

**UJI VIABILITAS BAKTERI *Lactobacillus plantarum* YANG DIENKAPSULASI
MENGUNAKAN BERBAGAI JENIS BAHAN PENYALUT**

ZULVAH YUSNIDAR

H411 13 502



DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2017

**UJI VIABILITAS BAKTERI *Lactobacillus plantarum* YANG DIENKAPSULASI
MENGUNAKAN BERBAGAI JENIS BAHAN PENYALUT**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains*

ZULVAH YUSNIDAR

H411 13 502

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2017

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI VIABILITAS BAKTERI *Lactobacillus plantarum* YANG DIENKAPSULASI
MENGUNAKAN BERBAGAI JENIS BAHAN PENYALUT**

ZULVAH YUSNIDAR

H411 13 502

Disetujui oleh :

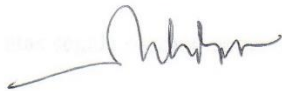
Pembimbing Utama



Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si

NIP. 19651209 199008 2 001

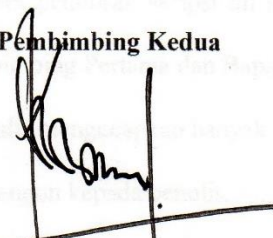
Pembimbing Pertama



Dr. Nur Haedar, M.Si

NIP. 19680129 199702 2 001

Pembimbing Kedua



Drs. Asadi Abdullah, M.Si

NIP. 19620303 198903 1 007

Makassar, Mei 2017



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala nikmat, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Uji Viabilitas Bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan Berbagai Jenis Bahan Penyalut” yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang Strata Satu (S1) Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Atas berkat bantuan, doa dan semangat dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Kepada Ibu Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si selaku Pembimbing Utama, penulis menghaturkan banyak ucapan terima kasih yang terdalem atas segala bantuan yang beliau berikan baik berupa kritik yang membangun, saran, waktu, pikiran maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini sampai selesai. Kepada Ibu Dr. Nur Haedar, M.Si. selaku Pembimbing Pertama dan Bapak Drs. As'adi Abdullah, M.Si selaku Pembimbing Kedua, penulis mengucapkan banyak terima kasih atas segala nasihat, saran dan kritikan yang membangun kepada penulis.

Penulis juga menghaturkan terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya kepada:

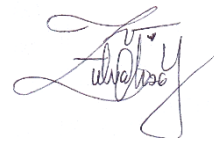
- Bapak Dr. Eng. Amiruddin selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNHAS Makassar beserta jajarannya.

- Ibu Dr. Zohra Hasyim, M.Si selaku Ketua Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) UNHAS Makassar
- Bapak/Ibu Dosen dan pegawai Departemen Biologi yang senantiasa membantu penulis sehingga dapat mencapai gelar sarjana.
- Bapak Dr. Ir. Slamet Santosa, M. Si. selaku penasihat akademik yang selalu memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dari awal hingga akhir masa studi di Departemen Biologi.
- Tim Penguji skripsi Ibu Dr. Eva Johannes, M.Si., Bapak Drs. Muh. Ruslan Umar, M.Si., Ibu Dr. Hj. Zohrah Hasyim, M.Si., dan Bapak Dr. Fahrudin, M.Si., yang telah membantu penulis dalam menyempurnakan skripsi melalui kritik dan sarannya.
- Terima kasih kepada Kanda Fuad Gani, S.Si., Kanda Alfonsus, S.Si., Kanda Heriadi, S.Si., Kanda Farah Umar Setianingtyas, S.Si., dan Kanda Andre, S.Si atas ajarannya selama penulis mengerjakan penelitian di Laboratorium.
- Saudara dan saudariku tercinta Biologi Angkatan 2013, semangat, doa, perhatian dan segala bantuan yang kalian berikan adalah salah satu kekuatan penulis menyelesaikan skripsi ini. Terkhusus kepada sahabat-sahabatku Andika Susantri, S.Si., Julyanti Bellani, Andriany, dan Tri Sutrisna, yang senantiasa menemani dan menghibur dikala suka maupun duka selama penelitian.
- Keluarga besar UKM Pramuka Unhas yang telah memberikan dukung, semangat serta doa. Terkhusus kepada Irnawati, Nirwana, dan Muh. Faried Ridha Yunus yang senantiasa menyempatkan waktu untuk menemani maupun berbagi ilmu dalam penyusunan skripsi.
- Terimakasih pada Bapak Prof. DR. S. M. Noor, SH. MH atas segala nasehat dan bimbingan selama kuliah menuntun ilmu di departemen biologi

Penulis menyatakan dengan segala kerendahan hati, secara khusus skripsi ini penulis dedikasikan sebagai wujud terima kasih yang tak terhingga kepada Ayahanda tercinta Muhdar dan Ibunda tercinta Zaenab yang selalu penulis rindukan serta Kakak Sudarti dan adik Az'adyat, Harda Azy Zulzilah, Alvi Syahri Wulandari sebagai bentuk rasa terimakasih penulis atas doa, kasih sayang dan dukung mereka yang tak henti-hentinya kepada penulis dalam menuntut ilmu. Terima kasih atas segalanya, penulis berdoa semoga Allah membalasnya dengan surga-Nya yang terindah.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kelak.

Makassar, Mei 2017



Zulvah Yusnidar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian Uji Viabilitas Bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan Berbagai Jenis Bahan Penyalut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas mikrokapsul bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan berbagai bahan penyalut dengan metode *freeze drying* dengan penyimpanan pada suhu ruang. Proses enkapsulasi bakteri *Lactobacillus plantarum* dilakukan dengan bahan penyalut alginat 1%, skim *milk* 20%, dan tepung jagung 10% dikeringkan dengan teknik pengeringan beku (*freeze drying*). Pengujian viabilitas probiotik terenkapsulasi dilakukan selama 6 minggu dengan interval waktu 1 minggu pada penyimpanan suhu ruang, serta pengujian terhadap garam empedu dan pH rendah. Hasil pengujian viabilitas menunjukkan bahwa mikrokapsul probiotik dengan penyimpanan pada suhu ruang memiliki viabilitas yang tinggi, hingga minggu ke-enam untuk bahan penyalut alginat jumlah populasi probiotik sekitar $3,0 \times 10^{12}$ cfu/g, bahan penyalut skim *milk* yaitu $1,0 \times 10^{10}$ cfu/g, sedangkan pada bahan penyalut tepung jagung yaitu $1,0 \times 10^6$ cfu/g. Bakteri probiotik yang telah dienkapsulasi menggunakan semua bahan penyalut masih mampu bertahan hidup pada kondisi medium dengan pH 3 dan pada garam empedu 5% sehingga dapat digunakan sebagai bahan tambahan pakan ternak.

Kata Kunci: Probiotik, enkapsulasi, viabilitas, *freeze drying*

ABSTRACT

Viability studies have been conducted test bacteria *Lactobacillus plantarum* is encapsulated using the Different Types of Coating Materials. This study aims to determine the viability of microcapsules the bacteria *Lactobacillus plantarum* is encapsulated using a variety of coating material by the method *freeze drying* with storage at room temperature. Encapsulation process *Lactobacillus plantarum* performed by the coating material alginate 1%, skim milk 20%, and 10% of corn starch dried by freeze drying techniques (freeze drying). Encapsulated probiotic viability testing conducted for 6 weeks with intervals of 1 week at room temperature storage, and the testing of bile salts and low pH. The test results showed that the microencapsulated probiotic viability with storage at room temperature have a high viability, until week six for the coating material alginate probiotic population of about 3.0×10^{12} CFU / g, the coating material skim milk is 1.0×10^{10} CFU / g, while the cornmeal coating material is 1.0×10^6 CFU / g. Probiotic bacteria that has been encapsulated using all the coating material is still able to survive the conditions of the medium with a pH of 3 and at 5% of bile salts that can be used as an animal feed additive.

Keywords: probiotics, encapsulation, viability, freeze drying

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	4
I.3 Manfaat Penelitian.....	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Bakteri Probiotik	5
II.2 Enkapsulasi.....	13
II.3 Mikroenkapsulasi.....	14
II.4 Bahan Penyalut	20
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
III.1 Alat.....	26
III.2 Bahan.....	26

III.3 Prosedur Kerja.....	26
III.3.1 Sterilisasi Alat	26
III.3.2 Pembuatan Medium.....	27
III.3.3 Penyiapan Bakteri Probiotik.....	27
III.3.4 Perbanyakkan Bakteri Probiotik.....	28
III.3.5 Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode <i>Freeze Drying</i>	28
III.3.6 Evaluasi Mikrokapsul Probiotik	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
IV.1 Penyiapan Bakteri Probiotik	31
IV.2 Hasil Mikroenkapsulasi dengan Metode <i>Freeze Drying</i>	32
IV.3 Viabilitas Isolat Bakteri Probiotik Terenkapsulasi.....	35
IV.4 Uji Ketahanan terhadap pH dan Garam Empedu	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
V.1 Kesimpulan.....	45
V.2 Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok bahan penyalut yang digunakan untuk mikroenkapsulasi.....	21
2. Hasil Uji Ketahanan terhadap pH Rendah dan Garam Empedu	40
3. Hasil Viabilitas bakteri probiotik setelah proses enkapsulasi dan proses <i>Freeze Drying</i> dengan masa penyimpanan 6 Minggu.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bentuk sel bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	7
2. Mikrokapsul berdasarkan Morfologinya	15
3. <i>Freeze dryer Christ alpha 1-4 LD-plus</i>	20
4. Bakteri Probiotik dalam Media MRSA	31
5. Hasil Mikroenkapsulasi Berbagai Bahan Penyalut menggunakan Metode <i>Freeze Drying</i>	34
6. Grafik viabilitas <i>Lactobacillus plantarum</i> pada Berbagai Bahan Penyalut Selama Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang.....	36
7. Hasil Pengamatan Uji terhadap Keasaman (pH) pada Berbagai Bahan Penyalut Setelah Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang.....	41
8. Hasil Pengamatan Uji Ketahanan Garam Empedu 5% pada Berbagai Bahan Penyalut Setelah Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Uji Viabilitas Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i> yang di Enkapsulasi menggunakan berbagai Jenis Bahan Penyalut.....	53
2. Bagan Kerja Pembuatan Mikropkapsul dengan Metode <i>Freeze Drying</i>	54
3. Bagan Kerja Uji Viabilitas Bakteri Probiotik Terenkapsulasi.....	55
4. Bagan Kerja Uji Ketahanan terhadap Keasaman (pH).....	56
5. Bagan Kerja Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu.....	57
6. Hasil Viabilitas bakteri probiotik setelah proses enkapsulasi dan proses <i>Freeze Drying</i> dengan masa penyimpanan 6 Minggu.....	58
7. Pertumbuhan Populasi Bakteri Probiotik terenkapsulasi setelah penyimpanan 3 minggu.....	59
8. Pertumbuhan Populasi Bakteri Probiotik terenkapsulasi setelah penyimpanan 6 minggu.....	60
9. Gambar Penyiapan Media.....	61
10. Proses Enkapsulasi dan Uji Viabilitas Probiotik.....	62

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang apabila dikonsumsi dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan dari metabolisme protein dan lemak, serta hasil pemecahan enzim tertentu menjadi semakin berkurang bila bakteri probiotik menjalankan peranannya dalam meningkatkan kesehatan (Horie *et al.* 2002).

Penelitian yang dilakukan Farah (2015) yaitu identifikasi bakteri asam laktat asal usus bandeng *Chanos chanos* dengan gen pengkode 16S rRNA menunjukkan dua isolat IPB6 dan IPB9 teridentifikasi sebagai bakteri *Lactobacillus plantarum* strain WCFS1, sedangkan pada penelitian Anastiawan (2014) yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan itik pedaging *Anpas domesticus* yang dapat membantu meningkatkan produktivitas itik pedaging. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yakni bakteri *Lactobacillus plantarum* dapat ditemukan dalam banyak produk makanan fermentasi, dan beberapa saluran pencernaan atau usus hewan.

Perkembangan penelitian saat ini terkait dengan pembuktian bahwa probiotik melakukan kolonisasi pada target area (intestin). Pada umumnya, seleksi strain probiotik diutamakan pada kemampuannya untuk tetap hidup melewati saluran pencernaan, resisten terhadap *bile salt*, asam, terhadap enzim pencernaan. Untuk menghitung populasi strain probiotik yaitu dengan cara metode kultivasi

(*culture-dependent method*) menggunakan media selektif. Adapun masalah yang sering muncul jika bakteri tidak dikultivasi secara berskala akan mempercepat kematian dan mengalami perubahan sifat fisiologi dan berpengaruh terhadap aktivitas metabolit sekunder yang mengakibatkan terjadinya penurunan potensi probiotik sehingga tidak dapat digunakan sebagai probiotik.

Penggunaan probiotik di kalangan masyarakat sudah sangat umum, dan kebanyakan probiotik yang tersedia di pasaran yaitu dalam bentuk cair. Salah satu kelemahan probiotik media cair yaitu mudah terkontaminasi dan menyebabkan probiotik tidak efektif, selain itu kurangnya pengetahuan dari masyarakat mengenai penggunaan probiotik media cair. Untuk mengatasi masalah ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, terutama dalam mempertahankan lama waktu penyimpanan dan untuk diaplikasikan pada masyarakat (Wu *et al.* 2000).

Salah satu cara untuk mencegah kerusakan dan berkurangnya jumlah bakteri asam laktat sebagai probiotik adalah dengan melakukan proses enkapsulasi. Enkapsulasi adalah pembentukan kapsul yang menyelubungi probiotik dan merupakan teknik penyalutan suatu bahan agar yang disalut dapat dilindungi dari pengaruh lingkungan. Adapun bahan enkapsulan yang biasa digunakan yaitu skim *milk*, karagenan, alginat, gum arab, xanthan, gellan, dextran, dan chitosan. Pada proses enkapsulasi digunakan beberapa teknik seperti *spray draying*, *air suspension coating*, *extrusion*, *spray cooling*, *spray chilling*, *centrifugal extrusion*, *rotational suspension separation*, dan *complexing* (Wu *et al.* 2000).

Peranan utama maltodekstrin sebagai bahan penyalut yaitu mampu membentuk emulsi dan memiliki viskositas yang rendah. Kemampuan

maltodekstrin untuk menghambat reaksi oksidasi menyebabkan mikrokapsul yang dihasilkan memiliki masa simpan yang lebih panjang dibanding mikrokapsul yang menggunakan gum arab. Menurut Rayment *et al.* (2009) keunggulan alginat sebagai enkapsulan probiotik terletak pada kemampuannya memproteksi sel dalam kondisi asam. Alginat memiliki kemampuan untuk bertahan melewati lambung tanpa terdegradasi. Berdasarkan penelitian Yulinery *et al.* (2006) perlakuan menggunakan susu skim menunjukkan nilai transmisi lebih rendah dari kontrol yang menandakan bahwa isolat yang dienkapsulasi mampu menggunakan asam empedu dalam metabolisme sel. Berdasarkan penelitian Sulistiani (2009) viabilitas spora *Bacillus subtilis* dalam berbagai formulasi dipengaruhi oleh jenis formulasi dan lama penyimpanan. Formulasi tepung jagung mendukung ketahanan hidup spora *Bacillus subtilis* selama penyimpanan, hal ini disebabkan karena tepung jagung memiliki kandungan pati, gula, dan kadar air yang cukup untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri.

Hasil penelitian Magfirah (2015) menunjukkan viabilitas isolat probiotik asal saluran pencernaan itik pedaging *Anas domesticus* yang dienkapsulasi dengan metode *spray drying*, penggunaan bahan penyalut maltodekstrin dan gum arab pada penelitian tersebut menghasilkan mikrokapsul probiotik yang memiliki viabilitas tinggi. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji viabilitas bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan berbagai jenis bahan penyalut yaitu alginat, skim *milk*, dan tepung jagung dengan menggunakan metode *freeze drying*.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui viabilitas mikrokapsul bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan berbagai bahan penyalut dengan metode *freeze drying*.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu umur simpan dan viabilitas dari bakteri *Lactobacillus plantarum* yang telah dienkapsulasi menggunakan berbagai bahan penyalut.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai bulan April 2017 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, dan proses enkapsulasi dikerjakan di Laboratorium Biofarmaka, Fakultas Farmasi, Pusat Kegiatan Penelitian, Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Bakteri Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang mampu memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan inang dengan cara memperbaiki keseimbangan mikrofloranya. Saat ini keinginan konsumen terhadap produk pangan yang sehat dan mampu mencegah penyakit semakin meningkat. Faktor inilah yang menyebabkan permintaan terhadap produk-produk kesehatan berbasis probiotik juga mengalami peningkatan. Untuk dapat dikategorikan sebagai probiotik, mikroorganisme harus memenuhi beberapa persyaratan yang berkaitan dengan keamanan, efek fungsional dan teknologi pengolahan (FAO/WHO, 2002).

Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan pathogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme host, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Probiotik adalah inti atau salut dari kelompok bakteri asam laktat yang mempunyai fungsi menyehatkan dan penting bagi kesehatan. Probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 10^8 CFU/mL atau gram akan menunjukkan efek fungsional probiotik. Mikroflora probiotik yang memproduksi asam laktat

biasanya berasal dari golongan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Mcfarlane *et al.* 1998).

Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan dari metabolisme protein dan lemak, serta hasil pemecahan enzim tertentu menjadi semakin berkurang bila bakteri probiotik mulai menjalankan peranannya dalam meningkatkan kesehatan. Berbagai senyawa hasil metabolismenya seperti asam laktat, H₂O₂, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan berbagai enzim yang dimilikinya seperti laktase yang membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, dan *bile salt hydrolase* membantu dalam menurunkan kolesterol, serta adanya aktivitas antikarsinogenik dan stimulasi sistem imun atau sistem kekebalan (Nagao *et al.* 2000; Usman dan Hosono, 1999; Matar *et al.* 2001; Horie *et al.* 2002).

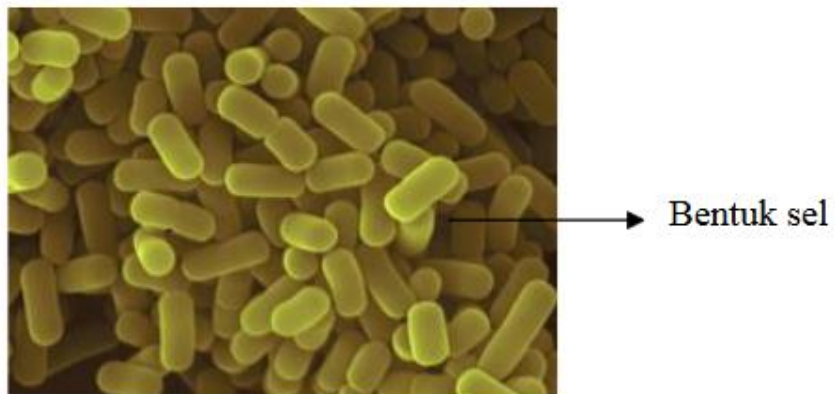
Salminen *et al.* (1998) menjelaskan pentingnya viabilitas probiotik, yaitu preparasi mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan. Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan dan mampu berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu. Untuk menjaga viabilitas bakteri maka perlu usaha melindungi bakteri, salah satunya dengan metode enkapsulasi.

II.1.1 Jenis-jenis Bakteri Probiotik

Menurut Suroño (2004) pada mulanya, bakteri asam laktat terdiri dari 4 genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus*. Namun demikian, beberapa genus baru masuk kedalam kelompok bakteri asam laktat menurut revisi taksonomik terakhir. Genus *Streptococcus* mencakup *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Vagococcus*. Tidak semua bakteri

baik dapat dijadikan sebagai probiotik, salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL).

Sebagian besar bakteri probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL). Toleransi BAL terhadap pH rendah cukup tinggi, sehingga mampu berkompetisi dengan bakteri lain pada fermentasi secara alami yang memproduksi asam laktat. *Lactobacillus plantarum* adalah salah satu jenis BAL homofermentatif dengan temperatur optimal lebih rendah dari 37 °C (Frazier dan Westhoff, 1998).



Gambar 1. Bentuk sel bakteri *Lactobacillus plantarum* (Sumber: Milton, 2010).

Lactobacillus plantarum merupakan salah satu bakteri probiotik dari filum Firmicutes, kelas Bacilli, ordo *Lactobacillales*, famili *Lactobacillaceae*, dan genus *Lactobacillus*. Karakteristik dari *Lactobacillus plantarum* adalah berbentuk batang (0,5-1,5 s/d 1,0-10 µm) dan tidak bergerak (non motil). Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, anerob sampai fakultatif anaerob, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi asam laktat. Dalam media agar, *Lactobacillus. plantarum* membentuk koloni berukuran 2-3 mm, berwarna putih opaque, conveks, dan dikenal sebagai bakteri pembentuk asam laktat (Rostini, 2007).

Menurut Delgado, *et al.* (2001) dalam keadaan asam, *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Selain itu, *Lactobacillus plantarum* juga mempunyai kemampuan untuk menghasilkan bakteriosin yang berfungsi sebagai zat antibiotik.

II.1.2 Kriteria Bakteri Probiotik

Secara umum bakteri probiotik hidup didalam saluran pencernaan dan bermutualisme dengan tubuh inangnya, hidup pada pH 2-4, tidak mengakibatkan hal yang negatif pada tubuh, tidak patogen, umumnya tidak membentuk spora, *saccharolytic*, umumnya anaerob, tidak mengganggu ekosistem tubuh, hidup dan tumbuh didalam usus (Fuller, 1989).

Mikroba probiotik yang digunakan untuk manusia harus memenuhi kualifikasi yaitu, isolat bakteri harus original dari manusia atau hewan, menunjukkan efek menguntungkan pada host, tidak bersifat patogen dan toksik, mengandung sel hidup mikroba yang cukup signifikan, dapat bertahan dan melakukan aktivitas dalam saluran pencernaan, tetap hidup selama penyimpanan dan penggunaannya, dan bersifat antagonis terhadap mikroba patogen. Viabilitas sel bakteri dalam produk pangan probiotik harus mengandung jumlah sel hidup minimal 10^7 CFU/g produk. Viabilitas merupakan parameter ketahanan suatu mikroba dalam hal ini terhadap penyimpanan dan kondisi tubuh, dimana mikroba probiotik dapat dikatakan bermanfaat saat mikroba tersebut telah sampai di usus (Krasaekoopt *et al.* 2006).

Faktor yang mempengaruhi eksistensi bakteri probiotik dalam suatu produk di antaranya, pH, *post-acidification* (selama penyimpanan) dalam produk fermentasi, produksi hidrogen peroksida, toksisitas oksigen (permeabilitas

kemasan terhadap oksigen), suhu penyimpanan, stabilitas dalam bentuk kering atau beku, keberadaan protease untuk memecah protein susu menjadi komponen yang lebih sederhana, dan kesesuaiannya dengan kultur yang secara alami terdapat pada produk (selama fermentasi) (Sultana, *et al.* 2000).

Keamanan dan kemanjuran probiotik sangat ditentukan oleh karakter dan jumlah bakteri yang digunakan. Oleh karena itu, dalam menilai keamanan dan kemanjuran suatu produk probiotik beberapa faktor harus diperhatikan diantaranya sifat-sifat bakteri yang akan digunakan seperti kemampuan bakteri terus hidup (*viability*) selama proses produksi, ketika bakteri berada dalam produk (*carrier*), ketika berada dalam saluran pencernaan dan ketika dalam penyimpanan karena bakteri mudah mengalami degradasi oleh panas, cahaya, kelembapan, dan oksigen (Tensiska, 2008).

Menurut Reid (1999), suatu mikroba dikatakan probiotik bila memenuhi beberapa persyaratan, diantaranya:

- a) Stabil terhadap asam (terutama asam lambung), sehingga mampu bertahan dan hidup selama melalui lambung dan usus
- b) Stabil terhadap garam empedu dan mampu bertahan hidup selama berada pada bagian atas usus kecil
- c) Memproduksi senyawa antimikroba seperti asam, hidrogen peroksida dan bakteriosin
- d) Mampu menempel dan mengkolonisasi sel usus manusia. Hal ini akan meningkatkan kompetisi dengan mikroba patogen dan penyebab karsinogen
- e) Tumbuh baik dan berkembang dalam saluran pencernaan
- f) Koagregasi membentuk lingkungan mikroflora yang normal dan seimbang

- g) Aman digunakan oleh manusia
- h) Tahan terhadap mikrobisida dan spermisida vaginal. Sifat ini diperlukan untuk probiotik yang ditujukan untuk mengobati infeksi saluran urinovaginal

II.1.3 Manfaat Bakteri Probiotik

Probiotik adalah suplemen berupa mikroba hidup yang memberi keuntungan kepada manusia, khususnya dalam keseimbangan mikroflora usus. Selain sebagai suplemen manusia, probiotik kini banyak dijadikan suplemen ternak. Sebagai alternatif menggantikan penggunaan antibiotik yang banyak digunakan oleh para peternak ayam. Pemakaian probiotika tidak mempunyai pengaruh negatif kepada ternaknya sendiri maupun kepada manusia yang mengkonsumsi hasil ternaknya. Probiotik dapat meningkatkan kesehatan ternak, meningkatkan produksi telur, serta dapat menghilangkan sifat *reservoir* AI (Avian Influenza) pada unggas (Harimurti, *et al.* 2007).

Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh dapat melalui tiga mekanisme fungsi (Trisna dan Wahud, 2012) yaitu:

1. Fungsi protektif, yaitu kemampuan untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen anti bakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen).
2. Fungsi sistem imun tubuh, yaitu dengan peningkatan sistem imun tubuh melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivitas

makrofage, modulasi profil sitokin, serta menginduksi *hyporesponsiveness* terhadap antigen yang berasal dari pangan.

3. Fungsi metabolit probiotik yaitu metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, termasuk kemampuan probiotik mendegradasi laktosa di dalam produk susu terfermentasi sehingga dapat dimanfaatkan oleh penderita *lactose intolerance*.

Pemberian probiotik memberikan efek menguntungkan seperti pengurangan kemampuan mikroorganisme patogen dalam memproduksi toksin, menstimuli enzim pencernaan serta dihasilkannya vitamin dan substansi antimikrobia sehingga meningkatkan status kesehatan inang. Keuntungan lain penggunaan probiotik adalah dapat mengurangi tekanan negatif yang diakibatkan adanya hambatan pakan (berupa anti nutrisi) pada pakan karena probiotik mampu menstimulasi peningkatan ketersediaan zat gizi bagi induk semang (Sumarsih *et al.* 2010).

II.1.4 Mekanisme Kerja Probiotik

Probiotik diartikan sebagai suplemen pakan yang berisi mikrobia hidup (*direct feed microbials*) baik bakteri, kapang dan khamir yang dapat menguntungkan bagi inangnya dengan jalan memperbaiki keseimbangan mikrobia dalam saluran pencernaan. Probiotik banyak dijadikan alternatif untuk menggantikan penggunaan antibiotik yang berlebihan atau paling tidak menurunkan dosis yang digunakan. Penggunaan antibiotik yang terus menerus pada pakan akan meninggalkan residu pada produk ternak dan dapat meningkatkan resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik. Mekanisme kerja dari probiotik menurut Fuller (2001) antara lain adalah:

1. Menempel dan berkolonisasi dalam saluran pencernaan.

Kemampuan probiotika untuk bertahan hidup dalam saluran pencernaan dan menempel pada sel-sel usus adalah sesuatu yang diinginkan. Hal ini merupakan tahap pertama untuk berkolonisasi, dan selanjutnya dapat dimodifikasi untuk sistem imun hewan inang. Kemampuan menempel yang kuat pada sel-sel usus ini akan menyebabkan mikroba-mikroba probiotik berkembang dengan baik dan mikroba-mikroba patogen tereduksi dari sel-sel usus hewan inang, sehingga perkembangan organisme-organisme patogen yang menyebabkan penyakit seperti *Escherichia coli*, *Salmonella thyphimurium* dalam saluran pencernaan akan mengalami hambatan. Sejumlah probiotik telah memperlihatkan kemampuan menempel yang kuat pada sel-sel usus manusia seperti *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum* dan sejumlah besar *Bifidobacteria* (McNaught dan MacFie, 2000).

2. Berkompetisi terhadap makanan dan memproduksi zat anti mikrobial mikroba.

Probiotik menghambat organisme patogenik dengan berkompetisi untuk mendapatkan sejumlah substrat bahan makanan yang terbatas untuk difermentasi. Substrat bahan makanan tersebut diperlukan agar mikroba probiotika dapat berkembang dengan baik. Substrat bahan makanan yang mendukung perkembangan mikroba probiotika dalam saluran pencernaan disebut “prebiotik”. Prebiotik ini terdiri dari bahan-bahan makanan yang umumnya banyak mengandung serat. Penggunaan mikroba-mikroba probiotika yang menghasilkan enzim selulase mampu memanfaatkan makanan berserat kasar tinggi dari limbah industri dan pertanian tersebut,

dan mikroba probiotika membantu proses pencernaan sehingga serat kasar dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan jaringan dan peningkatan penambahan bobot badan. Mikroba probiotik juga mensekresikan produk antimikrobal yang dikatakan bacteriocin. Sebagai contoh *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan dua komponen bacteriocin yaitu *bacteriocin lactacin B* dan *acidolin*. *Bacteriocin lactacin B* dan *acidolin* bekerja menghambat berkembangnya organisme patogen (McNaught dan MacFie, 2000).

3. Menstimulasi mukosa dan meningkatkan sistem kekebalan hewan inang.

Mikroorganisme probiotika mampu mengatur beberapa aspek dari sistem kekebalan hewan inang. Kemampuan mikroba probiotika mengeluarkan toksin yang mereduksi atau menghambat perkembangan mikroba-mikroba patogen dalam saluran pencernaan, merupakan suatu kondisi yang dapat meningkatkan kekebalan hewan inang. Toksin-toksin yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotika bagi mikroba-mikroba patogen, sehingga penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba patogen tersebut akan bekurang dan dapat hilang atau sembuh dengan sendirinya. Hal ini akan memberikan keuntungan terhadap kesehatan hewan inang sehingga tahan terhadap serangan penyakit (Yeo dan Kim, 1997).

II.2 Enkapsulasi

Enkapsulasi adalah pembentukan kapsul yang menyelubungi probiotik dari kondisi lingkungan yang ekstrim. Teknik ini banyak diaplikasikan pada bidang industri bahan pangan karena mampu mengawetkan makanan relatif lebih lama sehingga dapat mengurangi resiko kerusakan bahan makanan oleh mikroba.

Enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang akan dienkapsulasi tetap memiliki sifat-sifat fisiologis yang sama dibandingkan dengan sebelum dienkapsulasi (Victor dan Heldman, 2001).

Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan suatu bahan sehingga bahan yang disalut dapat dilindungi dari pengaruh lingkungan. Bahan penyalut disebut enkapsulan sedangkan yang disalut atau dilindungi disebut inti. Enkapsulasi dapat mempertahankan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi. Cara ini dapat dilakukan pada bakteri probiotik untuk memberikan perlindungan dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan seperti suhu dan pH lambung. Selain itu, enkapsulasi juga dilakukan untuk memperpanjang masa simpan dan mempermudah dalam penggunaan (Young *et al.* 1995).

Enkapsulasi adalah suatu proses pembungkusan (*coating*) suatu bahan inti, dalam hal ini adalah bakteri probiotik sebagai bahan inti dengan menggunakan bahan enkapsulasi tertentu, yang bermanfaat untuk mempertahankan viabilitasnya dan melindungi probiotik dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Wu *et al.* 2000).

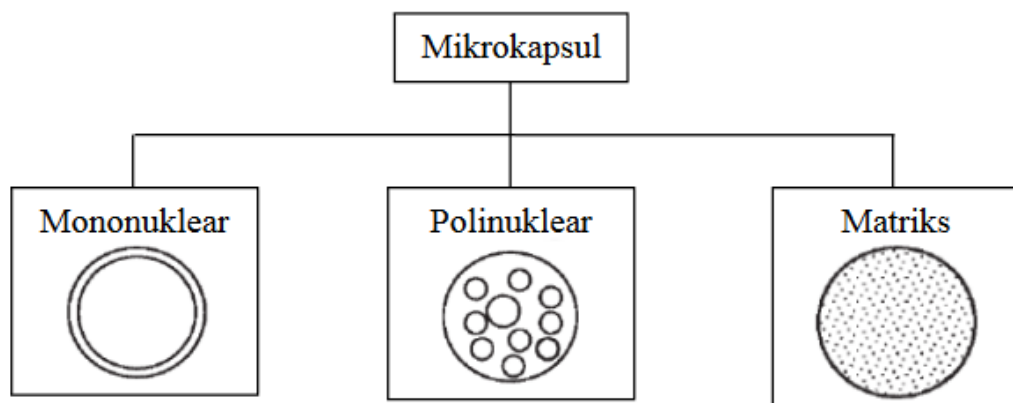
II.3 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah teknologi untuk menyalut atau melapisi suatu zat inti dengan suatu lapisan dinding polimer, sehingga menjadi partikel – partikel kecil berukuran mikro. Sebuah mikrokapsul tersusun atas *core* (zat inti) dan *coating material* (zat penyalut). *Core* didefinisikan sebagai material spesifik yang akan disalut, dapat berupa cairan maupun padatan. *Coating material* atau zat penyalut harus memiliki kemampuan untuk membentuk lapisan yang kohesif dengan *core*, memiliki kesesuaian dan bersifat non reaktif terhadap *core*, serta

memiliki karakteristik *coating* yang diharapkan (kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, dan stabilitas) (Istiyani, 2008).

Tujuan mikroenkapsulasi adalah stabilitas bahan inti, mengontrol pelepasan bahan inti baik kecepatan maupun kondisi pelepasannya, melindungi komponen bahan pangan yang sensitif, mengurangi kehilangan nutrisi, menambah komponen bahan pangan tertentu pada bahan pangan lain dan mengubah bahan pangan bentuk cair ke bentuk padat yang lebih mudah ditangani (Sri *et al.* 2012).

Berdasarkan morfologinya, mikrokapsul dibagi menjadi tiga, yaitu mononuklear, polynuklear, dan matriks. Pada mononuklear, *core* dikelilingi cangkang penyalut. Mikrokapsul polynuklear memiliki banyak *core* dalam sebuah cangkang penyalut. Tipe matriks memiliki banyak *core* yang tersebar homogen dalam sebuah cangkang penyalut. Adapun mikrokapsul berdasarkan morfologinya (Sri *et al.* 2012) ditunjukkan pada:



Gambar 2. Mikrokapsul berdasarkan Morfologinya
(Sumber: Sri *et al.* 2012).

II.3.1 Keuntungan dan Kerugian Mikroenkapsulasi

Keuntungan dan kerugian mikroenkapsulasi antara lain (Lachman, 1994) yaitu:

Keuntungan:

1. Dengan adanya lapisan dinding polimer, bahan inti akan terlindung dari pengaruh lingkungan luar
2. Dapat mencegah perubahan warna dan bau serta dapat menjaga stabilitas bahan inti yang dipertahankan dalam jangka waktu yang lama
3. Dapat dicampur dengan komponen lain yang berinteraksi dengan bahan inti

Kerugian:

1. Biasanya penyalutan bahan inti oleh polimer kurang sempurna atau tidak merata sehingga akan mempengaruhi pelepasan bahan inti dari mikrokapsul
2. Dibutuhkan teknologi mikroenkapsulasi
3. Harus dilakukan pemilihan polimer penyalut dan pelarut yang sesuai dengan bahan inti agar diperoleh hasil mikrokapsul yang baik

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan mikroenkapsulasi yaitu, sifat fisikokimia bahan inti atau zat aktif, bahan penyalut yang digunakan, tahap proses enkapsulasi (tunggal atau bertingkat), sifat dan dinding mikrokapsul serta kondisi pembuatan (basah atau kering). Beberapa parameter yang dapat digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan mikroenkapsulasi probiotik yaitu, viabilitas sel probiotik, kemampuan pelepasan sel dan kelarutan mikrokapsul, bentuk granula, densitas mikrokapsul, jumlah sel dalam granula, pengaturan pengerasan mikrokapsul, dan penyebaran mikrokapsul dalam produk (Istiyani, 2008)

II.3.2 Teknik atau Metode Mikroenkapsulasi

Teknik yang paling sering digunakan untuk mikroenkapsulasi probiotik adalah emulsi, ekstrusi, dan semprot kering. Enkapsulasi merupakan proses, secara fisikokimia atau mekanik, penjerapan bahan dalam material untuk

memproduksi partikel yang berukuran nanometer sampai millimeter (Chen dan Chen, 2007).

1. Teknik Emulsi

Penelitian yang dilakukan Sheu dan Marshall menjerapkan bakteri dengan menggunakan system air dalam minyak. Bahan enkapsulasi, misalnya natrium alginate, awalnya dicampurkan dengan sel bakteri kemudian disuspensi dengan fase minyak, Tween 80 sebagai *emulsifier*. Emulsi kemudian dipecah dengan penambahan CaCl_2 , dan membentuk mikroenkapsulasi yang dikumpulkan dengan sentrifugasi. Bahan lainya, misalnya k-karagenan, dapat menggunakan KCl sebagai pemecah emulsi atau dilakukan *cross-linked* dengan gelatin (Rokka, 2010).

2. Teknik Ekstrusi

Pada teknik ekstrusi larutan hidrokoloid disiapkan pertama kali, kemudian probiotik ditambahkan dan campuran tersebut ditetaskan melalui *syringe* atau *nozzle*. *Droplet* atau butiran akan jatuh ke larutan. Ukuran mikroenkapsulasi dipengaruhi oleh ukuran *syringe*. Selain itu, diameter *bead* alginate akan meningkat ketika konsentrasi ntrium alginate juga meningkat (Rokka, 2010). Pada umumnya, metode ekstrusi merupakan metode yang sederhana dan murah, serta pengoperasiannya dapat menurunkan kerusakan sel probiotik sehingga didapatkan viabilitas yang tinggi pada bakteri probiotik (Kailasapathy, 2002). Keuntungan, prosesnya sederhana dan murah, tidak menyebabkan kerusakan pada sel probiotik, memberikan viabilitas probiotik yang tinggi, dapat dilakukan dalam kondisi aerobic maupun anaerobic. Kerugiannya yaitu sulit untuk

memproduksi skala besar karena pembentukan mikrobead yang lama, penggunaan bahan penyalut terbatas, rentan rusak pada struktur karbohidrat (Solanki, 2013).

3. Teknik Adesi

Beragam pati dan modifikasi pati telah diuji dalam kemampuannya menjerap bakteri probiotik. Misalnya, kalsium akan menginduksi polimer alginate yang terdiri atas pati Hi-MaizeTM sebagai bahan pengisi yang digunakan untuk enkapsulasi probiotik. Granul pati Hylon VII memiliki luas permukaan yang tinggi sehingga baik digunakan untuk mengikat bahan aktif. pH yang rendah dan protease telah ditemukan fungsinya dalam menghambat adesi antara *Bifidobacterium* dengan pati (Rokka, 2010).

4. Teknik Semprot Kering (*spray-drying*)

Teknik ini melibatkan atomisasi atau suspensi probiotik dan bahan pembawa dengan gas kering yang dihasilkan oleh penguapan air yang cepat. Hasilnya akan berupa serbuk kering. Proses semprot kering (*spray-drying*) dikontrol oleh aliran gas, suhu, dan produk itu sendiri. Keuntungan dari proses semprot kering adalah pengoperasiannya menggunakan alat canggih. Kekurangannya adalah suhu tinggi yang digunakan saat proses semprot kering akan mengganggu bakteri probiotik didalam mikroenkapsulasi. Proses semprot kering memerlukan ketepatan saat penambahan dan pengontrolan, kondisi, seperti suhu *inlet* dan *outlet*. Suhu *inlet* yang terlalu tinggi (>120°C) dan suhu *outlet* yang terlalu tinggi

(>60°C) dapat menurunkan viabilitas enkapsulasi *Bifidobacteria* (Rokka, 2010).

5. Teknik Pengeringan Beku (*freeze drying*)

Teknik pengeringan beku (*freeze drying*) termasuk teknik kering pada metode mikroenkapsulasi probiotik. Pada umumnya, pengeringan beku memiliki keuntungan, diantaranya dapat menurunkan rusaknya sel probiotik dibandingkan dengan teknik lainnya. Kelemahan metode ini adalah relatif lebih mahal, dan sulit digunakan pada tingkat industry (Mortazavian *et al.* 2007). Teknik pengeringan beku terdiri atas 3 langkah yaitu:

a. Pembekuan

Probiotik bakteri akan dibekukan pada suhu -196° dalam cairan nitrogen. Es kemudian disublimasikan dan selanjutnya proses pengeringan primer.

b. Pengeringan primer

Proses sublimasi es dengan vakum tinggi dan suhu tinggi. Sublimasi merupakan fase transisi, dari wujud padat menjadi gas, yang menyebabkan suhu dan tekanan dibawah titik nol mutlak (0,01). Sekitar 95% air dihilangkan pada langkah ini.

c. Pengeringan sekunder

Penghilangan air sampai dibawah 4%, meningkatkan penyimpanan jangka panjang dan mencegah kerusakan produk (Charalampopoulos, *et al.* 2009).

Keuntungan penggunaan alginat dalam mikroenkapsulasi adalah mudah membentuk matriks gel di sekitar bakteri dan aman bagi tubuh manusia, murah, pengkondisiannya mudah, mudah disiapkan, dan mudah dipecah di usus dan mengeluarkan bakteri yang terperap. Sedangkan kelemahan penggunaan alginat adalah rentan terhadap lingkungan asam, dan sulit untuk digunakan skala industry karena mahal dan biasanya permukaan *bead* tidak rata (Mortazavian dkk, 2007).



Gambar 3. *Freeze dryer Christ alpha 1-4 LD-plus*
(Sumber: Mortazavian dkk, 2007).

II.4 Bahan Penyalut

Bahan penyalut adalah bahan yang berfungsi sebagai penyalut bahan inti (bahan aktif) dalam proses enkapsulasi. Penggunaan bahan enkapsulasi (*coating*) perlu diperhatikan, karena bahan-bahan tertentu belum tentu cocok dengan bahan jenis lainnya. Bahan penyalut harus mampu memberikan suatu lapisan tipis yang kohesif dengan bahan inti, dapat bercampur secara kimia, tidak bereaksi dengan bahan inti dan dapat memberikan sifat penyalutan yang diinginkan seperti kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, sifat-sifat optic, dan stabilitas (Lachman, *et al.* 1994).

Menurut Quellet *et al.* (2001) bahan penyalut harus memiliki beberapa kriteria sebagai berikut:

- a. Bersifat melindungi komponen aktif dari kerusakan seperti oksidasi dan cahaya
- b. Harus memiliki sifat kehilangan komponen aktif yang rendah selama proses berlangsung
- c. Komponen enkapsulat dapat terdispersi dalam larutan pengkapsul secara merata dengan ukuran yang kecil
- d. Bahan pengkapsul harus memiliki sistem pengendalian pelepasan komponen aktif selama penyimpanan
- e. Bahan pengenkapsulasi harus aman
- f. Bahan pengenkapsulasi harus memiliki sifat fungsional spesifik seperti sifat emulsi, pembentukan film, dan dapat membentuk larutan konsentrasi tinggi

Beberapa kelompok bahan penyalut yang digunakan untuk mikroenkapsulasi (Jackson dan Lee, 1991) yaitu:

Kelompok	Jenis
Gum	Gum arab, agar, natrium alginate, karagenan
Karbohidrat	Pati, dekstrin, sukrosa, sirup jagung, CMC, etil selulosa, metil selulosa, nitro selulosa, asetil selulosa, aetat fitat selulosa,asetat butilat fitat selulosa
Lemak	Lilin, paraffin, tristearin, asam stearate, monogliserida, digliserida, lilin tawon, minyak, lemak, minyak keras
Bahan Anorganik	Kalsium fosfat, silikat, tanah liat
Protein	Gluten, kasein, gelatin, albumin

II.4.1 Maltodekstrin

Maltodekstrin didefinisikan sebagai produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik dengan DE kurang dari 20. Harga DE (*Dextrose Equivalent*) hanya

memberi gambaran tentang kandungan gula pereduksi. Peningkatan nilai DE akan meningkatkan warna, sifat higroskopis, plastisitas, rasa manis, dan kelarutan (Lubis, 2011).

Maltodekstrin dengan DE yang rendah lebih efektif sebagai pengikat lemak dibandingkan dengan DE yang tinggi. Nilai DE yang tinggi akan memberikan viskositas yang lebih rendah. Maltodekstrin dapat diperoleh dengan menghidrolisis pati singkong secara parsial dengan enzim α -amilase pada suhu 85°C selama 65 menit. Maltodekstrin merupakan campuran maltosa, maltotriosa, dan maltotetraosa. Maltodekstrin memiliki rumus kimia $[C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$. Maltodekstrin harus memenuhi persyaratan yang ditetapkan yaitu memiliki susut pengeringan < 6%, sisa pemijaran < 0,5% dan pH antara 4-7 (Fasikhatun, 2010; Lubis, 2011).

Maltodekstrin sering digunakan karena memiliki sifat sebagai penyalut yang baik karena kemampuannya dalam membentuk emulsi dan viskositasnya yang rendah. Selain itu maltodekstrin mudah ditemukan, mudah dalam penanganan proses, dapat mengalami dispersi yang cepat, memiliki kelarutan tinggi, mampu membentuk matriks dengan kemungkinan pencoklatan rendah, mampu menghambat kristalisasi, memiliki daya ikat kuat, dan stabil pada emulsi minyak dalam air. Kemampuan maltodekstrin untuk menghambat reaksi oksidasi menyebabkan mikrokapsul yang dihasilkan memiliki masa simpan lebih panjang dibanding mikrokapsul yang menggunakan gum arab. Dekstrin mampu mempertahankan viabilitas BAL yang cukup tinggi yaitu berkisar 7,6 – 9,3 (log CFU/ml) (Gharsalloui *et al.* 2007).

II.4.2 Alginat

Alginat merupakan polimer yang membentuk koloid hidrofilik yang diekstraksi dengan garam alkali dari bermacam – macam jenis alga laut coklat (*Phaeophyceae*). Rumus molekul natrium alginat adalah (C₆H₇O₆Na). Alginat memiliki kemampuan matriks gel disekitar sel bakteri, tidak memiliki efek racun bagi tubuh, murah, mudah digunakan, mudah larut dalam pencernaan dan melepaskan sel (Mortazavian *et al.* 2007).

Larutan alginat akan bereaksi dengan kation-kation divalen dan trivalen untuk membentuk gel. Gel akan terbentuk pada suhu kamar dan gel tersebut akan mencair bila dipanaskan. Gel-gel ini dapat diaplikasikan pada bermacam-macam industri, khususnya kalsium (Ca) yang digunakan sebagai ion divalen. Larutan asam alginat dapat membentuk gel yang bersifat lebih lunak daripada gel kalsium alginat. Gel dari asam alginat dapat mencair dalam mulut sehingga dapat diaplikasikan dalam industri makanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi sifat-sifat larutan alginat adalah suhu, konsentrasi, dan ukuran polimer (McNelly dan Pettit, 1973).

Keunggulan alginat sebagai enkapsulan probiotik terletak pada kemampuannya memproteksi sel dalam kondisi asam. Alginat memiliki kemampuan untuk bertahan melewati lambung tanpa terdegradasi. Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophillus* dalam 3% alginat metode emulsi menghasilkan mikrokapsul berukuran 50 – 100 µm dengan jumlah sel $1,3 \times 10^{10}$ (Rayment *et al.* 2009).

II.4.3 Skim Milk (Susu Skim)

Susu skim merupakan salah satu produk susu dengan kadar lemak yang rendah, yaitu 0,6-1,25%. Susu skim merupakan sisa hasil pemisahan semua atau kebanyakan lemak susu dengan alat separator sentrifugal kontinyu. Susu skim yang banyak beredar di pasaran biasanya berbentuk bubuk berwarna putih, bersifat *free flowing*, dan bebas gumpalan, cita rasanya pada kondisi kering tidak berbau. Susu skim mengandung nutrisi yang relatif kaya, terutama kandungan gula. Gula susu, yaitu laktosa, yang terdapat pada susu skim berkisar antara 49,5%-52% (Sawitri, *et al.* 2014).

Protein merupakan kandungan terbesar pada susu skim. Komponen protein pada susu skim yang paling penting adalah kasein. Kasein merupakan fraksi utama protein yang mengendap saat susu segar diasamkan pada pH 4-6 pada suhu 20°C. Kasein menyusun 76-86% dari total protein susu skim. Protein nonkasein yang tertinggal setelah pengendapan kasein disebut protein whey atau serum protein. Whey menyusun 14-24% dari total protein susu skim (Thompson, *et al.* 1965).

II.4.4 Tepung Jagung

Jagung mempunyai nilai gizi yang relatif cukup baik, mengandung protein 10%, lipid 4,4 % dan kandungan pati sekitar 72%. Kandungan asam amino lisin, triptopan, dan isoleusin. Komposisi tepung jagung terdiri dari, kalori (355 kal), karbohidrat (73,7 g), protein (9,2 g), lemak (3,9 g, kalsium (7 mg), fosfor (256 mg), besi (2,4 mg), kalium (287 mg), natrium (35 mg), magnesium (127 mg), vitamin A (510 SI), vitamin B1 (0,38 mg) dan air (12 g) (Mudjishono dan Munarsono, 1993).

Sulistiani (2009) melaporkan viabilitas spora *Bacillus subtilis* dalam berbagai formulasi dipengaruhi oleh jenis formulasi dan lama penyimpanan. Pengaruh jenis formulasi spora *Bacillus subtilis* menunjukkan hasil yang berbeda untuk setiap formulasi yang digunakan. Formulasi tepung jagung memiliki nilai 6,92 CFU/g dalam mendukung ketahanan hidup spora *B. subtilis* selama penyimpanan. Hal ini disebabkan karena tepung jagung memiliki kandungan pati, gula, dan kadar air yang cukup untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri.

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Freeze drying*, erlenmeyer, inkubator (*incubator*), oven (*pemanas*), neraca analitik (*analytic balance*), pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pelat panas (*hot plate*), corong, batang pengaduk, tabung durham, lemari pendingin, penjepit tabung, rak tabung reaksi, spoit, autoklaf, dan kamera.

III.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* (koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA UNHAS), maltodekstrin, Alginat, *Skim milk*, Tepung jagung, MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*) (MERCK), MRSB (*Man Ragosa Sharpe Broth*) (MERCK), alkohol 70%, NaCl fisiologis, garam empedu (*ox bite*) dengan konsentrasi 5%, minyak emersi, kapas, kertas lakmus, dan aluminium foil.

III.3 Prosedur Kerja

III.3.1 Sterilisasi Alat

- a. Alat-alat gelas berupa tabung reaksi, cawan petri, gelas objek dan pipet tetes disterilkan dengan sterilisasi panas kering (udara panas) pada oven. Sterilisasi dilakukan pada temperature 180° C selama 1-2 jam.
- b. Jarum ose disterilkan dengan sterilisasi panas membara dalam nyala api Bunsen sampai merah membara.

- c. Mensterilkan medium dan aquadest yang digunakan dengan sterilisasi basah (uap air panas bertekanan) yaitu dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi ini dilakukan selama 15 menit dalam temperature 121°C dan tekanan 2 atm.

III.3.2 Pembuatan Medium

Pembuatan medium (Dwyana dan Gobel, 2011):

a. Medium MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*)

Sebanyak 6,2 g medium *Man Ragosa Sharpe Agar* dan CaCO₃ 1% dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dan diukur pHnya 6,2. Kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Kemudian masing-masing mulut erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil lalu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan selama 15 menit.

b. Medium MRSB (*Man Ragosa Sharpe Broth*)

Sebanyak 5,2 g medium *Man Ragosa Sharpe Broth* dilarutkan ke dalam 100 mL air suling dan dibuat dalam pH 6,2. Kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan dibagi ke dalam 4 buah erlenmeyer masing-masing sebanyak 25 mL. Lalu masing-masing mulut erlenmeyer ditutup menggunakan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan selama 15 menit.

III.3.3 Penyiapan Bakteri Probiotik

Isolat bakteri probiotik yang digunakan adalah *Lactobacillus plantarum* yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA

UNHAS diremajakan dalam media *Man Ragosa Sharpe Agar* dengan waktu inkubasi 24 – 48 jam pada suhu 37°C.

III.3.4 Perbanyakkan Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik hasil peremajaan diinokulasi ke dalam 100 ml media *Man Ragosa Sharpe Broth* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diinokulasi ke dalam 200 mL media *Man Ragosa Sharpe Broth* dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi bakteri probiotik diendapkan dari *Man Ragosa Sharpe Broth* dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm pada suhu 4°C.

III.3.5 Pembuatan Mikro kapsul dengan metode *Freeze Drying*

A. Pembuatan Mikro kapsul

1. Bahan Penyalut A

Sebanyak 200 mL aquadest ditambahkan 10 gram tepung jagung, 2 gram glukosa, 2 mL molase, lalu ditambahkan 1 gram bakteri probiotik, kemudian dihomogenkan dengan pengadukan 500 rpm selama 30 menit. Campuran homogen dikeringkan dengan *freeze drying* hingga terbentuk mikro kapsul.

2. Bahan Penyalut B

Sebanyak 200 mL aquadest ditambahkan 20 gram Skim milk, 2 gram maltodekstrin, 2 mL molase, ditambahkan 1 gram bakteri probiotik, kemudian dihomogenkan dengan pengadukan 500 rpm selama 30 menit. Campuran homogen dikeringkan dengan *freeze drying* hingga terbentuk mikro kapsul

3. Bahan Penyalut C

Sebanyak 200 mL aquadest ditambahkan 1 gram alginat, 8 gram glukosa, 3 gram pepton, dan 24 gram maltodekstrin, kemudian ditambahkan 1 gram bakteri

probiotik, selanjutnya dihomogenkan dengan pengadukan 500 rpm selama 30 menit. Campuran homogen dikeringkan dengan *freeze drying* hingga terbentuk mikrokapsul.

B. Penyimpanan Mikrokapsul Probiotik

Probiotik yang telah dienkapsulasi (mikrokapsul) dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan pada suhu rendah (4°C) selama enam minggu untuk pengujian viabilitas probiotik.

III.3.6 Evaluasi Mikrokapsul Probiotik

1. Uji viabilitas mikrokapsul probiotik

Pengujian viabilitas sel bakteri asam laktat sebelum dan sesudah pengeringan beku (*freeze dryer*) dilakukan pada media *Man Ragosa Sharpe Agar* dengan metode tuang (*plate count*) dengan beberapa seri pengenceran. Sebanyak 1 mL kultur sebelum dikeringbekukan dan 0,1 gram kultur kering, kemudian diencerkan sampai pengenceran 10^{-13} , sebanyak 1 mL hasil pengenceran ditanam ke dalam cawan petri steril dan dituang media *Man Ragosa Sharpe Agar* diatasnya, digoyang-goyangkan sampai merata dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah total bakteri asam laktat sesudah proses enkapsulasi dan dilakukan evaluasi selama 6 minggu dengan interval waktu 1 minggu.

2. Uji Probiotik

a. Uji Ketahanan Terhadap Garam Empedu

Medium *Man Ragosa Sharpe Broth* ditambahkan dengan garam empedu sintetik (*ox-bite*), dengan konsentrasi 5%. Sebanyak 0,5 gram probiotik terenkapsulasi ditumbuhkan dalam medium *Man Ragosa Sharpe Broth* lalu

diinkubasi selama 1x24 jam, selanjutnya diambil 0,2 mL kultur probiotik cair dan diinokulasikan ke dalam medium *Man Ragosa Sharpe Broth*-garam empedu, lalu inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C (Djide dan Wahyuddin, 2008). Hasil positif apabila terjadi pertumbuhan bakteri pada medium dan hasil negatif apabila tidak terjadi pertumbuhan bakteri pada medium *Man Ragosa Sharpe Broth*-garam empedu.

b. Uji Keasaman (pH)

Medium *Man Ragosa Sharpe Broth* ditambahkan dengan HCl 0,1 N disimpan dalam tabung Erlenmeyer untuk membuat pH 3. Sebanyak 0,2 mL probiotik terenkapsulasi yang diambil dari hasil pengenceran mikrokapsul diinokulasikan pada masing-masing medium *Man Ragosa Sharpe Broth*-HCl, lalu diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif apabila terjadi pertumbuhan bakteri pada medium dan hasil negatif apabila tidak terjadi pertumbuhan bakteri pada medium.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Penyiapan Bakteri Probiotik

Pengujian viabilitas bakteri probiotik yang dienkapsulasi menggunakan berbagai jenis bahan penyalut, dilakukan dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*. Bakteri berbentuk batang (basil), tidak bergerak (non motil), cepat mencerna protein, toleran terhadap asam dan mampu memproduksi asam laktat (Rostini, 2007).

Tahap awal yang dilakukan yaitu penyiapan bakteri probiotik dilakukan dengan menggunakan medium MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*) ditambahkan CaCO_3 1% dan dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam. Setelah inkubasi diperoleh koloni-koloni yang memperlihatkan zona bening disekitar koloni.



Gambar 1. Bakteri Probiotik dalam Media MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2017).

Menurut Rahayu dan Margino (1997), bakteri asam laktat memiliki sifat fisiologis yang sangat bervariasi. Medium yang direkomendasikan untuk

menumbuhkan bakteri asam laktat adalah medium MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*) yang merupakan medium selektif untuk menumbuhkan bakteri asam laktat. Sedangkan penambahan CaCO_3 1% bertujuan untuk menyeleksi bakteri asam laktat yang tumbuh pada medium maka setelah inkubasi 1 x 24 jam akan terlihat zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Hal ini disebabkan karena dalam masa pertumbuhannya selama inkubasi bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat yang bereaksi dengan CaCO_3 yang tidak larut di dalam medium sehingga membentuk kalsium laktat yang larut, dengan menunjukkan adanya daerah atau zona bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh (Djide dan Sartini, 2008).

Selanjutnya dilakukan perbanyakan bakteri probiotik, hasil peremajaan diinokulasi kedalam medium MRSB (*Man Ragosa Sharpe Broth*) kemudian shaker selama 1 x 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan bakteri probiotik tersebut.

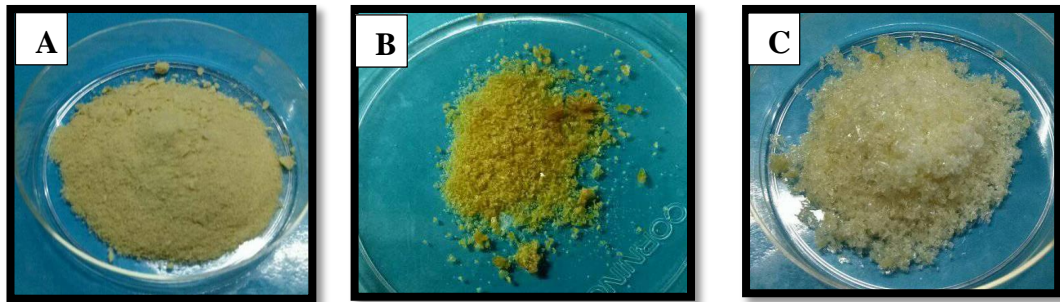
IV.2 Hasil Mikroenkapsulasi dengan Metode *Freeze Drying*

Proses mikroenkapsulasi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan menggunakan teknik pengeringan beku (*freeze drying*). Bakteri probiotik yang ditumbuhkan pada media MRSB (*Man Ragosa Sharpe Broth*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam selanjutnya diendapkan dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm. Pemanenan bakteri dilakukan menggunakan sentrifuse selama 15 menit. Selama proses enkapsulasi, viabilitas probiotik dipertahankan dengan menggunakan beberapa bahan penyalut dengan bahan utama yaitu tepung jagung (bahan penyalut A), skim milk (bahan penyalut B), dan alginat (bahan

penyalut C), kemudian dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan *freeze drying*.

Teknik pengeringan beku (*freeze drying*) merupakan salah satu metode mikroenkapsulasi dengan menggunakan suhu rendah dan dapat mempertahankan mutu hasil pengeringan, khususnya untuk produk-produk yang sensitif terhadap panas, dapat mempertahankan stabilitas produk (menghindari perubahan aroma, warna, dan unsur lain), dapat mempertahankan stabilitas struktur bahan (pengkerutan dan perubahan bentuk setelah pengeringan sangat kecil), dapat menghambat aktivitas mikroba serta mencegah terjadinya reaksi-reaksi kimia dan aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan gizi bahan pangan. Penggunaan *freeze drying* memungkinkan terciptanya suatu keadaan suhu dan tekanan sehingga sifat fisik suatu substrat bahan pangan dapat diatur pada suatu titik kritis yang memungkinkan berhasilnya proses pengeringan dengan potensi rehidrasi yang dapat diperbaiki (Desrosier, 1988).

Pada bahan penyalut A, sebanyak 200 mL probiotik setelah enkapsulasi menggunakan *freeze drying* menghasilkan 12,78 gram serbuk mikrokapsul. Kemudian untuk bahan penyalut B, sebanyak 200 mL probiotik setelah enkapsulasi menggunakan *freeze drying* menghasilkan 13,08 gram serbuk mikrokapsul. Sedangkan untuk bahan penyalut C sebanyak 200 mL probiotik setelah enkapsulasi menggunakan *freeze drying* menghasilkan 26,9 gram serbuk mikrokapsul.



Gambar 2. Hasil Mikroenkapsulasi Berbagai Jenis Bahan Penyalut menggunakan Metode *Freeze Drying*

- A. Hasil Mikroenkapsulasi Bahan Penyalut A
- B. Hasil Mikroenkapsulasi Bahan Penyalut B
- C. Hasil Mikroenkapsulasi Bahan Penyalut C

Penggunaan tepung jagung sebagai bahan penyalut dikarenakan tepung jagung memiliki kandungan pati, gula, dan kadar air yang cukup untuk memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Jagung mempunyai nilai gizi yang cukup baik, mengandung protein 10%, lipid 4,4% dan kandungan pati sekitar 72% (Mudjisihono dan Munarsono, 1993). Proses enkapsulasi menghasilkan mikrokapsul berbentuk serbuk halus dan berwarna kuning, hal ini sesuai dengan warna asli tepung jagung.

Penggunaan skim milk sebagai bahan penyalut karena skim milk merupakan salah satu produk susu dengan kadar lemak yang rendah dan mengandung nutrisi yang relatif kaya. Proses enkapsulasi menghasilkan mikrokapsul berbentuk serbuk kasar, berbutir-butir agak retak dan berwarna kuning kecoklatan seperti karamel. Hal ini sesuai dengan penelitian Lian *et al.* (2001), bahwa hasil mikroenkapsulasi bahan penyalut susu skim, pada permukaannya terlihat berbutir-butir dan retak, retak tersebut mungkin memfasilitasi lepasnya panas dari dalam partikel setelah pengeringan, menyebabkan kerusakan akibat panas yang lebih sedikit terhadap mikroorganisme

yang terperangkap di dalamnya. Hal ini yang memungkinkan hasil *freeze drying* untuk skim milk nampak kasar dan agak retak.

Penggunaan alginat sebagai bahan penyalut karena alginat merupakan polimer yang membentuk koloid hidrofilik yang diekstraksi dengan garam alkali dari bermacam– macam jenis alga laut coklat (*Phaeophyceae*). Proses enkapsulasi menghasilkan mikrokapsul berbentuk kristal seperti gula pasir dan berwarna putih, hal ini disebabkan karena alginat setelah dicampurkan dengan aquadest nampak seperti agar sehingga hasil yang diperoleh setelah *freeze drying* membentuk Kristal (Mortazavian *et al.* 2007).

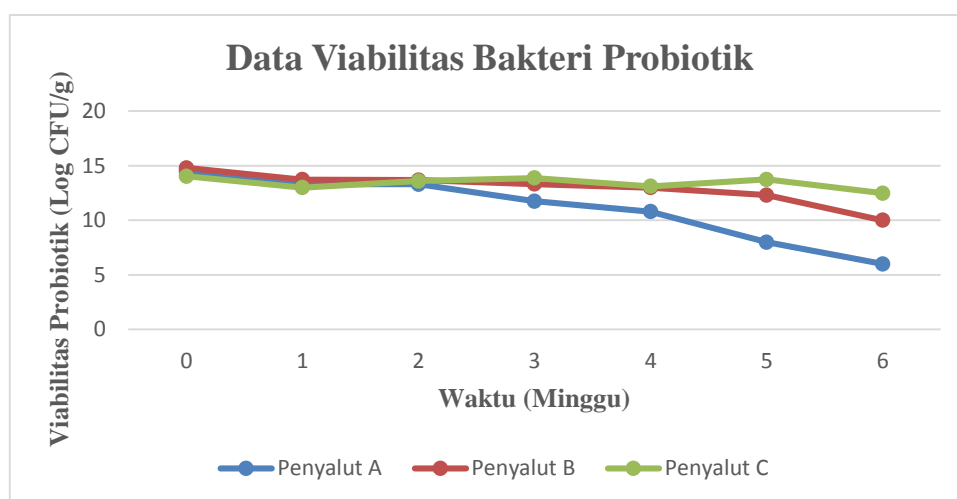
IV.3 Viabilitas Isolat Bakteri Probiotik Terenkapsulasi

Viabilitas sel bakteri probiotik merupakan parameter penting terkait manfaatnya pada bidang kesehatan, farmasi, maupun ternak. Pemberian probiotik memberikan efek menguntungkan seperti pengurangan kemampuan mikroorganisme patogen dalam memproduksi toksin. Manfaat probiotik bisa dirasakan ketika dapat dijadikan sebagai suplemen manusia maupun suplemen ternak dan mampu bertahan hidup disaluran cerna, dalam jangka waktu yang lama.

Berdasarkan hasil viabilitas *Lactobacillus plantarum* terenkapsulasi bahan penyalut A menunjukkan jumlah total bakteri probiotik pada T₀ yaitu $3,1 \times 10^{14}$ CFU/g, kemudian mengalami penurunan hingga pada T₆ menjadi $1,0 \times 10^6$ CFU/g. Pada viabilitas *Lactobacillus plantarum* terenkapsulasi bahan penyalut B, jumlah total bakteri probiotik pada T₀ yaitu $6,3 \times 10^{14}$ CFU/g, setelah penyimpanan 6 minggu mengalami penurunan hingga $1,0 \times 10^{10}$ CFU/g. Sedangkan pada viabilitas *Lactobacillus plantarum* terenkapsulasi bahan penyalut C, jumlah total

bakteri probiotik pada T_0 yaitu $1,1 \times 10^{14}$ CFU/g, selanjutnya mengalami pertumbuhan yang naik turun, kemudian mengalami penurunan hingga pada T_6 menjadi $3,0 \times 10^{12}$ CFU/g.

Viabilitas *Lactobacillus plantarum* dipengaruhi oleh jenis bahan penyalut A, B, dan C yang diinkubasi pada suhu ruang selama waktu penyimpanan 6 minggu dan dilakukan pengujian interval waktu 1 minggu. Adapun jumlah total bakteri probiotik pada setiap bahan penyalut dapat diamati pada Gambar 3 berikut:



Gambar 3. Grafik viabilitas *Lactobacillus plantarum* pada Berbagai Bahan Penyalut Selama Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang

Gambar 3 menunjukkan bahwa ketiga bahan penyalut A, B, dan C, selama penyimpanan 6 minggu masih menunjukkan pertumbuhan bakteri dan stabil dalam menjaga viabilitas *Lactobacillus plantarum* pada suhu ruang.

Tingginya viabilitas sel kemungkinan disebabkan karena pada berbagai bahan penyalut ditambahkan bahan seperti maltodekstrin, glukosa, dan pepton. Karbohidrat seperti pati dan maltodekstrin merupakan bahan penyalut yang baik karena viskositasnya rendah pada padatan tinggi dan memiliki sifat kelarutan yang tinggi. Adanya penambahan bahan tersebut dalam proses enkapsulasi

menunjukkan bahwa pada ketiga bahan penyalut masih mampu menunjukkan pertumbuhan bakteri selama masa penyimpanan 6 minggu.

Menurut Monedero, *et al.* 2010 penambahan karbohidrat yang dikombinasikan dengan alginat dapat meningkatkan kekuatan matriks penjerap dalam melindungi sel. Karbohidrat yang dikombinasikan dengan alginat ini dapat berfungsi sebagai prebiotik. Maltodekstrin dan glukosa dapat berfungsi sebagai prebiotik bagi bakteri dan dapat dicerna oleh mikroflora sehingga mikroflora yang baik dapat tumbuh dengan optimum di usus manusia. Pada penelitian ini, viabilitas bakteri probiotik menggunakan bahan penyalut utama alginat mengalami penurunan, namun masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri setelah penyimpanan 6 minggu. Bahan pengkapsul alginat bersifat tidak toksik dan membentuk matriks secara lembut dengan CaCl_2 yang dapat menjerap material sensitif seperti sel bakteri probiotik (Kailasapthy, 2002).

Susu skim merupakan salah satu produk susu dengan kadar lemak yang rendah, yaitu 0,6-1,25%. Susu skim merupakan sisa hasil pemisahan semua atau kebanyakan lemak susu dengan alat separator sentrifugal kontinyu. Protein merupakan kandungan terbesar pada susu skim. Komponen protein pada susu skim yang paling penting adalah kasein. Semakin tinggi komposisi susu skim dalam bahan pengkapsul, semakin rendah kadar air mikro kapsul yang dihasilkan.

Pada penelitian Rizqiati *et al.* (2008), untuk mikroenkapsulasi yang dibuat dari bahan enkapsulasi susu skim dan gum arab, pada bahan susu skim setelah penyimpanan 1 bulan pada suhu kamar mengalami penurunan dari 8,3 log CFU/g menjadi 3,6 log CFU/g. Viabilitas probiotik menurun dengan meningkatnya suhu penyimpanan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa viabilitas probiotik

dengan bahan penyalut utama susu skim berkurang selama penyimpanan 6 minggu pada suhu kamar mengalami penurunan jumlah pertumbuhan bakteri.

Jagung mempunyai nilai gizi yang relatif cukup baik, mengandung protein 10%, lipid 4,4 % dan kandungan pati sekitar 72%. Kandungan asam amino lisin, triptopan, dan isoleusin. Komposisi tepung jagung terdiri dari, kalori (355 kal), karbohidrat (73,7 g), protein (9,2 g), lemak (3,9 g, kalsium (7 mg), fosfor (256 mg), besi (2,4 mg), kalium (287 mg), natrium (35 mg), magnesium (127 mg), vitamin A (510 SI), vitamin B1 (0,38 mg) dan air (12 g) (Mudjisihono dan Munarsono, 1993). Pada bahan penyalut utama tepung jagung selama penyimpanan 6 minggu pada suhu kamar menunjukkan viabilitas probiotik yang paling rendah. Berdasarkan penelitian Sri *et al.* 2015 pada viabilitas *Bacillus sp.* BK17 pada berbagai bahan pembawa selama penyimpanan suhu kamar untuk bahan tepung jagung pada minggu ke-1 yaitu $2,1 \times 10^{12}$ CFU/g mengalami penurunan hingga minggu ke-4, hal ini disebabkan karena tepung jagung merupakan senyawa polimer organik yang memiliki kadar air yang tinggi.

Pada penelitian ini, setelah penyimpanan 6 minggu untuk setiap bahan penyalut mengalami penurunan jumlah sel bakteri. Viabilitas probiotik ketiga jenis bahan penyalut mengalami penurunan, akan tetapi penurunan tersebut masih pada standar minimal jumlah sel hidup yaitu 10^6 CFU/g. Menurut Husen (2007), secara umum semakin lama penyimpanan, maka jumlah sel yang diimobil juga semakin menurun. Kondisi penyimpanan, jenis dan sifat dari bahan penyalut sangat berpengaruh pada tingkat viabilitas sel.

Penurunan pertumbuhan juga dipengaruhi oleh bahan penyalut yang digunakan. Penurunan jumlah populasi enkapsulasi diantaranya dikarenakan pada

saat enkapsulasi berbagai penanganan terhadap probiotik tidak benar-benar anaerob. Menurut Surono (2004), mengemukakan bahwa bakteri probiotik umumnya bersifat anaerob sampai anaerob fakultatif.

Pencampuran bahan penyalut tepung jagung, skim milk dan alginat, dengan bahan seperti maltodekstrin, glukosa dan pepton serta pengadukan mengakibatkan inkorporasi atau peleburan oksigen ke dalam campuran probiotik dengan bahan penyalut semakin besar, sedangkan oksigen merupakan racun bagi bakteri probiotik yang bersifat anaerob. Bakteri yang bersifat anaerob tidak memiliki enzim superoksida dismutase maupun katalase, sehingga oksigen merupakan racun bagi bakteri tersebut karena senyawa yang terbentuk dari reaksi flavin protein dengan O_2 yaitu H_2O_2 dan O_2^- tidak dapat dipecah oleh bakteri tersebut (Fardiaz, 1992).

Keberadaan oksigen untuk organisme anaerob akan menyebabkan peningkatan potensial reduksi oksidasi yang dapat menghambat transfer elektron dalam respirasi anaerob. Penambahan bahan-bahan penyalut lain sebagai zat pelarut saat enkapsulasi juga membuat konsentrasi atau total padatan massa sel bakteri probiotik dalam media enkapsulasi semakin berkurang. Sehingga pada saat pengukuran viabilitas untuk masing-masing bahan penyalut hasil enkapsulasi menurun tiap minggunya dikarenakan kontaminasi pada media pertumbuhan yang digunakan sehingga menyebabkan variasi pertumbuhan tiap minggunya (Magfirah, 2015).

Populasi probiotik setelah penyimpanan 6 minggu pada suhu ruang dapat dipertahankan untuk bakteri probiotik terenkapsulasi bahan penyalut A sebesar $1,0 \times 10^6$ CFU/g, bahan penyalut B yaitu $1,0 \times 10^{10}$ CFU/g, sedangkan pada bahan

penyalut C sebesar $3,0 \times 10^{12}$ CFU/g. Jumlah tersebut sesuai dengan standar FAO/WHO, 2002 bahwa standar untuk jumlah populasi bakteri yang harus ada dalam kultur starter sekitar 10^6 - 10^7 CFU/g.

IV.4 Uji Ketahanan terhadap pH dan Garam Empedu

Bakteri probiotik harus mampu bertahan dalam menghadapi rintangan-rintangan dalam saluran pencernaan agar dapat mencapai usus halus dalam keadaan tetap hidup serta dalam jumlah yang cukup memadai untuk berkembang biak dan menyeimbangkan mikrobiota dalam usus (Suroño, 2004).

Kondisi saluran pencernaan erat kaitannya dengan pH yang berbeda-beda. Salah satu faktor yang menonjol dalam menentukan kadar pH dalam saluran pencernaan adalah keasaman asam lambung. Kondisi keasaman lambung sebagai pintu gerbang pertama untuk melakukan seleksi mikroba sebelum masuk ke usus (Khan dan Wiyana, 2011). Uji ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu menunjukkan hasil yang sama untuk berbagai jenis bahan penyalut. Dapat diamati pada Tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Ketahanan terhadap pH Rendah dan Garam Empedu

Uji Ketahanan	Bahan Penyalut		
	A	B	C
Keasaman (pH) 3	++	++	++
Garam Empedu 5%	+++	+++	+++

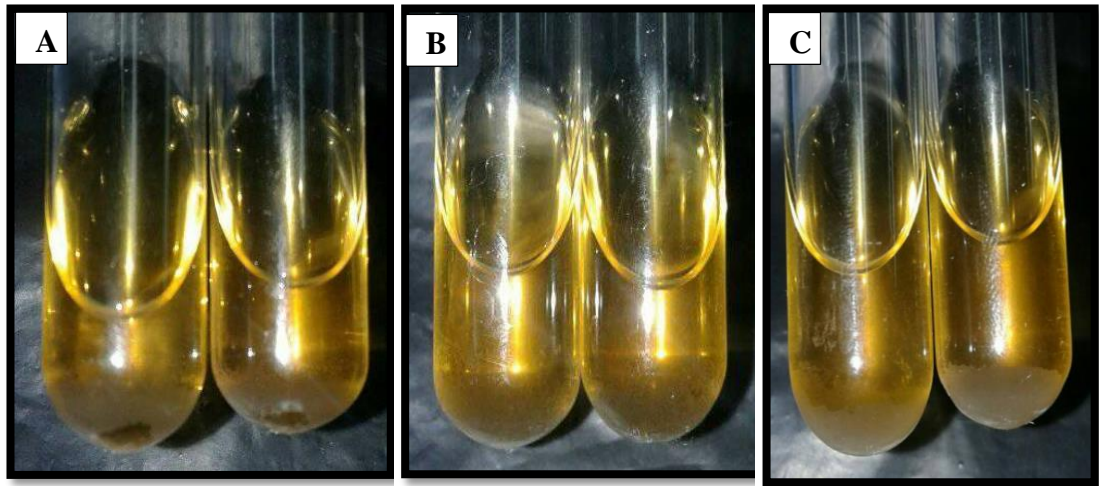
Keterangan:

++ = Keruh dan endapan

+++ = Sangat keruh dan banyak endapan

Dari hasil uji terhadap kadar keasaman (pH), terlihat bahwa bakteri probiotik terenkapsulasi pada minggu ke-6 masih mampu tumbuh pada medium

yang memiliki derajat keasaman (pH) 3. Hal ini terlihat dari koloni bakteri yang tumbuh pada dasar tabung reaksi dan kondisi media yang keruh. Pada ketiga bahan penyalut yaitu A, B, dan C menunjukkan pertumbuhan yang bagus, hal ini dilihat dengan adanya endapan pada tabung. Dapat diamati pada gambar dibawah:



Gambar 4. Hasil Pengamatan Uji terhadap Keasaman (pH) pada Berbagai Bahan Penyalut Setelah Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang
A. MRSB+pH 3 dengan bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut A
B. MRSB+pH 3 dengan bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut B
C. MRSB+pH 3 dengan bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut C

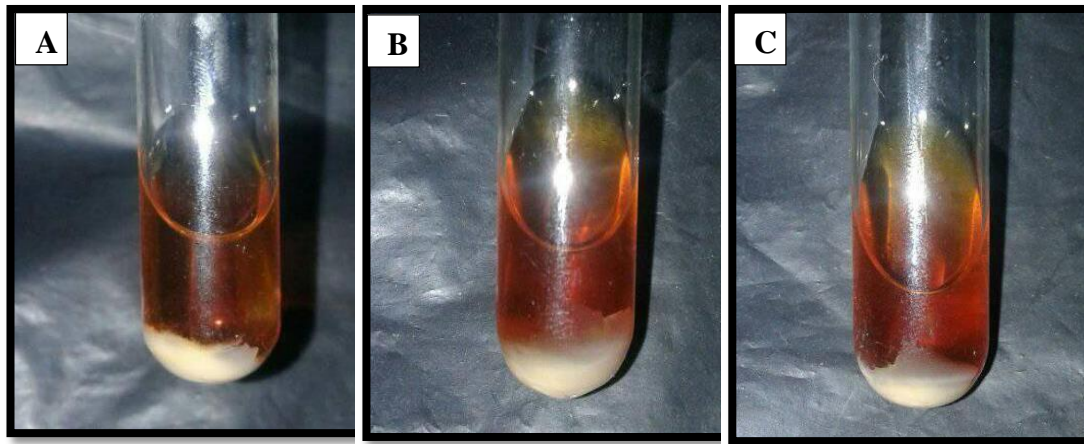
Uji probiotik terhadap ketahanan pH menurut Djide dan Wahyuddin (2008) dilakukan dengan menggunakan medium MRSB yang ditambah HCl 0,1 N untuk mendapatkan pH 3 (sesuai pH lambung) dan dilakukan pengujian secara duplo. Berdasarkan hasil pengujian isolat bakteri probiotik mampu tumbuh pada pH 3. Hal ini membuktikan isolat BAL tersebut mampu untuk melewati asam lambung sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bakteri probiotik.

Kemampuan bakteri probiotik bertahan hidup pada pH rendah disebabkan karena probiotik memiliki toleransi terhadap pH dengan kisaran luas. Selain itu probiotik juga mampu mempertahankan pH sitoplasma lebih alkali daripada pH ekstraseluler (pH lingkungannya) karena bakteri probiotik mengekskresikan asam

dari asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi ke lingkungan (Ananda, 2003).

Untuk menguji potensi bakteri asam laktat sebagai bakteri probiotik, bakteri asam laktat tidak hanya harus tahan terhadap pH rendah, akan tetapi juga harus tahan terhadap garam empedu. Menurut Russel (1992), ketahanan terhadap derajat keasaman dan garam empedu merupakan ciri yang penting bagi bakteri asam laktat sebab menentukan aktivitasnya dalam saluran pencernaan, terutama di saluran usus bagian atas tempat empedu disekresikan. Kemampuan kultur probiotik meningkatkan kolonisasi *laktobasili* pada bagian atas usus dapat mengendalikan pertumbuhan patogen usus yang memasuki sistem pencernaan.

Berdasarkan hasil pengujian ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu sintetik, pada bahan penyalut A, B, dan C setelah 1x24 jam terlihat adanya endapan pada dasar tabung dan medium menjadi lebih keruh. Hal ini menandakan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri pada medium MRSB yang telah ditambahi garam empedu sintetik 5 %, seperti yang terlihat pada Gambar di bawah ini.



Gambar 5. Hasil Pengamatan Uji Ketahanan Garam Empedu 5% pada Berbagai Bahan Penyalut Setelah Penyimpanan 6 Minggu pada Inkubasi Suhu Ruang

- A. MRSB+Garam Empedu 5%+bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut A
- B. MRSB+Garam Empedu 5%+bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut B
- C. MRSB+Garam Empedu 5%+bakteri terenkapsulasi Bahan Penyalut C

Dari hasil pengujian diperoleh data bahwa bahan penyalut A, B, dan C menunjukkan pertumbuhan pada kadar garam empedu sintetik 5%, dan adanya endapan pada dasar tabung menunjukkan bahwa isolat tersebut bersifat anaerob. Menurut Dwyana dan Gobel (2011), pertumbuhan bakteri dalam tabung memperlihatkan perbedaan respon terhadap oksigen atmosferik, bila bakteri berkumpul di permukaan tabung maka bersifat aerob, bila bakteri berkumpul di dasar tabung maka bersifat anaerob, namun apabila bakteri tersuspensi merata pada media dalam tabung maka bersifat anaerob fakultatif.

Garam empedu berpengaruh terhadap permeabilitas sel bakteri. Bakteri yang tidak tahan terhadap garam empedu diduga mengalami permeabilitas membran sel sehingga mengalami kebocoran materi intraselular yang besar dan menyebabkan lisisnya sel. Garam empedu memiliki sifat sebagai senyawa aktif permukaan sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang selanjutnya menyebabkan perubahan dan kerusakan struktur

membran. Keragaman struktur asam lemak pada membran sel bakteri menyebabkan perbedaan permeabilitas dan diduga mempengaruhi ketahanan bakteri terhadap garam empedu (Kusumawati, *et al.*, 2003).

Bakteri yang berpotensi sebagai probiotik harus tahan terhadap pH rendah pada lambung dan tahan garam empedu pada usus dua belas jari. Daya tahan hidup setelah melalui saluran cerna merupakan syarat mikroorganisme agar dapat memberi manfaat kesehatan setelah dikonsumsi. Oleh karena itu, bakteri probiotik harus dapat mengkoloni usus minimal sementara atau dalam jangka waktu pendek (Ananda, 2003).

Berdasarkan penelitian ini, ketiga jenis bahan penyalut setelah masa penyimpanan 6 minggu mengalami penurunan jumlah viabilitas bakteri, namun masih sesuai dengan standar FAO/WHO, 2002. Pengujian ketahanan terhadap keasaman (pH) 3 dan garam empedu 5% menunjukkan bahwa bakteri probiotik yang telah dienkapsulasi dan disimpan selama 6 minggu masih mampu bertahan hidup pada kondisi medium dengan pH dan adanya penambahan garam empedu. Hal ini berarti bahwa probiotik terenkapsulasi tersebut mampu melewati saluran pencernaan dimana terdapat garam empedu yang disekresikan oleh hati dan kondisi keasaman asam lambung sehingga dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada ternak (*feed additive*).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Viabilitas *Lactobacillus plantarum* yang telah dienkapsulasi menggunakan berbagai bahan penyalut dengan metode *freeze drying* pada suhu ruang selama masa penyimpanan 6 minggu masih menunjukkan pertumbuhan bakteri.

V.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan bahan penyalut yang berbeda dan masa penyimpanan yang lebih lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, C. 2009. **Probiotics-Protection Against Infection: Using Nature's Tiny Warriors To Stem Infection.** Available at:<http://probiotic.org/lactobacillus-rhamnosus.htm>. Opened: Nopember 24, 2010.
- Ananda. 2003. **Kajian Sifat Probiotik Isolat Klinis Bakteri Asam Laktat secara In Vitro dan In Vivo.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.
- Anastiawan. 2014. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Saluran Pencernaan Itik Pedaging *Anas domesticus*.** Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Charalampopoulos, Dimitris, dan Robert A. Rastall. 2009. **Prebiotics and Probiotics Science and Technology.** USA: Springer.
- Chen, M., dan Chen, K., N. 2007. **Applications of Probiotic Encapsulation in Dairy Productts.** In: Lakkis, Jamileh M. (Ed.). *Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems.* Wiley-Blackwell, USA, pp. 83-107.
- Delgado, A., D. Brito, P. Fevereiro, C. Peres, and J. F. Marques. 2001. **Antimicrobial activity of *L. plantarum*, Isolated from a Traditional Lactic Acid Fermentat of Table Olives.** INRA, EDP Science 81 (1): 203-215.
- Desrosier, N.W. 1988. **Teknologi Pengawetan Pangan.** Penerjemah M. Muljo hardjo. UI-Press, Jakarta.
- Dwyana, Z. dan Gobel, R.B. 2011. ***Mikrobiologi Umum.*** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Djide, M.N. dan Wahyuddin, E. 2008. **Isolasi Bakteri Asam Laktat dan Air Susu Ibu dan Potensinya dalam Penurunan Kadar Kolestrol Secara In Vitro.** *Majalah Farmasi dan Farmakologi.* Vol 12 (3).
- Djide, M. N. dan Sartini. 2008. **Isolasi Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Kol *Brassica oleracea L.* dan Potensinya sebagai Antagonis *Vibrio harveyi* In Vitro.** *Torani,* Vol.18 (3) : 211-216.
- FAO/WHO. 2002. **Joint FAO/WHO Working Group Report On Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.** London.

- Farah, U. S. 2015. **Identifikasi Bakteri Asam Laktat Asal Usus Bandeng *Chanos chanos* Dengan Gen Pengkode 16S rRNA**. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Fardiaz, S. 1993. **Analisis Mikrobiologi Pangan**. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Fasikhatun, T. 2010. **Pengaruh Konsentrasi Maltodesktrin dan Gum Arab Terhadap Karakteristik Mikroenkapsulan Minyak Sawit Merah dengan Metode spray drying**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fuller, R. 1989. **A Review Probiotic in Man and Animals**. Journal of Applied Bacteriology. 66: 365-378.
- Fuller, R. 2001. **The chicken Gut Microflora and Probiotic Supplements**. J of Poultry Sci. 38 : 189 -196.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1998. **Food Microbiology**. 4th ed. New York: Mc Graw Hill Inc.
- Harimurti, S., Endang S.R., Nasroedin dan Kurniasih. 2007. **Bakteri Asam Laktat dari Intestin Ayam Sebagai Agensia Probiotik**. Animal Production.9 (2): 82 –91.
- Hood, S.K. and E.A. Zottola. 1998. **Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survey and adherence to human intestinal cells**. Journal of Food Science 53: 1514-1516.
- Horie, M., A. Ishiyama, Y. Fujihira-ueki, J. Sillanpaa, T.K. Korhonen, and T. Toba. 2002. **Inhibition of the adherence of *Escherichia coli* strains to basement membrane by *Lactobacillus crispatus* an S-layer**. Journal of Applied Microbiology 92 (3): 396-403.
- Husen, E. 2007. **Kajian Sistem Kendali Mutu Pupuk Hayati Pra-Komersialisasi**. Peneliti Badan Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian, Bogor.
- Istiyani, K. 2008. **Mikroenkapsulasi**. UGM-Press. Yogyakarta.
- Jackson, L and K. Lee. 1991. **Mikroencapsulation and Food Industry**. Lebenson Wissu 24:289-297.
- Kailasapaty, Kaila. 2002. **Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications**. Curr.Issues Intest. Microbiol. Vol. 3: 39-48.

- Khan, M. S., dan Wiyana, A. 2011. **Karakteristik Ketahanan Bakteri Asam Laktat Indigenous Kefir Sebagai Kandidat Bakteri Probiotik pada Kondisi Saluran Pencernaan In Vitro.** Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Kusumawati, N. Bettysri, L J., Siswa, S., Ratihdewanti dan Hariadi. 2003. **Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenous sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Menurunkan Kolesterol.** Jurnal Mikrobiologi Indonesia. Vol. 8(2): 39-43.
- Krasaekoopt, W, B., H. Bhandari and H. Deeth. 2006. **Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt.** Int. Dairy J. 13:3-13.
- Lachman L., Lieberman H.A., Kanig J. L. 1994. **Teori dan Praktek Farmasi Industri** diterjemahkan oleh Suyatni S., Edisi II, UI Press, Jakarta. Halaman : 651- 662.
- Lian, W., H. Hsiao, C. Chou. 2001. **Survival of bifidobacteria after Spray Drying.** International Journal of Food Microbiology.
- Lubis, M. S. 2011. **Penggunaan Maltodekstrin Hasil Hidrolisis Pati Pisang pada Formulasi Sediaan Orally Disintegrating Tablet (ODT).** Tesis. Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Sumatera Utara.
- Matar, C., J.C. Valdez, M. Medina, M. Rachid, and G. Perdigon. 2001. **Immunomodulating effects of milks fermented by Lactobacillus helveticus and its non-proteolitics varian.** Journal of Dairy Research 68 (4): 601-609.
- Magfirah. 2015. **Uji Viabilitas Isolat Probiotik Asal Saluran Pencernaan Itik Pedaging Anas domesticus yang Dienkapsulasi Dengan Metode Spray Drying.** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Mcfarlane, G. T., dan Cummings, J. H. 1998. **Probiotic and Prebiotic.** <http://www.ighawaii.com>. Diakses pada tanggal 5 Oktober 2016 pukul 10.00 Wita.
- McNaught, C.E., and J. MacFie. 2000. **Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence.** Nutr. Research 21 : 343-353.
- McNeely, W. H and Pettit, D. J. 1973. **Alginat in Industrial Gum Polysaccharides and Their Derivates.** Academic Press. New York.
- Milton, J. 2010. **Bacteria Can Drive the Evolution of New species.** <http://www.nature.com>. Diakses pada tanggal 5 Oktober 2016 pukul 11.00 Wita.

- Monedero V.G.P., Martines, and M. Yebra. 2010. **Perspectives of Engineering Lactic Acid Bacteria for Biotechnological Polyol Production.** Appl. Microbiol. Biotechnol. 86: 1003–1015.
- Mortazavian, A., Seyed, H. R., Mohammad R. E., dan Sara, S., 2007. **Priniples and Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms.** Departement of Food Science and Engineering, Faculty of Biosystem Engineering, Campus of Agriculture, University of Tehran, Iranian Journal of Biotechnology (IJB) 2007;5(1):1-18.
- Mudjisihono, R., dan Munarsono S. J. 1993. **Pengaruh Penambahan Tepung Kacang Hijau Terhadap Sifat Fisik dan Kimia Tepung Jagung.** Buletin Pertanian. 12:8-14.
- Nagao, F., M. Nakayama, T. Muto and K. Okumura. 2000. **Effects of a fermented milk drink containing Lactobacillus casei strain shirota on the immune system in healthy human subjects.** Bioscience Biotechnology and Biochemistry 64 (12): 2706-2708.
- Quellet, C., M. Taschi, J. B. Ubink. 2001. **Composite Materials.** US Patent. Applications No. 20010008635.
- Rahayu, E. S., dan Margino, S. 1997. **Bakteri Asam Laktat : Isolasi dan Identifikasi.** Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rayment, P., P. Wright, C. Hoad, E. Ciampi, D. Haydock, dan P Gowland. 2009. **Investigation of Alginate Beads for Gastro-intestinal Functionality Part 1: In Vitro Characterization.** Food Hydrocolloids 23: 816–822.
- Reid, G. 1999. **The Scientific Basis for Probiotic Strain of Lactobacillus.** Minireview. J Appl Env Microbiol 65:3763-3766.
- Rizqiati, H., Jenie, B.S.L., Nurhidayat, N., dan Nurwitri, C. 2008. **Ketahanan dan Viabilitas Lactobacillus plantarum yang Dienkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab Setelah Pengeringan dan Penyimpanan.** Animal Production. 179-187.
- Rokka, Susanna dan Pirjo Rantamaki. 2010. **Protecting Probiotic Bacteria by Microencapsulation: Challenges For Industrial Applications.** Eur Food Res Technol. Vol. 231: 1-12.
- Rostini, I. 2007. **Peranan Bakteri Asam Laktat (L. plantarum) Terhadap Masa Simpan Filet Nila Merah pada Suhu rendah.** Skripsi, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Padjajaran, Bandung.

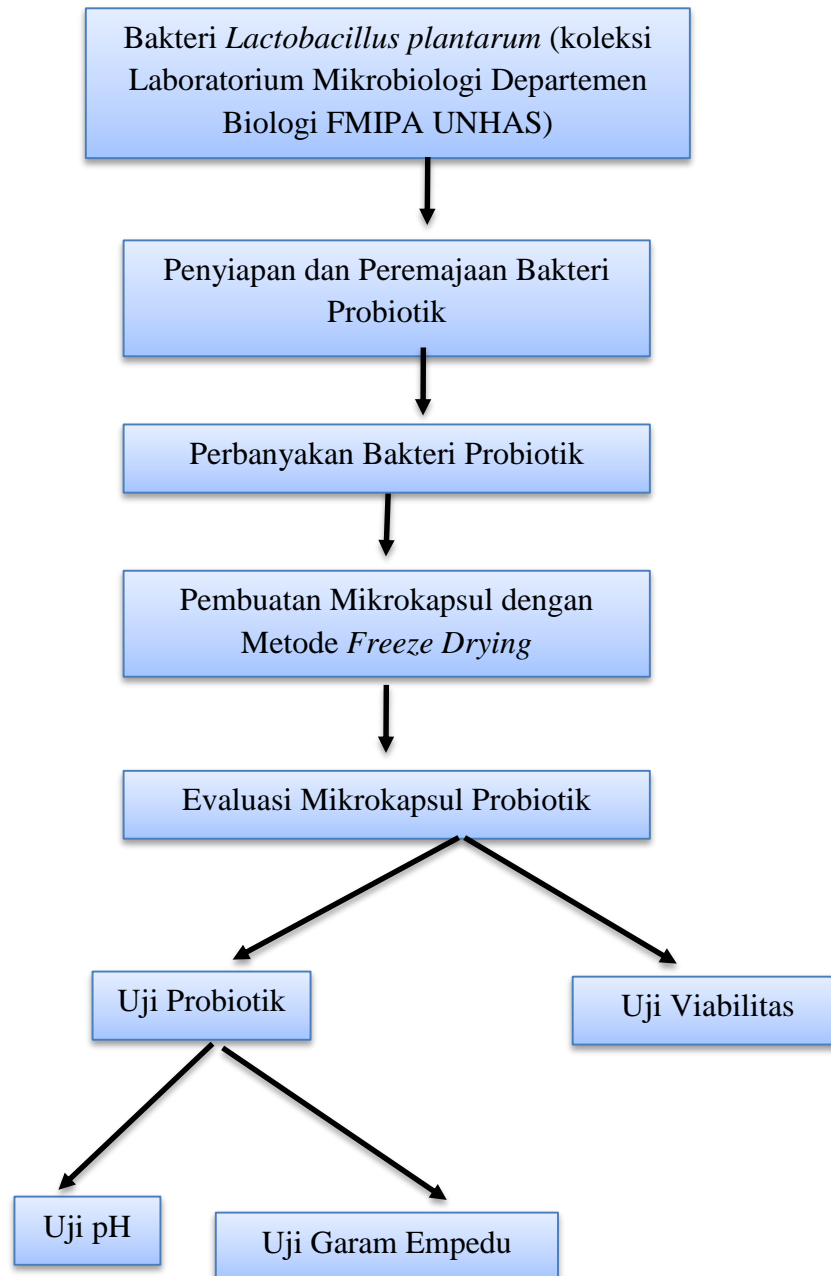
- Russel, J. B. 1992. **Another Explanation for The Toxicity of Fermentation Acid at Low pH : Anion Accumulation versus Uncoupling.** J. Appl. Bacteriol 73 : 363 – 370.
- Salminen, S and A.V. Wright. 1998. **Lactic Acid Bacteria.** Marcell Dekker Inc. New York.
- Sawitri, M.E., A. Manab, M. Huda. 2014. **Kajian Penggunaan Whey Bubuk sebagai Pengganti Susu Skim Bubuk dalam Pengolahan Soft Frozen Es Krim.** <http://jiip.ub.ac.id>. Diakses pada tanggal 3 Oktober 2016 pukul 19.00 Wita.
- Solanki, Himanshu K. 2013. **Development of Microencapsulation Delivery System for Long-Term Preservation of Probiotics as Biotherapeutics Agent.** Biomed Research International. Vol. 2 : 13.
- Sri, Y. D., dan Niken, H. 2012. **Pengaruh Laju Alir Umpan dan Suhu Inlet Spray drying pada Karakteristik Mikrokapsul Oleoresin Jahe.** Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sri, D. H., Munir E., dan Priyani, N. 2015. **Viabilitas Bacillus sp. BK17 pada Berbagai Bahan Pembawa.** Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Sulistiani. 2009. **Formulasi Spora Bacillus subtilis Sebagai Agens Hayati dan PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) pada Berbagai Bahan Pembawa.** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sultana K, G. Godward, N. Reynolds, R. Arumugaswamy, P. Peiris and K. Kailasapathy. 2000. **Encapsulation of Probiotic Bacteria with Alginate-Starch and Evaluation of Survival in Simulated Gastro Intestinal Condition and in Yoghurt.** Int. J. Food Microbiol. 62:47–55.
- Sumarsih, S., T. Yudiati, C. S. Utama, E. S. Rahayu, E. Harmayani. 2010. **The influence of using fish fermented by lactic acid bacteria as feed substitution on serum lipid profile of broilers.** J of The Indonesian Tropical Animal Agriculture 35 (2) p. 125 – 128.
- Surono, IS. 2004. **Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan.** Tri Cipta Karya: Jakarta.
- Tensiska. 2008. **Probiotik dan Prebiotik sebagai Pangan Fungsional.** Universitas Padjadjaran. Jatinegara.
- Thompson. H.C., and W.J. Kelly. 1965. **The potato. In: Vegetable Crops.** The McMillan Co., New York.

- Trisna dan Wahud N. 2012. **Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolestrol Daging pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetic Sumatra Barat.** Artikel. Universitas Andalas. Padang.
- Usman and A. Hosono. 1999. **Bile tolerance, taurocholate deconjugation and binding of cholesterol by Lactobacillus gasseri strains.** Journal of Dairy Science 82: 243-248.
- Victor, R.P. and D.R. Heldman. 2001. **Introduction to Food Engineering.** 3rd ed. London: Academic Press.
- Wu W, W.S. Roe, V.G. Gimino, V. Seriburi, D.E. Martin and S.E. Knapp. 2000. **Low Melt Encapsulation with High Laurate Canola Oil.** US. Patent 6 153 326.
- Yeo, Jinmo and Kyu Il Kim, 1997. **Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks.** Poultry Sci. 76: 381 – 385.
- Young, S.L., X. Sarda, and M. Rosenberg. 1995. **Microencapsulating properties of whey proteins with carbohydrate.** Journal of Dairy Science 76: 2878-2885.
- Yulinery, T., Yulianto, E., dan Nurhidayat, N. 2006. *Uji Fisiologis Probiotik Lactobacillus sp. Mar 8 yang Telah Dienkapsulasi dengan Menggunakan Spray Dryer untuk Menurunkan Kolesterol.* Bidang Mikrobiologi: LIPI. Vol. 7:118-122.

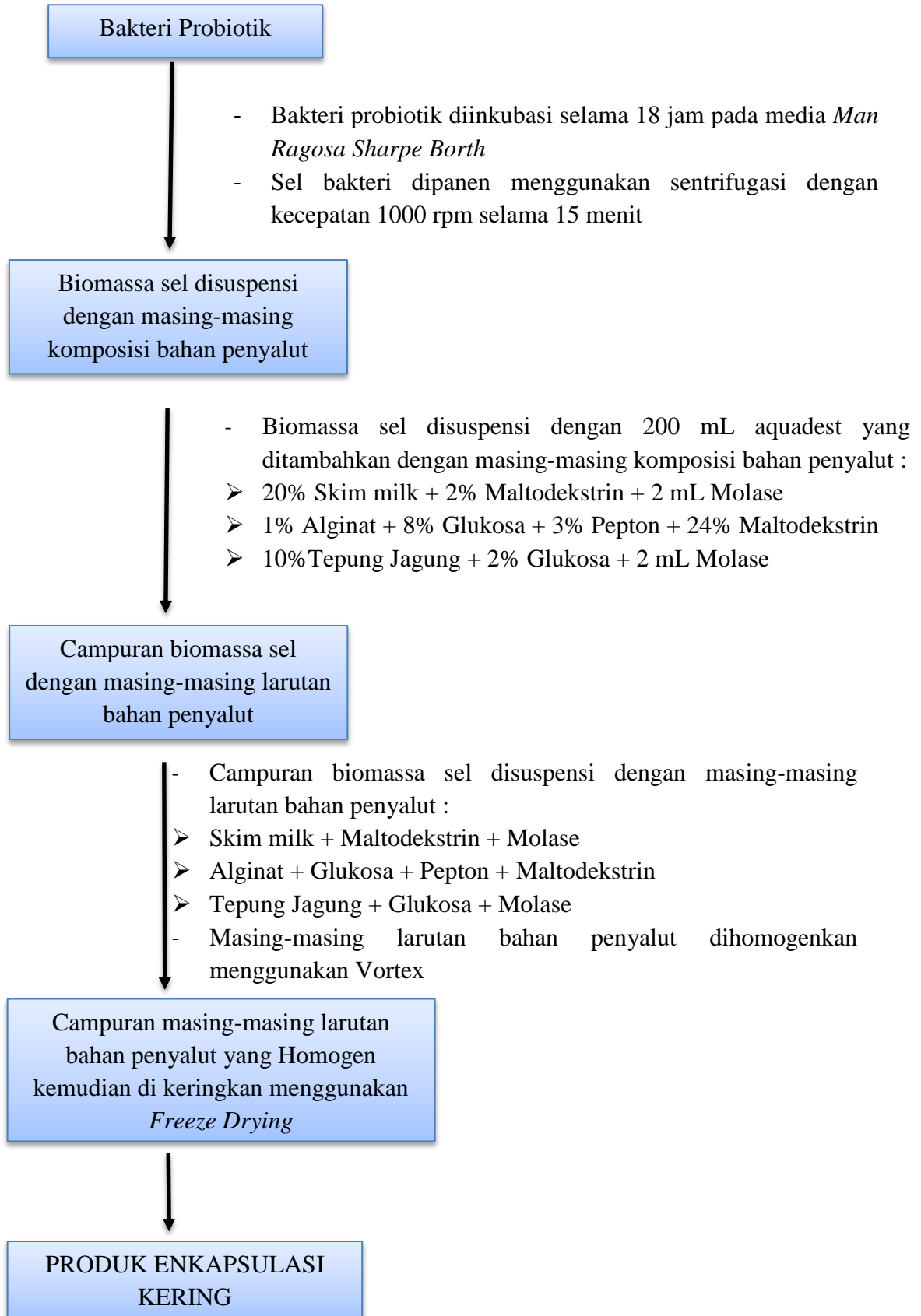
LAMPIRAN

LAMPIRAN

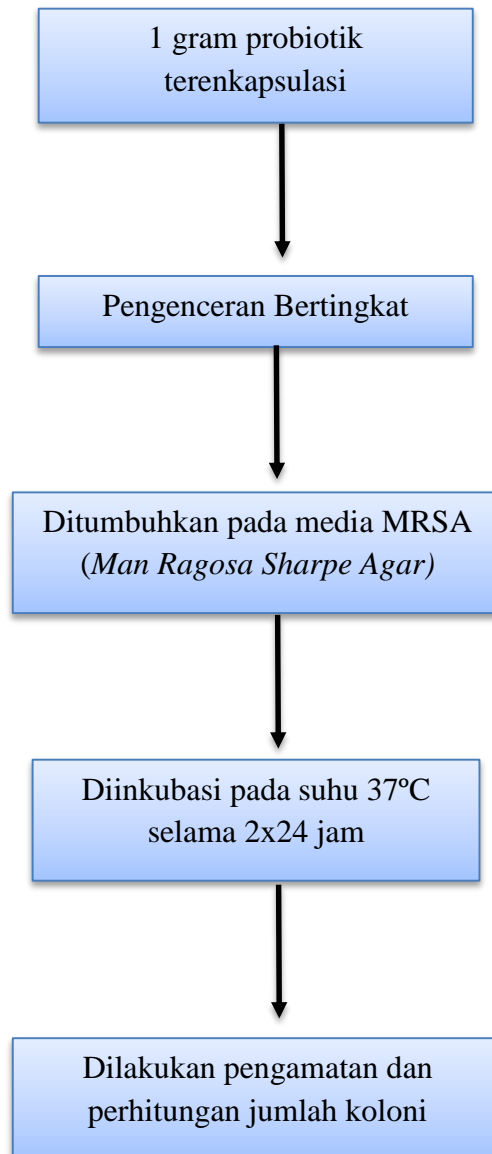
Lampiran 1. Bagan Kerja Uji Viabilitas Bakteri *Lactobacillus plantarum* yang di Enkapsulasi menggunakan berbagai Jenis Bahan Penyalut



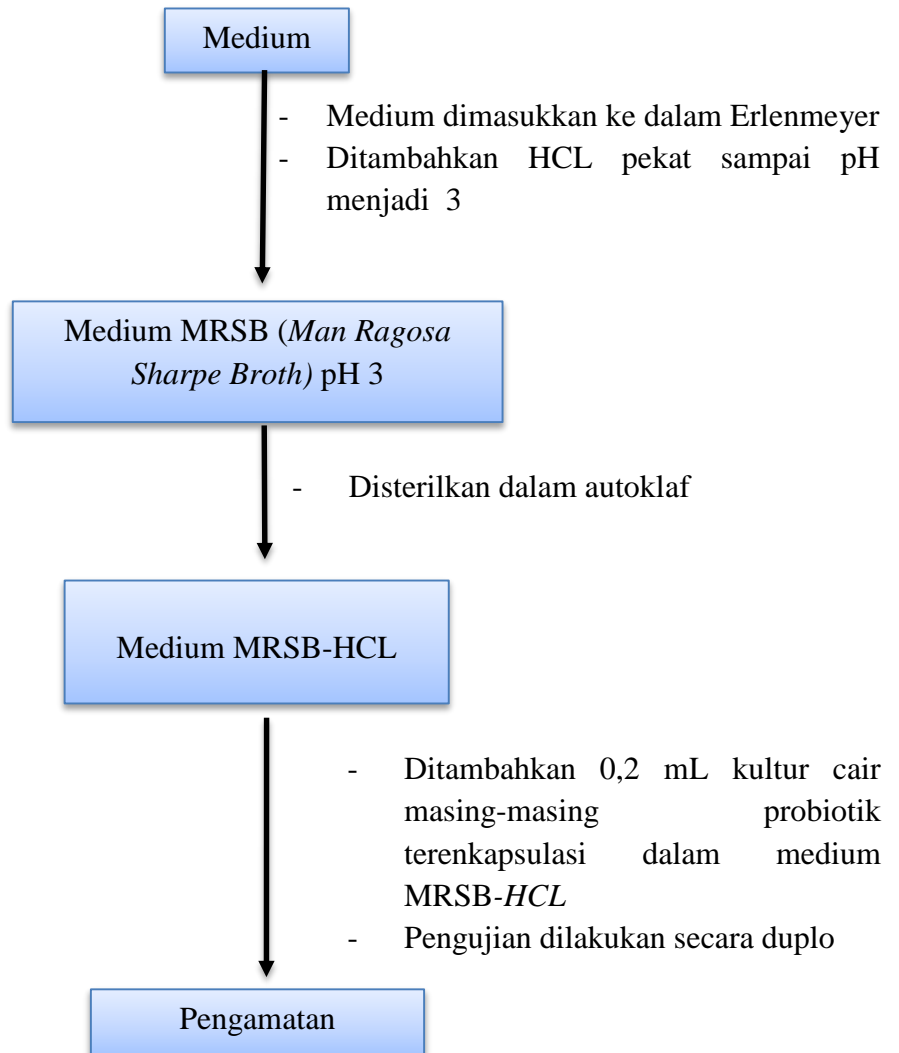
Lampiran 2. Bagan Kerja Pembuatan Mikropkapsul dengan Metode *Freeze Drying*



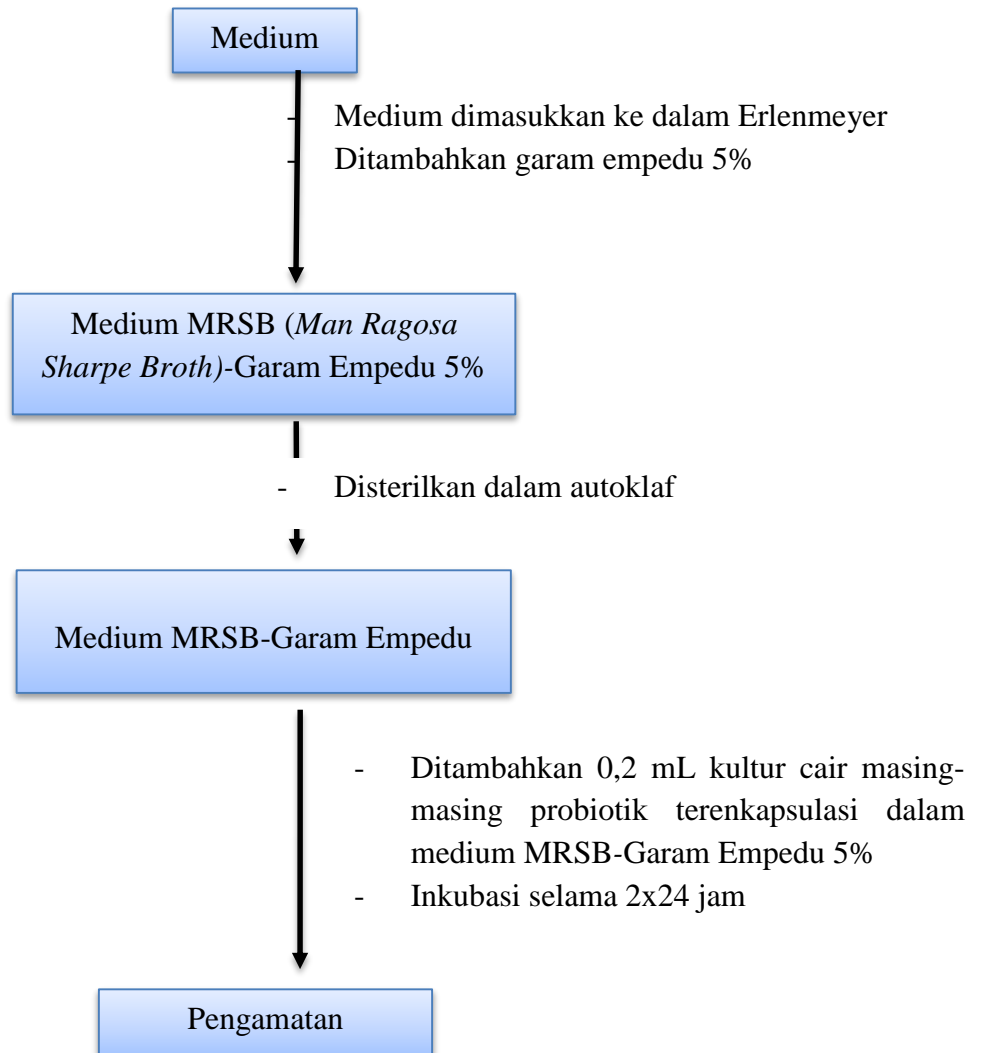
Lampiran 3. Bagan Kerja Uji Viabilitas Bakteri Probiotik Terenkapsulasi



Lampiran 4. Bagan Kerja Uji Ketahanan terhadap Keasaman (pH)



Lampiran 5. Bagan Kerja Uji Ketahanan terhadap Garam Empedu



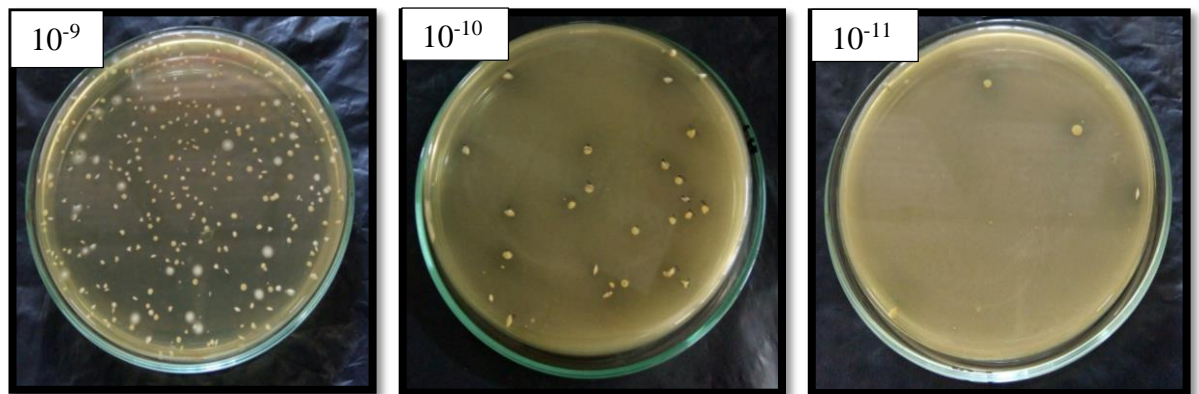
Lampiran 6. Hasil Viabilitas bakteri probiotik setelah proses enkapsulasi dan proses *Freeze Drying* dengan masa penyimpanan 6 Minggu.

Kondisi/Penyimpanan	Jumlah Sel (CFU/g) pada Bahan Penyalut		
	Tepung Jagung	Skim Milk	Alginat
Minggu ke-0 (T₀)	3,1 x 10 ¹⁴	6,3 x 10 ¹⁴	1,1 x 10 ¹⁴
Minggu ke-1 (T₁)	2,0 x 10 ¹³	5,3 x 10 ¹³	1,0 x 10 ¹³
Minggu ke-2 (T₂)	2,0 x 10 ¹³	4,9 x 10 ¹³	3,9 x 10 ¹³
Minggu ke-3 (T₃)	5,7 x 10 ¹¹	2,1 x 10 ¹³	7,4 x 10 ¹³
Minggu ke-4 (T₄)	6,3 x 10 ¹⁰	1,0 x 10 ¹³	1,3 x 10 ¹³
Minggu ke-5 (T₅)	1,0 x 10 ⁸	2,0 x 10 ¹²	5,6 x 10 ¹³
Minggu ke-6 (T₆)	1,0 x 10 ⁶	1,0 x 10 ¹⁰	3,0 x 10 ¹²

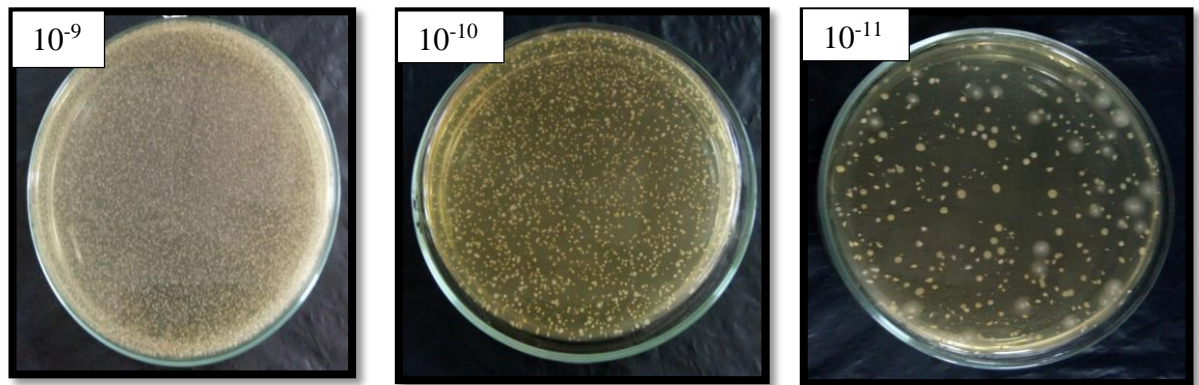
Keterangan:

CFU : Colony Forming Unit

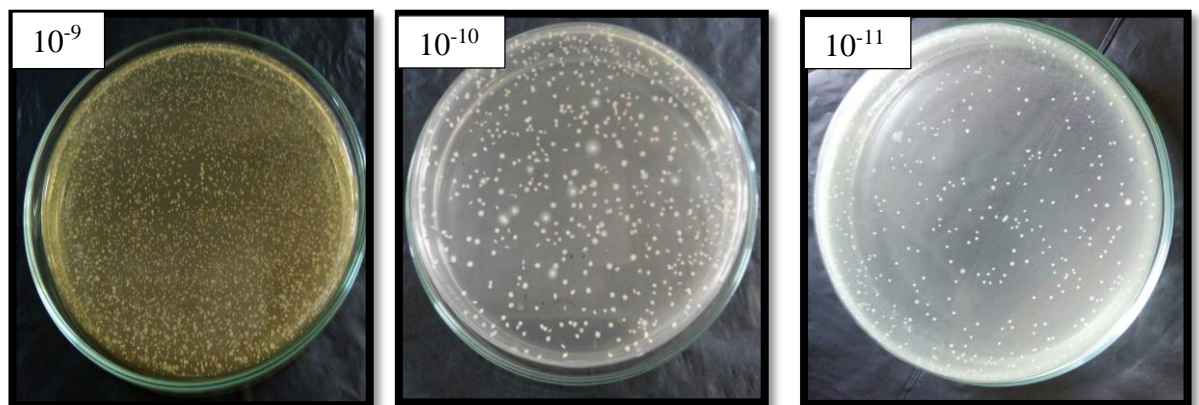
Lampiran 7. Pertumbuhan Populasi Bakteri Probiotik terenkapsulasi setelah penyimpanan 3 minggu



(A)



(B)



(C)

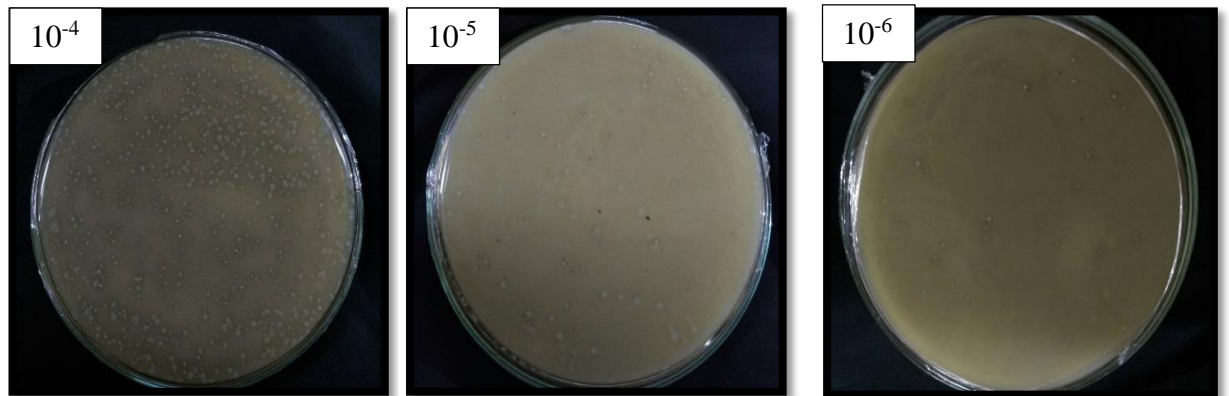
Keterangan:

(A) Bahan penyalut A pada pengenceran 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, dan 10⁻¹¹

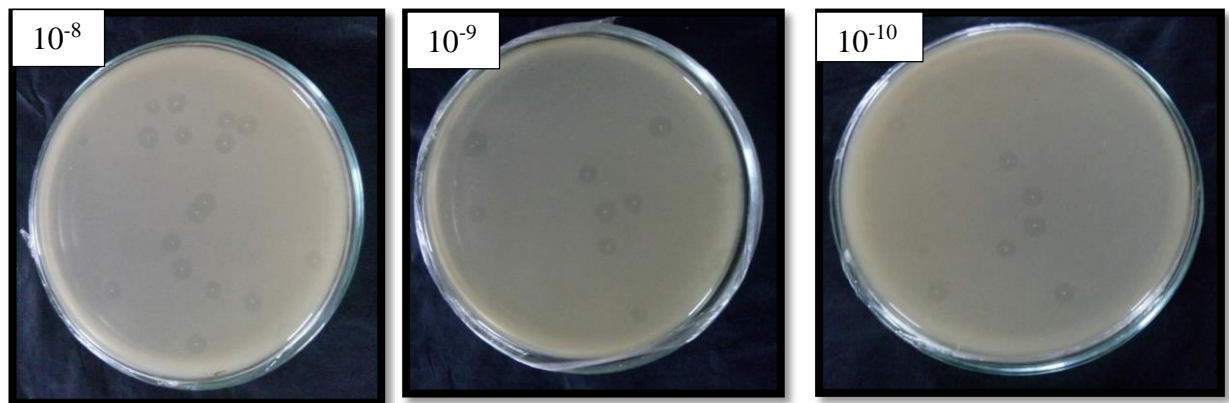
(B) Bahan penyalut B pada pengenceran 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, dan 10⁻¹¹

(C) Bahan penyalut C pada pengenceran 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, dan 10⁻¹¹

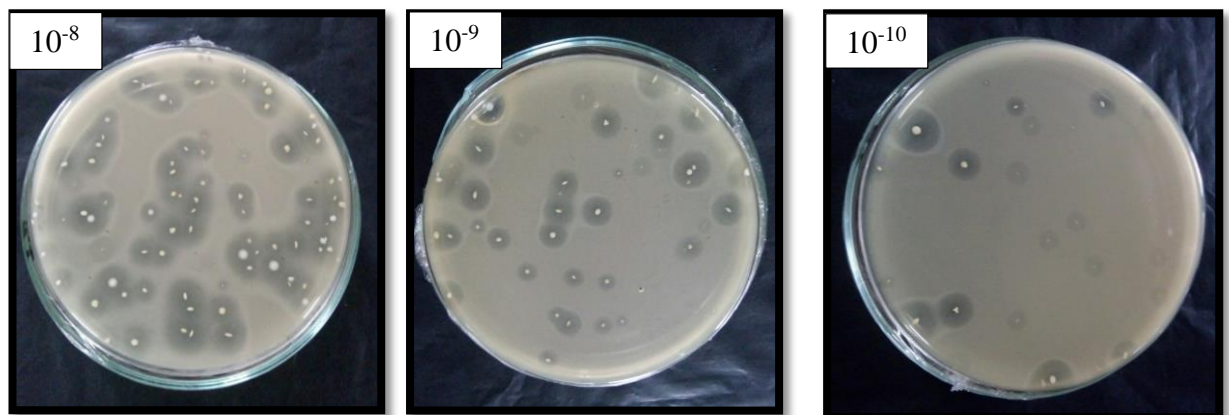
Lampiran 8. Pertumbuhan Populasi Bakteri Probiotik terenkapsulasi setelah penyimpanan 6 minggu



(A)



(B)

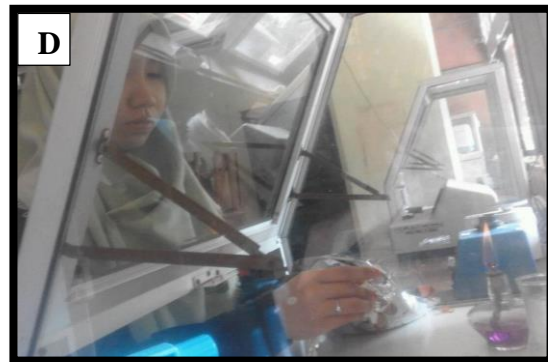
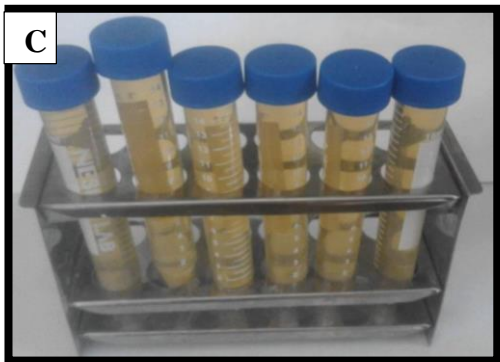
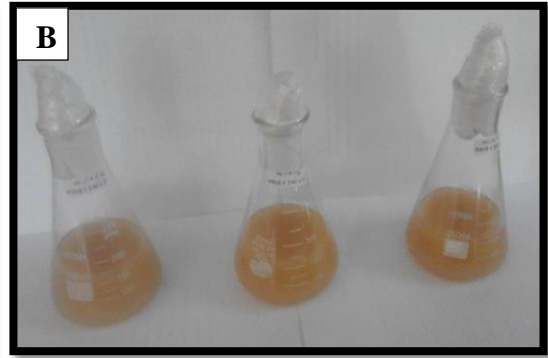


(C)

Keterangan:

- (A) Bahan penyalut A pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6}
(B) Bahan penyalut B pada pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} , dan 10^{-10}
(C) Bahan penyalut C pada pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} , dan 10^{-10}

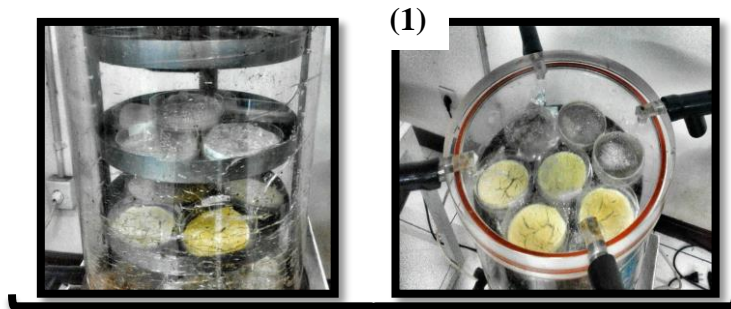
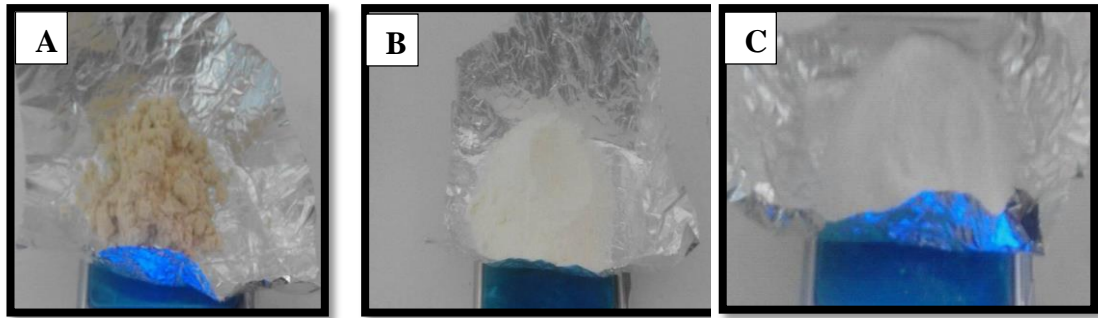
Lampiran 9. Gambar Penyiapan Media



Keterangan:

- A. Penyiapan media
- B. Peremajaan bakteri probiotik
- C. Pemanenan bakteri probiotik
- D. Pembuatan media enkapsul

Lampiran 10. Proses Enkapsulasi dan Uji Viabilitas Probiotik



(2)



(3)



(4)

Keterangan:

- (1) Bahan penyalut sebelum enkapsulasi (penyalut A, B, dan C).
- (2) Probiotik pada *Freeze drying*
- (3) Bahan penyalut setelah enkapsulasi (penyalut A, B, dan C).
- (4) Pengujian viabilitas bakteri probiotik setelah enkapsulasi