

KARAKTERISTIK MIKROKAPSUL *Lactobacillus plantarum* DAN STABILITASNYA DALAM PRODUK SELAI SALAK

[*Microcapsule Characteristics of Lactobacillus plantarum and Stability in Snake Fruit Jam*]

Nurwulan Purnasari¹⁾, Betty Sri Laksmi Jenie^{2)*}, dan Lilis Nuraida^{2,3)}

¹⁾ Program Studi Magister Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³⁾ Southeast Asian Food and Agriculture Science and Technology (SEAFST), Bogor

Diterima 27 Februari 2015 / Disetujui 22 Juni 2015

ABSTRACT

Microencapsulation a technique that can be used to improve the viability of probiotic during food processing and through the intestinal tract. Two probiotic candidates (Lb. plantarum BSL and Lb. plantarum 2C12) were encapsulated using 3% sodium alginate and soybean oil (0.2% Tween 80). The objectives of the study were to evaluate the effectivity of microencapsulation technique by emulsion method on the probiotic survival, heat resistance, injured cell, and tolerance to bile salt (0.5%) and low pH (pH 2). The encapsulated probiotics were then incorporated into snake fruit jam and evaluated for their viability during storage in room temperature for 4 weeks. The results showed that both microencapsulated probiotics demonstrated good survival with high viability (11 Log CFU g⁻¹). Heat resistance of the encapsulated strains at 50°C was better than their free cells, although higher temperatures (60-70°C) would lowered the number of survivors. Heating at 50-70°C caused injury to all probiotics cells either free or encapsulated. The survival of all encapsulated probiotics to bile salt and low pH were also better than their free cells. Encapsulated probiotic bacteria in snake fruit jam showed good viability throughout the four weeks of storage, whereas the free probiotic lost all their viability within two weeks. The total yeast and mold count of the probiotic snake fruit jam at 4 week-storage it was still approximately below the maximum standard. The results suggested that microencapsulation of probiotic by emulsion method is suitable to develop snake fruit jam as fruit based probiotic product.

Keywords: probiotic, microencapsulated, *Lb. plantarum*, snake fruit jam, emulsion method

ABSTRAK

Mikroenkapsulasi merupakan salah satu teknik untuk meningkatkan sintasan bakteri probiotik selama pengolahan maupun ketika melewati lambung. Dua kandidat probiotik (*Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12) dienkapsulasi menggunakan 3% natrium alginat dan minyak kedelai ditambah Tween 80 0,2%. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efektivitas mikroenkapsulasi *Lb. plantarum* terhadap sifat ketahanan panas, sel cedera, ketahanan terhadap garam empedu (0,5%) dan pH rendah (pH 2) serta viabilitas probiotik terenkapsulasi dalam produk selai salak selama 4 minggu pada penyimpanan suhu ruang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi kedua isolate *Lb. plantarum* dengan teknik emulsi menghasilkan viabilitas yang tinggi (11 Log CFU g⁻¹). Ketahanan panas probiotik terenkapsulasi pada suhu 50°C juga lebih baik dibandingkan sel bebas, walaupun pemanasan suhu tinggi (60-70°C) akan menurunkan sintasan sel. Pemanasan 50-70°C menyebabkan seluruh probiotik mengalami cedera baik sel bebas maupun sel terenkapsulasi. Ketahanan probiotik terenkapsulasi terhadap garam empedu dan pH rendah lebih baik dibandingkan sel bebas. Probiotik terenkapsulasi pada produk selai salak memperlihatkan viabilitas yang masih baik selama penyimpanan 4 minggu dibandingkan dengan sel bebas yang sudah mengalami kematian pada penyimpanan 2 minggu. Cemaran kapang dan khamir pada selai probiotik dengan penyimpanan 4 minggu masih dibawah batas maksimum yang diizinkan. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa mikroenkapsulasi probiotik dengan teknik emulsi dapat diaplikasikan untuk pengembangan selai salak probiotik berbasis buah.

Kata kunci: probiotik, mikroenkapsulasi, *Lb. plantarum*, selai salak, teknik emulsi

*Penulis Korespondensi:
E-mail: betty_jenie@yahoo.com

PENDAHULUAN

Salah satu pangan fungsional yang mengalami peningkatan di pasar global adalah probiotik. Probiotik didefinisikan sebagai mikroba hidup yang dikonsumsi oleh manusia atau hewan dalam jumlah yang cukup (6 Log CFU g^{-1}), mampu hidup dan melewati kondisi lambung dan saluran pencernaan serta bermanfaat bagi sel inangnya dengan cara meningkatkan kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO, 2002). Beberapa strain probiotik unggul yang sudah diperoleh antara lain adalah *Lactobacillus plantarum* BSL, *Lactobacillus plantarum* 2C12 yang merupakan hasil isolasi dari sumber daya lokal (fermentasi kubis dan daging sapi). Pemanfaatan probiotik pada pangan berbasis non susu dengan memanfaatkan sumber daya lokal belum banyak berkembang. Masalah yang dihadapi dalam pengembangan pangan probiotik adalah bahwa proses pengolahan produk pangan dan kondisi penyimpanan akan menurunkan ketahanan probiotik. Bererapa penelitian melaporkan bahwa probiotik sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan dan mempunyai kemampuan bertahan yang rendah di dalam produk (Shi *et al.*, 2013). Faktor yang dapat mempengaruhi viabilitas probiotik, termasuk diantaranya adalah suhu (Ostlie *et al.*, 2004), pH (Corcoran *et al.*, 2005) dan kondisi proses (Matto *et al.*, 2006). Teknik mikroenkapsulasi diketahui mampu menyediakan perlindungan fisik bagi probiotik terhadap kondisi lingkungan. Salah satu upaya untuk mempertahankan viabilitas probiotik adalah dengan mengaplikasikan teknik mikroenkapsulasi dengan metode emulsi. Mikroenkapsulasi merupakan teknik penyalutan dengan menggunakan matriks penyalut dalam bentuk mikroenkapsul yang dapat melepaskan isinya dalam kondisi tertentu (Anal dan Singh, 2007). Burgain *et al.* (2011) menyatakan bahwa emulsifikasi merupakan teknik kimia yang digunakan untuk mengenkapsulasi sel probiotik hidup dengan menggunakan hidrokoloid seperti alginat, karagenan dan pektin sebagai enkapsulan. Ketahanan *Lactobacillus* setelah dienkapsulasi dengan menggunakan alginat diketahui meningkat pada suhu 55, 60, dan 65°C (Mandal *et al.*, 2006) serta memiliki sintasan lebih baik selama penyimpanan dingin (Jayalalitha *et al.*, 2011).

Sumberdaya lokal seperti buah tropis salah satunya adalah salak, dapat dikembangkan sebagai pangan fungsional probiotik berbasis buah. Diantaranya dengan mengolah menjadi produk *Intermediate Moisture Food* (IMF). Produk IMF atau pangan semi basah berbasis buah lokal yang diperkirakan berpotensi untuk dikembangkan sebagai pangan probiotik baru adalah selai buah. Selai merupakan salah satu produk pangan tradisional yang termasuk produk IMF. Keunggulan dari produk

IMF adalah memiliki a_w yang rendah (0,7-0,85), sehingga mampu memperpanjang masa simpan produk pada suhu kamar (Labuza *et al.*, 2007). Ding dan Shah (2008) melaporkan bahwa jus buah jeruk dan apel terbukti mampu menjadi pembawa probiotik terenkapsulasi selama penyimpanan. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Nualkaekul *et al.* (2013) yang menunjukkan jus buah terbukti dapat menjadi pembawa (*carrier*) probiotik terenkapsulasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi teknik mikroenkapsulasi dengan teknik emulsi pada 2 strain *Lb. plantarum* untuk peningkatan sintasan (*survival*) terhadap panas, pH rendah, garam empedu dan kerusakan sel akibat pemanasan, serta viabilitas *Lb. plantarum* terenkapsulasi dalam selai salak selama penyimpanan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah varietas salak yang digunakan adalah salak pondoh yang diperoleh dari pasar di daerah Darmaga, Bogor.

Preparasi kultur mikroorganisme (Harmayani *et al.*, 2001)

Kultur bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus plantarum* BSL diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan FATETA IPB sedangkan *Lactobacillus plantarum* 2C12 diperoleh dari Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan IPB. Pembuatan biomassa bakteri asam laktat mengacu pada Harmayani *et al.* (2001), kultur bakteri ditumbuhkan pada agar miring MRSA (De Man, Rogosa, Sharpe agar) (Oxoid, Inggris), kemudian diambil sebanyak satu ose untuk ditumbuhkan pada media MRSB (Oxoid, Inggris), dan diinkubasi selama 24 jam (37°C). Selanjutnya diambil sebanyak 1 mL dan ditumbuhkan kembali pada MRSB 1000 mL. Biomassa yang dihasilkan kemudian dipanen dengan cara mensentrifugasi pada 5000 g selama 10 menit dan dicuci dua kali dengan Phospat Buffer Saline (PBS) 0,1 M.

Mikroenkapsulasi (Mandal *et al.*, 2006)

Larutan natrium alginat 3% (Sigma-Aldrich, UK) disterilkan dengan autoklaf (suhu 121°C selama 15 menit) kemudian didinginkan hingga suhu mencapai 38-40°C. Sebanyak 20 mL larutan dan 4 mL suspensi sel masing-masing *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 dimasukkan ke dalam tabung sentrifus (40 mL) untuk kemudian divortex (Vortex Genie 2) hingga homogen. Minyak kedelai (100 mL) ditambah Tween 80 0,2% steril dimasukkan ke dalam gelas piala 500 mL. Campuran alginat dan sel

ditambahkan dengan cara diteteskan menggunakan mikropipet 1 mL ke dalam larutan minyak yang diputar konstan dengan pengaduk magnet (200 rpm). Setelah 5 menit, 100 mL kalsium klorida 1M ditambahkan secara cepat untuk mengeraskan mikrokapsul dan memecah emulsi. Mikrokapsul dipanen dengan cara sentrifugasi (350 rpm, 10 menit) pada suhu 4°C kemudian dicuci dua kali dengan menggunakan akuades steril. Mikrokapsul dipisahkan dengan menggunakan kertas Whatman filter No. 1, kemudian dipindahkan ke dalam cawan steril dan disimpan dalam lemari pendingin ($7\pm 1^\circ\text{C}$). Ukuran mikrokapsul diukur dengan menggunakan micrometer, untuk mengetahui efektivitas mikroenkapsulasi probiotik, dilakukan analisis jumlah sel, ketahanan panas, kerusakan sel setelah pemanasan serta ketahanan terhadap garam empedu dan pH darisel terenkapsulasi dibandingkan dengan sel bebas. Ketahanan sel dihitung berdasarkan penurunan jumlah sel yang diperoleh dari jumlah sel awal sebelum perlakuan dikurangi jumlah sel akhir setelah perlakuan (Log CFU mL^{-1}).

Jumlah sel probiotik bebas dan terenkapsulasi (Gebara *et al.*, 2013)

Sintasan probiotik ditentukan dengan menghitung sel yang hidup di dalam media tumbuh dan juga di dalam mikrokapsul. Mikrokapsul probiotik didisintegrasikan yakni dengan menambahkan sebanyak 1 g mikrokapsul ke dalam 9 mL (b/v) larutan sodium sitrat 2% steril (pH 7,0) kemudian dihomogenisasi selama 5 menit (Krasaekoopt *et al.*, 2004). Setelah didisintegrasi, mikroba dalam hal ini adalah probiotik, akan keluar dari enkapsulan lalu dihitung. Perhitungan dilakukan dengan membuat serial larutan dari *sodium chloride* (0,85% b/v) kemudian dilakukan *pour plate* pada MRSA menggunakan cawan petri lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam.

Ketahanan terhadap panas (Mandal *et al.*, 2006)

Sebanyak 1 g mikrokapsul atau 1 mL suspensi sel bebas dimasukkan ke dalam 10 mL akuades dan dipanaskan pada suhu 50, 60 dan 70°C selama 20 menit. Selanjutnya campuran didinginkan pada suhu ruang dan sel hidup dihitung setelah ditumbuhkan pada MRSA selama 48 jam pada suhu 37°C.

Sel cedera (*Injured cell*) setelah pemanasan (Golowczyk *et al.*, 2011)

Lb. plantarum yang telah mengalami pemanasan ($50\text{-}70^\circ\text{C}$) selama 20 menit diambil 1 mL dan ditumbuhkan pada media MRSA yang ditambah NaCl 5% b/v (Oxoid, Inggris) dan MRSA sebagai kontrol. Inkubasi dilakukan selama 48 jam dengan suhu inkubasi 37°C. Sel sehat dihitung berdasarkan

jumlah koloni yang tumbuh pada media MRSA yang ditambah NaCl 5% (Log CFU mL^{-1}) sedangkan sel cedera tidak mampu tumbuh. Jumlah sel cedera dihitung berdasarkan selisih antara koloni pada cawan MRSA kontrol (Log CFU mL^{-1}) dengan koloni pada cawan MRSA yang ditambahkan dengan NaCl 5% (Log CFU mL^{-1}).

Ketahanan terhadap garam empedu (0,5%) dan pH rendah (pH 2) (Nuraida *et al.*, 2012)

Pengujian ketahanan terhadap garam empedu dilakukan dengan mengambil kultur bakteri probiotik sebanyak 1 mL berumur 24 jam dan 1 g mikrokapsul dimasukkan masing-masing ke dalam 10 mL MRSB kontrol dan MRSB dengan penambahan 0,5% garam empedu (Merck, Jerman). Campuran selanjutnya dihomogenisasi dengan vortex dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 jam. Ketahanan bakteri dinyatakan dari perbedaan koloni (Log CFU mL^{-1}) antara media kontrol dengan media yang mengandung garam empedu.

Pengujian ketahanan terhadap pH rendah dilakukan dengan memasukkan 1 mL kultur bakteri probiotik berumur 24 jam dan 1 g mikrokapsul masing-masing ke dalam 10 mL MRSB kontrol dan MRSB dengan penambahan HCl (Merck, Jerman) hingga pH 2. Campuran kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan vortex dan kemudian diinkubasi selama 5 jam (37°C). Perhitungan dilakukan dengan menggunakan media MRSA dan metode tuang. Probiotik yang toleran terhadap asam dihitung dengan melihat perbedaan koloni (Log CFU mL^{-1}) antara media kontrol dengan media asam.

Pembuatan selai salak

Proses pembuatan selai salak mengacu pada Noerhartati *et al.* (2001) dengan konsentrasi gula 75%. Salak pondoh yang sudah masak diperoleh dari toko buah sekitar Darmaga. 400 g buah salak yang sudah dihilangkan kulit dan bijinya kemudian dibersihkan dan *diblanching* selama 25 menit, setelah ditiriskan selanjutnya buah salak dicampurkan dengan gula pasir 300 g dengan menggunakan blender. Pemanasan campuran buah salak hingga menjadi selai dilakukan selama 25 menit. Bakteri probiotik bebas dan terenkapsulasi masing-masing ditambahkan sebanyak 10 g pada selai salak 100 g dan disimpan pada suhu ruang selama 4 minggu dengan menggunakan botol kaca steril. Penambahan probiotik dilakukan pada saat suhu selai salak mencapai 50°C . Analisis yang dilakukan meliputi analisis jumlah bakteri probiotik dengan media MRSA (Oxoid, Inggris), dan kontaminasi kapang khamir dengan menggunakan media PDA (Oxoid, Inggris) dengan penambahan asam tartarat. Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter (Eutech Instrument) sedangkan pengukuran a_w

dengan menggunakan a_w meter (Shibaura Electronic Co.Ltd).

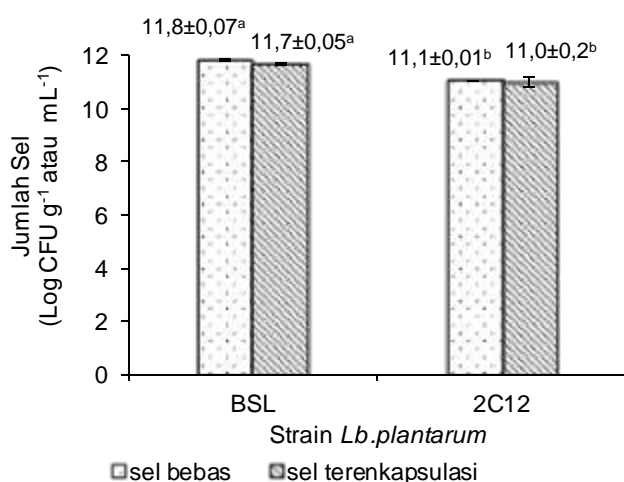
Analisis data

Data rata-rata diperoleh dari 2 ulangan. Analisis varian menggunakan ANOVA (faktor tunggal) dengan uji lanjut menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintasan sel bakteri probiotik setelah proses mikroenkapsulasi

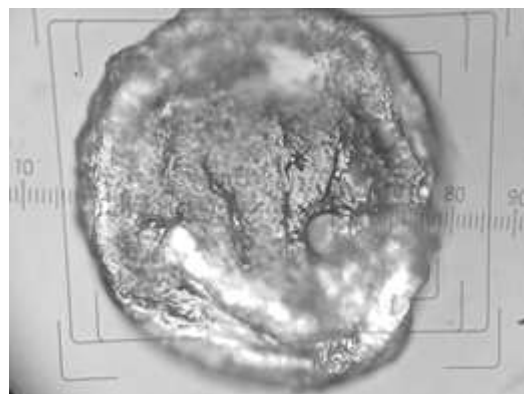
Proses mikroenkapsulasi tidak menyebabkan perubahan jumlah sel yang berbeda nyata pada kedua strain *Lb. plantarum*. Sel awal probiotik sebelum dienkapsulasi berkisar antara 11,6-11,8 Log CFU g^{-1} , dan setelah dienkapsulasi jumlah sel yang diperangkap oleh matriks alginat masih tetap tinggi, yaitu berkisar antara 94-95% (11,0-11,1 Log CFU g^{-1}) (Gambar 1).



Gambar 1. Jumlah sel *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 setelah proses mikroenkapsulasi. Rataan dengan huruf yang berbeda (a-b) menunjukkan hasil beda nyata ($P < 0,05$)

Kehilangan sel selama proses mikroenkapsulasi dengan teknik emulsi sangat rendah. Hasil ini menunjukkan bahwa enkapsulasi dengan menggunakan teknik emulsi tidak mengurangi sintasan sel secara beda nyata ($P < 0,05$) dilihat dari jumlah sel setelah enkapsulasi sama tingginya dengan sel bebas. Hasil enkapsulasi memperlihatkan bahwa *Lb. plantarum* BSL mempunyai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Lb. plantarum* 2C12. Hal serupa juga dilaporkan oleh Mokarram *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa

mikroenkapsulasi dengan alginat menggunakan metode emulsi mampu menghasilkan mikrokapsul *Lb. acidophilus* PTCC1643 dengan viabilitas tinggi (99,8%) dari jumlah sel awal berkisar antara 9,04-10,2 Log CFU mL^{-1} dan setelah dienkapsulasi sintasannya menjadi 9,02-10,1 Log CFU mL^{-1} . Mikrokapsul kedua strain *Lb. plantarum* dengan menggunakan teknik emulsi mempunyai variasi ukuran berkisar antara 100-500 μm . Variasi ukuran yang dihasilkan dipengaruhi oleh kecepatan agitasi yang digunakan pada saat pembentukan mikrokapsul. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Burgain *et al.* (2010) enkapsulasi dengan menggunakan teknik emulsi akan menghasilkan ukuran mikrokapsul yang bervariasi, antara 0,1-5000 μm . Bentuk mikrokapsul yang dihasilkan keseluruhan berbentuk bulat (Gambar 2), hal serupa juga dilaporkan oleh Fahimdanesh *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa ciri fisik mikrokapsul adalah bulat.



Gambar 2. Bentuk mikrokapsul dibawah mikroskop okuler (perbesaran 20x)

Ketahanan *Lb. plantarum* terhadap panas

Mikroenkapsulasi dengan metode emulsi terbukti mampu meningkatkan ketahanan panas *Lb. plantarum*. Jumlah sel kedua strain *Lb. plantarum* yang tidak dienkapsulasi setelah pemanasan mengalami penurunan yang berbeda nyata dan lebih banyak dibandingkan sel terenkapsulasi. Semakin tinggi suhu pemanasan semakin banyak penurunan jumlah sel, namun sel probiotik yang terenkapsulasi terbukti mampu memperkecil penurunan jumlah sel secara beda nyata dibandingkan dengan sel bebas (Gambar 3). Sintasan kedua strain *Lb. plantarum* bebas setelah pemanasan mengalami penurunan beda nyata lebih banyak dibandingkan sel terenkapsulasi. Sel bebas *Lb. plantarum* BSL dengan jumlah awal 10,61 Log CFU mL^{-1} secara drastis turun menjadi 8,13; 4,46; 1,54 Log CFU mL^{-1} setelah mengalami pemanasan pada suhu 50, 60, dan 70°C selama 20 menit. Demikian pula sel bebas *Lb. plantarum* 2C12 (jumlah awal 10,44 Log CFU mL^{-1})

pada perlakuan yang sama mengalami penurunan menjadi 8,26; 4,79; 1,74 Log CFU mL⁻¹. Ketahanan panas *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terbukti meningkat setelah dienkapsulasi dengan menggunakan alginat.

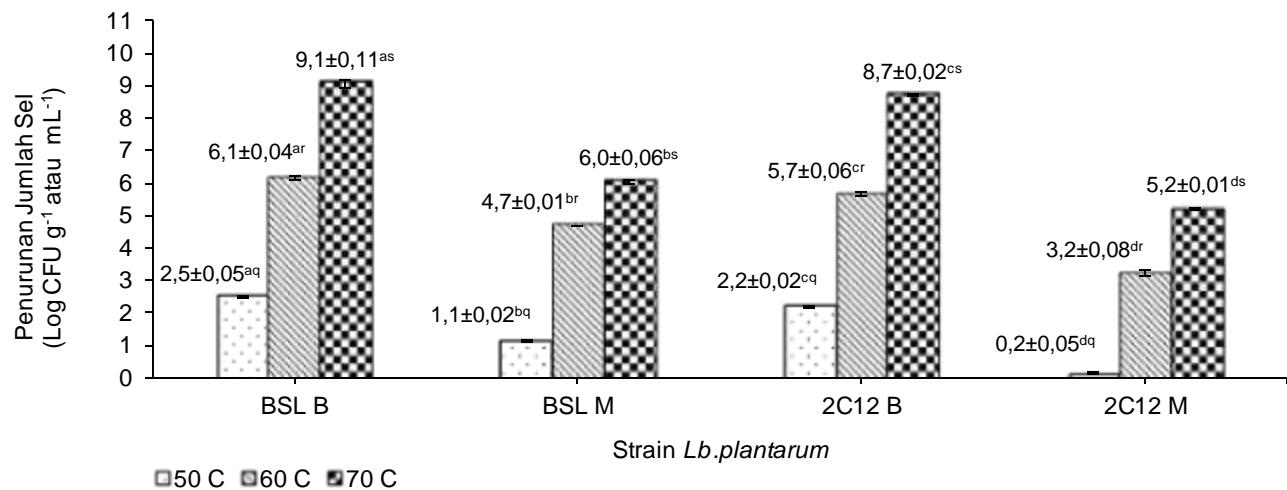
Pada Gambar 3 dapat dilihat penurunan jumlah sel terenkapsulasi setelah pemanasan berbeda nyata lebih kecil dibandingkan dengan sel bebas. Hasil ini sesuai dengan Mandal *et al.* (2006) yang melaporkan bahwa ketahanan laktobasili meningkat setelah dienkapsulasi dengan alginat. *Lb. plantarum* BSL bebas tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan *Lb. plantarum* 2C12 bebas, hal ini menunjukkan kedua strain tersebut mempunyai ketahanan panas yang sama. Hasil serupa juga terjadi pada sel yang sudah dienkapsulasi, kedua strain tidak menunjukkan hasil beda nyata setelah mengalami perlakuan panas. Kim *et al.* (2008) melaporkan ketahanan *Lb. acidophilus* ATCC 43121 yang dienkapsulasi menggunakan alginat turun 2 Log CFU mL⁻¹ ketika dipanaskan pada suhu 65°C selama 30 menit, hasil ini lebih baik dibandingkan sel bebas yang mengalami penurunan 3 Log CFU mL⁻¹. Hasil ini memperlihatkan bahwa mikroenkapsulasi menggunakan alginat dapat meningkatkan ketahanan panas dari probiotik.

Jumlah sel cedera setelah pemanasan

Proses pemanasan merupakan salah satu kondisi yang dapat membuat sel kehilangan aktivitasnya bahkan menyebabkan kematian sel. Sen-

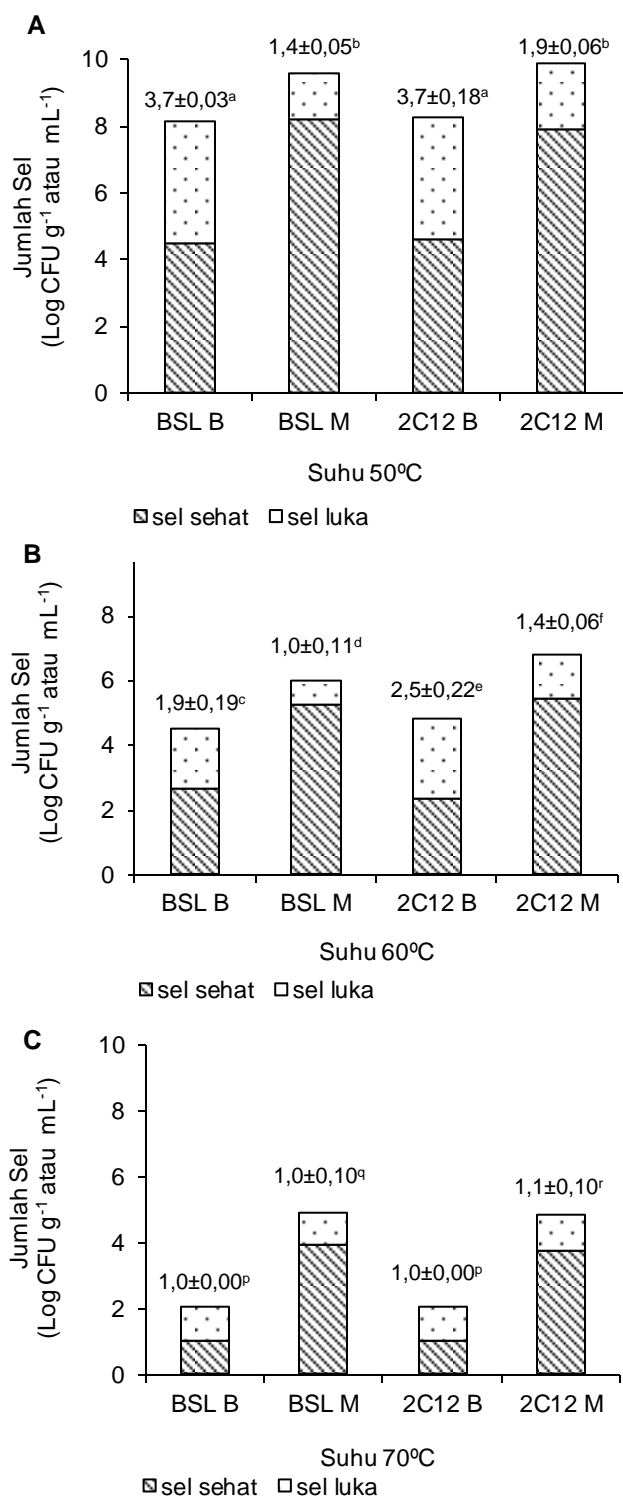
sitivitas sel terhadap NaCl 5% dapat digunakan sebagai salah satu indikator terjadinya kerusakan membran akibat pemanasan. Gambar 4 memperlihatkan bahwa sel bebas baik *Lb. plantarum* BSL maupun *Lb. plantarum* 2C12 mengalami kerusakan membran pada semua suhu pemanasan (50-70°C). Suhu pemanasan yang semakin tinggi menyebabkan sel yang cedera justru menurun, hal ini dikarenakan semakin tinggi suhu pemanasan sebagian sel cedera akan mengalami kematian sehingga hanya sel sehat yang mampu bertahan.

Probiotik terenkapsulasi memperlihatkan sel sehat yang lebih tinggi dibandingkan sel bebas pada semua suhu pemanasan. Hal ini menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi dengan menggunakan teknik emulsi dapat melindungi sel dari kerusakan membran akibat pemanasan. Sel yang masih sehat akan mampu tumbuh pada media dengan penambahan NaCl 5%. Sel sehat pada kedua strain tidak berbeda nyata pada suhu 50 dan 70°C, sedangkan pada suhu 60°C *Lb. plantarum* BSL terlihat beda nyata lebih banyak sel sehat dibanding *Lb. plantarum* 2C12. Sel dapat mengalami cedera dari berbagai paparan diantaranya panas, lingkungan osmotik dan perlakuan oksidasi yang menyebabkan sel kehilangan aktivitas dan viabilitasnya (Golowczyc *et al.*, 2011). Bevilacqua *et al.* (2010) melaporkan bahwa *Lb. plantarum* yang dienkapsulasi dengan menggunakan gel alginat terbukti mampu meningkatkan resistensi terhadap NaCl 5% dibandingkan dengan sel bebas.



Gambar 3. Efek mikroenkapsulasi terhadap penurunan jumlah sel *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 setelah pemanasan pada suhu yang berbeda

Keterangan: BSL B: *Lb. plantarum* BSL Bebas; BSL M: *Lb. plantarum* BSL Mikrokapsul; 2C12 B: *Lb. plantarum* 2C12 Bebas; 2C12 M: *Lb. plantarum* 2C12 Mikrokapsul; Rataan dengan huruf yang berbeda (a-d) pada suhu yang sama dengan strain yang berbeda menunjukkan hasil beda nyata ($P < 0,05$). Rataan dengan huruf yang berbeda (q-s) pada strain yang sama dengan suhu yang berbeda menunjukkan hasil beda nyata ($P < 0,05$)

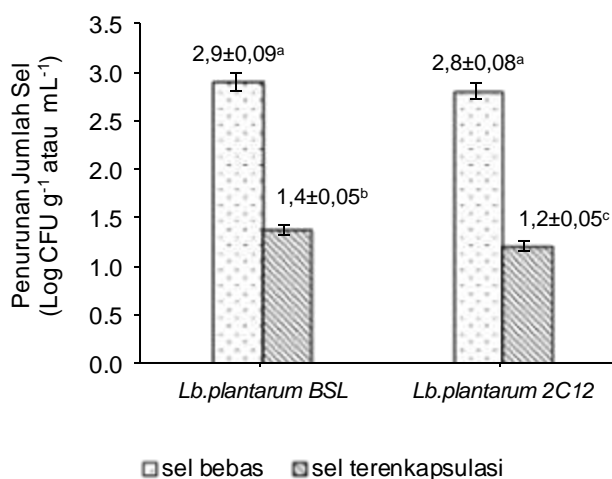


Gambar 4. Pengaruh suhu pemanasan dan mikroenkapsulasi terhadap sel cedera *Lb. plantarum*

Keterangan: Rataan dengan huruf yang berbeda (a-d) pada suhu yang sama dengan strain yang berbeda menunjukkan jumlah sel cedera yang beda nyata ($P < 0,05$)

Ketahanan strain *Lb. plantarum* terhadap garam empedu (0,5%)

Kemampuan bakteri probiotik untuk bertahan pada kondisi saluran pencernaan diperlukan untuk dapat memberikan efek kesehatan. Ketahanan bakteri probiotik terhadap garam empedu merupakan salah satu sifat penting yang harus dimiliki agar mampu tumbuh dan bertahan hidup selama berada pada bagian usus kecil. Penurunan jumlah bakteri probiotik bebas yang diinkubasi dengan MRSB yang mengandung garam empedu 0,5% berbeda nyata lebih banyak dibandingkan dengan probiotik terenkapsulasi. *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terenkapsulasi masing-masing hanya mengalami penurunan sebesar 1,4 dan 1,2 Log CFU mL⁻¹ (Gambar 5) atau sekitar separuh dari penurunan sel bebas setelah dipapar dengan kondisi garam empedu 0,5%. *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 masing-masing mengalami penurunan sebesar 2,9 dan 2,8 Log CFU mL⁻¹ (Gambar 5).

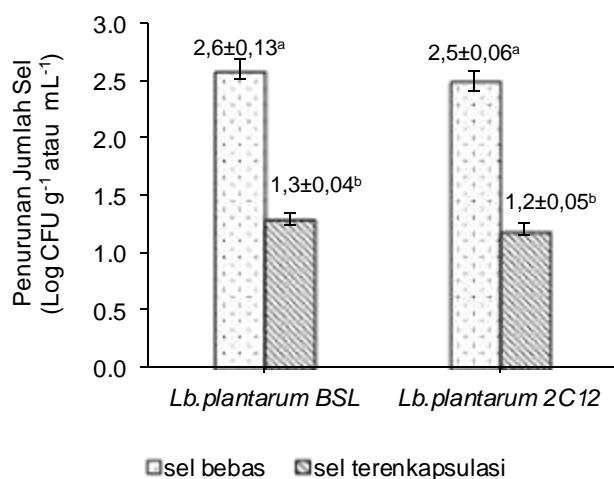


Gambar 5. Ketahanan sel strain *Lb. plantarum* bebas dan terenkapsulasi terhadap garam empedu (0,5%)

Penurunan jumlah sel pada kedua strain sebelum dan setelah mikroenkapsulasi tidak berbeda nyata ($P < 0,05$), hal ini menunjukkan ketahanan terhadap garam empedu setelah mikroenkapsulasi tidak dipengaruhi oleh perbedaan strain. Enkapsulasi *Lb. acidophilus* dengan alginat juga meningkatkan viabilitasnya setelah diinkubasi dengan garam empedu 1% (Chandramouli *et al.*, 2004). Demikian pula seperti yang dilaporkan Mandal *et al.* (2006) bahwa viabilitas *Lb. casei* NCDC-298 yang dienkapsulasi dengan alginat lebih tahan dibandingkan sel bebas dalam kondisi garam empedu 1-2%.

Ketahanan strain *Lb. plantarum* terhadap pH rendah (pH 2)

Salah satu syarat bakteri termasuk dalam probiotik adalah mampu bertahan hidup pada kondisi saluran pencernaan yang meliputi keasaman tinggi dan sekresi garam empedu. Penurunan jumlah bakteri probiotik bebas yang diinkubasi dengan pH 2 berbeda nyata lebih banyak dengan probiotik terenkapsulasi. *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 masing-masing mengalami penurunan sebesar 2,6 dan 2,5 Log CFU mL⁻¹. Hasil berbeda nyata ditunjukkan pada *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terenkapsulasi masing-masing hanya mengalami penurunan sebesar 1,3 dan 1,2 Log CFU mL⁻¹ (Gambar 6).

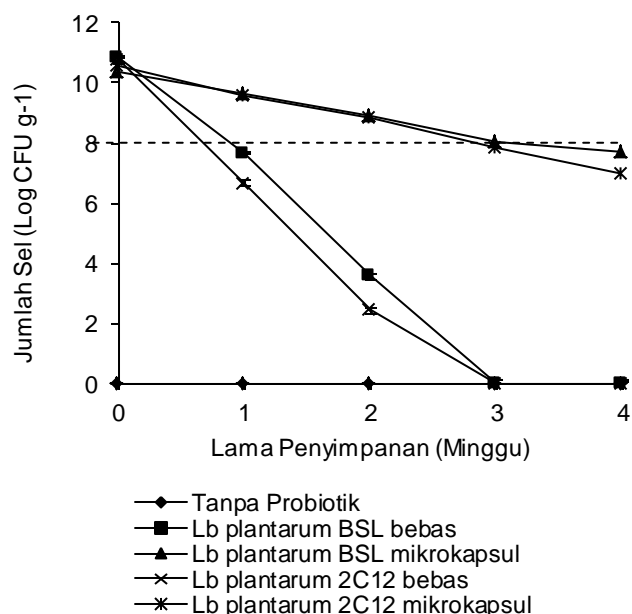


Gambar 6. Ketahanan sel strain *Lb. plantarum* bebas dan terenkapsulasi terhadap pH rendah (pH 2)

Pada percobaan ini, ketahanan sel probiotik terhadap pH rendah dilakukan dengan inkubasi pada kondisi pH rendah (pH 2) selama 5 jam, sesuai dengan lamanya makanan berada di dalam lambung (2-6 jam). Chandramouli *et al.* (2004) melaporkan kenaikan viabilitas *Lb. acidophilus* secara nyata pada pH 2 setelah dienkapsulasi dengan alginat. Kim *et al.* (2008) melaporkan bahwa sintasan *Lb. acidophilus* ATCC 43121 pada kondisi pH rendah (pH 1,2 dan 1,5) berbeda nyata lebih tinggi dibandingkan dengan sel bebas. Pada pH 1,2 *Lb. acidophilus* ATCC 43121 bebas mengalami kematian setelah inkubasi selama 1 jam, sedangkan *Lb. acidophilus* ATCC 43121 terenkapsulasi mengalami penurunan dari 6 menjadi 3 Log CFU g⁻¹. Dengan demikian enkapsulasi dengan alginat mampu meningkatkan sintasan probiotik setelah dipapar dengan garam empedu.

Stabilitas bakteri probiotik dalam selai salak selama penyimpanan

Selai salak merupakan salah satu produk IMF yang dipilih sebagai model pangan bakteri probiotik. Penyimpanan dilakukan pada suhu kamar untuk mengetahui survival bakteri probiotik terenkapsulasi dibandingkan sel bebas. Survival bakteri probiotik bebas dan terenkapsulasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 bebas dan terenkapsulasi pada selai salak selama penyimpanan suhu kamar

Keterangan: (-----) batas minimum jumlah probiotik yang disarankan untuk dikonsumsi menurut FAO/WHO, 2002 (6 Log CFU g⁻¹)

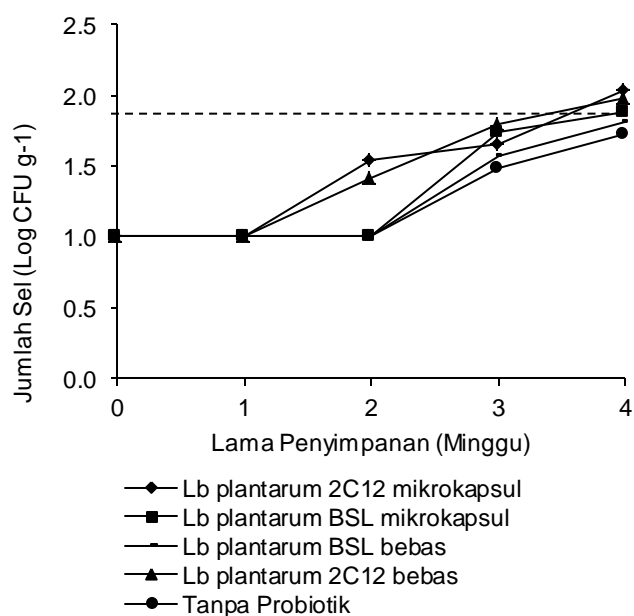
Sel bebas baik *Lb. plantarum* BSL maupun *Lb. plantarum* 2C12 masing-masing menurun secara drastis selama penyimpanan 3 minggu dan pada penyimpanan 4 minggu keseluruhan sel bebas sudah tidak terdeteksi lagi. *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terenkapsulasi memperlihatkan sintasan yang jauh lebih baik dibandingkan sel bebas. Pada penyimpanan 4 minggu *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terenkapsulasi jumlah sel di dalam selai salak masing-masing masih di atas 7 Log CFU g⁻¹. US FDA merekomendasikan jumlah minimum probiotik saat konsumsi sebesar 6 Log CFU g⁻¹ (Capela *et al.*, 2005). Mikroenkapsulasi terbukti mampu melindungi probiotik ketika berada didalam matrik pangan selama penyimpanan.

Sintasan bakteri probiotik terenkapsulasi dalam selai salak selama penyimpanan 4 minggu masih di atas kisaran jumlah minimum probiotik yang direkomendasikan. Chandramouli *et al.* (2004) dan Saarela *et al.* (2006) melaporkan bahwa mikroenkapsulasi probiotik mampu meningkatkan viabilitas probiotik pada jus buah dengan keasaman tinggi pada penyimpanan suhu dingin selama 2 minggu, hal ini disebabkan mikroenkapsulasi dapat menyediakan lingkungan anaerobik yang menguntungkan bagi bakteri probiotik, dengan berperan sebagai pelindung fisik dari kondisi asam pada jus buah. Ding dan Shah (2008) melaporkan bahwa *Lb. acidophilus* terenkapsulasi masih memiliki viabilitas tinggi pada jus apel setelah disimpan selama 6 minggu dimana sel bebas keseluruhan sudah mengalami kematian pada penyimpanan 5 minggu.

Total kapang khamir selai salak selama penyimpanan

Selai salak pada percobaan ini memiliki kadar gula sebesar 54-58%, dengan kadar air 29-32%. pH dan a_w selai salak pada awal penyimpanan masing-masing 4,6 dan 0,78. Pada Gambar 8 terlihat total kapang khamir pada penyimpanan 2 minggu mulai meningkat, terutama pada selai salak tanpa probiotik dan selai salak dengan penambahan *Lb. plantarum* 2C12 bebas. Standar maksimal jumlah kapang khamir produk selai berdasarkan SNI adalah 2 Log CFU g^{-1} . Pada akhir penyimpanan total kapang khamir pada semua perlakuan masih dibawah 2 Log CFU g^{-1} .

Pertumbuhan kapang khamir pada selai salak hingga 4 minggu masih dibawah maksimum jumlah cemaran kapang khamir yang ditetapkan (Gambar 7), sehingga produk selai salak dengan penyimpanan 4 minggu pada suhu ruang layak untuk dikonsumsi. Tidak terlihat perbedaan pertumbuhan kapang khamir pada selai dengan penambahan sel bebas dan selai dengan penambahan sel terenkapsulasi. Pertumbuhan kapang khamir di dalam selai kemungkinan dihambat oleh tingginya kadar gula dalam selaidan a_w yang rendah. Kandungan gula yang tinggi pada selai salak secara alami berperan sebagai pengawet karena air bebas yang ada di dalam selai tidak dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Noerhartati *et al.* (2001) melaporkan bahwa selai salak tanpa penambahan bahan pengawet masih layak dikonsumsi setelah penyimpanan 30 hari karena total kapang khamir masih dibawah 2 Log CFU g^{-1} .



Gambar 8. Total kapang khamir selai salak selama penyimpanan suhu kamar. Keterangan: (-----) Batas maksimum cemaran kapang khamir pada produk selai menurut SNI (2 Log CFU g^{-1})

KESIMPULAN

Mikroenkapsulasi probiotik dengan teknik emulsi menghasilkan sintasan yang tinggi (94-95%). Teknik mikroenkapsulasi ini mampu meningkatkan ketahanan probiotik terhadap panas dan menurunkan jumlah sel yang mengalami cedera akibat pemanasan, ketahanan terhadap garam empedu dan pH rendah. Strain *Lb. plantarum* BSL dan *Lb. plantarum* 2C12 terenkapsulasi yang dihasilkan memiliki karakteristik yang relatif sama. *Lb. plantarum* terenkapsulasi yang ditambahkan dalam produk selai salak selama penyimpanan suhu kamar 4 minggu memperlihatkan viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel bebas. Selama penyimpanan selai salak pada suhu ruang cemaran kapang khamir pada sel bebas maupun sel terenkapsulasi masih memenuhi syarat maksimum yang ditetapkan oleh SNI.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada DIKTI yang telah membiayai penelitian ini melalui program Hibah Kompetensi 2014 sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Anal AK, Singh H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Tech* 18: 240–251. DOI: 10.1016/j.tifs.2007.01.004.
- Bevilacqua A, Sinigagli M, Corbo MR. 2010. An acid/alkaline stress and the addition of amino acids induce a prolonged viability of *Lactobacillus plantarum* loaded into alginate gel. *Int J Food Microbiol* 142: 242–246. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.05.030.
- Burgain J, Gaiani C, Linder C, Scher J. 2011. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *J Food Eng* 104: 467–483. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031.
- Capela P, Hay TKC, Shah NP. 2005. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Res Int* 39: 203–211. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.07.007.
- Chandramouli V, Kailaspathy K, Peiris P, Jones M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *J Microbiol Meth* 56: 27-35. DOI: 10.1016/j.mimet.2003.09.002.
- Corcoran BM, Stanton C, Fitzgerald GF, Ross RP. 2005. Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Appl Environl Microbiol* 71: 3060–3067. DOI: 10.1128/AEM.71.6.3060-3067.2005.
- Ding WK, Shah NP. 2008. Viability of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *Int Food Res J* 15: 219-232.
- Fahimdanesh M, Mohammadi N, Ahari H, Zajani MAK, Hargalani FZ. 2012. Effect of microencapsulation plus resistant starch on survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* in mayonnaise sauce. *Afr J Microbiol Res* 6: 6853-6858. DOI: 10.5897/AJMR12.1240.
- [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization/World Health Organization. 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in food. London Ontario, Canada.
- Gebara C, Chaves KS, Ribeiro MCE, Souza FN, Grosso CRF, Gigante ML. 2013. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin–whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int* 51: 872-878. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.02.008.
- Golowczyc M, Silva J, Abraham A, Deantoni G, Teixeira P. 2011. Cellular injuries of spray dried *lactobacillus* spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. *Int J Food Microbiol* 144: 556-560. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.005.
- Harmayani E, Ngatirah, Rahayu ES, Utami T. 2001. Ketahanan dan viabilitas probiotik bakteri asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan spray drying. *J Teknol Industri Pangan* 12: 126-132.
- Jayalalitha V, Dorai RP, Dhanalakshmi B, Elango A, Kumar CN. 2011. Yoghurt with encapsulated probiotics. *Wayamba J Anim Sci* 14: 65-68.
- Kim SJ, Cho SY, Kim SH, Song OJ, Shin IS, Cha DS, Park HJ. 2008. Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT-Food Sci Technol* 41: 493–500. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.03.025.
- Labuza, Shely J, Athony J, Gustavo S. 2007. Water Activity in Food Fundamental and Application. 273-290. IFT Press.
- Mandal S, Puniya AK, Singh K. 2006. Effect of alginat concentration on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCD 298. *Int Dairy J* 16: 1190-1195. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.10.005.
- Matto J, Alakomi HL, Vaari A, Virkajärvi I, Saarela M. 2006. Influence of processing conditions on *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis functionality with a special focus on acid tolerance and factors affecting it. *Int Dairy J* 16: 1029–1037. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.10.014.
- Mokarram RR, Mortazavi SA, Najafi MBH, Shahidi F. 2009. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Res Int* 42: 1040–1045. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.04.023.
- Noerhartati E, Rahayuningsih T, Feriyani NV. 2001. Pembuatan selai salak (*Salaca edulis reinw*); kajian dari penambahan natrium benzoat dan gula yang tepat terhadap mutu selai salak

- selama penyimpanan. J Teknol Pangan 3: 37-48.
- Nualkaekul S, Cookk MT, Khutoryanskiy VV, Charalampopoulos D. 2013. Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. Food Res Int 53: 304-311. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.04.019.
- Nuraida L, Susanti, Palupi NS, Hana, Bastomi RP, Pricillia D, Nurjanah S. 2012. Evaluation of probiotics properties of lactic acid bacteria isolated from breast milk and their potency as starter culture for yogurt fermentation. Int J Food Nutr Pub H 5: 33-60.
- Ostlie HM, Treimo J, Narvhus JA. 2005. Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. Int Dairy J 15: 989-997. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.08.015.
- Saarela M, Virkajarvi I, Alakomi HL, Sigvart MP, Matto J. 2006. Stability and function nality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. Int Dairy J 16: 1477-1482. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.12.007.
- Shi LE, Li ZH, Li DT, Xu M, Chen HY, Zang ZX, Tang ZX. 2013. Encapsulation of probiotic *Lactobacillus bulgaricus* in alginate-milk microspheres and evaluation on the survival in simulated gastrointestinal conditions. J Food Eng 117: 99-104. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.02.012.