

Ketahanan dan Viabilitas *Lactobacillus plantarum* yang Dienkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab Setelah Pengeringan dan Penyimpanan

(Survival of *Lactobacillus plantarum* Encapsulated with Skim Milk and Arabic Gum after Spray Drying and Its Viability during Storage)

Heni Rizqiati^{1*}, Betty Sri Laksmi Jenie², Novik Nurhidayat³ dan Caecilia Nurwitri²

¹ Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang
Kampus Fakultas Peternakan UNDIP Tembalang Gd B Lt 3 Kode Pos 50275 Telp/Fax (024)7478348

² Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga Kotak pos 222 Bogor 16002 Telp/Fax (0251)620069

³ Bidang Mikrobiologi Puslit Biologi – LIPI, Laboratorium Mikrobiologi LIPI Kebun Raya Bogor

ABSTRACT: Ten isolates of *Lactobacillus plantarum* were selected for its survival after heating. Two isolates which showed the highest survival rate were then encapsulated with skim milk, Arabic gum and mixture of skim milk - Arabic gum. The probiotic cultures were prepared in the form of suspension and biomass and then spray dried. Survival of the probiotic encapsulated in the form of biomass after spray drying, and the viability after one month of storage at room temperature were higher than the suspension. It was found that the survival of probiotic bacteria in different encapsulation materials varied after spray drying. The number of probiotic survivals decreased after spray drying for all encapsulation materials tested ranged from less than 1 log cycle to 2 log cycles. Encapsulation of probiotic with three types combination of encapsulating materials showed that no significant difference of survivals after spray drying and viability after one month of storage were observed. The remained number of the probiotic after one month of storage at 4°C and room temperature was 10^4 - 10^7 cfu/g and 10^2 - 10^5 cfu/g, respectively.

Key Words: Encapsulation, probiotic, skim milk, Arabic gum

Pendahuluan

Probiotik merupakan suplemen mikroba hidup yang memberikan efek menguntungkan bagi inang dengan meningkatkan keseimbangan mikroba pencernaan. Keuntungan yang diperoleh meliputi pengendalian infeksi pencernaan, pengendalian tingkat kolesterol dan memiliki aktivitas antikarsinogenik (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

International Dairy Federation merekomendasikan bahwa bakteri harus aktif dan berlimpah dalam produk dan harus terdapat sekitar 10^7 cfu/g berat kering. Namun beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri mungkin tidak dapat mempertahankan jumlah yang cukup jika dimasukkan dalam berbagai produk dan kondisi penyimpanan (Sultana *et al.*, 2000; Chandramouli *et al.*, 2004).

Mikroenkapsulasi berbagai kultur bakteri termasuk probiotik telah menjadi praktek umum untuk meningkatkan masa simpan dan mengubahnya menjadi bentuk untuk mempermudah penggunaannya. Terdapat beberapa teknik seperti *spray drying* dan *freeze drying* untuk mengenkapsulasi kultur dan mengubahnya menjadi bentuk bubuk terkonsentrasi (Krasaekoopt *et al.*, 2003).

Bubuk kering hasil *spray drying* yang mengandung sejumlah besar mikroorganisme hidup merupakan bentuk yang sesuai untuk tujuan penyimpanan dan aplikasi dalam pengembangan pangan fungsional. Namun kendala utama kultur probiotik yang di *spray drying* adalah kehilangan viabilitas yang terjadi selama pengolahan dan penyimpanan bubuk. Tingkat survival kultur selama *spray drying* dan penyimpanan tergantung pada beberapa faktor, meliputi spesies, strain kultur, kondisi pengeringan, inokulum dan medium yang digunakan serta bahan pelindung (Desmond *et al.*, 2002).

Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh bahan enkapsulasi *L. plantarum* dalam bentuk biomasa dan suspensi yang sesuai dengan

* Korespondensi penulis : Hp 085865088698 -

E-mail : heni_tehate@yahoo.co.id Alamat Kantor : Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Gd.B Lt.3. Tembalang. Semarang 50275, Telp/Fax (024)7478348

menggunakan susu skim, gum arab serta kombinasi susu skim dan gum arab terhadap ketahanan probiotik setelah *spray drying* serta viabilitasnya setelah penyimpanan selama satu bulan pada suhu rendah (4°C) dan suhu kamar.

Metode Penelitian

Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan sebanyak sepuluh isolat yang berpotensi probiotik, yaitu *L. plantarum* mar8, *L. plantarum* dmnd, *L. plantarum* s4, *L. plantarum* sgn4, *L. plantarum* p8, *L. plantarum* lac3, *L. plantarum* d4, *L. plantarum* pdgn3, *L. plantarum* pdbn6 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Puslit Biologi LIPI Bogor dan *L. plantarum* sa28k dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Semua isolat tersebut telah berpotensi sebagai probiotik berdasarkan sifat-sifat antimikroba serta ketahanan terhadap asam dan garam empedu.

Persiapan dan Pengawetan Probiotik

Pemurnian dan peremajaan dilakukan untuk memperoleh kultur murni dari probiotik, menggunakan metode Harmayani *et al.* (2001) dengan modifikasi pada media yang digunakan. Semua probiotik dimurnikan lebih dahulu dengan metode goresan kuadran yang diulangi beberapa kali sampai diperoleh koloni terpisah dengan menggunakan media GYP. Probiotik yang telah dimurnikan, disegarkan dan diperbanyak. Kultur stok dalam agar GYP disimpan pada suhu rendah (suhu 4-5°C).

Seleksi Probiotik Tahan Panas

Pengujian ketahanan panas merupakan kriteria seleksi untuk memperoleh probiotik yang paling tahan terhadap panas, menggunakan metode tabung (Murhadi, 1994) dengan sedikit perubahan yaitu media yang digunakan GYP dan suhu yang digunakan 100°C. Dari sepuluh probiotik yang ada, akan dipilih dua probiotik terbaik yang akan dienkapsulasi.

Perbanyakkan probiotik pada medium cair GYP dilakukan dengan menginokulasikan probiotik ke dalam 10 ml media GYP cair steril lalu diinkubasi pada 37°C selama 24 jam, dan dihitung jumlah awal bakteri sebelum perlakuan pemanasan.

Pengujian dilakukan dengan cara tabung reaksi yang berisi 4,5 ml media GYP cair dipanaskan dalam penangas air sampai bagian dalam media mencapai

suhu 100°C. Pengukuran suhu dilakukan dengan mencelupkan termometer langsung ke tabung kontrol. Sebanyak 0,5 ml suspensi probiotik uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan alat vortex 2-3 detik dan segera dimasukkan ke dalam penangas air selama 1 menit. Setelah pemanasan dilakukan pemupukan pada 37°C selama 24 jam dan dihitung jumlah koloni untuk masing-masing probiotik. Ketahanan panas probiotik dihitung dengan rumus :

Ketahanan (%) = $\frac{(\text{Log jumlah sel setelah pemanasan/ml})}{(\text{Log jumlah sel sebelum pemanasan/ml})} \times 100\%$

Produksi Biomasa dan Suspensi Probiotik

Dua probiotik dengan ketahanan panas tertinggi yang telah ditumbuhkan pada agar miring GYP, ditumbuhkan kembali pada media GYP cair selama 24 jam pada suhu 37°C, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur antara. Sebanyak 10 ml kultur antara ditumbuhkan pada GYP cair 1000 ml (1:100) yang digunakan untuk produksi biomasa. Selanjutnya biomasa dipanen dengan cara sentrifugasi (5000xg) selama 10 menit pada 4°C, dan dicuci dua kali dengan buffer fosfat (Harmayani *et al.*, 2001).

Dua probiotik dengan ketahanan panas tertinggi, ditumbuhkan kembali pada media 10% susu skim cair steril selama 24 jam pada suhu 37°C, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur antara. Sebanyak 2,5 ml kultur antara dimasukkan ke dalam 250 ml larutan susu skim 10% steril (b/v), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Yulianto, 2004).

Enkapsulasi Probiotik dan *Spray Drying*

Kultur probiotik yang digunakan sebelum dienkapsulasi adalah dalam bentuk biomasa dan suspensi. Biomasa yang diperoleh diresuspensikan ke dalam aquades steril dan dienkapsulasi dengan susu skim, gum arab serta campuran susu skim dan gum arab. Perbandingan biomasa dan bahan enkapsulasi yang digunakan adalah sebesar 3:7 (b/b).

Probiotik dalam bentuk suspensi yang telah ditumbuhkan dalam susu skim 10% (b/v), pada perlakuan pertama, suspensi langsung dikeringkan dengan *spray dryer*, dan pada perlakuan kedua, suspensi dienkapsulasi dengan gum arab dengan perbandingan 1:1 (b/b) (Yulianto, 2004).

Kombinasi perlakuan enkapsulasi adalah sebagai berikut : biomasa + susu skim, biomasa + gum arab, biomasa + susu skim + gum arab, suspensi + susu skim dan suspensi + susu skim + gum arab. Campuran dihomogenisasi, kemudian dikeringkan

dengan BUCHI mini *spray dryer* pada suhu inlet 100°C dan suhu outlet 50°C.

Penyimpanan Mikrokapsul Probiotik

Probiotik yang sudah dienkapsulasi (mikrokapsul) dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan pada suhu rendah (4°C) dan suhu kamar selama satu bulan untuk pengujian viabilitas probiotik.

Ketahanan Probiotik Selama *Spray Drying*

Uji ketahanan probiotik selama *spray drying* dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses *spray drying* dan bahan enkapsulasi terhadap jumlah probiotik yang masih tetap bertahan hidup. Ketahanan probiotik ditentukan dengan membandingkan jumlah sel sesudah pengeringan semprot dan jumlah sel sebelum pengeringan semprot. Untuk penghitungan kuantitatif jumlah probiotik dilakukan dengan metode *plate count* (Lian *et al.*, 2002), yaitu probiotik yang dienkapsulasi dengan metode *spray drying* diencerkan dengan beberapa seri pengenceran. Sebanyak 0,1 g contoh diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9,9 ml larutan pengencer steril (pengenceran 10^{-2}), kemudian dikocok pada alat vortex. Deretan pengenceran dipersiapkan sampai 10^{-8} , kemudian sebanyak 1 ml contoh dipipet ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan sebanyak 10 ml media GYP agar steril, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Ketahanan (%) = $(\text{Log jumlah sel sesudah pengeringan/g dry basis}) / (\text{Log jumlah sel sebelum pengeringan/g dry basis}) \times 100\%$

Penghitungan Viabilitas Sel

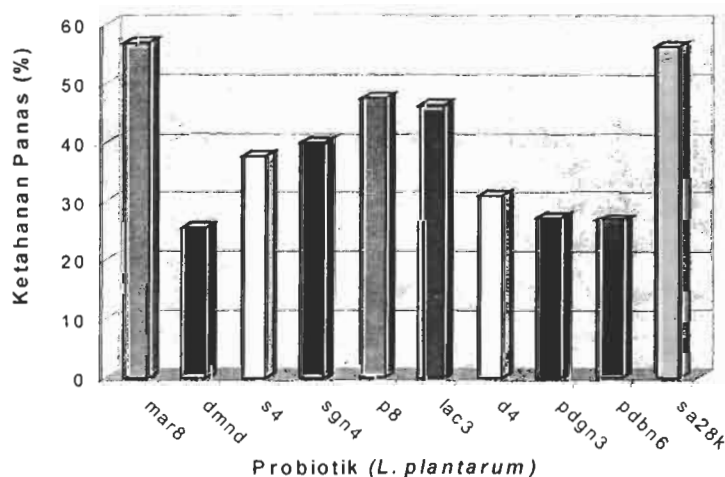
Viabilitas probiotik dihitung berdasarkan rasio log jumlah bakteri per gram sesudah dan sebelum penyimpanan, dan dinyatakan dalam persen (%) (Lian *et al.*, 2002). Rumus perhitungannya adalah sebagai berikut :

Viabilitas (%) = $(\text{Log cfu/g dry basis probiotik sesudah penyimpanan}) / (\text{Log cfu/g dry basis probiotik sebelum penyimpanan}) \times 100\%$

Hasil dan Pembahasan

Seleksi Probiotik Tahan Panas

Hasil pengujian ketahanan panas pada sepuluh isolat probiotik dapat dilihat pada Gambar 1. Setelah pemanasan pada suhu 100°C selama 1 menit ketahanan probiotik yang tersisa bervariasi dari 25-56%, yang artinya 44-75% probiotik hilang karena proses pemanasan. Jumlah probiotik mengalami penurunan dari jumlah awal sekitar 8,5 log cfu/ml menjadi 3,6 log cfu/ml. Dua isolat yang mempunyai ketahanan panas tertinggi, adalah *L. plantarum* sa28k dan *L. plantarum* mar8 (Gambar 1).



Gambar 1 Grafik hasil uji ketahanan panas probiotik

Ketahanan panas *L. plantarum* mar8 sebesar 56,85% sedangkan ketahanan panas *L. plantarum* sa28k sebesar 56,32% tetapi nilai tersebut tidak berbeda nyata secara statistik. Jumlah *L. plantarum* mar8 mengalami penurunan dari jumlah awal 8,76 log cfu/ml menjadi 4,98 log cfu/ml, sedangkan jumlah *L. plantarum* sa28k mengalami penurunan dari jumlah awal 8,63 log cfu/ml menjadi 4,86 log cfu/ml. Panas telah dilaporkan merusak berbagai struktur sel termasuk kerusakan membran sel, ribosom, DNA, RNA dan enzim. DNA masih ditetapkan sebagai molekul sasaran letal, tetapi kerusakan yang terjadi pada waktu yang sama di dalam molekul dan atau struktur yang berbeda dapat juga menghasilkan inaktivasi panas.

Ketahanan Mikro kapsul Probiotik

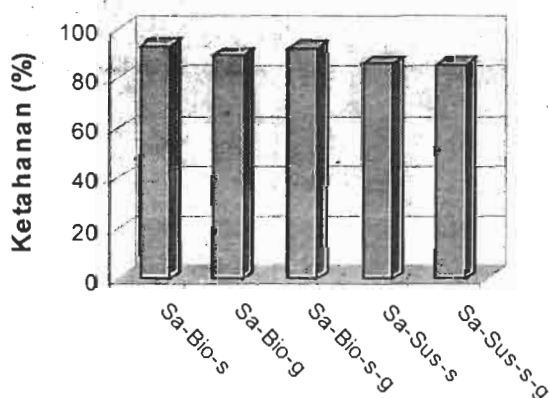
Data ketahanan bakteri setelah *spray drying* dibutuhkan untuk mengetahui pengaruh proses *spray drying* dan bahan enkapsulasi terhadap jumlah bakteri yang masih dapat bertahan hidup. Ketahanan bakteri ditentukan dengan membandingkan jumlah sel sesudah dan sebelum *spray drying*. Ketahanan probiotik baik dalam bentuk biomasa maupun suspensi dalam berbagai komposisi bahan enkapsulasi setelah *spray drying* dapat dilihat pada Gambar 2. Ketahanan bakteri setelah *spray drying* untuk semua perlakuan bahan enkapsulasi relatif baik yaitu sekitar 89%. Jumlah bakteri sebelum *spray drying* adalah 9,4 log cfu/g berat kering, setelah *spray drying* turun menjadi 8,4 log cfu/g berat

kering, berarti penurunan populasi hanya sebanyak 1 siklus log.

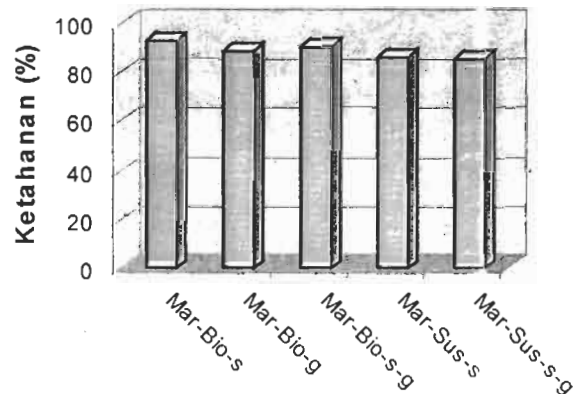
Jumlah bakteri setelah dienkapsulasi dengan metode *spray drying* untuk semua bahan enkapsulasi berkisar antara 10^7 – 10^9 cfu/g berat kering. Jumlah sel probiotik hidup dalam mikrokapsul ini cukup tinggi untuk dapat memberikan efek kesehatan bagi tubuh. Menurut *International Dairy Federation* (Sultana *et al.*, 2000), jumlah minimal sel probiotik hidup pada produk susu untuk dapat berperan dalam peningkatan kesehatan pencernaan adalah 10^6 sel per gram produk. Lian *et al.* (2002) melaporkan bahwa pada perlakuan bahan enkapsulasi susu skim, gelatin dan pati terlarut, *spray drying* menyebabkan penurunan populasi *Bifidobacteria* dengan reduksi sekitar 1,0–2,0 log cfu/g berat kering. Mikrokapsul yang dihasilkan mengandung *Bifidobacteria* dengan jumlah populasi sekitar 10^9 – 10^{10} cfu/g berat kering.

Mosilhey (2003) melaporkan bahwa *spray drying* menyebabkan penurunan sel *L. acidophilus* dalam bentuk biomasa sekitar 1–2 log cfu/g berat kering. Bubuk probiotik yang diperoleh setelah *spray drying* mengandung *L. acidophilus* dengan populasi sekitar 10^8 – 10^9 cfu/g berat kering, memenuhi jumlah yang dapat digunakan sebagai produk probiotik. Penurunan jumlah sel setelah *spray drying* dapat disebabkan oleh adanya dehidrasi dan inaktivasi akibat panas (Johnson dan Etzel, 1995). Penurunan kelangsungan hidup tersebut dapat berbeda-beda tergantung pada galur kultur BAL, perlakuan dan komposisi bahan enkapsulasi (Bertolini *et al.*, 2001).

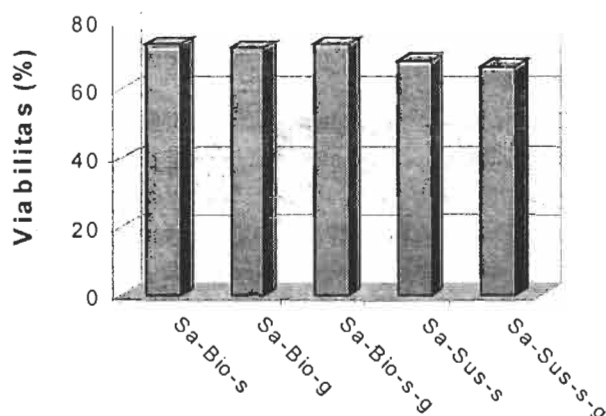
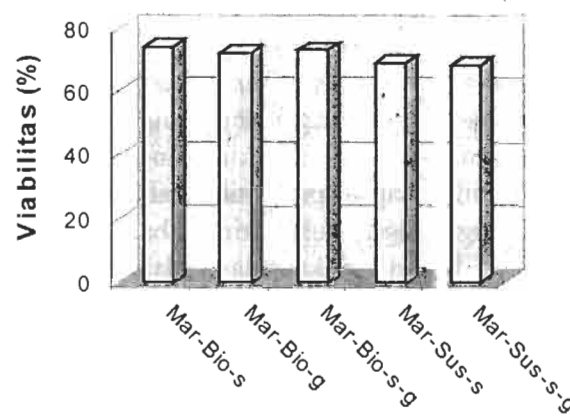
a) *L. plantarum* sa28k



b) *L. plantarum* mar8



Gambar 2. Grafik ketahanan mikrokapsul probiotik setelah *spray drying*
(Sa: *L. plantarum* sa28k, Mar: *L. plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

a) *L. plantarum* sa28kb) *L. plantarum* mar8

Gambar 3. Grafik viabilitas mikrokapsul probiotik setelah disimpan satu bulan pada suhu rendah (4 °C)
(Sa: *L. plantarum* sa28k, Mar: *L. plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

Bentuk Biomasa dan Suspensi. Ketahanan probiotik setelah *spray drying* dalam bentuk biomasa lebih tinggi dan berbeda nyata secara statistik dengan bentuk suspensi. Untuk kultur biomasa ketahanannya sebesar 91%, sedangkan suspensi hanya 85,5%. Kultur biomasa mempunyai jumlah awal 10,1 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 9,2 log cfu/g berat kering, sedangkan suspensi mempunyai jumlah awal 8,6 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 7,3 log cfu/g berat kering.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa bentuk biomasa mempunyai jumlah awal dan jumlah akhir yang lebih tinggi dibandingkan kultur yang dalam bentuk suspensi. Hal ini diduga karena kultur dalam bentuk biomasa ditumbuhkan di media GYP, sedangkan kultur dalam bentuk suspensi ditumbuhkan dalam media susu skim. Kultur *L. plantarum* sa28k dan *L. plantarum* mar 8 adalah kultur yang berasal dari tanaman (kelompok nabati). Menurut Surono (2004), bakteri asam laktat yang berasal dari kelompok nabati tumbuh lebih baik dalam media GYP. Media GYP diduga komposisi nutrisinya lebih cocok untuk pertumbuhan kultur *L. plantarum* sa28k dan *L. plantarum* mar 8 dibanding medium susu skim, sehingga pada kultur biomasa diperoleh kultur dengan jumlah yang lebih tinggi, baik sebelum maupun setelah perlakuan *spray drying*, dibandingkan dengan kultur probiotik dalam bentuk suspensi.

Jenis Bahan Encapsulasi. Pada kultur biomasa diperoleh hasil ketahanan kultur probiotik setelah *spray drying* untuk ketiga kombinasi jenis bahan

enkapsulasi tidak berbeda nyata secara statistik. Ketahanan kultur probiotik pada penggunaan susu skim 93%, campuran susu skim-gum arab 91% dan gum arab 88%. Kultur yang menggunakan bahan enkapsulasi susu skim mempunyai jumlah awal 10,1 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 9,4 log cfu/g berat kering, yang menggunakan bahan enkapsulasi susu skim gum arab mempunyai jumlah awal 10,1 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 9,2 log cfu/g berat kering, sedangkan kultur yang menggunakan bahan enkapsulasi gum arab mempunyai jumlah awal 10,1 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 9,0 log cfu/g berat kering.

Pada kultur suspensi, ketahanan pada penggunaan susu skim 85,5% dan campuran susu skim-gum arab 87,5%. Dari hasil analisis statistik nilai ketahanan kultur probiotik setelah *spray drying* untuk kedua kombinasi jenis bahan enkapsulasi tersebut tidak berbeda nyata. Kultur yang menggunakan bahan enkapsulasi susu skim mempunyai jumlah awal 8,6 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 7,4 log cfu/g berat kering, sedangkan yang menggunakan bahan enkapsulasi susu skim gum arab mempunyai jumlah awal 8,5 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 7,3 log cfu/g berat kering.

Lian *et al.* (2002) menyatakan bahwa jenis bahan enkapsulasi yang berbeda akan mempengaruhi ketahanan kultur probiotik setelah *spray drying*, dan bahan enkapsulasi susu skim menghasilkan ketahanan setelah *spray drying* yang lebih tinggi dari bahan enkapsulasi gelatin dan pati terlarut. Kondisi

ini kemungkinan disebabkan susu skim setelah perlakuan *spray drying* mengalami retak-retak pada permukaannya yang memfasilitasi keluarnya panas dari dalam mikrokapsul. Retak pada susu skim mungkin memfasilitasi lepasnya panas dari dalam partikel setelah pengeringan, yang mengakibatkan kerusakan akibat panas (*heat injury*) yang lebih sedikit terhadap mikroorganisme yang terperangkap di dalamnya. Hal ini mungkin yang menjelaskan ketahanan mikrokapsul probiotik lebih tinggi setelah *spray drying* dengan susu skim dibanding dengan komposisi bahan enkapsulasi lainnya. Selain perbedaan karakteristik kimia, bahan kapsul memiliki sifat fisik yang berbeda seperti konduktivitas termal dan difusivitas termal (Mosilhey, 2003).

Viabilitas pada Penyimpanan Suhu 4°C

Viabilitas probiotik selama penyimpanan dinyatakan dalam persen jumlah bakteri hidup setelah penyimpanan terhadap jumlah awal sebelum penyimpanan. Viabilitas mikrokapsul probiotik dalam berbagai kombinasi bahan enkapsulasi setelah penyimpanan satu bulan pada suhu 4°C dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas probiotik dalam mikrokapsul berkurang selama penyimpanan. Viabilitas bakteri setelah penyimpanan untuk semua perlakuan bahan enkapsulasi sekitar 71%, dimana jumlah bakteri sebelum penyimpanan sekitar 8,3 log cfu/g berat kering, setelah penyimpanan turun sebesar 2,4 siklus log menjadi 5,9 log cfu/g berat kering. Setelah penyimpanan selama satu bulan pada suhu rendah (4°C), jumlah bakteri tinggal 10^4 - 10^7 cfu/g berat kering mikrokapsul.

Kultur *spray-dried* umumnya mampu mempertahankan kelangsungan hidup dengan baik pada suhu rendah (4-7°C), tetapi menyebabkan biaya penyimpanan yang mahal, dan pada kenyataannya hal ini merupakan suatu kebutuhan untuk menghasilkan kultur probiotik pada suhu lingkungan yang stabil. Di dalam studi ini, hasil yang ingin dicapai adalah viabilitas kultur probiotik yang tetap stabil dan untuk memperlambat tingkat ketidak-aktifan selama penyimpanan.

Bentuk Biomasa dan Suspensi. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa viabilitas kedua galur bakteri, dalam bentuk biomasa lebih tinggi dari pada bentuk suspensi, yang berbeda nyata secara statistik. Untuk

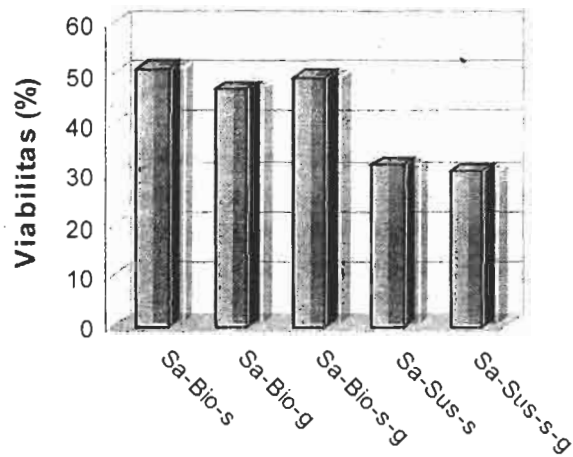
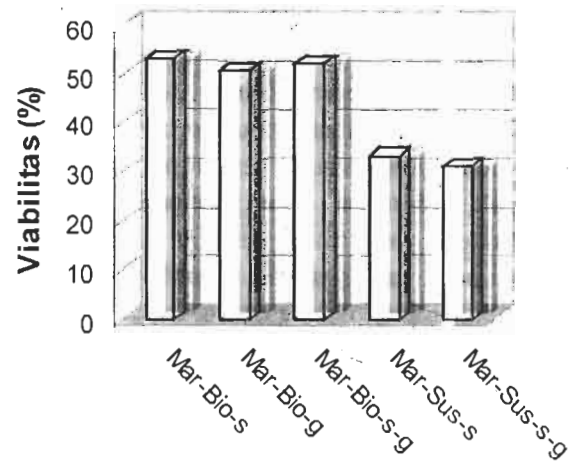
biomasa viabilitasnya sekitar 73%, sedangkan untuk suspensi viabilitasnya sekitar 68%. Kultur biomasa mempunyai jumlah awal dan jumlah akhir yang lebih tinggi dibandingkan kultur yang dalam bentuk suspensi. Kultur biomasa mempunyai jumlah awal 9,2 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 6,7 log cfu/g berat kering, sedangkan kultur suspensi mempunyai jumlah awal 7,3 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 5,0 log cfu/g berat kering.

Kultur dalam bentuk biomasa ditumbuhkan dalam media GYP yang diduga komposisi nutrisinya lebih lengkap dibanding kultur dalam bentuk suspensi yang ditumbuhkan dalam medium susu skim yang kandungan utamanya hanya protein, sehingga pada kultur biomasa diperoleh kultur dengan jumlah yang lebih tinggi baik sebelum maupun setelah perlakuan penyimpanan dibandingkan suspensi.

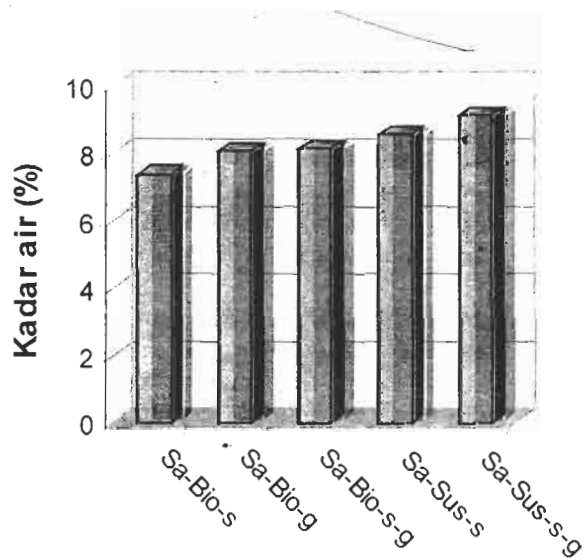
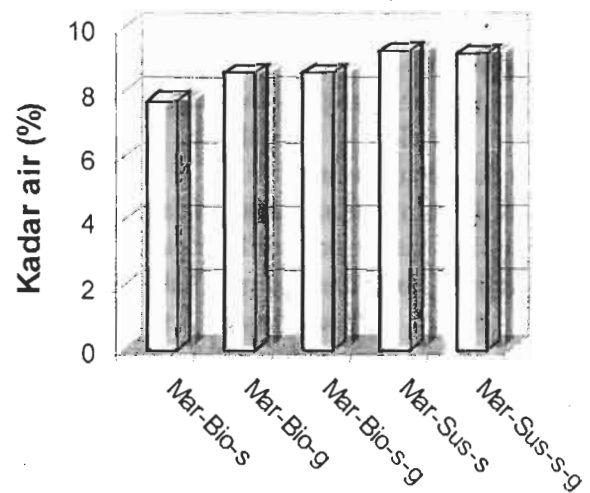
Jenis Bahan Enkapsulasi. Jenis bahan enkapsulasi yang berbeda akan mempengaruhi viabilitas kultur probiotik setelah penyimpanan. Hasil analisis statistik menunjukkan nilai viabilitas kultur probiotik setelah penyimpanan untuk ketiga kombinasi jenis bahan enkapsulasi tidak berbeda nyata. Pada kultur biomasa diperoleh nilai viabilitas kultur probiotik pada penggunaan bahan enkapsulasi susu skim 73,5%, susu skim-gum arab 72,5% dan gum arab 71,5%. Demikian halnya pada kultur suspensi, dari hasil analisis statistik nilai viabilitas kultur probiotik setelah penyimpanan untuk kedua kombinasi jenis bahan enkapsulasi tersebut tidak berbeda nyata. Viabilitas pada penggunaan susu skim 68,5% dan campuran susu skim-gum arab 67,5%.

Viabilitas pada Penyimpanan Suhu Kamar

Viabilitas probiotik dalam berbagai komposisi bahan enkapsulasi setelah penyimpanan satu bulan pada suhu kamar dapat dilihat pada Gambar 4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas probiotik dalam mikrokapsul berkurang selama penyimpanan pada suhu ruang. Viabilitas kedua bakteri setelah penyimpanan satu bulan pada suhu kamar sekitar 42%, dimana jumlah bakteri sebelum penyimpanan kurang lebih 8,3 log cfu/g berat kering dan setelah penyimpanan turun menjadi 3,6 log cfu/g berat kering. Viabilitas bakteri mengalami penurunan sebesar 4,7 siklus log, sehingga viabilitas bakteri tinggal 10^2 - 10^5 cfu/g berat kering mikrokapsul.

a) *L. plantarum* sa28kb) *L. plantarum* mar8

Gambar 4. Grafik viabilitas mikro kapsul probiotik setelah disimpan satu bulan pada suhu kamar
(Sa: *L. plantarum* sa28k, Mar: *L. plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

a) *L. plantarum* sa28kb) *L. plantarum* mar8

Gambar 5. Grafik kadar air mikro kapsul probiotik
(Sa: *L. plantarum* sa28k, Mar: *L. plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

Hasil ini serupa dengan penelitian Nuraida *et al.* (1995), untuk mikrokapsul yang dibuat dari bahan enkapsulasi tepung beras yang disimpan selama satu bulan pada suhu kamar akan mengalami penurunan sebesar 4-6 siklus log dengan viabilitas berkisar antara 10^2 - 10^4 cfu/g berat kering. Menurut Desmond *et al.* (2002), viabilitas bubuk probiotik menurun dengan meningkatnya suhu penyimpanan.

Bentuk Biomasa dan Suspensi. Viabilitas kedua bakteri yang menggunakan biomasa lebih tinggi dari pada yang suspensi (Gambar 4). Viabilitas probiotik dalam bentuk biomasa berbeda nyata secara statistik dengan suspensi. Untuk bakteri yang menggunakan biomasa viabilitas sebesar 50%, sedangkan pada suspensi viabilitas sekitar 32%. Kultur dalam bentuk biomasa mempunyai jumlah awal 9,2 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 4,6 log cfu/g berat kering, sedangkan suspensi mempunyai jumlah awal 7,4 log cfu/g berat kering dan jumlah akhir 2,4 log cfu/g berat kering. Kultur dalam bentuk biomasa mempunyai jumlah awal dan jumlah akhir yang lebih tinggi dibandingkan suspensi.

Kultur biomasa ditumbuhkan dalam media GYP yang diduga komposisi nutrisinya lebih lengkap dibanding kultur suspensi yang ditumbuhkan hanya dalam medium susu skim yang kandungan utamanya hanya protein, sehingga pada kultur biomasa diperoleh jumlah yang lebih tinggi baik sebelum maupun setelah perlakuan penyimpanan dibandingkan dengan suspensi.

Jenis Bahan Enkapsulasi. Pada kultur biomasa, nilai viabilitas kultur probiotik setelah penyimpanan untuk ketiga kombinasi jenis bahan enkapsulasi tersebut tidak berbeda nyata secara statistik. Viabilitas kultur probiotik pada penggunaan bahan enkapsulasi susu skim sebesar 52% diikuti dengan campuran susu skim-gum arab 50% dan yang terendah dengan gum arab 49%. Demikian halnya pada kultur suspensi, dimana hasil analisis statistik menunjukkan nilai viabilitas kultur probiotik setelah penyimpanan untuk kedua kombinasi jenis bahan enkapsulasi tersebut tidak berbeda nyata. Viabilitas tertinggi pada penggunaan susu skim sebesar 33%, diikuti dengan campuran susu skim-gum arab 31%.

Kesimpulan

Hasil pengujian ketahanan panas terhadap sepuluh galur *L. plantarum* diperoleh dua isolat yang mempunyai ketahanan panas tertinggi, yaitu *L.*

plantarum sa28k dan *L. plantarum* mar8. Kultur probiotik yang dienkapsulasi dalam bentuk biomasa menghasilkan ketahanan setelah *spray drying*, serta viabilitas setelah disimpan satu bulan pada suhu rendah dan suhu kamar yang lebih baik daripada dalam bentuk suspensi. Jenis bahan enkapsulasi susu skim, gum arab dan kombinasi susu skim gum arab menghasilkan ketahanan setelah *spray drying* dan viabilitas setelah penyimpanan selama satu bulan pada suhu rendah dan suhu kamar dengan nilai yang tidak bermakna secara statistik.

Daftar Pustaka

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyo, 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.
- Bertolini, A.C., A.C. Siani and C.R.F. Grosso, 2001. Stability of Monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray drying. *Journal Agriculture Food Chemical* 49: 780-785.
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris and M. Jones, 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus spp.* in simulated gastric condition. *Journal Microbiology Methods* 56: 27-35.
- Desmond, C., C. Stanton, G.F.K. Collins and R.P. Ross, 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray dried powders containing gum acacia. *Journal Appl. Microbiology* 93: 1003-1012.
- Harmayani, E., Ngatirah, E.S. Rahayu dan T. Utami, 2001. Ketahanan dan viabilitas probiotik bakteri asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan spray drying. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 12: 126-132.
- Johnson, J.A.C., and M.R. Etzel, 1995. Properties of *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 attenuated by spray drying, freeze drying or freezing. *Journal Food Science* 78: 761-768.
- Krasaekoopt, W., B. Bhandari and H. Deeth, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Internatioanl Dairy Journal* 13: 3-13.
- Lian, W.C., H.C. Hsio and C.C. Chou, 2002. Survival of *Bifidobacterium longum* after spray drying. *International Journal Food Microbiology* 74: 79-86.
- Lian, W.C., H.C. Hsio, and C.C. Chou. 2003. Viability of microencapsulated *Bifidobacteria* in simulated

gastric juice and bile solution. *International Journal Food Microbiology* 86: 293-301.

Mosilhey, S.H., 2003. Influence of Different Capsule Materials on the Physiological Properties of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Institute of Food Technology, Faculty of Agriculture University of Bonn. 153 pages.

Nuraida, L., D.R. Adawiyah dan Subarna, 1995. Pembuatan dan pengawetan kultur kering yoghurt. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 6: 85-93.

Seveline, 2005. Pengembangan produk probiotik dari isolate klinis bakteri asam laktat dengan menggunakan teknik pengeringan semprot dan

pengeringan beku. [Tesis]. Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian 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. *International Journal Food Microbiology* 62: 47-55.

Surono, I.S., 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. PT. Tri Cipta Karya, Jakarta.

Yulianto, E., 2004. Uji viabilitas dan fisiologis *Lactobacillus sp.* sebagai minuman probiotik penurun kolesterol dalam bentuk serbuk. [Skripsi]. Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.