

## MIKROENKAPSULASI STRAIN PROBIOTIK *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 MENGGUNAKAN BERBAGAI PENYALUT

### ***Microencapsulation of Probiotic strain of Leuconostoc mesenteroides ssp. *cremonis* BN12 using Various Coating***

Irma Hermana<sup>1</sup>, Arifah Kusmarwati<sup>1\*</sup> dan Ninoek Indriati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan,  
Jl. KS. Tubun Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat, Indonesia

\* Korespondensi Penulis: hermana\_i@yahoo.co.id

Diterima: 15 September 2015; Disetujui: 27 November 2015

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik produk mikroenkapsulasi strain probiotik *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 menggunakan berbagai penyalut. Mikroenkapsulasi strain probiotik *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 dilakukan dengan teknik *spray drying*. Media mikroenkapsulasi berupa campuran dari penyalut (*soluble fiber*) dengan larutan protein dan karbohidrat (*skim milk*, maltodekstrin dan glukosa). Adapun jenis-jenis penyalut yang digunakan adalah alginat 0,5%, xanthan gum 0,05% atau kitosan 0,5%. Parameter yang diamati meliputi viabilitas sel probiotik sebelum dan setelah proses *spray drying*, ketahanan sel probiotik pada kondisi *bile salt* dan pH3 serta daya hambat sel probiotik setelah *spray drying*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penyalut terbaik untuk mikroenkapsulasi strain probiotik *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 adalah xanthan gum dengan viabilitas setelah *spray drying* mencapai 8,36 log cfu/g. Viabilitas sel pada media *bile salt* adalah 7,69 cfu/g dan pada pH 3 mencapai 2,7 log cfu/g setelah 24 jam masa inkubasi dengan daya hambat yang lebih baik terhadap patogen enterik *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus*.

**KATA KUNCI:** mikroenkapsulasi, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12, *spray drying*, xanthan gum

#### ABSTRACT

The aims of the research was to determine the characteristics of microencapsulation product of probiotic strain *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 using various coating. Probiotic strain *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 was microencapsulated by spray dryer. The microencapsulation medium was a mixture of protein and carbohydrates (*skim milk*, maltodextrins and glucose), while the coating used were 0.5% alginate, 0.5% xanthan gum and 0.5% chitosan respectively. The characteristics examined were the cell viability before and after *spray drying* process, the resistancy of cells in *bile salt* and pH3 and the inhibition of probiotic cells after *spray drying*. The results showed that the xanthan gum was the best coating for microencapsulation of probiotic strain of *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12. The cell viability after drying was 8.36 log cfu/g, while its viability in *bile salt* was 7.69 cfu/g and pH 3 was 2.7 log cfu/g after 24h incubation. In addition, the strain also had better inhibition to pathogenic bacteria i.e. *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*.

**KEYWORDS:** microencapsulation, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12, *spray drying*, xanthan gum

## PENDAHULUAN

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang mampu memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan inang dengan cara memperbaiki keseimbangan mikrofloranya (Fuller, 1989). 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 (Kailasapathy, 2009).

Sebagian besar bakteri probiotik adalah bakteri asam laktat (BAL) (Lee & Salminen, 1995 dalam Pennacchia *et al.*, 2006). Toleransi BAL terhadap pH rendah cukup tinggi, sehingga ia mampu berkompetisi dengan bakteri lain pada fermentasi secara alami yang memproduksi asam laktat (Anon., 2008). Bakteri tersebut berperan dalam proses produksi yoghurt, keju dan susu fermentasi. Selain itu BAL juga berperan dalam sintesis thiamine, riboflavin, asam folat, niasin, vitamin B kompleks, dan adsorpsi mineral (Deguchi *et al.*, 1985). *Lactobacillus* tertentu dilaporkan bersifat immunodilator, anti kanker dan bersifat antimikroba (Havenaar & Veld, 1992; Anderson & Gilliland, 1999). BN12 adalah *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* yang memiliki karakteristik antara lain memiliki sifat tahan asam dan garam empedu (*bile salt*), mampu menghambat beberapa bakteri patogen, dan bersifat resisten terhadap antibiotik tetrasiklin (Kusmarwati & Indriati, 2012)

Satu hal yang perlu dipertimbangkan ketika probiotik dikonsumsi secara oral adalah ketahanannya terhadap kondisi asam lambung, selain dapat pula terdenaturasi oleh *bile salt*, senyawa antimikroba akan terdegradasi oleh enzim sebelum mencapai lokasi target. Beberapa hal yang disebutkan di muka merupakan faktor pembatas survival dan stabilitas probiotik untuk bisa bertahan di saluran cerna. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk mengatasi hal tersebut. Islam *et al.* (2010) mengemukakan mikroenkapsulasi merupakan salah satu sistem yang sesuai bagi sel probiotik agar mampu bertahan pada saluran cerna. Enkapsulasi merupakan proses penyalutan kontinyu terhadap matriks inti dalam dinding kapsul dan merupakan proses imobilisasi matriks (Kailasapathy, 2002). Teknik ini bersifat melindungi bahan terenkapsulasi dari lingkungan eksternal, memerangkap bakteri probiotik dari kondisi lambung yang keras untuk sampai ke lokasi target dengan laju survival yang lebih baik (Chang, 2005). Adapun cara mikroenkapsulasi kultur probiotik yang paling umum dilakukan adalah dengan teknik pengeringan semprot (*spray drying*) (Rathore *et al.*, 2013). Teknik pengeringan semprot banyak

digunakan pada industri pangan karena bersifat ekonomis dan menghasilkan produk bermutu baik, dan produk yang dihasilkan berukuran sangat kecil (< 100 mikron) sehingga memiliki kelarutan yang tinggi (Kailasapathy, 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik produk mikroenkapsulasi *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 sebagai probiotik dengan metode *spray drying*.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bakteri asam laktat (BAL) yang di-mikroenkapsulasi adalah isolat BAL BN12 yang diperoleh dari rusip, yaitu produk ikan fermentasi yang berasal dari Bangka. Bakteri indikator untuk pengujian aktivitas probiotik adalah *E. coli*, *Salmonella thypimurium*, *Listeria monocytogenes*, dan *Staphylococcus aureus*. Media CM laktosa terdiri dari 1% laktosa, 0,45% pepton kedelai, 1% yeast extract, 2,84%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,2% NaCl dan 0,02%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Li *et al.*, 2002). Penyalut terdiri dari alginat, xanthan gum, dan kitosan. Larutan protein/karbohidrat terdiri dari susu skim, glukosa, maltodekstrin.

### Metode

#### Preparasi media *spray drying*

Pemilihan konsentrasi penyalut didasarkan pada level maksimum yang secara praktis dapat diatomisasi selama proses *spray drying*, dan mengacu pada penelitian terdahulu (Yonekura *et al.*, 2014) dengan sedikit modifikasi. Formulasi media *spray drying* disajikan pada Tabel 1. Sodium alginat, xanthan gum, dan kitosan (penyalut) dilarutkan dalam air pada suhu ruang. Sementara maltodekstrin, glukosa, dan susu skim (protein/karbohidrat) dilarutkan dalam air dengan pengaduk magnetik. Penyalut dan protein/karbohidrat disterilisasi secara terpisah masing-masing pada suhu 121 °C selama 15 menit dan suhu 105 °C selama 5 menit. Kemudian pelet BAL BN12 disuspensi ke dalam 1000 ml media *spray drying* (campuran larutan penyalut dan protein/karbohidrat). Total BN12 pada media *spray drying* adalah  $5,7 \times 10^8$  cfu/g.

#### Proses pengeringan dan penyimpanan

Pengeringan media *spray drying* yang mengandung 0,02% pelet BN12 dilakukan menggunakan spray dryer yang dioperasikan pada suhu *inlet* konstan  $130 \pm 1^\circ\text{C}$ , suhu *outlet*  $57-59^\circ\text{C}$ , *feed*

Tabel 1. Komposisi media *spray drying*  
Table 1. Composition of *spray drying* media

Bahan/ <i>Ingredients</i>	Kontrol (tanpa penyalut)/ <i>Control (without encapsulant)</i>	Alginat/ <i>Alginate</i>	Kitosan/ <i>Chitosan</i>	Xanthan Gum/ <i>Xanthan Gum</i>
Maltodekstrin/ <i>Maltodextrin</i> (g)	12	12	12	12
Glukosa/ <i>Glucose</i> (g)	4	4	4	4
Susu skim/ <i>Skim milk</i> (g)	3	3	3	3
Kitosan/ <i>Chitosan</i>	-	-	0.5	-
Asam laktat/ <i>Lactic acid</i> (g)	-	-	0.5	-
Alginat/ <i>Alginate</i> (g)	-	0.5	-	-
Xanthan gum/ <i>Xanthan gum</i> (g)	-	-	-	0.05
Akuades/ <i>Aquadest</i> (ml)	81	80.5	80	80.05
Total padatan/ <i>Total solid</i> (%)	19	19.5	20	19.05

flow rate 7,14 ml/min, drying air flow rate 35 m<sup>3</sup> dan tekanan kompresor 0,5 Mpa (Behboudi-Jobbehdar et al., 2013). Produk probiotik kering dikumpulkan dari siklon, selanjutnya ditempatkan dalam gelas vial dan disimpan dalam desikator pada suhu ruang. Proses produksi tepung probiotik tersebut dilakukan dengan 3 ulangan.

#### Pengamatan visual bahan pengkapsul dan bakteri probiotik

Pengamatan visual bahan yang telah terenkapsulasi dilakukan menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscope*).

#### Karakterisasi bakteri probiotik dengan berbagai penyalut

Karakterisasi bakteri probiotik ditentukan berdasarkan viabilitas bakteri, ketahanan bakteri terhadap garam empedu (*bile salt*) dan asam, serta aktivitas antibakteri. Pengujian viabilitas bakteri probiotik menggunakan metode *pour plate* (BSN, 2006), sedangkan pengujian ketahanan bakteri terhadap garam empedu dan asam dilakukan dengan inkubasi secara berturut-turut selama 0 & 6 jam, serta 0 & 24 jam yang mengacu pada Sakti (2009). Pengamatan aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar (Bauer et al., 1966 dalam Zhou et al., 2005) dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. Konsentrasi bakteri uji disesuaikan dengan 0,5 Mc Farland (= 1,5 x 10<sup>8</sup> CFU/ml) (Goderska & Czarnecki, 2007). Penentuan survival bakteri probiotik setelah mikroenkapsulasi dihitung dengan persamaan berikut (Heidebach et al., 2010):

$$\text{Survival (\%)} = N_{AF} / N_{BF} \times 100\%$$

$N_{AF}$  = jumlah sel probiotik setelah enkapsulasi

$N_{BF}$  = jumlah sel probiotik sebelum enkapsulasi

## HASIL DAN BAHASAN

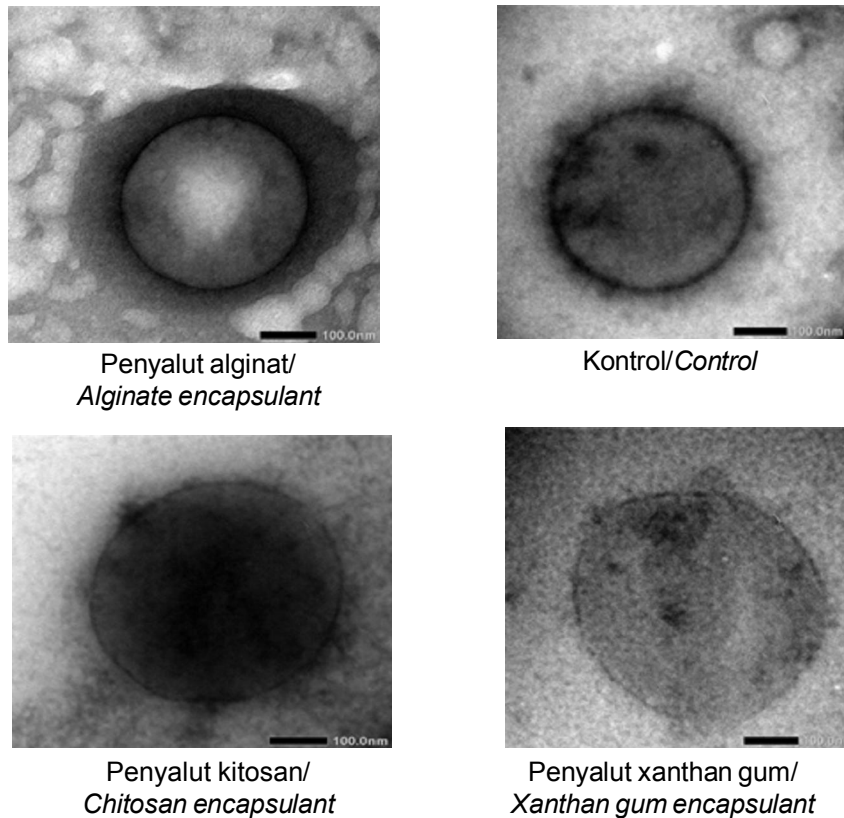
### Pengamatan Visual Bakteri Probiotik Terenkapsulasi Menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscope*)

Gambar 1 memperlihatkan bahwa penyalut alginat memberikan penyalutan yang tebal dan rata. Xanthan gum memberikan penyalutan yang agak tebal dan rata, sedangkan kitosan memberikan penyalutan yang tipis dan tidak rata.

Meskipun alginat memberikan penyalutan yang tebal namun dilaporkan bahwa mikropartikel yang diperoleh sangat porous, menjadi kurang baik apabila tujuan awalnya adalah untuk melindungi sel dari pengaruh lingkungan (Gouin, 2004 dalam Burgain et al., 2011). Lebih lanjut hal ini akan berakibat pada proses *scalling up* yang menjadi lebih sulit.

### Viabilitas Bakteri Probiotik Terenkapsulasi

Viabilitas sel probiotik merupakan parameter penting terkait manfaatnya terhadap kesehatan. Manfaat probiotik bisa dirasakan ketika ia mampu bertahan hidup di saluran cerna dalam jangka waktu yang lama. Beberapa laporan menyebutkan bahwa sel probiotik dalam kondisi bebas cenderung memiliki survival yang rendah (de Vos et al., 2010).



Gambar 1. Profil TEM probiotik yang dimikroenkapsulasi dengan berbagai penyalut.  
 Figure 1. TEM of probiotic microencapsulated with various encapsulant.

Tabel 2. Viabilitas sel probiotik sebelum dan setelah *spray drying*  
 Table 2. Viability of encapsulated probiotic bacteria before and after *spray drying*

Penyalut/Encapsulant	Log Rata-Rata Jumlah Bakteri/ Log of Total Bacteria (cfu/g)	
	Sebelum <i>Spray Drying</i> / Before <i>Spray Drying</i>	Setelah <i>Spray Drying</i> / After <i>Spray Drying</i>
Alginat/ <i>Alginate</i>	8.22	7.99 <sup>a</sup>
Xanthan gum/ <i>Xanthan gum</i>	8.22	8.36 <sup>a</sup>
Kitosan/ <i>Chitosan</i>	8.22	2.04 <sup>b</sup>
Kontrol/ <i>Control</i>	8.22	8.18 <sup>a</sup>

Berdasarkan Tabel 2, viabilitas bakteri probiotik BN12 (*Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis*) yang dienkapsulasi menggunakan penyalut xanthan gum mengalami kenaikan meskipun tidak secara signifikan. Hal ini seperti dilaporkan Horaczek dan Viernstein (2004) dalam Rathore *et al.* (2013) bahwa proses pengeringan bakteri probiotik dengan *spray dryer* menggunakan suhu udara inlet 130 °C dan suhu udara outlet 75 °C tidak secara signifikan mempengaruhi viabilitas sel *B. lactis*. Namun

sebaliknya viabilitas bakteri probiotik dengan penyalut kitosan dibandingkan dengan kontrol mengalami penurunan secara signifikan (membunuh 75% bakteri). Kondisi ini dimungkinkan karena kitosan memiliki kemampuan menghambat bakteri. Menurut Chavarri *et al.* (2010) kitosan dapat mereduksi viabilitas sel terenkapsulasi. Kitosan dapat mereduksi 42% sel *Lactobacillus brevis* BSO31h, 59% *Lactobacillus brevis* CCC96S1L, 62% *Lactobacillus casei* CCC B9657, dan 59% *Pediococcus clausenii*

(Pan et al.,2011). Selain itu kitosan juga mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis* (Nurainy et al., 2008).

### Ketahanan Bakteri Probiotik Terenkapsulasi terhadap Garam Empedu (*bile salt*) dan pH3

Ketahanan Bakteri asam laktat terhadap garam empedu merupakan salah satu persyaratan penting untuk probiotik. Dalam hal ini Kimoto et al. (1999) dan Zavaglia et al. (1998) menyebutkan semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam de Man, Rogosa, Sharpe Agar (MRSA) yang ditambah 0,5% oxgall dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Hasil simulasi ketahanan bakteri probiotik BN12 pada media oxgall (garam empedu 0,5%) memperlihatkan bahwa pada awalnya jumlah bakteri probiotik BN12 setelah proses pengeringan cukup tinggi kecuali kitosan, namun setelah diinkubasi dalam media garam empedu mengalami penurunan (Tabel 3).

Penurunan jumlah bakteri pada media garam empedu berkaitan dengan sifat garam empedu yang merupakan racun bagi bakteri. Belgey et al. (2002) dalam Umniyatie et al. (2009) menyebutkan konsentrasi garam empedu yang tinggi merupakan racun sekaligus zat antimikroba yang sangat keras. Cairan empedu di dalam usus halus bersifat menghambat pertumbuhan mikroba (Bezkorovainy, 2001).

Namun setelah masa inkubasi 6 jam, jumlah bakteri cenderung mengalami kenaikan, kecuali bakteri probiotik dengan penyalut kitosan yang sejak awal disimulasikan tidak tumbuh (Tabel 3). Adanya

kenaikan jumlah bakteri menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu beradaptasi dalam media garam empedu yang selanjutnya bereproduksi melalui pembelahan sel. Dilaporkan bahwa fase adaptasi bakteri asam laktat *Streptococcus* terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-4. Sementara fase adaptasi *Lactobacillus* sp. RED4 terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-2 (Khoiriyah & Ardiningsih, 2014).

Bakteri probiotik BN12 selama masa inkubasi 6 jam dalam media garam empedu mengalami pertumbuhan. Hal ini terlihat dari persentase kenaikan jumlah bakteri probiotik BN12 terenkapsulasi dengan penyalut alginat, xanthan dan kontrol (tanpa penyalut) berturut-turut sebesar 25,68; 10,65; dan 1,12% (Tabel 3). Pertumbuhan bakteri tersebut lebih rendah dibandingkan pertumbuhan 99 strain *Lactobacillus plantarum* yang memiliki rata-rata pertumbuhan sebesar 40% dengan persentase pertumbuhan terendah 12,21% dan tertinggi 95,98% (Zago et al., 2011).

Hasil uji ketahanan bakteri probiotik terenkapsulasi terhadap pH3 menunjukkan bahwa bakteri probiotik BN12 dengan penyalut xanthan gum mampu bertahan hingga 24 jam dibandingkan dengan penyalut alginat dan kitosan (Tabel 4). Kondisi tersebut kemungkinan disebabkan karena xanthan gum bersifat resisten terhadap degradasi enzimatis, sangat resisten terhadap variasi pH dan bersifat stabil pada pH rendah (Muthukumarasamy et al., 2006). Enkapsulasi sel probiotik yang terdiri dari campuran gellan-xanthan gum merupakan suatu cara untuk meningkatkan toleransinya terhadap kondisi lingkungan yang asam. Jika dibandingkan alginat, campuran Xanthan-gellan gum menunjukkan resistensi yang tinggi terhadap kondisi asam (Sun & Griffiths, 2000; Burgain et al.,

Tabel 3. Ketahanan bakteri probiotik terenkapsulasi terhadap *bile salt*  
Table 3. Resistance of encapsulated probiotic bacteria to bile salt

Penyalut/Encapsulat	Log Jumlah Bakteri/Log of Total Bacteria (cfu/g)			% kenaikan BAL setelah 6 jam inkubasi/ % increasing of LAB after 6 hours incubation
	Setelah Spray Drying/After Spray Drying	Masa Inkubasi dalam Garam Empedu/Incubation Time in Bile Salt		
		0 jam/0 h	6 jam/6 h	
Alginat/Alginate	7.99	5.88 <sup>a</sup>	7.39 <sup>a</sup>	25.68
Xanthan gum/Xanthan gum	8.36	6.95 <sup>a</sup>	7.69 <sup>a</sup>	10.65
Kitosan/Chitosan	2.04	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0
Kontrol/Control	8.18	6.24 <sup>a</sup>	6.31 <sup>a</sup>	1.12

Keterangan/Note: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ) / The same letter in the same row shows no significant difference ( $p>0.05$ )

Tabel 4. Ketahanan bakteri probiotik terenkapsulasi terhadap pH 3  
 Table 4. Resistance of encapsulated probiotic bacteria to pH3

Penyalut/Encapsulant	Log Jumlah Bakteri/ Log of Total Bacteria (cfu/g)	
	Masa Inkubasi dalam Media pH3/ Incubation Time in pH3	
	0 jam/0 hour	24 jam/24 hours
Alginat/Alginate	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Xanthan gum/Xanthan gum	7.27 <sup>b</sup>	2.70 <sup>b</sup>
Kitosan/Chitosan	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
Kontrol/Control	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

Keterangan/Note: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ )/  
 The same letter in the same row shows no significant difference ( $p>0.05$ ).

2011). Jumlah bakteri probiotik yang seluruhnya tereduksi pada penyalut alginat disebabkan karena sel mengalami kerusakan atau disolusi akibat adanya kondisi lingkungan yang bersifat asam (Shah & Ravula, 2000). Mortazavian *et al.* (2008) menyebutkan bahwa alginat bersifat sensitif terhadap lingkungan asam, sehingga kondisi tersebut tidak sesuai untuk ketahanan mikropartikel dalam kondisi lambung. Sementara jumlah bakteri probiotik yang tereduksi sangat signifikan pada penyalut kitosan kemungkinan disebabkan oleh efek penghambatan kitosan terhadap BAL yang mengandung senyawa antibakteri (Groboillot *et al.*, 1993 dalam Burgain *et al.*, 2011).

Kemampuan BAL bertahan hidup pada pH rendah disebabkan karena bakteri asam laktat memiliki toleransi terhadap pH dengan kisaran luas. Selain itu BAL juga mampu mempertahankan pH sitoplasma lebih alkali daripada pH ekstraseluler (pH lingkungannya) karena BAL mengekskresikan asam dari asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi ke lingkungan (Hutkins & Nannen, 1993 dalam Ananda, 2003). Kriteria ini mengacu pada Charteris *et al.* (1998) yang dikutip oleh Ananda (2003) bahwa 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.

#### Aktivitas Antibakteri Bakteri Probiotik Terenkapsulasi terhadap Bakteri Patogen

Hasil pengujian aktivitas antibakteri oleh bakteri probiotik terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 5. Dari ketiga penyalut yang digunakan, bakteri probiotik dengan penyalut xanthan gum menunjukkan aktivitas antibakteri lebih baik dibandingkan dengan alginat, kitosan, dan kontrol. Hal ini berhubungan dengan sifat xanthan gum yang dapat memberikan penyalutan yang tipis dan merata (berdasarkan hasil analisa TEM) yang memungkinkan senyawa antibakteri dari bakteri uji lebih mudah terdifusi sehingga dapat memberikan efek penghambatan yang optimal terhadap bakteri patogen *E. coli*, *Salmonella*, dan *L. monocytogenes*, namun tidak pada *S. aureus*. Hal ini sesuai dengan Goderska & Czarnecki (2007)

Tabel 5. Aktivitas anti bakteri probiotik terenkapsulasi terhadap patogen  
 Table 5. Anti bacteria activity of encapsulated probiotic bacteria to pathogenic bacteria

Penyalut/Encapsulant	Daya Hambat/Level of Inhibition (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. thpymurium</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>
Alginat/Alginate	0	0	0	0
Xanthan gum/Xanthan gum	15.3	13.5	13.67	0
Kitosan/Chitosan	0	0	0	0
Kontrol/Control	0	0	0	0

yang melaporkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 dan DSM 20242 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *Salmonella enteritidis* SL 5319, dan *L. acidophilus* ATCC 4356.

Penghambatan BAL terhadap pertumbuhan bakteri patogen diduga karena BAL mengandung senyawa antibakteri seperti asam laktat, reuterin, diasetil, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Ray, 1996., Vandenberg, 1993 dalam Gaggia et al., 2011). Asam laktat yang diproduksi BAL mampu menghambat bakteri Gram positif dan negatif melalui penghambatan kompetitif. Beberapa studi melaporkan bahwa diasetil memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri Gram positif maupun Gram negatif. Hidrogen peroksida bersifat antimikroba terhadap bakteri, fungi dan virus yang diproduksi pada kondisi aerob pada saat sel kehilangan katalase, pseudokatalase atau peroksidase. Seperti diasetil, senyawa reuterin yang diproduksi oleh bakteri asam laktat juga bersifat antimikroba terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Ray, 1996).

#### Penentuan Survival Bakteri Probiotik Terenkapsulasi

Survival bakteri probiotik setelah mikroenkapsulasi disajikan pada Tabel 6. Penggunaan penyalut xanthan gum tidak secara signifikan ( $p > 0,05$ ) berpengaruh terhadap penurunan survival bakteri probiotik setelah pengeringan. Sebaliknya penggunaan penyalut kitosan secara signifikan menurunkan survival bakteri probiotik ( $p < 0,05$ ). Sementara Picot & Lacroix (2004) melaporkan bahwa mikroenkapsulasi strain probiotik yaitu *Bifidobacterium breve* R070 melalui proses *spray drying* tidak secara signifikan berpengaruh terhadap kematian sel dibandingkan dengan proses *freeze drying*. *Survival rate Bifidobacterium breve* R070 melalui proses *spray drying* sebesar 25,7%, sedangkan melalui proses *freeze drying* sebesar

0,71%. Namun *survival rate* strain bakteri tersebut relatif lebih rendah dibandingkan dengan *survival rate* bakteri probiotik BN12 dengan penyalut xanthan gum yang mencapai 101,7%. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh media *spray dry* yang digunakan relatif lebih sederhana (hanya menggunakan polimer protein whey) dengan suhu proses pengeringan yang sedikit lebih tinggi (suhu inlet 160 °C dan suhu outlet 80 °C). Hal ini menunjukkan bahwa *survival rate* sel terenkapsulasi setelah proses *spray drying* dipengaruhi oleh jenis bahan pengkapsul, sebagaimana dikemukakan Desmond et al. (2002) dalam Rathore et al. (2013) bahwa jenis polimer pengkapsul mempengaruhi *survival rate* sel terenkapsulasi selama proses *spray drying*.

Media *spray drying* pada bakteri probiotik BN12 yang mengandung protein dari susu skim kemungkinan bergabung dengan matrik polimer (xanthan gum) menghasilkan viabilitas sel yang lebih baik. Lebih lanjut Desmond et al. (2002) dalam Rathore et al., (2013) melaporkan proses pengeringan *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 dengan *spray dryer* yang menggunakan akasia gum ternyata dapat memperbaiki/meningkatkan viabilitas sel tersebut. De Castro-Cislaghi et al. (2012) menyebutkan mikroenkapsulasi bakteri probiotik *Bifidobacterium lactis* Bb-12 yang menggunakan protein whey pada proses *spray drying* dapat memperbaiki viabilitas sel. Menurut Jimenes-Pranteda et al. (2012) proses ekstrusi pada *Lactobacillus* dengan penyalut xanthan gum, gellan gum, pullulan gum, dan jamlan memberikan perlindungan bagi probiotik terhadap *bile salt*. Penggunaan xanthan gum pada mikroenkapsulasi *Lactobacillus* juga mampu melindungi probiotik dari kondisi gastrointestinal yang keras/asam (Ding & Shah, 2009). Selain itu keberadaan bahan-bahan yang bersifat termoprotektif juga dapat melindungi sel dari kondisi sub *lethal injury* yang diakibatkan oleh panas selama proses *spray drying*. Corcoran et al. (2004)

Tabel 6. Survival bakteri probiotik terenkapsulasi  
Table 6. Survival of encapsulated probiotic bacteria

Penyalut/Encapsulant	Survival Bakteri Probiotik setelah Spray Drying/ Survival of Probiotic Bacteria After Spray Drying (%)
Alginat/Alginate	97.2 <sup>a</sup>
Xanthan gum/Xanthan gum	101.7 <sup>a</sup>
Kitosan/Chitosan	24.8 <sup>b</sup>
Kontrol/Control	99.5 <sup>a</sup>

Keterangan/Note: Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ )/  
The same letter in the same row shows no significant difference ( $p > 0,05$ )

dalam Zago *et al.* (2011) mengemukakan bahwa bahan-bahan yang bersifat termoprotektan seperti maltodekstrin, glukosa dan konsentrat protein whey dan dikeringkan dengan suhu outlet rendah ( $76 \pm 2$ ) °C memiliki viabilitas sel dengan sedikit/tanpa *injury*. Sel tersebut mampu bertahan pada media simulasi garam empedu dengan viabilitas yang serupa dengan sel dalam kondisi segar.

## KESIMPULAN

Penyalut terbaik untuk mikroenkapsulasi bakteri probiotik *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremonis* BN12 adalah xanthan gum. Viabilitas sel yang dihasilkan sebesar  $8,36 \log \text{ cfu/g}$ , ketahanan pada media *bile salt* dan pH3 masing-masing sebesar  $7,69 \text{ cfu/g}$  dan  $2,7 \log \text{ cfu/g}$  setelah 24 jam inkubasi serta memberikan daya hambat lebih baik terhadap patogen enterik *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* dan *Staphylococcus aureus*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ananda. (2003). *Kajian Sifat Probiotik Isolat Klinis Bakteri Asam Laktat secara In Vitro dan In Vivo*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Anderson, J.W. & Gilliland, S.E. (1999). Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18, 43–50.
- Anonymous. (2008). *Lactic acid bacteria*. Retrieved from <http://en.wikipedia.org/wiki/probiotic>.
- Behboudi-Jobbehdar, S., Soukoulis, C., Yonekura, L., & Fisk, I. (2013). Optimization of spray-drying process conditions for the production of maximally viable microencapsulated *L. acidophilus* NCIMB 701748. *Drying Technology*, 31, 1274–1283.
- Bezkorovainy, A. (2001). Probiotics: Determinants of survival and growth in the gut. *Am.J. Clin. Nutr.*, 73, 399S–405S.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Review encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104, 467–483.
- BSN (2006). *Cara uji mikrobiologi. Bagian 3. Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada produk perikanan*. SNI 01-2332.3-2006. Badan Standarisasi Nasional.
- Chang, T.M.S. (2005). Therapeutic applications of polymeric artificial cells. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 4, 221–235.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F.C., Marzo, F., & Villarán, M.D.C. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate–chitosan capsules improves survival in simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1–2), 185–189.
- de Castro-Cislaghi, F.P., Silva, C.D.R.E., Fritzen-Freire, C.B., Lorenz, J.G., & Sant’Anna, E.S. (2012). Bifidobacterium Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 186–193.
- Deguchi, Y., Morishita, T., & Mutai, M. (1985). Comparative studies on synthesis of water-soluble vitamins among human species of bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 13–19.
- de Vos, P., Faas, M.M., Spasojevic, M., & Sikkema, J., (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, 20(4), 292–302.
- Desmond, C., Ross, R.P., O’Callaghan, E., Fitzgerald, G., & Stanton, C. (2002). Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia. *Journal of Applied Microbiology*, 93(6), 1003–1011.
- Ding, W.K. & Shah, N.P. (2009). Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. *Journal of Food Science*, 74(2), M100–M107.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Microbiology*, 66(5), 365–378.
- Gaggia, F., Gioia, D.D., Baffoni, L., & Biavati, B. (2011). The role of protective and probiotic cultures in food and feed and their impact in food safety. *Trends in Food Science and Technology*, xx, 1–9.
- Goderska, K. & Czarniecki, Z. (2007). Characterization of selected strains from *Lactobacillus acidophilus* and Bifidobacterium bifidum. *African journal of microbial Research*, 1(6), 65–78.
- Havenaar, R. & Veld, J.J.H. (1992). Probiotics: A general view. In Wood, B.J.B. (ed.). *The lactic acid bacteria. Volume 1*. (pp. 151–189). *The lactic acid bacteria in health and disease*.
- Heidebach, T., Forst, P., & Kulozik, U. (2010). Influence of casein-based microencapsulation on freeze-drying and storage of probiotic cells. *Journal of Food Engineering*, 98, 309–316.
- Islam, M.A., Yun, C.H., Choi, Y.J., & Cho, C.S. (2010). Microencapsulation of Live Probiotic Bacteria. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 20(10), 1367–1377.
- Jimenez-Pranteda, M.L., Poncelet, D., Nader-Macias, M.E., Arcos, A., Aguilera, M., Monteoliva-Sanchez, M., & Ramos-Cormenzana, A. (2012). Stability of lactobacilli encapsulated in various microbial polymers. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 113(2), 179–184.
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues in intestinal Microbiology*, 3(2), 39–48.
- Kailasapathy, K. (2009). Encapsulation technologies for functional foods and nutraceutical product development. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture. *Veterinary science, nutrition and natural resources*. 4(6).



- Khoiriyah, H. & Ardinarsih, P. (2014). Penentuan waktu inkubasi optimum terhadap aktivitas bakteriosin *Lactobacillus* sp. RED4. *JKK*, 3(4): 52–56.
- Kimoto, H., Kurisaki, J., Tsuji, N.M., Ohmomo, S., & Okamoto, T. (1999). Lactococci as probiotic strain : adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile. *Lett. In Appl. Microbiol.*, 29, 313–316.
- Kusmarwati, A. & Indriati, N. (2012). Karakterisasi bakteri asam laktat asal rusip sebagai agen probiotik. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Badan Riset Kelautan dan Perikanan*, 7(2), 159–170.
- Mortazavian, A.M., Azizi, A., Ehsani, M.R., Razavi, S.H., Mousavi, S.M., Sohrabvandi, S., & Reinheimer, J.A., (2008). Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastro intestinal conditions. *Milchwissenschaft*, 63(4), 427–429.
- Muthukumarasamy, P. & Holley, R.P. (2006). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(2), 164–169.
- Nurainy, F., Rizal, S., & Yudiantoro. (2008). Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 3(2).
- Pan Cindy, Rezaei H., & Soor A. (2011). Chitosan disrupts membrane permeability of lactic acid bacteria. *Journal of Experimental Microbiology and Immunology (JEMI)*, 15, 7–14.
- Pennacchia, C., Vaughan, E.E., & Villani, F. (2006). Potential probiotic *Lactobacillus* strains from fermented sausages: further investigations on their probiotic properties. *Meat Science*, 73, 90–101.
- Picot, A. & Lacroix, C. (2004). Encapsulation of Bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int. Dairy J.*, 14(6), 505–515 DOI: 10.1016/j.idairyj.2003.10.008.
- Rathore, S., Desai, P.M., Liew, C.V., Chan, L.W., & Sia Heng, P.W. (2013). Review: Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, 116, 369–381.
- Ray, B. (1996). *Fundamental food microbiology*. CRC Press. London.
- Sakti, T.P.J. (2009). *Analisis sifat-sifat probiotik bakteri asam laktat asal rusip*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
- Shah, N.P. & Ravula, R.R. (2000). Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 55(3), 139–144.
- Sun, W. & Griffiths, M.W. (2000). Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan-xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, 61(1), 17–25.
- Umniyati, S., Astuti., Oktavia, B., & Pramiadi, D. (2009). Pengaruh garam empedu terhadap pertumbuhan dan produksi asam laktat *Streptococcus* sp. dari cyme usus halus ayam broiler strain Lohman. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta.
- Yonekura, L., Sun, H., Soukoulis, C., & Fisk, I. (2014). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival after in vitro digestion. *Journal of functional food*, 6, 205–214.
- Zavaglia, A.G., Kociubinski, G., Perez, P. & De Antoni, G. (1998). Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *J. Food Protec.*, 61(7), 865–873.
- Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suarez, V., Vinderola, G., Reinheimer, J., & Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28, 1033–1040.
- Zhou, J. S., Pillidge, C.J., Gopal, P.K. & Gill, H.S. (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 211–217