

Pemisahan Eksopolisakarida (Eps) Sebagai Metabolit Bakteri Usus untuk Aditif Makanan dalam Biomassa Pati Sagu (*Metroxylon* sp.) dan Glukosa melalui Sistem Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk

Separation of Exopolysaccharides (Eps) As Colon Bacteria Metabolism for Food Additive in Sago Starch Biomass (Metroxylon sp.) and Glucose through Membrane Cell Microfiltration System

Agustine Susilowati^{a)}, Aspiyanto^{b)}, Achmad Dinoto^{a)}
dan Puspa D. Lotulung^{a)}

^{a)}Pusat Penelitian Kimia - LIPI, PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang Selatan – 15314
Telephone +62-021-7560929 & E-mail: agustine_1408@yahoo.co.id

^{b)}Pusat Penelitian Biologi - LIPI, Cibinong, Bogor,
Telephone +62-021-8765067 & E-mail: achmaddinoto@yahoo.com

Naskah diterima : 25 Oktober 2012;

Revisi pertama : 29 Nopember 2012;

Revisi terakhir : 13 Desember 2012

ABSTRAK

Kultur bakteri usus *Lactobacillus* sp. FU-0811 dan *Enterobacter* sp. FU-0813 yang ditumbuhkan pada medium berupa biomassa pati sagu (*Metroxylon* sp.) menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yang berpotensi sebagai aditif makanan (pengental, pengemulsi, penstabil, pembawa). Penggunaan pati sagu merupakan alternatif biomassa selain glukosa. Melalui pemisahan dengan sistem membran mikrofiltrasi (MF) 0,15 µm berpengaduk diharapkan EPS dan metabolit lainnya diperoleh dengan konsentrasi lebih optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemisahan EPS hasil pertumbuhan bakteri usus *Lactobacillus* sp. FU-0811 dan *Enterobacter* sp. FU-0813 masing-masing dalam media biomassa pati sagu dan sebagai pembanding digunakan biomassa glukosa pada kondisi proses pemurnian tetap (kecepatan putar sel pengaduk 400 rpm, suhu ruang dan tekanan proses 40 psia) terhadap metabolit dengan komposisi terbaik sebagai bahan *food aditif*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis biomassa, jenis mikroba dan sistem membran MF berpengaruh terhadap tingkat pemisahan metabolit. Retentat atau konsentrat hasil pemisahan memiliki komposisi dan jumlah mikroba lebih baik daripada permeat atau ekstrak untuk kedua jenis bahan tersebut. Proses membran MF terhadap biomassa glukosa dengan *Lactobacillus* sp. FU-0811 dan *Enterobacter* sp. FU-0813 masing-masing mampu menahan EPS sebagai gula reduksi dalam retentat atau konsentrat berturut-turut 73,73 persen dan 47,33 persen, serta pada biomassa pati sagu berturut-turut 95,5 persen dan 83,435 persen apabila dibandingkan dengan total gula reduksi dalam permeat dan retentat atau konsentrat pada masing-masing biomassa. Hasil identifikasi metabolit melalui LC-MS memperlihatkan bahwa intensitas senyawa monosakarida dalam retentat atau konsentrat lebih tinggi daripada yang terdapat di dalam permeat.

kata kunci: pati sagu (*Metroxylon* sp.), glukosa, *Lactobacillus* sp. FU-0811, *Enterobacter* sp. FU-0813, mikrofiltrasi (MF)

ABSTRACT

Colon bacteria culture of *Lactobacillus* sp. FU-0811 and *Enterobacter* sp. FU-0813 grown on biomass of sago (*Metroxylon* sp.) produced exopolysaccharides (EPS) that have an important potential use as food additive (thickener, emulsifier, stabilizer and carrier). The use of sago starch is an alternative biomass beside glucose. By applying the stirred microfiltration membrane (0.15 μm of pore size) cell, the biomass was separated to get EPS and other metabolites with more optimal concentration. The goal of this experiment was to find out separation effect of EPS as a result of the growth of colon bacteria of *Lactobacillus* sp. FU-0811 and *Enterobacter* sp. FU-0813 in the biomass of sago starch. As a comparison, glucose was used on fixed condition of purification process (rotation speed of stirrer cell of 400 rpm, room temperature and pressure of 40 psia) and the best composition of metabolite as food additive agent. The result showed that the type biomass, microbe, and MF membrane system influenced on the level of metabolite separation. The retentate or the concentrate of separation had better composition and microbial count than that of the permeate or extract for both biomasses. The process of MF membrane on glucose biomass with *Lactobacillus* sp. FU-0811 and *Enterobacter* sp. FU-0813 were subsequently able to retain EPS as reducing sugar in the retentate or concentrate by 73.73 percent and 47.33 percent, and the biomass of sago starch by 95.5 percent and 83.435 percent when compared to total of reducing sugar in permeate and retentate or concentrate for each biomass. The result of metabolite identification through LC-MS instrument displayed that greater intensity of monosaccharide compound was found in the retentate or concentrate than that of in the permeate.

keywords: sago starch (*Metroxylon* sp.), glucose, *Lactobacillus* sp. FU-0811, *Enterobacter* sp. FU-0813, microfiltration (MF)

I. PENDAHULUAN

Kultur bakteri usus sebagai *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp UF 0813 masing-masing pada biomassa sago dan glukosa berpotensi sebagai kultur penghasil eksopolisakarida, suatu senyawa multi fungsional diantaranya sebagai bahan food aditif (pengental, pengemulsi, penstabil) dan bahan pembawa (*carier*) dalam industri farmasi (Dinoto, A., dkk., 2010). Pemilihan atas pati sago (*Metroxylon* sp.) sebagai biomassa adalah karena sago didapat secara berlimpah di Indonesia bagian timur (Ambon dan Maluku) sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomik tanaman lokal. Sebagai penghasil eksopolisakarida, bakteri-bakteri usus adalah salah satu bakteri yang berpotensi dalam menghasilkan eksopolisakarida selain genus yang lain. *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp UF 0813 yang diisolasi dari penduduk Ambon diharapkan mempunyai kemampuan dalam menghasilkan eksopolisakarida. Eksopolisakarida merupakan suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroba melalui proses metabolisme yang kemudian diekskresikan ke luar sel (R. Tallon, dkk., 2003). Kultur

Lactobacillus sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp UF 0813 masing-masing pada biomassa pati sago dan glukosa dapat dimurnikan untuk memperoleh konsentrat yang lebih pekat dengan komposisi lebih baik melalui membran mikrofiltrasi. Sistem ini dipilih karena teknologi membran memiliki keragaman proses lebih luas dengan efek samping minimal (Zeman, L.J. & Zydney, A.L, 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 0,15 μm memungkinkan pemisahan eksopolisakarida dan bakteri usus dari komponen lain dan mampu menyaring makromolekul > 500.000 g/mol (partikel berukuran 0,1 – 10 μm). Komponen lemak (1 – 10 μm), protein (0,04 – 2 μm), gula (8 – 20 μm) dimungkinkan untuk tertahan pada permukaan membran sedangkan monosakarida (laktosa) (0,001 μm), peptida (0,01 – 0,1 μm) dan garam (0,001 – 0,01 μm) akan lolos sebagai permeat (Anonim, 2005.). Pemurnian kultur bakteri usus melalui mikrofiltrasi sel berpengaduk merupakan

upaya untuk memisahkan komponen-komponen kultur (gula, padatan, mikroba) pada skala laboratorium (volume $\pm$ 200 mL) sebagai proses awal untuk skala pemurnian yang lebih besar (semi pilot, $\pm$ 9000 mL) pada proses produksi. Kondisi operasi mikrofiltrasi dipengaruhi oleh jenis bahan, tekanan, waktu dan laju alir fluida. Kultur bakteri usus mengandung komponen-komponen dengan ukuran partikel dan berat molekul beragam sesuai dengan jenis biomassa sehingga memungkinkan diperolehnya tingkat kemurnian yang berbeda. Dengan ukuran sel *Lactobacillus* sp pada kisaran 0,5 - 1,2 x 1 - 10 μ m (Batt, C.A., R.K. Robinson & P.D. Patel, 1999; Tamime, A.Y. & V.M.E. Marshall, 1997) dimungkinkan akan tertahan sebagai retentat sedangkan komponen dengan ukuran partikel lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran akan lolos sebagai permeat. Kinerja membran mikrofiltrasi, terutama dipengaruhi oleh tekanan, laju alir dan waktu proses, jenis umpan (bahan/ feed) dan jenis material membran. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kondisi proses pemurnian tetap (tekanan proses 40 psia, kecepatan putar sel pengaduk 400 rpm, selama 30 menit, suhu ruang) terhadap metabolit dari kultur bakteri usus, yang dibiakkan pada jenis biomassa yang berbeda sehingga dihasilkan konsentrat dengan komposisi terbaik sebagai sebagai bahan *food aditif* (pengental, pengemulsi, penstabil, pembawa/*carier*).

II. METODOLOGI

2.1. Bahan dan Peralatan

Bahan media yang digunakan dalam penelitian ini berupa pati sagu (*Metroxylon* sp) segar dari daerah Maluku (Seram) dan glukosa, kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 dari Pusat Penelitian Biologi-LIPI; bahan kimia untuk analisa dan membran mikrofiltrasi polisulfon komersial berpori-pori 0,15 μ m (GRM-0.15-PP) dengan luas permukaan efektif 30,175 cm²/membran (Danish Separation Systems, Denmark) (Anonim, 1999). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini berupa filtrasi (*High Separation Frequency*) dan sel mikrofiltrasi berpengaduk (Amicon, 8200) (Anonim, 2002). Peralatan analisis utama adalah Spektrofotometer UV-1201, LC-MS (Mariner Biospectrometry) dengan LC (Hitachi L 6200)

(Eichhorn, P dan Knepper, T.P, 2001), peralatan untuk analisis mikrobiologi dan peralatan gelas untuk analisis kimia.

2.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan variasi (i) jenis mikroba yaitu *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp -FU 0813 dan jenis media/biomassa yaitu *Enterobacter* sp -FU 0813 dengan jenis media; (ii) yaitu pati sagu (*Metroxylon* sp.) dan glukosa dengan perlakuan pemisahan menggunakan membrane mikrofiltrasi 0,15 μ m pada kondisi tetap: tekanan proses 40 psia, kecepatan putar 400 rpm, suhu ruang selama 30 menit. Analisis dilakukan terhadap komposisi biomassa/metabolit meliputi konsentrasi total padatan, EPS sebagai gula pereduksi (AOAC, 1998) dan jumlah mikroba (TPC) (Srikandi Fardiaz, 1998) pada feed (umpan), retentat & permeat dari proses MF serta kinerja membrane (fluks). Identifikasi metabolit sebagai eksopolisakarida dilakukan melalui LC-MS pada kondisi proses pemisahan terbaik (optimum) (Eichhorn, P dan Knepper, T.P, 2001).

2.3. Tahapan Proses

2.3.1. Pembuatan Biomassa Bakteri Usus

Bakteri usus diisolasi dari faeces penduduk Bogor. Diperoleh 2 jenis kultur sel dengan identifikasi sebagai *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 dan disimpan dalam larutan glycerol pada suhu 8°C dengan penambahan CO₂ dalam botol tertutup. Untuk membuat biomassa dengan media pati 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 suhu 37°C, selanjutnya ditambahkan 3 – 5 persen kultur pada biomassa (I) yang terdiri atas larutan pati sagu (20 gram/L) yang diperkaya dengan Tryptone (4 gram/L). Biomassa glukosa (II) dibuat dari 40 g glucose/ L (Dinoto, A, dkk., 2010).

2.3.2 Filtrasi Biomasa Lolos 200 Mesh

Sejumlah biomassa/kultur sel (500 ml) difiltrasi melalui *High Frequency Separator* lolos 200 mesh. Filtrat merupakan *feed* untuk proses pemisahan EPS melalui membrane mikrofiltrasi sel berpengaduk dengan ukuran pori 0,15 μ m.

2.3.3 Proses Pemisahan Biomasa Bakteri Usus melalui Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk 0,15 Mm.

Sistem mikrofiltrasi berupa sel berpengaduk buatan Amicon berkapasitas 180 ml. Sebelum digunakan, sel berpengaduk diisi dengan aquades sebanyak 50 ml untuk membasahi membran. Sel berpengaduk kemudian dikosongkan dan diisi kembali dengan biomasa pati sagu dari *Lactobacillus* sp FU 0811 hasil pemisahan melalui *High Separation Frequency* lolos 200 mesh, kemudian suspensi diaduk dengan kecepatan 400 rpm pada tekanan 40 psia, selama ± 30 menit dengan mengalirkan gas nitrogen dari tabung nitrogen. Permeat yang lolos kemudian ditampung dan dicatat volumenya dan dianalisis. Pada akhir proses mikrofiltrasi, membran dalam sel berpengaduk dibilas dengan aquadest dan fluks air melalui membran dicatat pada kondisi tekanan sama selama pemisahan suspensi (Anonim, 2002). Percobaan yang sama dilakukan terhadap biomasa pati sagu dari *Enterobacter* sp FU 0813, biomasa dari *Lactobacillus* sp FU 0811 lolos 200 mesh dan biomasa glukosa dari *Enterobacter* sp -FU 0813 lolos 200 mesh dengan kondisi operasi yang sama (kecepatan putar 400 rpm, tekanan 40 psia, suhu ruang, selama ± 30 menit).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakteristik Biomasa Sebagai Feed (Umpan)

Biomasa *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp -FU 0813 lolos 200 mesh masing-masing dalam media pati sagu berupa suspensi keruh, berwarna merah muda sedangkan dengan media glukosa berupa suspensi keruh, putih kekuningan. Gambar 1a,

1 b, 1c dan 1d masing-masing memperlihatkan biomasa *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp -FU 0813 dalam media pati sagu dan glukosa.

Biomassa dari pati sagu dengan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 berupa suspensi cukup kental masing-masing dengan kadar total padatan 2,64 dan 3,45 persen, keruh, kemerahan. Biomassa ini merupakan hasil pertumbuhan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 (3 – 5 persen) dengan substrat pati sagu pada konsentrasi 20 gram/L yang diperkaya dengan Tryptone (4 gram/L). Biomassa ini mempunyai kandungan gula reduksi masing-masing sebesar 0,66 dan 0,555mg/mL dengan jumlah mikroba masing-masing 2,5563 dan 1,7781 log CFU/mL. Komposisi ini lebih rendah dari pada kultur yang sama dengan biomasa dari glukosa masing-masing terhadap total padatan (3,9825 dan 4,0901 persen), gula reduksi (43,25 & 42,125 mg/mL) dan jumlah mikroba (4,8517 & 2,1641 log CFU/mL). Perbedaan utama komposisi ini disebabkan jenis biomasa dan jenis mikroba yang berpengaruh atas pertumbuhan, viabilitas mikroba dan pada akhirnya terhadap metabolit yang dihasilkan. Biomasa dari larutan pati sagu (20 persen b/v) merupakan polisakarida yang belum mengalami modifikasi (hidrolisis) sehingga memungkinkan kandungan gula reduksi lebih rendah dari pada biomasa glukosa.

3.2. Pengaruh Proses Mikrofiltrasi terhadap Kinerja Membran Sel Berpengaduk

Fluks adalah jumlah permeat yang keluar per satuan luas membran per satuan waktu yang menjadi parameter kinerja membrane.



Gambar 1. Biomasa *Lactobacillus* sp FU 0811 dalam media pati sagu (a), *Enterobacter* sp FU 0813 dalam media pati sagu (b), *Lactobacillus* sp FU 0811 dalam media glukosa (c) dan *Enterobacter* sp FU 0813 dalam media glukosa (d).

Fluks dipengaruhi oleh konsentrasi umpan dan kondisi proses membran (laju alir, tekanan, temperatur, jenis dan material membran, ukuran pori-pori membran). Masing-masing faktor akan memberikan pengaruh berbeda-beda terhadap fluks (Mulder, 1996). Proses pemisahan EPS melalui MF sel berpengaduk pada ukuran pori 0,15 μm dengan kecepatan putar sel pengaduk 400 rpm, tekanan proses 40 psia pada suhu ruang menghasilkan nilai fluks yang berbeda pada masing-masing *feed* seperti ditunjukkan pada Gambar 2. Perbedaan fluks ini disebabkan selain oleh faktor kondisi proses (kecepatan putar dan tekanan) juga dimungkinkan oleh jenis bahan terutama faktor kandungan total padatan bahan.

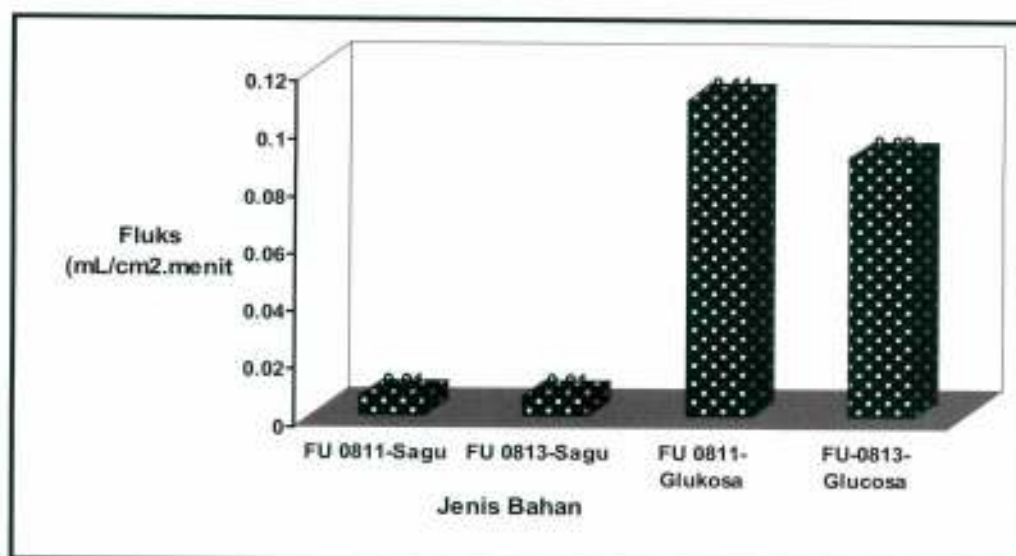
Total padatan merupakan akumulasi seluruh komponen bahan yang memiliki ukuran partikel dan berat molekul beragam. Padatan kering umpan biomasa glukosa dengan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 masing-masing adalah 3,9825, 2,6471 dan 4,0901, 3,4555 persen, sedangkan masing-masing kultur dengan biomasa sagu adalah 2,6471 dan 3,4555 persen. Melalui mikrofiltrasi dengan ukuran pori 0,15 μm , komponen berukuran partikel < ukuran pori membran akan lolos sebagai permeat, sementara pada ukuran partikel > ukuran pori membran akan tertahan pada permukaan sebagai retentat. Hal ini mengindikasikan bahwa komponen dalam biomasa glukosa baik dari kultur *Lactobacillus*

sp FU 0811 maupun *Enterobacter* sp FU 0813 memiliki ukuran pori < ukuran pori membran (0,15 μm) atau berberat molekul ≤ 500 Da (Anonim, 2005). Dari perbedaan nilai fluks ini diketahui bahwa biomasa glukosa dari kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 kemungkinan didominasi oleh komponen dengan ukuran partikel $\leq 0,15$ μm karena memiliki nilai fluks terbesar yaitu 0,11 mL/cm^2 .menit apabila dibandingkan fluks pada biomasa glukosa dari kultur *Enterobacter* sp FU 0813 (0,09 mL/cm^2 . menit), biomasa sagu dari kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 (masing-masing 0,01 mL/cm^2 . menit).

3.3. Pengaruh Proses Mikrofiltrasi terhadap Komposisi dan Jumlah Mikroba Retentat/Konsentrat Kultur

3.3.1. Eksopolisakarida (EPS) sebagai Gula reduksi

Proses pemisahan biomasa dengan jenis kultur yang berbeda melalui MF sel berpengaduk pada ukuran pori 0,15 μm , kecepatan putar sel pengaduk 400 rpm, tekanan proses 40 psia pada suhu ruang menghasilkan kandungan gula reduksi seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3. Gula reduksi merupakan indikasi terjadinya perubahan biokimia oleh pertumbuhan mikroba, dimana mikroba berinteraksi dengan bahan media. Komponen kultur akan terpisah berdasarkan ukuran partikelnya melalui sistem pemurnian dengan mikrofiltrasi sel berpengaduk.

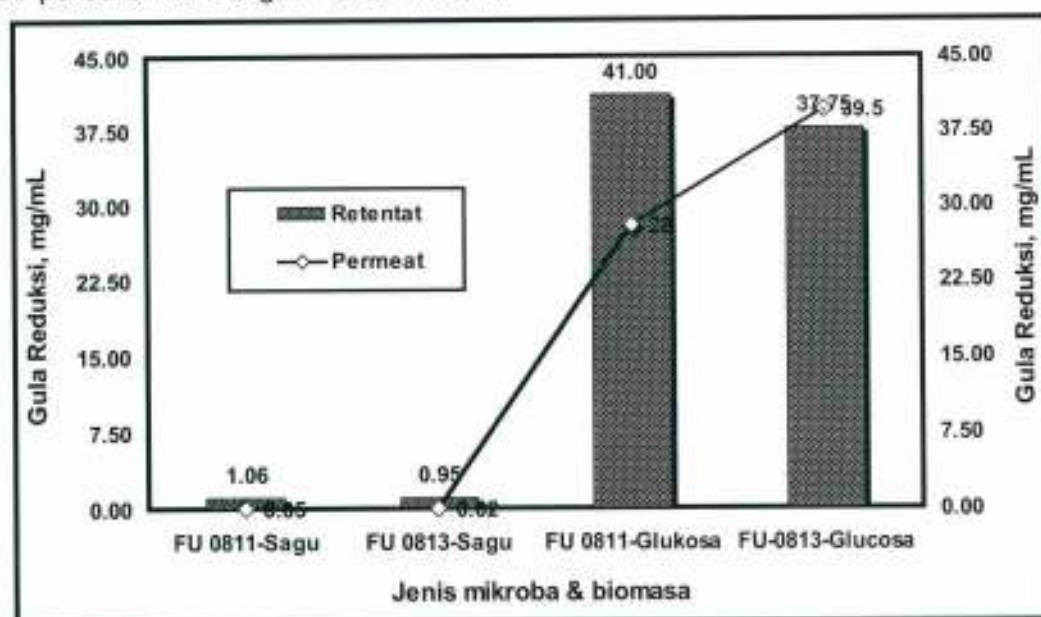


Gambar 2. Hubungan antara Jenis Bahan dan Kultur Bakteri Usus terhadap Nilai Fluks pada Pemisahan Eps melalui Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk .

Kemungkinan hal ini disebabkan oleh besarnya partikel gula 0,0008 – 0,001 μm (200 – 400 Da.) yang lebih kecil daripada ukuran pori-pori membran (0,15 μm) (Anonim, 2005; Woemer, I.G, 2004;). Ekspolisakarida sebagai gula reduksi hasil pertumbuhan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 maupun kultur *Enterobacter* sp FU 0813 pada sagu dan glukosa seharusnya akan tertahan lebih banyak pada retentat dari pada yang lolos pada permeat, terkecuali terjadi keadaan 'fouling'. Fouling adalah terperangkapnya komponen bahan pada permukaan membran yang disebabkan interaksi kondisi proses (tekanan dan kecepatan putar) dengan jenis bahan (sifat bahan, ukuran partikel, berat molekul) (Cheryan, 1992). 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. Gula pereduksi merupakan molekul gula (monosakarida atau sakarida) yang memiliki sifat pereduksi dengan adanya gugus hidroksil (OH) bersifat reaktif (Belitz, H.D dan Grosch, W, 1999.). Biomasa dari pati sagu menghasilkan EPS sebagai gula reduksi yang lebih rendah dari pada biomasa glukosa pada kedua jenis mikroba tersebut. Hal ini diduga disebabkan biomasa pati sagu masih berupa komponen polisakarida dengan berat molekul

(BM) besar. *L. plantarum* FU 0811 maupun kultur *Enterobacter* sp FU 0813 belum cukup mampu untuk menghidrolisis polisakarida menjadi monosakarida yang bersifat reduktan seperti pada media glukosa.

Sistem mikrofiltrasi menghasilkan pemisahan gula reduksi biomasa dari sagu pada kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 maupun kultur *Enterobacter* sp FU 0813 yang lebih rendah pada retentat dan permeat berturut-turut sebesar 1,06 dan 0,05 mg/mL & 0,95 dan 0,02 mg/mL dari pada biomasa dari glukosa baik pada kultur *L. plantarum* FU 0811 (41 dan 28 mg/mL), namun pada kultur *Enterobacter* sp FU 0813 menunjukkan gula reduksi yang lebih rendah (37,5 mg/mL) dari pada permeat (39,5 mg/mL). Diduga, kultur *Enterobacter* sp FU 0813 pada media glukosa menghasilkan monosakarida dengan ukuran partikel lebih kecil dari pada ukuran pori membran mikrofiltrasi (<0,15 μm) atau berukuran antara 0,0008 – 0,001 μm sehingga lebih banyak lolos pada permeat. Dengan demikian diketahui bahwa sistem mikrofiltrasi mampu menahan EPS sebagai gula reduksi dari kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan kultur *Enterobacter* sp FU 0813 dalam biomasa pati sagu pada retentat masing-masing sebesar 95,5 persen dan 83,435 persen dan dalam biomasa glukosa masing-masing sebesar 73,73 persen dan 47,33 persen dibandingkan



Gambar 3. Hubungan antara Jenis Bahan dan Kultur Bakteri Usus terhadap Gula Reduksi pada Retentat dan Permeat Hasil Pemisahan Eps melalui Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk.

dengan total gula reduksi dalam retentat dan permeat pada masing-masing biomasa.

3.3.2 Total Padatan

Sistem mikrofiltrasi menghasilkan pemisahan total padatan dalam retentat yang lebih tinggi daripada permeat seperti ditunjukkan pada Gambar 4.

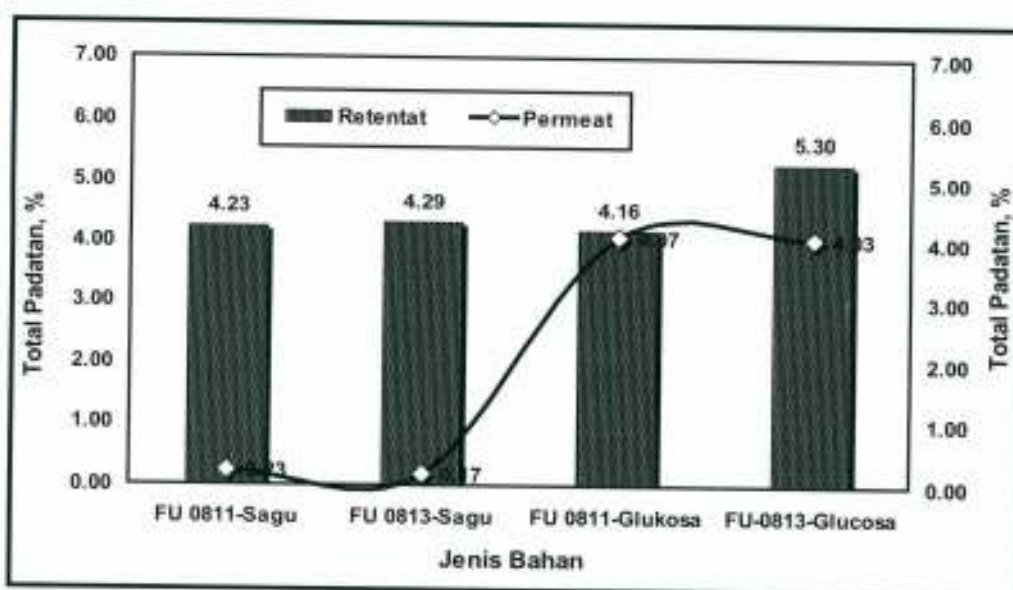
Perbedaan total padatan pada hasil mikrofiltrasi ini diduga disebabkan oleh perbedaan komposisi awal masing-masing komponen (gula pereduksi, mikroba, pati dan lain-lain) dalam total padatan *feed* yang berkontribusi langsung terhadap total padatan. Selain itu, kemungkinan disebabkan adanya *fouling* akan menghalangi difusi solut (Mulder, M. H. V, 1996) sehingga meningkatkan total padatan dalam retentat, meskipun ukuran partikel bahan < 0,15 μm . Kultur *Enterobacter* sp FU 0813 baik pada biomasa sagu maupun biomasa glukosa menghasilkan retentat dengan total padatan yang lebih tinggi masing-masing 4,29 dan 5,3 persen dari pada kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 masing-masing 4,23 dan 4,16 persen pada jenis biomasa yang sama, sedangkan total padatan yang lolos dalam permeat masing-masing sebesar 0,17 dan 0,03 pada kultur *Enterobacter* sp FU 0813 baik pada biomasa pati sagu maupun biomasa glukosa dan 0,23 dan 4,07 persen pada kultur *Lactobacillus*

sp FU 0811 pada jenis biomasa yang sama. Hal ini kemungkinan diduga oleh perbedaan aktifitas mikroba dan interaksinya dengan bahan selama pertumbuhan berlangsung sehingga menghasilkan total padatan yang berbeda. Dengan demikian diketahui bahwa sistem mikrofiltrasi mampu menahan total padatan dari *Lactobacillus* sp FU 0811 dan kultur *Enterobacter* sp FU 0813 dalam biomasa pati sagu pada retentat masing-masing sebesar 94,83 persen dan 96,13 persen dan dalam biomasa glukosa masing-masing sebesar 48,63 persen dan 55,21 persen dibandingkan dengan total padatan dalam retentat dan permeat pada masing-masing biomasa.

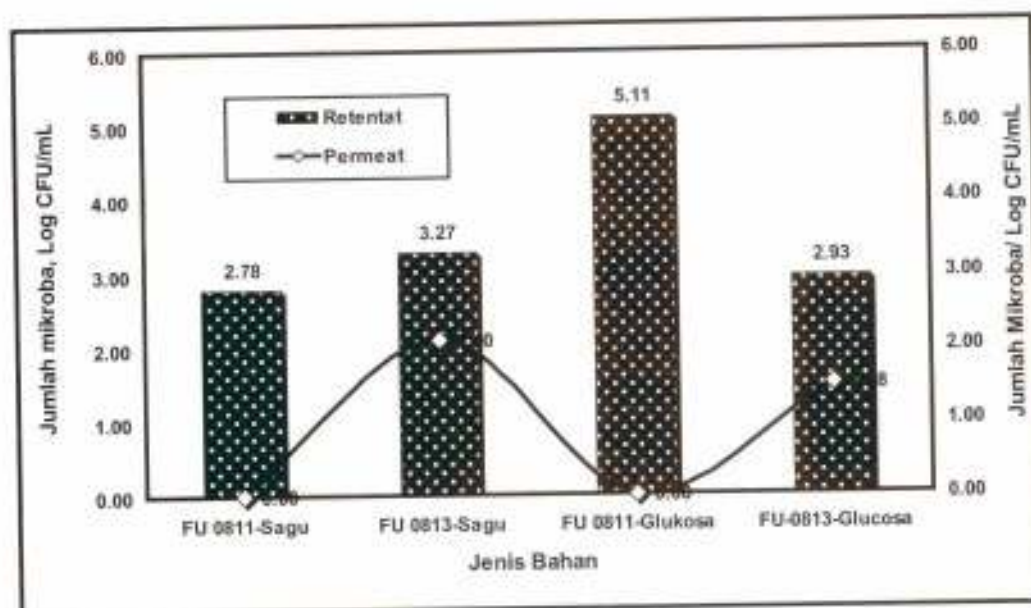
3.4. Jumlah Mikroba

Proses pemisahan menghasilkan jumlah mikroba yang tertahan lebih banyak dalam retentat dari pada jumlah mikroba yang lolos pada permeat untuk ke empat biomasa tersebut seperti ditunjukkan pada Gambar 5.

Efisiensi sistem mikrofiltrasi tampak pada biomasa pati sagu dan glukosa pada kedua jenis kultur tersebut, dimana tidak ditemukan mikroba dalam permeat (0), dengan kata lain sistem mikrofiltrasi mampu menahan seluruh mikroba untuk tidak lolos pada permeat atau efisiensi proses pemisahan adalah sempurna (Anonim, 1999). Hal ini disebabkan ukuran bakteri usus umumnya lebih besar daripada pori-



Gambar 4. Hubungan antara Jenis Bahan dan Kultur Bakteri Usus terhadap Total Padatan pada Retentat dan Permeat Hasil Pemisahan Eps melalui Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk.



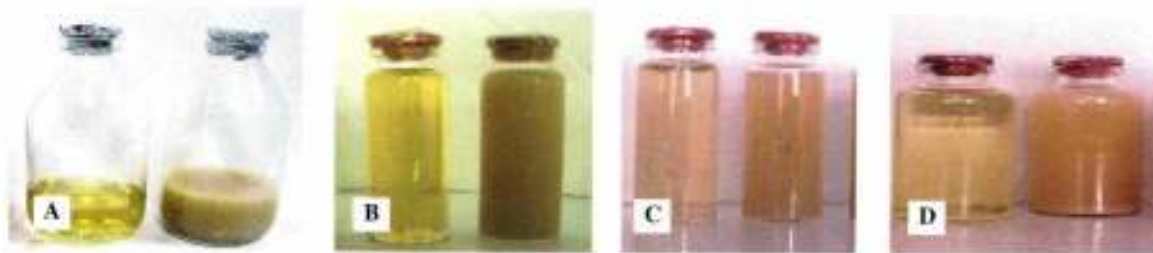
Gambar 5. Hubungan antara Jenis Bahan dan Kultur Bakteri Usus terhadap Jumlah Mikroba pada Retentat dan Permeat Hasil Pemisahan Eps melalui Mikrofiltrasi Sel Berpengaduk .

pori membran mikrofiltrasi (0,15 μm), sehingga memungkinkan terjadinya penumpukan mikroba pada pada retentat dan hanya sedikit yang lolos pada permeat. Diketahui bahwa *Lactobacillus* sp berbentuk batang dengan kisaran ukuran lebar sel antara 0,5 - 1,2 dan panjang antara 1 - 10 μm , sedangkan mikroorganisme pada umumnya mempunyai ukuran partikel berkisar antara ~ 0,3 - 10 μm (Batt, C.A., R.K. Robinson dan 6, P.D. Patel, 1999; Tamime, A.Y. & V.M.E. Marshall, 1997). Proses pemisahan ini juga memungkinkan terjadinya pemecahan (lisis) pada mikroba karena mengalami kerusakan dinding sel dan tidak aktifnya enzim intraselluler oleh interaksi perlakuan proses (tekanan, kecepatan laju alir, suhu dan waktu proses) yang memungkinkan mikroba mengalami perubahan bentuk sel, sehingga dapat melalui penghalang membran bahkan jika ukuran sel lebih kecil daripada pori-pori membran (S. B. Sadr Ghayeni, dkk., 1999). Perbedaan jumlah mikroba dalam retentat dan permeat juga kemungkinan disebabkan oleh faktor intern mikroba misalnya terjadinya perubahan viabilitas dimana faktor-faktor pertumbuhan, regenerasi maupun ketahanan terhadap interaksi proses dan komponen-komponen lain dalam biomassa maupun interaksinya dengan jenis material membran. Sistem mikrofiltrasi menunjukkan pemisahan optimum mikroba dalam retentat pada biomassa glukosa pada kultur FU 0811,

lebih tinggi (5,11 log CFU/mL) dari pada kultur FU 0813 (2,98 log CFU/mL) dan mikroba pada biomassa sagu dengan kultur FU 0811 (log 2,78 CFU/mL) atau kultur FU 0813 (3,78 log CFU/mL). Secara keseluruhan, total mikroba dalam retentat pada biomassa glukosa lebih tinggi dari pada biomassa sagu pada kedua jenis kultur mikroba tersebut. Dengan demikian diketahui bahwa sistem mikrofiltrasi mampu menahan total mikroba dari *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp FU 0813 dalam biomassa pati sagu pada retentat masing-masing sebesar 100 persen dan 60,88 persen dan dalam biomassa glukosa masing-masing sebesar 100 persen dan 66,45 persen dibandingkan dengan total mikroba dalam retentat dan permeat pada masing-masing biomassa. Secara keseluruhan proses pemisahan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dari biomassa dan pati sagu menghasilkan retentat dan permeat seperti ditunjukkan pada Gambar 6a, 6b, 6c dan 6d. Retentat berupa suspensi keruh dan cukup kental, berwarna merah muda (biomassa sagu) dan keruh kekuningan (biomassa glukosa), sedangkan permeat berupa cairan jernih, sedikit kemerahan (biomassa pati sagu) dan menyerupai koloid, putih sedikit kekuningan (biomassa glukosa).

3.5. Identifikasi Eksopolisakarida

Berdasarkan efesiensi proses pemisahan EPS melalui mikrofiltrasi dimaksud diketahui



Gambar 6. Permeat dan Konsentrat *Lactobacillus* sp FU 0811 dari media glukosa (a), Permeat dan konsentrat *Enterobacter* sp FU 0813 dari media glukosa (b), Permeat dan Konsentrat *Lactobacillus* sp FU 0811 dari media sagu (c), Permeat dan konsentrat *Enterobacter* sp FU 0813 dari media sagu (d).

bahwa kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dari biomasa pati sagu adalah optimal (95,5 persen) dalam memisahkan EPS sebagai gula reduksi. Identifikasi jenis gula pada retentat dan permeat hasil proses pemisahan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dari biomasa sagu dilakukan melalui LC-MS. Gambar 7 memperlihatkan kromatogram retentat dari kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dari biomasa pati sagu dimana peak 1,5 dengan waktu retensi 1,834 menit mempunyai intensitas tertinggi (100 persen), lebih tinggi dari pada senyawa yang lain yaitu peak T 2,0, T 3,4 dan T 5,5 masing-masing dengan intensitas berkisar antara 35 – 37 persen.

Massa spektrum dari T 1,5 ditunjukkan pada Gambar 8 yang memperlihatkan bahwa pada retentat diperoleh 17 senyawa-senyawa dengan BM berkisar antara 168,7-426,55 Da. Senyawa-senyawa dominan dalam Peak T 1,5 diperkirakan berturut-turut adalah senyawa

dengan M^+ 241,2 Da (BM 240,2 Da), M^+ 260,17 Da (BM 259,17 Da), M^+ 298,5 Da (BM 297,5 Da) dan M^+ 426,55 Da (BM 425,55 Da).

Senyawa-senyawa tersebut dimungkinkan tertahan pada retentat oleh karena terjadinya *fouling*. Seperti diketahui, analisis melalui LC-MS dilakukan berdasarkan detector ion sehingga pengukuran BM didasarkan atas M^+ dimana Berat Molekul adalah jumlah berat molekul + proton (Eichhorn, P dan Knepper, T.P, 2001). Kondisi operasi LC-MS adalah pada volume injeksi 20 μ l, laju alir 1 ml/menit dengan eluent campuran Metanol dan Air (mengandung 0,3 persen asam asetat) pada rasio 20:80.

Identifikasi EPS pada permeat hasil pemisahan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dari biomasa sagu memperlihatkan bahwa kromatogram dengan peak T 1,6 adalah dominan dengan intensitas 100 persen seperti ditunjukkan pada Gambar 9. Massa spektrum



Gambar 7. Kromatogram Eps dari Retentat (Konsentrat) dengan Kultur *Lactobacillus* sp. FU 0811 dalam Biomasa Pati Sagu melalui Analisis LC-MS

pada T 1,6 yang ditunjukkan pada Gambar 10 memperlihatkan bahwa pada permeat diperoleh 18 senyawa-senyawa dengan BM berkisar antara 131,53-561,98 Da dan senyawa dominan ini diperkirakan memiliki BM 131,39 Da (intensitas 100 persen), sedangkan senyawa dominan lainnya adalah berberat molekul 165,35 (intensitas 38 persen), 253,5 (intensitas 15 persen), 490,07 (intensitas 8 persen) dan 529,05 (intensitas 5 persen).

IV. KESIMPULAN

Sistem mikrofiltrasi mampu menahan metabolit dan mikroba lebih banyak dalam retentat dari pada yang lolos pada permeat. Berdasarkan efisiensi proses terbaik, sistem mikrofiltrasi mampu menahan EPS sebagai gula reduksi dalam retentat pada biomasa pati sagu dengan kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dan *Enterobacter* sp UF 0813 masing-masing sebesar 95,5 persen dan 83,435 persen dan dalam retentat pada biomassa glukosa masing-masing sebesar 73,73 persen dan 47,33 persen. Hasil identifikasi senyawa EPS melalui LC-MS pada kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dengan media biomasa pati sagu memperlihatkan intensitas senyawa monosakarida dalam retentat yang lebih tinggi daripada yang terdapat di dalam permeat. Berdasarkan komposisi, kultur *Lactobacillus* sp FU 0811 dengan biomassa glukosa menghasilkan EPS sebagai gula reduksi terbaik pada konsentrat/retentat dan permeat masing-masing sebesar 41 dan 28 mg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1999. Membrane Technology For Process Bioseparations, MILLIPORE, USA.; Anonim, 2002. *Katalog dan Manual Stirred Ultrafiltration Cells*, Amicon
- Anonim, 2005. *Membrane Technology For Process Industry*, http://www.pcims.com/images/TP105_5us.pdf; PCI Membrane System Inc., Milford, U.S.A.
- A.O.A.C., 1995. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, Washington D. C.
- Batt, C.A., R.K. Robinson and P.D. Patel. 1999. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press. New York.
- Belitz, H. D. and Grosch, W. 1999. *Food Chemistry*. Second Edition. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
- 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, A, 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.*
- Tallon, dkk. 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.Elsevier.com/locate/resmic).
- Eichhorn, P dan Knepper, T.P. 2001. Electrospray ionization mass spectrometric studies on the amphoteric surfactant cocamidopropylbetaine. *Journal of Mass Spectrometry* : 36: 677-684. ESWE Institute for water Research and water Technology, Soecheinstr, 158, D-65201 Wiesbaden, Germany.
- Mulder, M. H. V. 1996. *Basic Principles of Membrane Technology*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- S. B. Sadr Ghayeni, P. J. Beatson, A. J. Fane, and R. P. Schneider. 1999. Bacterial passage through microfiltration membranes in wastewater applications. *Journal of Membrane Science*, 153, 71.
- Srikandi Fardiaz. 1989. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. ISBN 979-493-02-4. IPB Press. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tamime, A.Y., 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.
- Zeman, L.J. & Zydney, A.L. 1996. *Microfiltration and Ultrafiltration : Principles and Applications*. Marcel Dekker. New York.
- Woemer, I.G. 2004. *Membrane Technology In Textile Operations*. Koch Membrane Systems, <http://www.p2pays.org/ref/04/03269.pdf> (on line, access in May, 16-2005).

BIODATA PENULIS :

Agustine Susilowati, adalah seorang peneliti madya dalam bidang Bahan Alam, Pangan & Farmasi dari Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong. Hasil penemuannya yang sudah dipatenkan & terakreditasi adalah Proses pembuatan makanan beku berbahan baku tempe dan produk yang diperoleh daripadanya (Es krim tempe), No. Paten ID 0 012 076. Menyelesaikan S1 dari Fakultas Teknologi Industri-Universitas Pasundan, Bandung 1991 dan S2-Pascasarjana-Magister Management, Institut Pengembangan Wiraswata Indonesia (IPWI), Jakarta, 1998.

Aspiyanto, adalah seorang peneliti utama di Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong. Menyelesaikan pendidikan S1 teknik Kimia di Institut Teknologi Surabaya.

Achmad Dinoto, adalah seorang peneliti muda di Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong. Menyelesaikan pendidikan S1 Biologi Lingkungan di Universitas Jenderal Soedirman tahun 1998, pendidikan S2 mikrobiologi terapan di Hokkaido University, Graduate School of Agriculture, Jepang tahun 2003, dan pendidikan S3 mikrobiologi juga di Hokkaido University, Graduate School of Agriculture, Jepang tahun 2006.

Puspa D. Lotulung, adalah seorang peneliti madya di Pusat Penelitian Kimia-LIPI, PUSPIPTEK-Serpong. Menyelesaikan pendidikan S1 Teknik Kimia di Universitas Padjadjaran dan pendidikan S2 kimia Terapan di Salah satu Universitas di Jepang.