

# PEMEKATAN EKSPOLISAKARIDA (EPS) DARI KULTUR BAKTERI USUS DALAM BIOMASSA SAGU (*Metroxylon* SP.) MELALUI MODUL MEMBRAN ULTRAFILTRASI CROSS-FLOW (UF/CF)

Agustine Susilowati\*, Aspiyanto\* dan Achmad Dinoto\*\*

\*Pusat Penelitian Kimia - LIPI, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan – 15314,

Telephone +62-021-7560929 & E-mail: agustine\_1408@yahoo.co.id

\*\*Pusat Penelitian Biologi - LIPI, Cibinong, Bogor,

Telephone +62-021-8765067 & E-mail: achmaddinoto@yahoo.com

## ABSTRACT

Cross-flow ultrafiltration (UF) membrane is a main separation and/or concentration techniques influenced by operation condition (flow rate, temperature, pressure, time) and molecular weight (MW). The goal of this experiment was to find out the effect of concentration time of *Lactobacillus* sp. FU 0811 and *Enterobacter* sp. FU 0813 cultures in biomass of sago (*Metroxylon* sp.) on UF membrane performance (flux value and rejection), and retentate/concentrate composition as carrier agent of oral insulin activated compounds. Concentration process was performed through cross-flow UF membrane module at pump motor frequency of 20 Hz (flow rate of 7.5 L/minute), room temperature and operation pressure of 5 bar for each 0, 15, 30 and 45 minutes. The result of experiment showed that retentate/concentrate had better composition and total microbes count than that permeate. Based on EPS as reduction sugar, time needed to concentrate *Lactobacillus* sp. FU 0811 culture as retentate/concentrate was reached at 30 minutes, with reduction sugar, total solids, total acids concentrations, and total microbes count of 4.2 mg/mL, 0.2443% and 0.013%, and 4.61 log CFU/mL. While, permeate flux value was 43.66 L/m<sup>2</sup>.hour, and rejections of reduction sugar, total solids, total microbes and total acids on membrane were 85.7–90.6%, 96.6–99.1%, 100% dan 12.9–40.2%. Whereas, EPS as reduction sugar, time needed to concentrate *Enterobacter* sp. FU 0813 culture as retentate/concentrate was reached at 30 minutes, with reduction sugar, total solids, total acids concentrations, and total microbes count of 0.18 mg/mL, 0.0901% and 0.013%, and 4.806 log CFU/mL. While, permeate flux value was 40.83 L/m<sup>2</sup>.hour, and rejections of reduction sugar, total solids, total microbes and total acids on membrane were 0–68.75%, 81.4–86.8%, 100%, dan 17.6–30.3%. Identification of retentate/concentrate from *Lactobacillus* sp. FU 0811 culture showed that its presence of EPS compounds as Dextran (MW 10,500 Dalton, Da.), Maltohexaose (MW 342.3 Da.) and Lactose (MW 990.86 Da.)

**Key words:** Exopolysaccharide (EPS), *Lactobacillus* sp. FU 0811, *Enterobacter* sp. FU 0813, Ultrafiltration (UF), retentate/concentrate, permeate

## PENGANTAR

Teknologi membran telah lama digunakan dalam industri bioteknologi khususnya pada produk pangan dan farmasi. Pemekatan biomassa kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dari sagu (*Metroxylon* sp.) melalui membran ultrafiltrasi (UF) dilakukan karena keunggulannya dalam memisahkan komponen berberat molekul (BM) tinggi, terutama polisakarida yang harus menggunakan proses bersuhu rendah. Produk biomassa ini diperoleh dengan menumbuhkan kedua jenis kultur tersebut pada substrat sagu pada 37° C guna memperoleh eksopolisakarida (EPS) untuk bahan penghantar (carrier) senyawa aktif insulin oral pada industri farmasi [Dinoto, A., 2010] dan sebagai aditif pangan (pengental, penstabil dan pengemulsi). EPS merupakan suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroba melalui proses metabolisme yang diekskresikan keluar sel [R Tallon, *et al.*, 2003].

Sistem modul UF dengan tipe aliran melintang (cross-flow) memungkinkan partikel-partikel bahan akan mengalir rata memenuhi seluruh permukaan membran. Hal ini berbeda dengan filtrasi membran konvensional pada sistem dead-end atau sistem sentrifugasi berdasarkan kecepatan rotasi [Michael, AS 1989; Raja Ghosh, 2003]. Dengan aliran cross flow/tangensial yang melewati permukaan membran akan mengurangi terjadinya akumulasi partikel-partikel solut sebagai penyebab polarisasi konsentrasi dan meminimalkan terbentuknya penyumbatan pori-pori membran akibat fouling, meskipun hal ini juga dipengaruhi oleh sifat bahan (ukuran partikel, BM, daya adhesi antar komponen), kondisi operasi (tekanan, laju alir, suhu, waktu) dan jenis material membran [Yonghun Lee dan Clark, 1998]. Aliran fluida secara cross-flow juga memungkinkan pemisahan lebih terfokus karena sistem membran akan semakin memadatkan partikel-partikel yang tertahan pada permukaan membran sehingga pemisahan lebih efisien dan

optimal. Aliran secara cross-flow juga dapat memfasilitasi perputaran kembali retentat/konsentrat dalam tanki umpan dan mencampurkannya sebagai umpan baru [Raja Ghosh, 2003].

Berdasarkan BM EPS yang dihasilkan oleh kultur bakteri usus yang didominasi oleh komponen-komponen ber BM tinggi, seperti homopolisakarida dan heteropolisakarida (dekstran) [Tallon, *et al.*, 2003]. Penggunaan membran UF memungkinkan komponen-komponen ini akan tertahan pada permukaan membran sebagai retentat/konsentrat daripada lolos dalam permeat. Membran UF memiliki ukuran pori 2–50 nm berupa plate frame dari polisulfon ber BM berukuran 100.000 MWCO [Mulder, 1996] mampu menahan partikel ber BM > 100.000 atau partikel makromolekul > 5000 g/mol atau ukuran partikel 0,001–0,1  $\mu\text{m}$  [Anonim, 2005] pada tekanan operasi 1–10 atm [Zeman, 1996].

Dalam prosesnya, kriteria kinerja membran yang ideal pada proses pemekatan melalui UF meliputi *performance* tinggi (fluks dan tingkat efisiensi pemisahan) [Mulder, 1996] yang dipengaruhi oleh ketipisan lapisan membran, struktur yang kuat, fleksibel untuk berbagai keperluan, perbandingan antara volume dan luas membran meliputi daerah operasi yang luas (tekanan, temperatur, dan pH). Fluks didefinisikan sebagai jumlah permeat yang lewat melalui satuan luas membran per satuan waktu, yang dirumuskan sebagai  $J = l/(A \times t)$ , dimana J, nilai fluks permeat, l, jumlah filtrat yang keluar persatuan luas (A) per satuan waktu (t), sedangkan rejeksi didefinisikan sebagai perbandingan selisih konsentrasi suatu zat dalam konsentrat dan permeat terhadap konsentrasi suatu zat dalam konsentrat [Fellows, 1998] yang dirumuskan sebagai  $R = 1 - (C_p/C_r)$ , dimana R, nilai rejeksi,  $C_p$ , konsentrasi zat dalam permeat,  $C_r$ , konsentrasi zat dalam retentat. Penelitian ini bertujuan guna mengetahui pengaruh waktu proses terhadap kinerja membran UF (fluks dan rejeksi) dan komposisi hasil pemekatan biomassa dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam sagu (*Metroxylon* sp.) untuk bahan penghantar (*carrier*) senyawa aktif insulin oral pada industri farmasi.

## METODA PENELITIAN

### Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa tepung sagu (*Metroxylon* sp.) segar hasil ekstraksi dari daerah Seram (Maluku), kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811, dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dari Pusat Penelitian Biologi–LIPI, Cibinong; bahan kimia untuk analisis, media MRS

Agar untuk analisis mikrobiologi dan 2 lembar membran UF fluoro polimer komersial 100.000 MWCO (FSM-40-PE) dengan luas permukaan efektif 0,018  $\text{m}^2$ /membran (Danish Separation Systems, Denmark) [Anonim, 2000]. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa ayakan 200 mesh, alat High Frequency Separation, modul membran LabUnit M20 (DSS, Denmark) [Anonim, 2000]. Peralatan analisis utama adalah Spectrofotometer UV-1201, HPLC (Waters, DAD, USA), peralatan untuk analisis mikrobiologi dan peralatan gelas untuk analisis kimia.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan variasi (1) jenis mikroba, yaitu *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam media sagu (*Metroxylon* sp.), (2) waktu proses pemisahan melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 Bar selama selama 0,15, 30 dan 45 menit. Analisis dilakukan terhadap komposisi biomassa/metabolit meliputi konsentrasi total padatan (metode Gravimetri), EPS sebagai gula reduksi (Metode Somogyi-Nelson) [AOAC, 1995] dan jumlah mikroba total/TPC (pour plate) [Fardiaz, 1989] pada feed (umpan), retentat dan permeat dari proses UF serta kinerja membran (fluks dan rejeksi). Identifikasi jenis EPS dari metabolit dilakukan melalui HPLC [AOAC, 1995] dari perlakuan proses dengan waktu terbaik (optimum).

### Tahapan Proses

#### Pembuatan biomassa bakteri usus

Bakteri usus diisolasi dari faeces penduduk Seram, Maluku. Diperoleh 2 jenis kultur sel dengan identifikasi sebagai *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dan disimpan dalam larutan glycerol pada 8° C dengan penambahan CO<sub>2</sub> dalam botol tertutup. Untuk membuat biomassa dengan media sagu dan glukosa, kultur sel dalam Glycerol stock diremajakan dalam botol falcon dengan menuang 15 mL kultur sel dan disimpan semalam ( $\pm$  18 jam) pada 37° C, selanjutnya ditambahkan 3–5% kultur pada biomassa (I) yang terdiri dari larutan sagu (20 gram/L) yang telah dipasteurisasi ( $\pm$  70–80° C) dan diperkaya dengan Tryptone (4 gram/L) [Dinoto dkk., 2010].

#### Filtrasi biomassa lolos 200 mesh

Sejumlah biomassa/kultur sel ( $\pm$  4000 mL) difiltrasi melalui ayakan 200 mesh pada High Frequency Separation lolos 200 mesh. Filtrat merupakan feed untuk proses pemekatan EPS melalui membran UF 100.000 MWCO.

### Proses pemekatan biomassa bakteri usus melalui membran UF 100.000 MWCO

Fluida umpan berupa kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam biomassa sagu lolos 200 mesh pada tanki umpan berkapasitas 9 L dipompakan berturut-turut melalui tabung saringan 200  $\mu\text{m}$ , sistem penukar panas/dingin, modul membran dan keluar melalui tempat pengeluaran retentat. Retentat disirkulasikan ke tanki umpan kontinue hingga sistem perpipaan benar-benar terisi oleh fluida. Selama proses sirkulasi, air pendingin pada chiller bersuhu  $\pm 23\text{--}24^\circ\text{C}$  secara bersamaan dialirkan ke sistem penukar panas/dingin selama beberapa saat hingga suhu fluida dalam tanki tetap stabil, yaitu suhu kamar ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ). Setelah kondisi proses stabil, frekuensi motor pompa diatur pada 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit) dan kemudian tekanan operasi diatur dengan mengatur katup retentat sampai alat penunjuk umpan dan retentat adalah 5 dan 5 bar [Anonim, 2000]. Rata-rata nilai penunjukkan tekanan umpan dan retentat merupakan tekanan operasi membran (5 bar). Fluida yang lolos per satuan luas membran (permeat) dan keluar dari pembuluh permeat ditampung, diukur volumenya dan dicatat waktunya guna menentukan fluks sebagai permeat. Pengamatan dan sampling dilakukan terhadap permeat dan retentat selama 0, 15, 30 dan 45 menit. Tahapan proses yang sama dilakukan pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam biomassa sagu lolos 200 mesh pada kondisi proses yang sama.

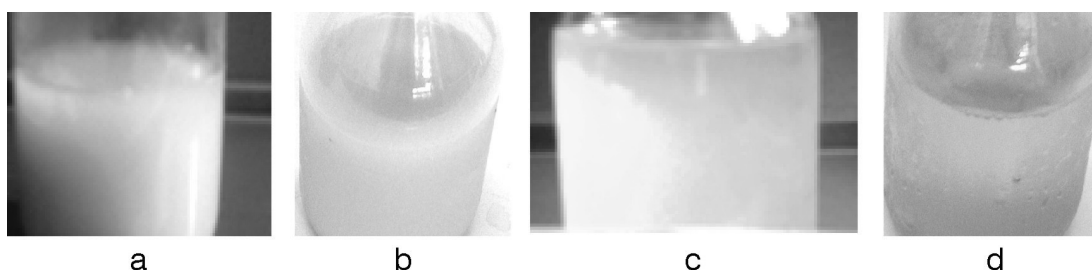
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Biomasa dan Ekstrak Biomasa sebagai Feed (Umpan)

Biomassa *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 lolos ayakan 200 mesh masing-masing dalam media sagu berupa suspensi keruh, berwarna merah muda, sedangkan ekstrak biomassa lolos ayakan 200 mesh sebagai feed (umpan) berupa cairan merah muda, sedikit keruh dan koloid. Gambar 1a, 1b, 1c dan 1d masing-masing

memperlihatkan biomassa kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811, biomassa kultur *Enterobacter* sp. FU, biomassa *Lactobacillus* sp. FU 0811 lolos ayakan 200 mesh dan *Enterobacter* sp. FU lolos 200 mesh dalam sagu (*Metroxylon* sp.).

Biomassa dari sagu dengan kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 berupa suspensi cukup kental masing-masing dengan konsentrasi total padatan 0,4228 dan 0,2712%, keruh, kemerahan. Biomassa ini merupakan hasil pertumbuhan kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 (3–5%) dengan substrat sagu pada konsentrasi 20 gram/L yang diperkaya dengan Tryptone (4 gram/L). Perbedaan komposisi utama tampak pada konsentrasi gula reduksi dan jumlah mikroba total, dimana kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 menghasilkan gula reduksi (0,37 mg/mL) dan jumlah mikroba total 6,843 log CFU/mL lebih tinggi daripada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 masing-masing 0,1 mg/mL dan 3,7044 log CFU/mL, namun konsentrasi total asam lebih rendah (0,021%) daripada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 (0,023%). Diduga faktor laju pertumbuhan jenis, aktivitas, dan media mikroba berperan penting dalam kualitas metabolit. Biomassa sagu diperoleh dari pelarutan tepung sagu segar pada konsentrasi 20% (b/v) yang telah dipasteurisasi ( $\pm 70\text{--}80^\circ\text{C}$ , selama 15–20 menit) memungkinkan terjadinya gelatinisasi membentuk gel koloid yang memiliki rantai polisakarida panjang dan terdiri dari unit-unit mono, di- dan oligosakarida. Penyimpanannya pada suhu  $37^\circ\text{C}$  menyebabkan laju pertumbuhan mikroba menjadi semakin meningkat sejalan dengan pembentukan EPS sebagai metabolit dengan konsentrasi berbeda antara ke dua jenis bakteri usus tersebut. *Lactobacillus* sp. FU 0811 tampaknya dalam menghasilkan metabolit pada media sagu lebih reaktif daripada *Enterobacter* sp. FU 0813. Dalam proses separasi melalui ayakan 200 mesh pada *High Frequency Separator* sebagai umpan (feed), komposisi kedua kultur tersebut menjadi berbeda. Kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 mengandung gula reduksi masing-masing 0,07 dan 0,08 mg/mL, total padatan



**Gambar 1.** Biomassa kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 (a), biomassa kultur *Enterobacter* sp. FU (b), biomassa *Lactobacillus* sp. FU 0811 lolos ayakan 200 mesh (c) dan *Enterobacter* sp. FU lolos ayakan 200 mesh (d) dalam sagu (*Metroxylon* sp.)

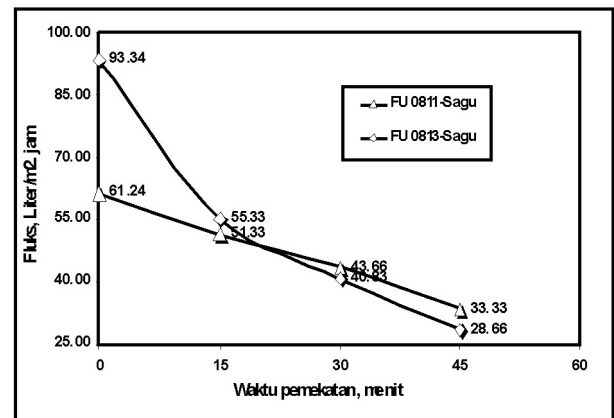
0,184 dan 0,456%, total asam 0,023 dan 0,036%, serta jumlah mikroba total masing-masing 5,753 dan 3,698 log CFU/mL. Proses ini merupakan pemisahan awal untuk menyaring komponen-komponen anorganik dari biomassa agar tidak mengalami penyumbatan sistem membran dan memperoleh efisiensi proses lebih optimal. Umpan berupa cairan lebih jernih daripada biomassa kultur awal.

### Pengaruh Pemekatan melalui Membran UF terhadap Kinerja Membran dan Komposisi Retentat dan Permeat

#### Nilai fluks permeat

Proses pemekatan biomassa kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam larutan sagu menggunakan membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar dengan waktu proses semakin lama menghasilkan nilai fluks permeat yang semakin menurun, seperti ditunjukkan pada Gambar 2. Nilai fluks permeat adalah jumlah permeat yang keluar per satuan luas membran per satuan waktu yang menjadi parameter kinerja membrane [Cheryan, 1992]. Lamanya waktu pemekatan akan menurunkan nilai fluks permeat yang ditunjukkan dengan fluks yang tajam antara 0 menit (laju alir 7,43 L/menit) dengan 15 menit (laju alir 8,08 L/menit) diikuti nilai fluks yang lebih landai sampai 45 menit proses pada kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811. Kecenderungan yang berbeda tampak pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 dimana fluks tampak landai sepanjang waktu proses dengan laju alir 7,52 L/menit (0 menit) dan 7,55 L/menit (15 menit). Penurunan fluks antara 0–15 menit diduga disebabkan pada awal pemekatan, akumulasi bahan pada permukaan membran belum menunjukkan adanya *fouling* [Michels, 1989, Mulder, 1996] yang memungkinkan terakumulasinya bahan sedemikian rupa sehingga menghambat laju alir bahan. Setelah pemekatan 15 menit terjadi pemisahan bahan yang lebih besar sehingga partikel yang lebih kecil akan lolos bersama dengan permeat dan retentat semakin mengental dan menghambat lolosnya bahan. Penurunan fluks dipengaruhi oleh faktor-faktor jenis dan konsentrasi bahan terutama total padatan, jenis membran dan kondisi operasi terutama tekanan, suhu dan laju alir. Tekanan akan berpengaruh terhadap laju alir permeat sedangkan frekuensi motor pompa berpengaruh terhadap laju alir

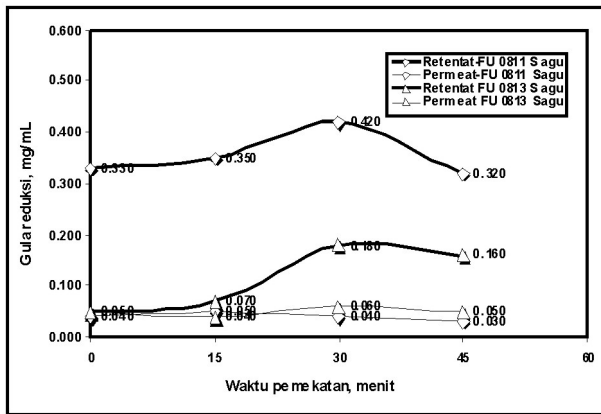
bahan. Umumnya laju alir akan berkorelasi positif terhadap nilai fluks sehingga semakin tinggi laju alir bahan maka nilai fluks juga akan semakin tinggi [Mulder, 1996]. Kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 memiliki total padatan lebih tinggi (0,456%) sehingga menghasilkan fluks yang lebih rendah dibandingkan dengan total padatan kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 (0,184%).



**Gambar 2.** Hubungan antara waktu dan nilai fluks permeat dari jenis kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 pada pemekatan kultur bakteri usus dalam biomassa sagu melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar.

#### Gula reduksi sebagai EPS

Waktu pemekatan yang semakin lama akan meningkatkan gula reduksi pada retentat, yaitu suspensi yang tertahan pada permukaan membran berupa cairan kental sampai waktu optimal (30 menit) diikuti dengan penurunan gula reduksi pada 45 menit proses, sedangkan dalam permeat, yaitu fluida yang lolos melalui pori-pori membran berupa cairan yang lebih jernih cenderung konstan pada kedua jenis kultur tersebut, seperti ditunjukkan dalam Gambar 3. Penurunan gula reduksi dalam retentat setelah 30 menit diduga disebabkan oleh sistem cross-flow yang mampu menyapu partikel gula dengan BM lebih kecil untuk lolos dalam permeat. Gula reduksi sebagai monodan disakarida merupakan komponen dengan BM berkisar antara 200–600 Da. atau berukuran partikel antara 0,01–0,1  $\mu\text{m}$  tampaknya terperangkap dalam lapisan 'cake' pada permukaan membran oleh terjadinya '*fouling*' [Cheryan, 1992].



**Gambar 3.** Hubungan antara waktu dan konsentrasi gula reduksi dari jenis kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 pada pemekatan kultur bakteri usus dalam biomassa sagu melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar.

Selama waktu proses 0, 15, 30, dan 45 menit, teknik membran UF mampu memekatkan gula reduksi dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam retentat berturut-turut 0,33; 0,35; 0,42; dan 0,32 mg/mL dan meloloskan gula reduksi dalam permeat berturut-turut 0,04, 0,05, 0,04 dan 0,03 mg/mL dengan nilai rejeksi pada kisaran 85,7–90,6% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan hampir sempurna. Kecenderungan berbeda tampak pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813, dimana selama proses 0, 15, 30 dan 45 menit, teknik UF mampu memekatkan gula reduksi dalam retentat berturut-turut 0,05; 0,07; 0,18; dan 0,16 mg/mL dan meloloskan gula reduksi dalam permeat berturut-turut 0,05; 0,04; 0,06; dan 0,05 mg/mL dengan nilai rejeksi berkisar 0–68,7% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan kurang sempurna. Nilai rejeksi dikatakan sempurna apabila perbandingan selisih konsentrasi suatu

zat dalam konsentrat dan permeat terhadap konsentrasi suatu zat dalam konsentrat > 90% [Mulder, 1996]. Secara keseluruhan, 30 menit adalah waktu pemekatan optimal untuk gula reduksi sebagai EPS dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 yang memberikan nilai rejeksi 90,48% atau tingkat pemisahan cukup sempurna. Sedangkan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 memberikan nilai rejeksi 66,67% atau tingkat pemisahan kurang sempurna.

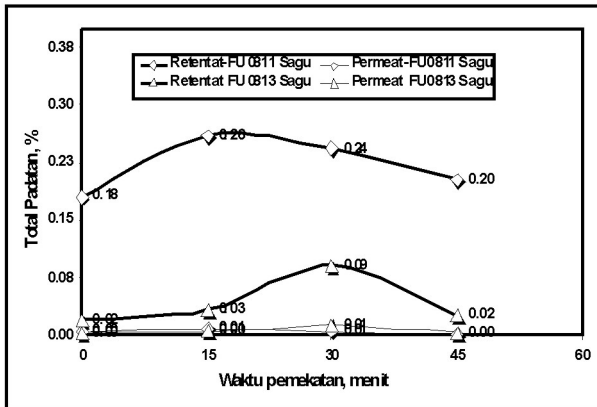
### Total Padatan

Kecenderungan serupa juga tampak pada total padatan dimana peningkatan total padatan terjadi sejalan dengan lamanya waktu proses, seperti ditunjukkan pada Gambar 4. Teknik UF mampu menahan total padatan dalam retentat lebih banyak daripada lolos dalam permeat untuk kedua jenis kultur tersebut, seperti ditunjukkan pada Gambar 4. Selama waktu proses 0, 15, 30 dan 45 menit, sistem UF mampu memekatkan total padatan dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam retentat berturut-turut 0,18, 0,2607, 0,2445 dan 0,2026% dan meloloskan total padatan dalam permeat berturut-turut 0,004, 0,0099, 0,005 dan 0,0019% dengan nilai rejeksi berkisar 96,6 – 99,1% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan hampir sempurna. Kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 selama waktu proses 0, 15, 30 dan 45 menit, sistem UF mampu memekatkan total padatan dalam retentat berturut-turut 0,019, 0,03, 0,09 dan 0,025% dan meloloskan total padatan dalam permeat berturut-turut 0,003, 0,004, 0,0133 dan 0,0033% dengan nilai rejeksi pada kisaran 81,31 – 86,85% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan kurang sempurna. Waktu pemekatan optimum untuk kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 terhadap total padatan masing-masing 15 dan 30 menit. Pada waktu proses optimum ini, kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 menghasilkan dengan nilai rejeksi 96,63%, sedangkan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 menghasilkan nilai rejeksi

**Tabel 1.** Rejeksi komponen pada biomassa sagu dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 melalui membran ultrafiltrasi (UF) 100.000 MWCO.

Jenis Bahan	Waktu pemekatan (menit)	Rejeksi (%)			
		Gula reduksi	Total Padatan	Total Asam	Total Mikroba
<i>Lactobacillus</i> sp. FU 0811	0	87,9	97,8	12,9	100
	15	85,7	96,6	32,1	100
	30	90,5	97,9	40,2	100
	45	90,6	99,1	25,9	100
<i>Enterobacter</i> sp. FU 0813	0	0	81,4	30,3	100
	15	42,8	86,8	17,6	100
	30	66,6	85,2	22,6	100
	45	68,7	86,6	18,5	100

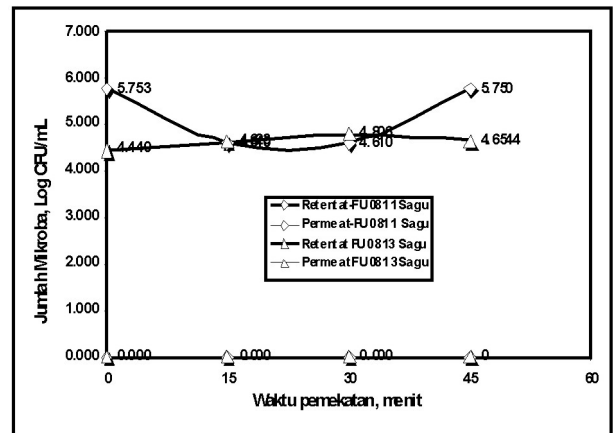
85,2% atau tingkat pemisahan kurang sempurna. Waktu proses optimum dan rejeksi total padatan terhadap membran diduga disebabkan oleh perbedaan konsentrasi total padatan awal proses kedua jenis bahan tersebut yang berpengaruh terhadap laju pemekatan. Pengurangan air yang lolos melewati pori-pori membran menyebabkan terjadinya akumulasi solut pada permukaan membran meskipun membran mempunyai batas maksimal pemisahan (30% dari total bahan) (Mulder, 1996).



**Gambar 4.** Hubungan antara waktu dan konsentrasi total padatan dari jenis kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 pada pemekatan kultur bakteri usus dalam biomassa sagu melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar.

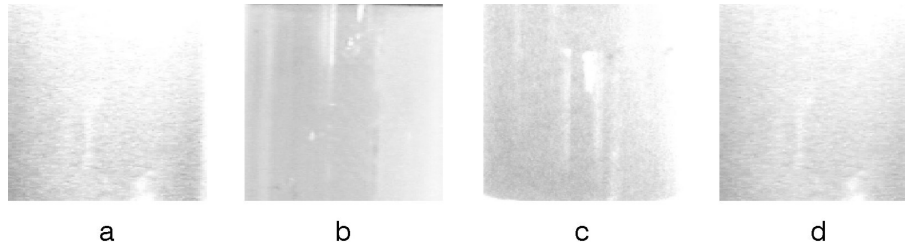
**Jumlah mikroba total**

Sistem *cross-flow* pada membran UF mampu memisahkan dan memekatkan sel mikroba berdasarkan ukuran partikel, dimana kedua kultur tersebut lebih banyak tertahan dalam retentat daripada lolos dalam permeat. Jumlah mikroba total pada kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 lebih banyak daripada jumlah mikroba total pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813, seperti ditunjukkan pada Gambar 5. Selama waktu proses 0, 15, 30, dan 45 menit, sistem UF mampu menghasilkan sel *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam retentat berturut-turut 5,753; 4,61; 4,61; dan 5,75 log CFU/mL dan tidak meloloskan sel *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam permeat (0 log CFU/mL) dengan nilai rejeksi 100% (Tabel 1) tingkat pemisahan sempurna. Sedangkan jumlah mikroba total pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam retentat selama waktu proses 0, 15, 30 dan 45 menit memberikan 4,4; 4,623; 4,806; dan 4,6544 log CFU/mL dan tidak meloloskan sel mikroba dalam permeat (0 log CFU/mL) dengan nilai rejeksi 100% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan sempurna.



**Gambar 5.** Hubungan antara waktu dan jumlah bakteri total dari jenis kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 pada pemekatan kultur bakteri usus dalam biomassa sagu melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar.

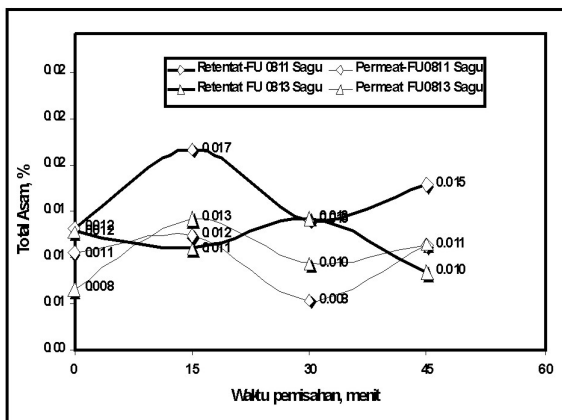
Kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 tidak mengalami peningkatan jumlah sel mikroba total selama proses pemekatan, namun peningkatan optimal jumlah mikroba total pada kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 dalam retentat terjadi pada waktu 30 menit dari 4,4 log CFU/mL pada 0 menit menjadi 4,806 log CFU/mL pada 30 menit sebesar 7,6%, sedangkan pada permeat tidak terdeteksi lolosnya mikroba. Keadaan ini menunjukkan bahwa membran semipermeabel ideal dan partikel bebas melewati membran. Hal ini terjadi karena ukuran pori-pori membran UF yang berkisar antara 2–50 nanometer (nm) atau memiliki ukuran 100.000 MWCO (Cheryan, 1992) mampu menahan partikel dengan BM > 100.000 MWCO dengan tipe aliran melintang (*cross-flow*) atau partikel makromolekul > 5000 g/mol (ukuran partikel 0,001–0,1 µm (Woerner, 2004). Dengan ukuran sel *Lactobacillus bulgaricus* pada kisaran 0,5–1,2 × 1–10 µm dan bakteri-bakteri coccus dengan diameter < 1 µm (Batt, 1999; Tamime & Marshall, 1997) dimungkinkan akan tertahan sebagai retentat, sedangkan komponen dengan BM < 100.000 MWCO lolos sebagai permeat. Dengan ukuran mikroba yang lebih besar daripada ukuran pori-pori membran UF memungkinkan terjadinya penumpukan Bakteri Asam Laktat (BAL) pada permukaan membran sebagai retentat dan hanya sedikit atau tidak lolos bersama dengan permeat, meskipun sejumlah sel dapat saja berubah bentuk menjadi lebih kecil daripada pori-pori membran. Proses pemekatan ini memungkinkan terjadinya juga kematian sel karena mengalami kerusakan dinding sel dan tidak aktifnya enzim intraselluler karena tekanan operasi yang tinggi.



**Gambar 7.** Tingkat kejernihan konsentrat kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 (a), permeat kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 (b), konsentrat kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 (c), permeat kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 (d), dari biomassa sagu (*Metroxylon* sp.) hasil teknik membran UF cross-flow pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar selama 30 menit.

### Total Asam

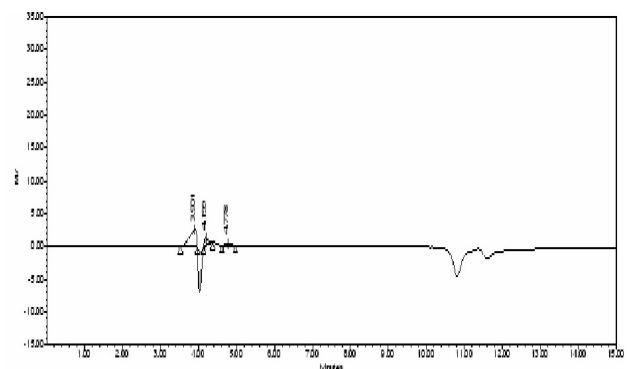
Terhadap komposisi konsentrat sebagai hasil metabolit menunjukkan bahwa waktu pemekatan yang lama akan meningkatkan konsentrasi total asam dalam retentat dan permeat, seperti ditunjukkan dalam Gambar 6.



**Gambar 6.** Hubungan antara waktu dan konsentrasi total asam dari jenis kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 pada pemekatan kultur bakteri usus dalam biomassa sagu melalui membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar.

Asam laktat sebagai total asam tertitrisasi merupakan metabolit mikroba dimana kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 juga memungkinkan menghasilkan asam-asam, terutama asam laktat. *Lactobacillus* sp. FU 0811 diduga berkerabat dengan *Lactobacillus plantarum* (Dinoto, 2010) dan termasuk bakteri-bakteri asam laktat. Kedua jenis bakteri usus ini dapat memfermentasikan substrat (sagu) dengan memanfaatkan karbohidrat (glukosa, maltosa, fruktosa) dari media (sagu) meskipun secara natural tanpa fortifikasi susu (skim) sebagai sumber laktosa. Asam laktat dihitung sebagai asam total tertitrisasi dan merupakan parameter

terjadinya proses metabolisme laktosa homofermentatif (Tamime dan Marshall, 1997). Selama waktu proses 0, 15, 30, dan 45 menit, sistem UF mampu memekatkan total asam dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam retentat berturut-turut 0,012; 0,017; 0,013; dan 0,015% dan meloloskan total asam dalam permeat berturut-turut 0,011; 0,012; 0,008; dan 0,011% nilai rejeksi berkisar antara 12,9–40,2% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan tidak sempurna. Sedangkan untuk kultur *Enterobacter* sp. FU 0813, sistem UF mampu memekatkan total asam dalam retentat selama 0, 15, 30 dan 45 menit berturut-turut 0,012; 0,011; 0,013; dan 0,01% dan meloloskan total asam dalam permeat berturut-turut 0,008; 0,013; 0,01; dan 0,011% dengan nilai rejeksi berkisar antara 17,6–30,3% (Tabel 1) atau tingkat pemisahan tidak sempurna. Waktu pemekatan optimum dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 terhadap total asam dalam retentat masing-masing 15 menit (0,017%) dan 30 menit (0,013%). Pada waktu pemekatan optimum ini, kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 memberikan nilai



**Gambar 8.** Kromatogram senyawa EPS dalam retentat hasil pemekatan dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dengan biomassa sagu via membran UF 100.000 MWCO pada kecepatan motor pompa 20 Hz (laju alir 7,5 L/menit), suhu ruang dan tekanan operasi 5 bar selama 45 menit melalui analisis HPLC.

**Tabel 2.** Interpretasi komponen eksopolisakarida (EPS) dalam retentat kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 melalui instrument HPLC.

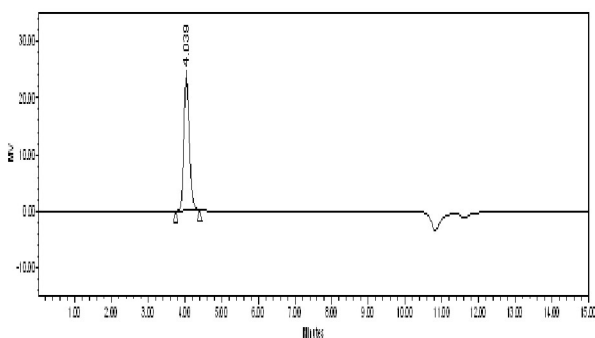
No.	Name & Berat Molekul (BM)	Migration Time	Area	Height
1	Dekstran (BM 10.500 Da.)	3,901	30463	2454
2	Maltoheksaosa (BM 342.3 Da.)	4,199	6967	1020
3	Laktosa (BM 990,86 Da.)	4,778	4381	426

rejeksi 32,1%, sedangkan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 memberikan nilai rejeksi 22,64% atau tingkat pemisahan tidak sempurna. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh BM asam-asam organik sebagai total asam yang lebih kecil dari kemampuan pori-pori membran UF untuk memisahkan dan memekatkan senyawa dengan  $BM \leq 100.000$  MWCO sehingga perbandingan konsentrasi asam-asam organik ini dalam retentat dan permeat hampir sama. Dengan kata lain, tingkat selektivitas teknik membran UF rendah.

Secara keseluruhan, proses pemekatan kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan *Enterobacter* sp. FU 0813 dari biomassa sagu melalui sistem membran UF secara cross-flow pada kondisi operasi berupa kecepatan motor pompa 20 Hz, suhu ruang dan tekanan 5 bar selama 30 menit sebagai waktu proses optimal berdasarkan efisiensi proses dan konsentrasi total asam sebagai EPS, menghasilkan retentat dan permeat dengan tingkat kejernihan, seperti ditunjukkan pada masing-masing pada Gambar 7a, 7b, 7c dan 7d. Retentat berupa suspensi merah muda keruh dan cukup kental (biomassa sagu), sedangkan permeat berupa cairan jernih sedikit kemerahan bersifat koloid.

### Identifikasi Komponen EPS

Analisis retentat dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 selama waktu proses 45 menit melalui HPLC memperlihatkan jenis senyawa EPS sebagai Dekstran (BM 10.500 Da.), Maltoheksaosa (BM 342,3 Da.) dan Laktosa (BM 990,86 Da.) masing-masing ditunjukkan

**Gambar 9.** Kromatogram standar Dekstran (BM 10.500 Da.) melalui analisis HPLC.

dengan waktu migrasi 3,901; 4,199; dan 4,778 menit, seperti ditunjukkan pada Gambar 8, sedangkan Gambar 9 memperlihatkan kromatogram standar Dekstran (BM 10.500 Da.). Interpretasi analisis EPS melalui HPLC ditunjukkan pada Tabel 2.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sistem membran UF secara cross-flow mampu menahan metabolit dan mikroba dalam retentat lebih banyak daripada lolos dalam permeat. Semakin lama waktu pemekatan akan meningkatkan konsentrasi total padatan, gula reduksi dan total asam serta jumlah mikroba total, namun menurunkan nilai fluks permeat. Berdasarkan konsentrasi gula reduksi sebagai EPS, waktu proses pemekatan optimum dicapai pada 30 menit yang menghasilkan nilai fluks permeat masing-masing 43,66 dan 40,83 L/m<sup>2</sup>.jam serta konsentrat kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dan konsentrat *Enterobacter* sp. FU 0813 dengan rejeksi gula reduksi, total padatan, total asam dan jumlah mikroba terhadap membran masing-masing 90,5%, 97,9%, 40,2% dan 100% serta 66,6%, 85,2%, 22,6% dan 100%. Pada kondisi optimum ini dihasilkan konsentrat dan permeat dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dengan konsentrasi gula reduksi sebagai EPS masing-masing 0,42 dan 0,04 mg/mL, total padatan 0,2443 dan 0,005%, jumlah mikroba total 4,61 dan 0 log CFU/mL serta total asam 0,013 dan 0,08%. Sedangkan kultur *Enterobacter* sp. FU 0813 menghasilkan konsentrat dan permeat dengan konsentrasi gula reduksi masing-masing 0,18 dan 0,06 mg/mL, total padatan 0,0901 dan 0,0133%, jumlah mikroba total 4,806 dan 0 log CFU/mL serta total asam 0,013 dan 0,01%. Identifikasi retentat dari kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dengan waktu proses 45 menit melalui HPLC menunjukkan adanya senyawa EPS sebagai Dekstran (BM 10.500 Da.), Maltoheksaosa (BM 342,3 Da.) dan Laktosa (BM 990,86 Da.).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia atas diikutsertakan kegiatan ini di dalam Program Insentif, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia – Ristek, Tahun Anggaran 2010.

**DAFTAR PUSTAKA**

- AOAC, 1995. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, Washington DC.
- Anonim, 1999. Membrane Technology For Process Bioseparations, MILLIPORE, USA.
- Anonim, 2002. *Katalog dan Manual Stirred Ultrafiltration Cells*, Amicon; Anonim. 2000. Operating Manual of DSS LabUnit M20. Danish Separation Systems AS (DSS), Denmark, January.
- Anonim, 2005. Membrane Techology For Process Industry, [http www.pcims.com./images/TP105.5us.pdf](http://www.pcims.com/images/TP105.5us.pdf); PCI Membrane System Inc., Milford, USA.
- Batt CA, RKRobinson, and PDPatel, 1999. Encyclopedia of Food Microbiology, Academic Press, New York.
- 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 Ratan, Florida.
- Dinoto dkk, 2010. Produksi Eksopolisakarida bakteri usus berbahan baku tepung sagu (*Metroxylon* sp.) untuk drug delivery sistem berbentuk nano partikel dan hidrogel, Laporan Kegiatan Tahap I Tahun Anggaran 2010, Kegiatan Program Insentif, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia - Ristek, Pusat Penelitian Biologi – LIPI, Cibinong, Bogor.
- Fellows PJ, 1992. Food Processing Technology: Principles and Practices, Ellis Horwood, New York.
- Michael AS, 1989. Handbook of Industrial Membrane Technology, Noyes Publications, Park Ridge, USA.
- Mulder MHV, 1996. Basic Principles of Membrane Technology, Kluwer Academic Publishers, Dordecht, The Netherlands;
- R Tallon *et al*, 2003. Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56, Journal of Research in Microbiology, 154, 705–712, [w.w.w.Elsevier.com/locate/resmic](http://www.w.w.Elsevier.com/locate/resmic).
- Raja Ghosh, 2003. Protein Bioseparation Using Ultrafiltration : Theory, Applications and New Developments, Imperial College Press, London, 105–109;
- Srikandi Fardiaz, 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan, ISBN 979-493-02-4, IPB Press, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Tamime, A.Y. and V.M.E. Marshall. 1997. Microbiology and Technology of Fermented Milks. In Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milks. Second Ed., Edited by B. A. Law, Blackie Academic and Professional, London.
- Woemer DL, 2004. Membrane Technology In Textile Operations. Koch membrane System. <http://w.w.w.p2pays.org/ref/04/03269.pdf>.
- Yonghun Lee dan Mark M Clark, 1998. Modeling of flux decline during cross flow ultrafiltration of colloidal suspensions, Journal of Membrane Science 149, 181.
- Zeman LJ& Zydney AL, 1996. Microfiltration and Ultrafiltration: Principles and A Applications. Marcel Dekker, New York.

Reviewer: **Tim Reviewer**