada akhir proses (180 menit), konsentrasi lemak dalam retentat adalah 1,46 % dan permeat sebesar 0,41 %.



(a)



(b)

Gambar 7. Hubungan antara waktu pemurnian dan garam (a) dan total protein (b) pada pemurnian kaldu kacang merah berprobiotik menggunakan membran mikrofiltrasi 0,2 μm dengan frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 4 bar.

Kecenderungan berbeda ditunjukkan pada perolehan garam, di mana membran mikrofiltrasi 0,2 μm mampu memisahkan garam dalam retentat lebih tinggi daripada permeat. Semakin lama waktu proses, cenderung menghasilkan garam yang konstan baik pada konsentrasi maupun permeat, seperti ditunjukkan dalam Gambar 7 a.

Perbedaan konsentrasi garam dalam konsentrasi dan permeat ini menunjukkan bahwa sistem mikrofiltrasi secara keseluruhan belum mampu untuk meloskan seluruh garam pada permeat sejalan dengan lamanya waktu pemurnian dimana garam tertahan dalam retentat yang lebih tinggi masing-masing sebesar 2,70 % dan dalam permeat masing-masing sebesar 2,52 % pada seluruh perlakuan waktu proses. Diduga hal ini selain disebabkan oleh faktor fouling & sifat bahan, garam dan kondisi proses. Garam dengan kisaran ukuran 0,001 - 0,1 μm (Anonim, 2005) seharusnya mampu lolos lebih banyak melalui sistem mikrofiltrasi sebagai permeat daripada tertahan dalam retentat. Namun hal ini juga dipengaruhi oleh kondisi proses dan interaksi dengan bahan lain dan sifat kelarutannya dalam suspensi biomassa.

Garam diperoleh dalam konsentrasi cukup tinggi (21 %) dari formulasi bahan pada fermentasi garam dari kacang merah yang merupakan bahan dasar produk ini (Susilowati, dkk., 2006). Kestabilan konsentrasi garam

pada retentat (2,70 %) maupun permeat (2,52 %) meskipun waktu proses semakin lama kemungkinan disebabkan oleh viskositas bahan yang semakin berkurang, sementara itu dengan tekanan tetap (4 bar) menyebabkan laju alir meningkat dan mampu mengalirkan solut padatan yang ada disekitar permukaan membran, sehingga tidak menyebabkan berkurangnya konsentrasi garam dalam retentat atau dengan kata lain tidak terjadi penambahan konsentrasi garam pada permeat.

Proses pemurnian cenderung menghasilkan total protein dalam retentat dan permeat yang berfluktuatif namun semakin meningkat pada seluruh waktu proses. Peningkatan total protein terjadi selain disebabkan semakin berkurangnya air yang lolos pada membrane sebagai permeat. Molekul air berukuran partikel 0,0002 μm dengan berat molekul 18 Da. (Cheryan, 1992; Paulson, 1995) Penurunan total protein dalam retentat tampak pada 90 (4,82%) dan 150 menit proses (7,16%) selanjutnya meningkat sampai akhir proses (9,30%), sehingga total protein dalam permeat mempunyai kecenderungan yang sama dimana pada 90 dan 150 menit proses masing-masing menghasilkan total protein sebesar 1,64 % dan 2,82 %. Dengan ukuran partikel dan berat molekul berkisar antara (\sim 0,002 - 0,01 μm /10.000 - 1.000.000 Dalton/Da) atau sebagai makromolekul dengan kisaran ukuran partikel



(a)



(b)

Gambar 8. Retentat (a) dan permeat (b) hasil mikrofiltrasi pada tekanan 4 bar selama 180 menit, frekuensi motor pompa 20 Hz, suhu ruang dari biomassa kacang merah terfermentasi berprobiotik.

0,04 - 2 μm memungkinkan akan tertahan pada permukaan membran sedangkan peptida-peptida yang lebih kecil akan lolos sebagai permeat. Sistem mikrofiltrasi secara keseluruhan menghasilkan pemisahan sempurna terhadap total protein dimana konsentrasi total protein dalam retentat lebih tinggi daripada dalam permeat, seperti ditunjukkan pada Gambar 7 b.

Dari keseluruhan proses pemisahan produk probiotik ini menghasilkan retentat berupa suspensi kental, creamy dengan warna putih kekuningan dengan rasa gurih, asam dan sedikit manis. Permeat berupa cairan jernih sediki koloid, kuning dan berasa gurih, asam dan sedikit manis. Gambar 8 a dan 8 b masing-masing memperlihatkan retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi pada tekanan 4 bar pada waktu proses 180 menit, laju alir 7.88 L/menit.

IV. PENUTUP

Beberapa hal yang dapat dijadikan kesimpulan, antara lain :

Pertama, Kondisi operasi mikrofiltrasi berpengaruh terhadap komposisi, jumlah bakteri asam laktat, kualitas fisik dan kinerja membran;

Kedua, Waktu pemisahan yang semakin lama akan meningkatkan kandungan total solid, total asam, lemak, total protein namun menurunkan N-Amino dan fluks permeat sedangkan garam dan jumlah bakteri asam laktat cenderung tetap dalam retentat. Retentat mempunyai komposisi yang lebih baik dari pada permeat;

Ketiga, Waktu proses yang semakin lama menghasilkan pemisahan sempurna untuk BAL, padatan kering, protein terlarut, lemak, garam dan kurang sempurna untuk total asam, gula pereduksi, total protein dan N-Amino.

Keempat, Kondisi proses pemisahan optimal, berdasarkan jumlah total BAL terbaik dalam menghasilkan retentat sebagai ingredient probiotik, adalah 180 menit. Permeat berpotensi untuk dipakai sebagai acidulant berprobiotik sebagai produk samping.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1999. Membrane Technology For Process Bioseparations. MILLIPORE USA, 1999; Industry. <http://www.pcims.com/images/TP105.5us.pdf>; PCI Membrane System Inc. Milford, USA, 2005.
- Anonim. 2005. Membrane Technology For Process Industry. <http://www.pcims.com/images/TP105.5us.pdf>; PCI Membrane System Inc. Milford, USA.
- AOAC.. 1995. Official Method of Analysis of Association of Official Analytical Chemistry, Washington D.C.
- Batt, C.A. R.K. Robinson dan P.D. Patel. 1999. Encyclopedia of Food Microbiology . Academic Press. New York.
- Belitz, H.D dan Grosch W. 1999. Food Chemistry. Second Edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 333 - 338.
- Buciwali, T.A. Agusline Susilowati dan Tami Idiyanti. 2002. Pembastaran Ragi Protease Tinggi. Laporan Penelitian DIP 2002. Pusat Penelitian Kimia - LIPI. PUSPIPTEK. Serpong.
- Cheryan, M. 1992. Membrane Technology in Food Bioprocessing. Di dalam R. P. Singh dan M.A. Wirakartakusumah, (eds). Advances in Food Engineering. CRC Press Inc. Boca Raton, Florida.
- Fardiaz, Srikandi. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. ISBN 979-493-02-4. IPB Press Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ghayeni, S. B. Sadr, P. J. Beaton, A. J. Fene, dan R. P. Schneider. 1999. Bacterial passage through microfiltration membranes in wastewater applications. *Journal of Membrane Science*, 153, 71.
- Gutman, R.G. 1987. Membrane Filtration, The Rheological of pressure Driven Crossflow Process. IOP Publishing Ltd, England.
- Michaels, A.S. 1989. Handbook of Industrial Membrane Technology. Noyes Publications, Park Ridge, USA.
- Mulder, 1996. Basic Principles of Membrane Technology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Paulson, D.J. 1995. Membranes, the Finest Filtration. By : Introduction to crossflow Membranes Technology. Published in Filtration News. <http://www.environmental expert.com/articles/article11/article11.htm> (article on line).
- Pope, C.G. dan Stevens M.F. 1989. The Determination of Amino Nitrogen Using Copper Method. *Biochemical Journal*.
- Salminen, Seppo dan Aite von Wright. 1998. Lactic Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects. Marcel Dekker Inc. New York.
- Scot, K dan R. Hughes. 1996. Industrial Membrane Separation Technology. Blackie Academic and

Professionals. London.

- Suslowati, A., Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati. 2006. Pemanfaatan kacang-kacangan endemik untuk pembuatan makanan fungsional dan flavor dari kaldu *nabati* skala pilot, Laporan Semester I. Program Tematik - DIPA. Pusat Penelitian Kimia - LIPI, PUSPIPTEK, Serpong.
- Suslowati, A., Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati. 2007. Effect of pressure and concentration time on quality of vegetable broth concentrate from Mung Beans (*P. radiatus* L.) as probiotic savory using ultrafiltration membrane. Proceeding 10th Asean Food Conference 2007. Kuala Lumpur, Malaysia.
- Suslowati, A., Aspiyanto, Hakiki Melanie dan Yati Maryati. 2007. Pemisahan Fraksi Gurih dari Kacang-kacangan Terfermentasi sebagai Flavor Savory Analog Flavor Daging melalui Teknik Membran Bertahap. Laporan Semester I. Program Tematik - DIPA. Pusat Penelitian Kimia - LIPI, PUSPIPTEK, Serpong.
- Tamime, A.Y. dan V.M.E. Marshall. 1997. Microbiology and Technology of Fermented Milks. In Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milks, Second Ed. Blackie Academic and Professional. London.
- Yukuguchi, H.T.J. Goto dan S. Okonogi. 1992. Fermented Milk, Lactic Drinks and Intestinal Microflora. Di dalam Nakazawa, Y. Dan A. Hosono, (eds). 1992. Functional of Fermented: Challenge for Health Science. Elsevier Applied Science. New York.
- Zeman, L.J. dan Zydny, A.L. 1996. Microfiltration and Ultrafiltration : Principles and Applications. Marcel Dekker. New York.

BIODATA PENULIS :

Sri Moernisti adalah seorang peneliti di P2Kimia-LIPI Kawasan Puspiptek, Serpong, Tangerang. Beliau menyelesaikan pendidikan S1 Teknik Kimia pada tahun 1982 di Institut Teknologi 10 Nopember Surabaya (ITS) dan pendidikan S2 Teknik Kimia dalam bidang teknologi membran pada tahun 1992 di University of Waterloo, Canada.