

## PEROLEHAN HIDROLISAT PROTEIN DARI EKSTRAK KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.) TERFERMENTASI MENGGUNAKAN INOKULUM *Aspergillus* sp-K1 DAN *Rhizopus* sp-C1 MELALUI MEMBRAN MIKROFILTRASI

Aspiyanto dan Agustine Susilowati

Pusat Penelitian Kimia-LIPI

### ABSTRAK

Kacang merah memiliki sumber protein utama yang digunakan sebagai ingredient fungsional dalam sistem pangan. Ingredient fungsional dalam produk yang mengandung protein memainkan peranan lebih besar daripada pertimbangan nutrisi dalam pangan olahan. Aplikasi mikrofiltrasi dalam hidrolisat protein merupakan suatu proses yang menarik karena sifat-sifat fungsional protein mampu dipisahkan. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk memperoleh hidrolisat protein dari ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan bahan baku kacang merah melalui membran mikrofiltrasi. Proses pembuatan hidrolisat protein dari ekstrak kacang merah terfermentasi terdiri dari tahapan pembuatan inokulum kacang merah menggunakan *Aspergillus* sp-K1 atau *Rhizopus* sp-C1, fermentasi dengan menggunakan inokulum, garam dan kacang merah dengan ratio 30 : 10 : 60 % selama 12 minggu, pembuatan ekstrak kacang merah terfermentasi dengan menggunakan kacang merah terfermentasi dan air pada ratio 1 : 8 bagian serta pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan sel membran berpengaduk pada kecepatan putar 200 dan 400 rpm serta tekanan masing-masing 20, 25 dan 30 psia. Membran yang digunakan mempunyai ukuran pori-pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm dan 20 psia memberikan hasil terbaik dengan fluks pengamatan 0.0165 ml/cm<sup>2</sup>.menit dan kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat sebagai produk hidrolisat masing-masing 2 %, 10,3 mg/gram dan 6,13 %.

**Kata kunci :** kacang merah, fermentasi, membran, mikrofiltrasi, hidrolisat protein.

### ABSTRACT

Red beans have been the primary source of protein for use as functional ingredients in food systems. The functional ingredients of protein in protein containing products, such as red beans play a larger role than nutritional considerations in determining their acceptability as ingredients in prepared foods. The application of microfiltration in protein hydrolysate is a mild process which ensures that the functional properties of the original proteins are separated. The objective of this experiment was to recovery protein hydrolysate from fermented red beans as raw material through microfiltration membrane. Preparation process of protein hydrolysate from red beans include preparation of red bean inoculum using *Aspergillus* sp-K1 or *Rhizopus* sp-C1, fermentation of red bean with inoculum, salt and red beans ratios of 30 : 10 : 60 % for 12 weeks, preparation of fermented red bean extract with red beans and water ratio of 1 : 8 parts and separation of fermented red bean extract using stirred micro filtration membrane cell at stirrer speed of 200 and 400 rpm and pressure of 20, 25 and 30 psia, respectively. Membrane utilized in this microfiltration process has 0.45  $\mu\text{m}$  in pores size. The experiment result suggest that fermented red beans extract using *Rhizopus* sp-C1 through microfiltration membrane at 400 rpm and 20 psia gives the best results with observed flux of 0.0165 ml/cm<sup>2</sup>.minute and contents of total protein of 2.0 %, dissolved protein of 10.3 mg/gram and dry solid of 6.13 %.

**Keywords :** red beans, fermentation, microfiltration membrane, protein hydrolysate

## PENDAHULUAN

Kacang-kacangan merupakan salah satu komoditas palawija utama yang berkembang di beberapa negara Asia, termasuk Indonesia. Kacang-kacangan telah menjadi bagian penting dalam hal diet manusia selama ribuan tahun dan memiliki sumber utama protein dan karbohidrat tetapi miskin lemak sehingga keberadaannya perlu dikembangkan sebagai bahan baku dalam industri pangan. Dengan kebutuhan yang tinggi dalam hal kesehatan, pengurangan kebutuhan produk hewani untuk kesehatan dan alasan-alasan ekonomi, ada pertanda dan kecenderungan bahwa protein nabati dari kacang-kacangan diperkirakan akan memberikan nilai tambah ekonomi dan kesehatan manusia di masa mendatang (Lee *et al.*, 2000). Selain itu, kacang-kacangan memiliki pertimbangan nutrisi, sifat-sifat kesehatan dan karakteristik fungsional sehingga perlu dipertimbangkan sebagai ingredien potensial dalam industri pangan. Diversifikasi kacang-kacangan akan mendorong dan memacu budidaya tanaman pangan dan penganekaragaman jenis ingredien yang aman, bebas kolesterol dan bebas dari pencetus penyakit degeneratif yang selama ini didominasi oleh produk kaldu hewani. Kacang-kacangan memiliki kemampuan untuk mengurangi kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh beberapa penyakit, seperti kanker, jantung, katarak, diabetes, atherosklerosis, arthritis, penyakit defisiensi kekebalan, penuaan. Hasil olahan produk kacang-kacangan yang sangat dibutuhkan sebagai bahan baku (ingredien) potensial dalam industri pengolahan pangan bisa berbentuk hidrolisat, konsentrat dan isolat (Manak *et al.*, 1980).

Salah satu jenis kacang-kacangan yang perlu dikembangkan berkenaan dengan kandungan dan sumber protein adalah kacang merah. Kacang merah merupakan salah satu jenis kacang yang memiliki potensi bahan baku untuk dikembangkan sebagai hidrolisat protein melalui fermentasi garam menggunakan bantuan kapang. Pembuatan hidrolisat protein dari kacang merah merupakan bagian dari diversifikasi olahan kacang merah yang biasanya selama ini hanya dikonsumsi secara langsung tetapi untuk masa mendatang kacang merah diolah sebagai bahan baku pada industri pangan. Kacang merah dipilih karena kandungan gizinya tinggi, terutama protein, mudah diperoleh dan harganya terjangkau (Damarjati, 2000; Husaini, 2000). Fermentasi garam merupakan proses dasar dimana peranan inokulum dan kondisi fermentasi berpengaruh terhadap *crude* kaldu. Proses fermentasi dalam industri pangan dipergunakan untuk beberapa maksud. Salah satu dari maksud tersebut adalah melindungi kerusakan substrat akibat fermentasi spontan. Fermentasi kacang merah merupakan proses spontan yang disebabkan oleh kapang yang terdapat pada starter. Ini diawali oleh hidrolisis protein, membebaskan nutrien untuk pertumbuhan kapang dan pertumbuhan kapang dibawah kondisi fakultatif aerobik. Selama proses fermentasi, enzim-enzim yang dihasilkan oleh kapang akan merombak dan mengubah karbohidrat, protein, lemak dan senyawa-senyawa lain menjadi senyawa-senyawa sederhana dimana berpengaruh terhadap produk akhir, seperti aroma, rasa dan flavor. Dalam pembuatan kaldu kacang merah, aktivitas proteolitik dari starter *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 memainkan peranan utama didalam perombakkan protein kacang sebagai substrat. Waktu fermentasi yang lama, perombakkan protein kacang dan interaksi dengan proses-proses lain (kandungan garam, jenis & konsentrasi inokulum) akan meningkatkan kandungan protein terlarut dan N-amino. Hasil dari proses fermentasi kacang merah berupa *crude* semi padat. Untuk mendapatkan bentuk suspensi dilakukan proses ekstraksi dengan penambahan air. Hasil dari produk tersebut dapat dipergunakan untuk bahan olahan pangan, seperti saus, makanan bayi, sup instant, produk pasta, dan lain-lain (Shurleff dan Aoyagi, 1976; Steinkraus, 2002).

Penerapan teknologi membran dalam industri pangan sangat beragam dan meliputi mikrofiltrasi, ultrafiltrasi, nanofiltrasi dan osmosa balik. Berdasarkan kisaran ukuran partikel-partikel yang secara efektif akan dipisahkan, mikrofiltrasi umumnya

diterapkan pada suspensi yang mengandung koloidal atau partikel-partikel halus dengan kisaran ukuran 0.02 – 10  $\mu\text{m}$ . Kebanyakan komponen-komponen yang terkandung dalam ekstrak kaldu kacang merah tergolong dalam kisaran ukuran ini. Ekstrak kaldu kacang merah mengandung komponen-komponen protein (asam amino), karbohidrat, lemak, gula (fruktosa, glukosa & sukrosa) serta senyawa-senyawa pembentuk citarasa, aroma, flavor, mineral, spora kapang dan bakteri. Protein mempunyai ukuran partikel 0,04 – 2  $\mu\text{m}$ , ukuran partikel lemak > 0,5  $\mu\text{m}$ , ukuran partikel gula berkisar antara 8 – 20 Å dan ukuran partikel senyawa-senyawa volatil < 0,04  $\mu\text{m}$ . Pemisahan melalui mikrofiltrasi awalnya didasarkan pada ukuran namun demikian mekanisme adsorpsi mampu memainkan peranan penting didalam beberapa penerapan. Diantara beberapa penerapan mikrofiltrasi hidrolisat protein dari ekstrak kacang merah terfermentasi diharapkan fluks dan transmisi protein melalui membran setinggi mungkin. Dalam operasinya, perbedaan tekanan mendorong fluida melalui membran and partikel-partikel atau bahan-bahan tersuspensi tertangkap oleh membran dan terakumulasi pada permukaan membrane. Partikel-partikel tertahan oleh mekanisme berbeda, tergantung pada jenis membran dan sifat dari partikel. Apabila ukuran pori-pori membran lebih kecil daripada ukuran partikel maka partikel-partikel tertahan oleh mekanisme pengayakan (*sieving*) atau filtrasi permukaan. Sedangkan proses filtrasi secara dalam (*depth*) terjadi apabila ukuran pori-pori membran lebih besar daripada ukuran partikel (Grandison dan Lewis, 1996; Michaels, 1989).

Dalam percobaan ini ditujukan untuk memperoleh retentat sebagai hidrolisat protein dengan mikrofiltrasi ekstrak kacang merah merah terfermentasi pada proses fermentasi 12 minggu menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui pengamatan pengaruh kecepatan putar pengaduk dan tekanan pada sel membrane berpengaduk terhadap fluks serta kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat dan permeat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan peralatan.

Bahan yang dipergunakan pada kegiatan ini berupa kacang merah segar yang diperoleh dari pasaran lokal, inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 milik Puslit Kimia – LIPI, bahan kimia untuk analisa dan membran mikrofiltrasi fluoro polymer (ukuran pori-pori 0.45  $\mu\text{m}$  & luas membran efektif 30.175  $\text{cm}^2$ ) buatan Danish Separation Systems, Denmark. Peralatan yang dipergunakan dalam kegiatan ini berupa autoclave, peralatan fermentasi, sel mikrofiltrasi berpengaduk (Amicon 8200) dan instrumen untuk analisa kimia.

### Proses pembuatan ekstrak kacang merah terfermentasi.

#### *Pembuatan inokulum kacang merah*

Terhadap kacang merah dilakukan penyortiran, pencucian, perendaman selama 18 – 22 jam dan penghilangan kulit. Air perendaman dibuang dan kacang merah ditiriskan. Kacang merah kemudian disterilisasikan dengan menggunakan autoclave pada 121°C selama 15 menit dan didinginkan hingga 35 °C. Proses inokulasi dilakukan dengan penambahan starter *Aspergillus* sp-K1 dengan konsentrasi 0,2 % (b/b). Campuran substrat disebarkan pada tray, diinkubasi pada 30 °C selama 64 jam, dikeringkan dengan menggunakan oven kabinet pada 50 °C selama 24 jam, ditumbuk menjadi tepung halus dan diayak melalui saringan *stainless steel* 80 mesh. Tepung substrat disimpan dalam

kantong plastik tertutup rapat dan siap digunakan. Cara yang sama dilakukan tetapi dengan penambahan starter *Rhizopus* sp-C1.

#### *Fermentasi kacang merah dan pembuatan ekstrak kacang merah terfermentasi*

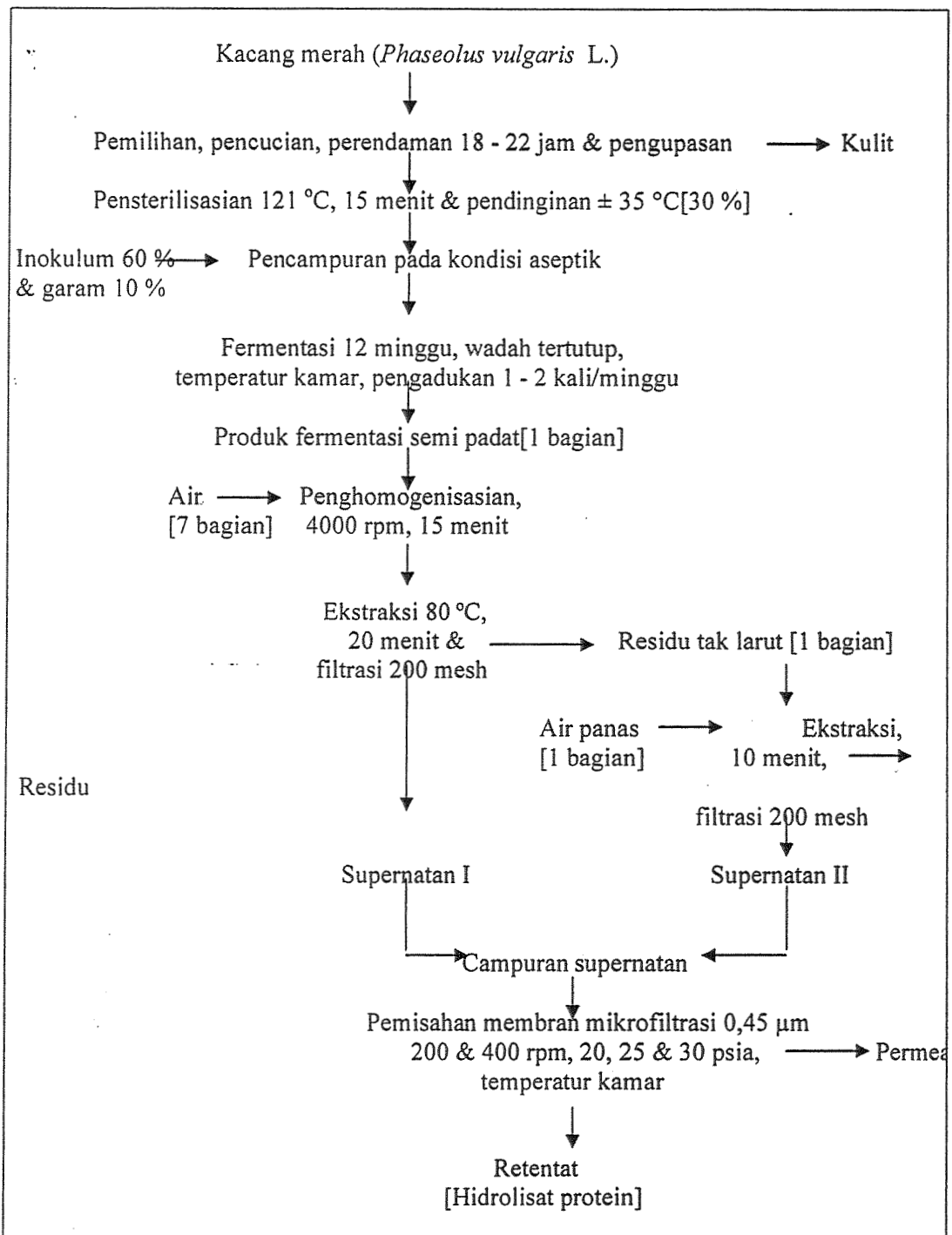
Terhadap kacang merah dilakukan penyortiran, pencucian, perendaman selama 18 – 22 jam, penghilangan kulit, pensterilisasian menggunakan autoclave pada 121 °C selama 15 menit, pendinginan pada  $\pm 35$  °C serta pencampuran dengan starter inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan garam dalam kondisi aseptik. Substrat ini dibuat dengan ratio kacang merah, inokulum dan garam sebanyak 60 : 30 : 10 % (b/b). Substrat kacang merah 500 gram (60 %, b/b) diletakkan kedalam wadah tertutup berukuran 7 x 7 x 6 cm terbuat dari plastik tahan panas. Kedalam wadah yang berisi kacang merah tersebut ditambahkan 80 gram (10 %, b/b) NaCl dan inokulum 250 gram (30 %, b/b). Fermentasi dilakukan pada suhu kamar selama 12 minggu. Pengadukan disertai pemindahan wadah dilakukan setiap 2 minggu. Produk fermentasi kemudian diekstraksi dengan penambahan air pada temperatur 80 °C selama 20 menit dengan ratio bahan dan air sebanyak 1 : 7 bagian, dihomogenisasikan pada kecepatan putar 4000 rpm selama 15 menit dan disaring melalui ayakan stainless steel 200 mesh sehingga dihasilkan supernatan I dan residu tak terlarut. Residu tak terlarut diekstraksi lagi dengan air panas selama 10 menit (ratio bahan dan air sebanyak 1 : 1 bagian), dihomogenisasikan pada 4000 rpm selama 10 menit dan disaring melalui ayakan stainless steel 200 mesh sehingga dihasilkan supernatan II dan residu tak terlarut. Supernatan I dan II dicampur dan dinamakan ekstrak kacang merah terfermentasi. Ekstrak kacang merah terfermentasi ini digunakan sebagai umpan selama proses mikrofiltrasi. Cara yang sama dilakukan tetapi dengan menggunakan starter *Rhizopus* sp-C1.

#### **Pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan membran mikrofiltrasi**

Sistem mikrofiltrasi berupa sel berpengaduk buatan Amicon berkapasitas 180 ml. Sebelum digunakan, sel berpengaduk diisi dengan aquadest sebanyak 50 ml untuk membasahi membran. Fluks air diukur sebagai fungsi waktu pada kecepatan putar pengaduk 400 rpm dan tekanan konstan 20 psia hingga fluks yang tercapai konstan. Sel berpengaduk kemudian dikosongkan dan diisi kembali dengan suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi. Kemudian suspensi dalam sel diaduk dengan kecepatan 400 rpm dan tekanan masing-masing 20, 25 dan 30 psia yang dihubungkan/dialirkan gas nitrogen dari tabung nitrogen. Permeat yang lolos kemudian ditampung dan dicatat volume dan waktu. Permeat dan retentat/umpan dianalisa. Pada akhir proses mikrofiltrasi, membran dalam sel berpengaduk dibilas dengan aquadest dan fluks air melalui membran dicatat pada kondisi tekanan sama selama pemisahan suspensi (Anonimus, 1999). Diagram alir proses pembuatan hidrolisat protein dari ekstrak kacang merah terfermentasi dan pemisahan menggunakan membran mikrofiltrasi ditunjukkan pada Gambar 1.

#### **Pengamatan dan analisa**

Pengamatan dilakukan terhadap kacang merah terfermentasi dan ekstrak kacang merah terfermentasi pada minggu ke 12 serta analisa meliputi protein total (metoda Kjeldahl), protein terlarut (metoda Lowry) dan padatan kering (metoda Gravimetry)(Anonimus, 1980). Pengamatan proses mikrofiltrasi dilakukan terhadap fluks pada kecepatan putar 200 dan 400 rpm dengan tekanan masing-masing 20, 25 dan 30 psia. Kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat dan permeat ditentukan dengan metoda terdahulu.



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan hidrolisat protein dari ekstrak kacang merah terfermentasi dan pemisahan menggunakan membran mikrofiltrasi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik ekstrak kacang merah terfermentasi sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein melalui pemisahan membran mikrofiltrasi

Karakteristik kacang merah terfermentasi dengan inokulum *Aspergillus sp-K1* dan *Rhizopus sp-C1* dengan waktu fermentasi garam 12 minggu dan ekstrak kacang merah terfermentasi hasil filtrasi 200 mesh ditunjukkan pada Tabel 1. Penurunan komposisi protein bahan kacang merah terfermentasi dengan inokulum *Aspergillus sp-K1* dan *Rhizopus sp-C1* sebelum masuk proses membran mikrofiltrasi ini disebabkan ekstraksi dengan penambahan air yang cukup besar (1 bagian kacang merah terfermentasi : 8 bagian air). Hal ini dilakukan karena ekstrak kacang merah terfermentasi dilakukan secara fermentasi padat sehingga untuk memperoleh ekstraknya dilakukan pemanasan pada suhu 80 °C dengan kecepatan putar proses homogenasi 4000 rpm dengan tujuan untuk memperoleh ekstrak semaksimal mungkin. Dengan bahan berupa liquid akan lebih mudah dilakukan pemisahan komponen-komponen sehingga diperoleh komponen-komponen terlarut dan mutu fisik ekstrak yang lebih baik melalui pemisahan menggunakan membran mikrofiltrasi.

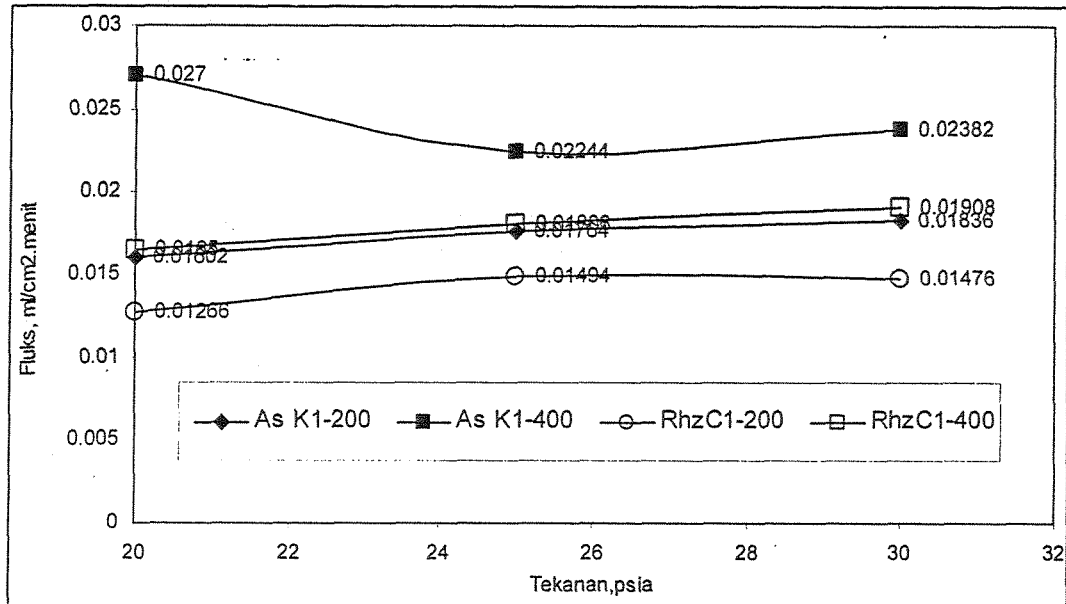
Tabel 1. Karakteristik kacang merah menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K1* dan *Rhizopus sp-C1* dengan waktu fermentasi 12 minggu serta ekstrak kacang merah terfermentasi hasil filtrasi 200 mesh

No	Jenis bahan	Protein total, %	Protein terlarut, mg/gram	Padatan kering, %
1	Kacang merah menggunakan <i>Aspergillus sp-K1</i> (0,2 %) dengan fermentasi 12 minggu.	28,75	8,6	77,63
2	Kacang merah menggunakan <i>Rhizopus sp-C1</i> (0,2 %) dengan fermentasi 12 minggu.	29,5	7,4	76,39
3	Ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan <i>Aspergillus sp-K1</i> (0,2 %) dengan fermentasi 12 minggu.	1,94	12,8	4,93
4	Ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan <i>Rhizopus sp-C1</i> (0,2 %) dengan fermentasi 12 minggu.	2,28	11,0	4,65

### Pengaruh kecepatan putar pengaduk dan tekanan sel membran mikrofiltrasi terhadap fluks serta kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam permeat dan retentat.

Pengaruh tekanan terhadap fluks melalui membran mikrofiltrasi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus sp-K1* dan *Rhizopus sp-C1* dengan kecepatan putar 200 dan 400 rpm ditunjukkan pada Gambar 2. Dari gambar terlihat bahwa semakin tinggi tekanan akan meningkatkan fluks melalui membran untuk ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Aspergillus sp-K1* pada 200 rpm dan menggunakan *Rhizopus sp-C1* pada 400 rpm. Sedangkan fluks melalui membran untuk ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Aspergillus sp-K1* pada 400 rpm menurun dari 20 menjadi 25 psia tetapi meningkat pada tekanan 30 psia. Sementara fluks melalui membran untuk ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Aspergillus sp-K1* pada 200 rpm akan meningkat dari 20 menjadi 25 psia hingga mendekati konstan pada tekanan 30 psia. Kenaikkan fluks disebabkan gaya dorong perpindahan massa pelarut meningkat sehingga pelarut mampu untuk lolos melalui pori-pori membran.

Sedangkan penurunan fluks disebabkan terakumulasinya partikel-partikel pada permukaan membran akibat putaran pengaduk yang kurang stabil sehingga adanya deposisi partikel pada permukaan membran tidak sempat tersapu oleh putaran pengaduk sel. Selain itu, kecepatan putar pengaduk pada sel membran mikrofiltrasi yang semakin cepat juga akan meningkatkan fluks karena partikel-partikel dalam suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi tidak sempat untuk berakumulasi pada permukaan membran.

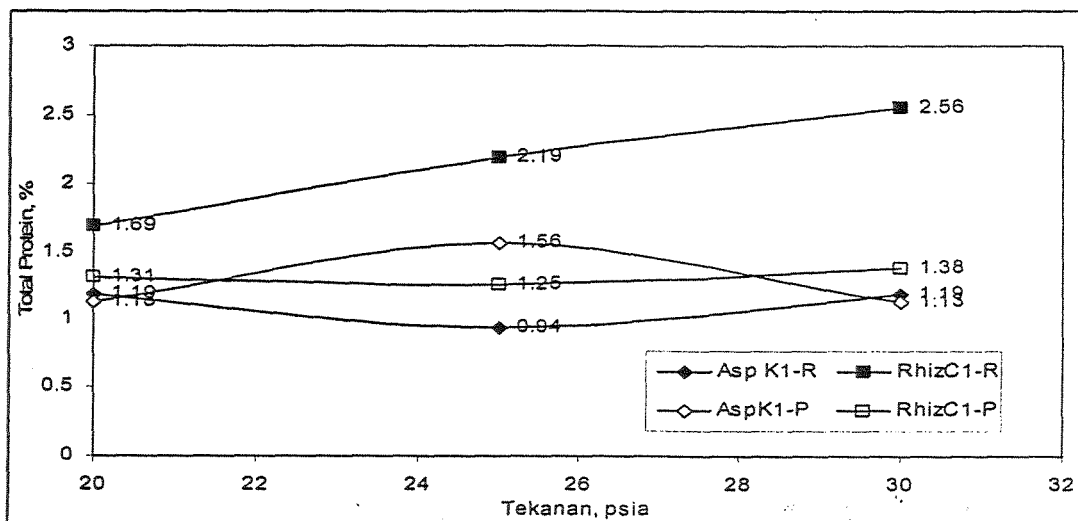


Gambar 2. Pengaruh tekanan terhadap fluks melalui membran mikrofiltrasi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 dengan kecepatan putar 200 dan 400 rpm

Ini terlihat pada suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 pada 400 rpm dengan tekanan 20, 25 dan 30 psia yang memberikan nilai fluks masing-masing adalah 0,027, 0,02244 dan 0,02382 ml/cm<sup>2</sup>.menit serta 0,0165, 0,01806 dan 0,01908 ml/cm<sup>2</sup>.menit. Sedangkan suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 pada 200 rpm dengan tekanan 20, 25 dan 30 psia yang memberikan nilai fluks masing-masing adalah 0,01602, 0,01764 dan 0,01836 ml/cm<sup>2</sup>.menit serta 0,01266, 0,01494 dan 0,01476 ml/cm<sup>2</sup>.menit. Selain itu, jenis suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi juga akan mempengaruhi nilai fluks melalui membran baik pada kecepatan putar dan tekanan yang berbeda. Suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Aspergillus* sp-K1 pada 200 dan 400 rpm memberikan nilai fluks lebih tinggi daripada suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Rhizopus* sp-C1 pada 200 dan 400 rpm. Hal ini disebabkan oleh keadaan fisik dari jenis suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dimana kandungan protein total dalam ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Aspergillus* sp-K1 (0,2 %) dengan fermentasi 12 minggu adalah lebih rendah daripada dalam ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Aspergillus* sp-K1 (0,2 %) (Tabel 1).

Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm ditunjukkan pada Gambar 3. Dari gambar terlihat bahwa kandungan protein total dalam retentat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum

*Rhizopus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat. Kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 1,69, 2,19 dan 2,56 % serta 1,31, 1,25 dan 1,38 %.

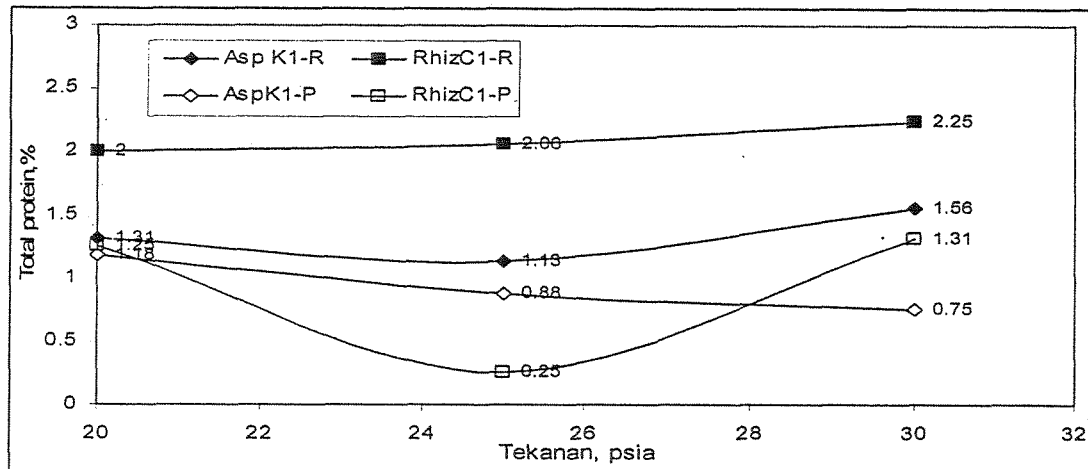


Gambar 3. Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm

Sedangkan kandungan protein total dalam retentat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 bervariasi. Kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 1,19, 0,94 dan 1,19 % serta 1,13, 1,56 dan 1,13 %. Perbedaan signifikan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat sebagai hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 menunjukkan bahwa proses mikrofiltrasi telah berfungsi cukup efektif. Tetapi perbedaan tidak signifikan terjadi pada proses mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dimana kandungan protein total dalam retentat dan permeat berfluktuasi sehingga proses mikrofiltrasi menjadi kurang efektif. Hal ini disebabkan oleh jenis dan karakteristik suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dan kecepatan putar pengaduk tidak konstan.

Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm ditunjukkan pada Gambar 4. Dari gambar terlihat bahwa kandungan protein total dalam retentat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizopus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat.

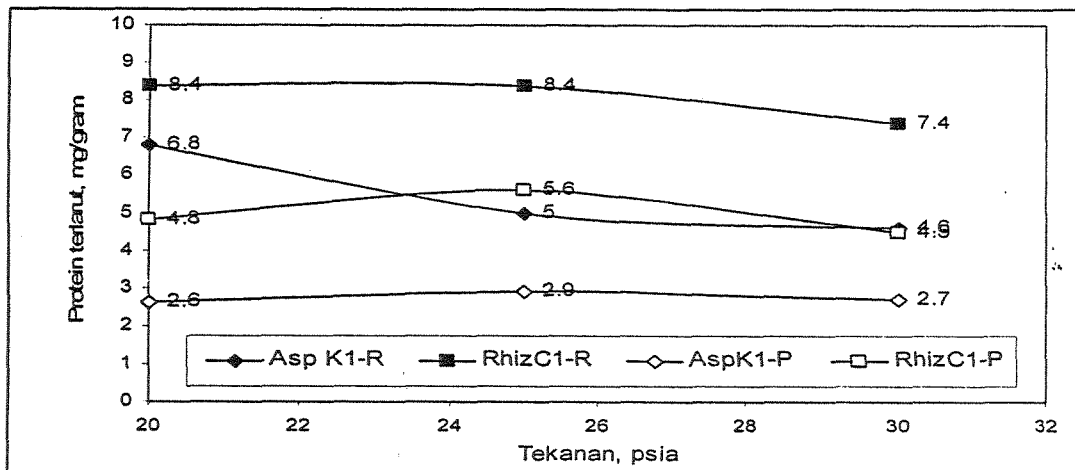




Gambar 4. Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm

Kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 1,31, 1,13 dan 1,56 % serta 1,18, 0,88 dan 0,75 %. Sementara kandungan protein total dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 2, 2,06 dan 2,25 % serta 1,25, 0,25 dan 1,31 %. Dengan meningkatkan kecepatan putar pada sel membran berpengaduk dari 200 (Gambar 3) menjadi 400 rpm ternyata terjadi perbedaan signifikan terhadap kandungan protein total dalam retentat dan permeat sebagai hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 maupun *Aspergillus* sp-K1 sehingga mikrofiltrasi telah berfungsi cukup efektif.

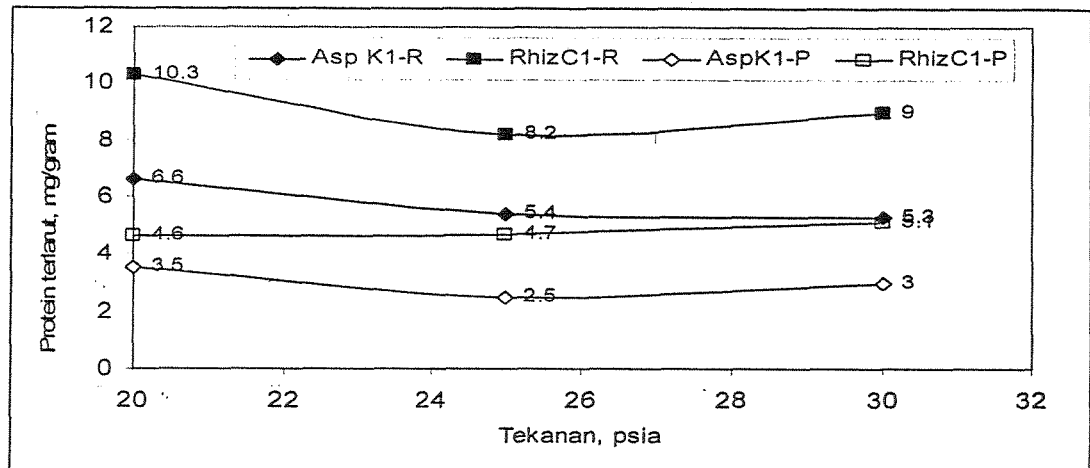
Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm ditunjukkan pada Gambar 5. Dari gambar ditunjukkan bahwa kandungan protein terlarut dalam retentat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizopus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat. Kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 6,8, 5 dan 4,6 mg/gram serta 2,6, 2,9 dan 2,7 mg/gram.



Gambar 5. Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm

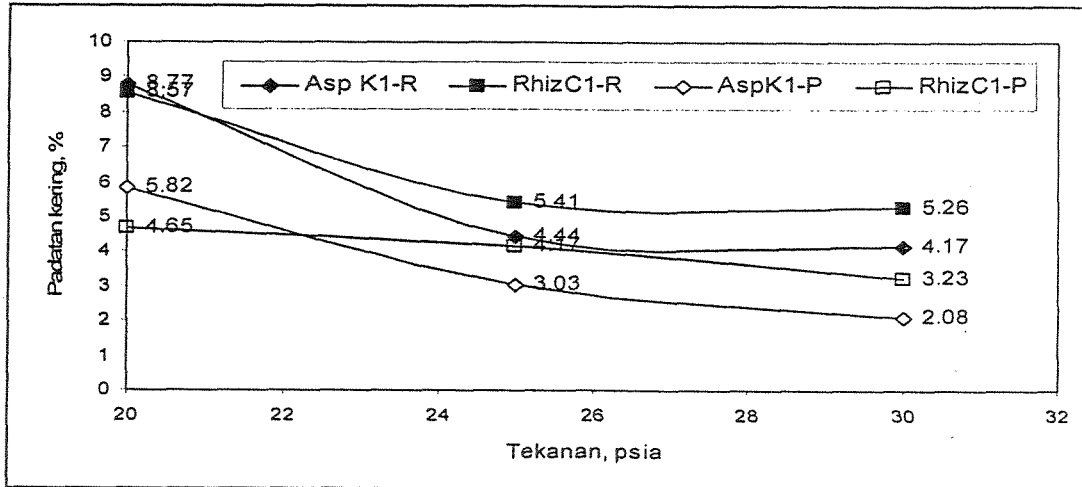
Sementara kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 8,4, 8,4 dan 7,4 mg/gram serta 4,8, 5,6 dan 4,5 mg/gram. Proses mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 maupun *Aspergillus* sp-K1 dengan kecepatan putar 200 rpm beroperasi efektif. Hal ini ditandai dengan perbedaan signifikan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat sebagai hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 maupun *Aspergillus* sp-K1.

Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm ditunjukkan pada Gambar 6. Dari gambar ditunjukkan bahwa kandungan protein terlarut dalam retentat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizopus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat. Kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 6,6, 5,4 dan 5,3 mg/gram serta 3,5, 2,5 dan 3 mg/gram. Sementara kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 pada 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 10,3, 8,2 dan 9 mg/gram serta 4,6, 4,7 dan 5,1 mg/gram. Dengan meningkatkan kecepatan putar pengaduk dari 200 (Gambar 5) menjadi 400 rpm ternyata proses mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 maupun *Aspergillus* sp-K1 masih beroperasi secara efektif. Hal ini ditandai dengan perbedaan signifikan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat sebagai hasil mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Rhizopus* sp-C1 maupun *Aspergillus* sp-K1.



Gambar 6. Pengaruh tekanan terhadap kandungan protein terlarut dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm.

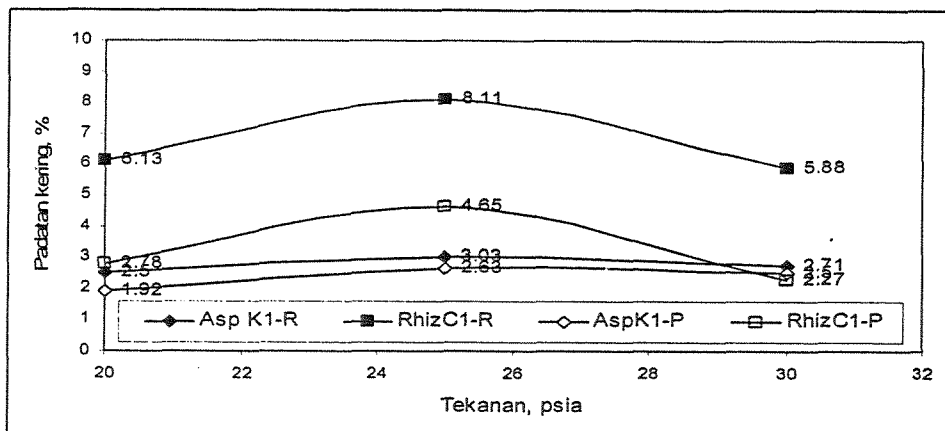
Pengaruh tekanan terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm ditunjukkan pada Gambar 7. Dari gambar terlihat bahwa kenaikan tekanan memberikan pola penurunan tajam hingga 25 psia tetapi pola penurunan landai pada 30 psia terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat dari suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik dengan menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizophus* sp-C1. Kandungan padatan kering dalam retentat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizophus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat. Kandungan padatan kering dalam retentat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 sebagai hasil pemisahan dengan membran mikrofiltrasi pada kecepatan putar 200 rpm serta tekanan 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 8,77, 4,44 dan 4,17 % serta 8,57, 5,41 dan 5,26 %. Sedangkan kandungan padatan kering dalam permeat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 sebagai hasil pemisahan dengan membran mikrofiltrasi pada kecepatan putar 200 rpm serta tekanan 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 5,82, 3,03 dan 2,08 % serta 4,65, 4,17 dan 3,23 %. Penurunan terhadap kandungan padatan kering terjadi karena gaya pendorong sebagai akibat tekanan yang diberikan kurang mendukung berlangsungnya proses perpindahan massa pelarut murni (air) untuk melewati pori-pori membran sehingga proses mikrofiltrasi beroperasi kurang efektif.



Gambar 7. Pengaruh tekanan terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 200 rpm.

Pengaruh tekanan terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm ditunjukkan pada Gambar 8. Dari gambar terlihat bahwa peningkatan tekanan memberikan kenaikan kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat secara tajam hingga tekanan 25 psia tetapi kandungan padatan kering akan turun secara tajam pada tekanan 30 psia untuk suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizophus* sp-C1. Sementara peningkatan tekanan memberikan kenaikan kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat hingga tekanan 25 psia secara landai tetapi kandungan padatan kering akan turun secara landai pada tekanan 30 psia untuk suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1. Kandungan padatan kering dalam retentat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi baik menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 maupun *Rhizophus* sp-C1 lebih tinggi daripada dalam permeat. Kandungan padatan kering dalam retentat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 sebagai hasil pemisahan dengan membran mikrofiltrasi pada kecepatan putar 400 rpm serta tekanan 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 2,50, 3,03 dan 2,71 % serta 6,13, 8,11 dan 5,88 %.

Sedangkan kandungan padatan kering dalam permeat suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizophus* sp-C1 sebagai hasil pemisahan dengan membran mikrofiltrasi pada kecepatan putar 400 rpm serta tekanan 20, 25 dan 30 psia masing-masing adalah 1,92, 2,63 dan 2,50 % serta 2,78, 4,65 dan 2,27 %. Peningkatan kecepatan putar pengaduk dari 200 (Gambar 7) menjadi 400 rpm pada mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Rhizophus* sp-C1 memungkinkan berlangsungnya proses perpindahan massa pelarut murni (air) secara signifikan untuk melewati pori-pori membran sehingga proses mikrofiltrasi beroperasi efektif. Tetapi peningkatan kecepatan putar pengaduk dari 200 (Gambar 7) menjadi 400 rpm pada mikrofiltrasi suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 memungkinkan berlangsungnya proses perpindahan massa pelarut murni (air) secara kurang signifikan untuk melewati pori-pori membran sehingga proses mikrofiltrasi beroperasi kurang efektif meskipun ada perbedaan kecil terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat.



Gambar 8. Pengaruh tekanan terhadap kandungan padatan kering dalam retentat dan permeat hasil pemisahan ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan inokulum *Aspergillus* sp-K1 dan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi pada 400 rpm.

## KESIMPULAN

- Membran mikrofiltrasi dengan ukuran pori-pori 0,45  $\mu\text{m}$  secara teknis memiliki potensi untuk memisahkan suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi pada perolehan retentat sebagai hidrolisat protein;
- Hasil pemisahan suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan membran mikrofiltrasi memberikan kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat lebih tinggi daripada dalam permeat;
- Hasil pemisahan suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Rhizopus* sp-C1 melalui membran mikrofiltrasi memberikan kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat lebih tinggi daripada suspensi ekstrak kacang merah terfermentasi dengan *Aspergillus* sp-K1;
- Kecepatan putar pengaduk dan tekanan pada sel membran berpengaruh terhadap fluks serta kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat dan permeat;
- Retentat sebagai protein hidrolisat terbaik hasil mikrofiltrasi-ekstrak kacang merah terfermentasi menggunakan *Rhizopus* sp-C1 pada 400 rpm dan 20 psia memberikan fluks permeat pengamatan 0,0165 ml/cm<sup>2</sup>.menit) serta kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering masing-masing adalah 2 %, 10,3 mg/gram dan 6,13 %;
- Untuk memperoleh kandungan protein total, protein terlarut dan padatan kering dalam retentat secara maksimal perlu digunakan membran mikrofiltrasi dengan ukuran pori-pori < 0,45  $\mu\text{m}$ ;
- Perlu dilakukan mikrofiltrasi ekstrak kacang merah terfermentasi skala semi pilot dengan sistem cross-flow.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pejabat Pembuat Komitmen Program Bidang Bahan Alam, Pangan dan Farmasi, Puslit Kimia – LIPI atas diikutsertakan kegiatan ini di dalam DIPA Tahun Anggaran 2005. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dra. Yetty Mulyati Iskandar, M.S atas bantuan starter inokulum *Rhizopus* sp-C1 dan Sdri.

Tia Cahyani Putri dan Fitria Syahra atas bantuan teknisnya sehingga kegiatan ini dapat terlaksana.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Grandison, A.S. & M.J. Lewis, Separation processes in the food and biotechnology industries : Principles and applications, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, 1996, 130, 141 & 142;
- Anonim, Katalog dan manual Stirred Ultrafiltration Cells, Amicon Bioseparations, MILLIPORE, USA, 1999;
- Anonim, Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemistry, AOAC Inc., Washington D.C., 1980.
- Damarjati, Potensi dan pendayagunaan sumberdaya bahan pangan lokal serealia, umbi-umbian dan kacang-kacangan, Lokakarya Pengembangan Pangan Alternatif, KMRT, HKTI & BPPT, Jakarta, 24 Oktober 2000;
- Husaini, Optimasi pendayagunaan komoditas pangan yang kurang termanfaatkan, Lokakarya Pengembangan Pangan Alternatif, KMRT, HKTI & BPPT, Jakarta, 24 Oktober 2000;
- Kwang-Geun Lee, Alyson E. Mitchell & Takayuki Shibamoto, Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans, *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2000, 4817;
- Manak, L. J., J.T. Lawhon & E.W. Lusas, Functional potential of soy, cottonseed, and peanut protein isolates produced by industrial membrane systems, *Journal of Food Science*, vol. 45, 1980, 236;
- Michaels, A.S., *Handbook of Industrial Membrane Technology*, Noyes Publications, Park Ridge, USA, 1989;
- Shurleff, W. & A. Aoyagi, *The Book of Miso*, Autumn Press, Kanagawa-Ken, Japan, 1976;
- Steinkraus K.H., *Fermentation in World Food Safety*, Vol. 1, Institute of Food Technologist, Cornell University Ithaca, New York, 2002;