AKTIVITAS HAMBAT TERHADAP BAKTERI PATOGEN OLEH SERBUK BAKTERIOSIN ASAL *Lactobacillus sp.* GALUR SCG 1223

INHIBITORY ACTIVITY OF BACTERIOCIN POWDER OF Lactobacillus sp. STRAIN SCG 1223 *ON PATHOGEN BACTERIA*

Sri Usmiati[1)*], Sri Yuliani[1] dan Erliza Noor[2]

[1)]Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian
Kampus Penelitian Pertanian Jl. Tentara Pelajar No. 12, Cimanggu, Bogor
Email: usmiati_sri@yahoo.co.id
[2)]Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Insitut Pertanian Bogor

ABSTRACT

Antibacterial activity of liquid extract of bacteriocin from Lactobacillus sp. strain SCG 1223 was relatively stable against Escherichia coli, Salmonella thypimurium and Listeria monocytogenes during storage. However, published work on activity of bacteriocin in dry encapsulated form is limited. This research work was aimed to evaluate antibacterial activity of encapsulated bacteriocin from Lactobacillus sp. strain SCG 1223 against E. coli, S. thypimurium, and L. monocytogenes on various formulated combination using spray drying method of encapsulation. Research was performed using complete randomised factorial design with three factors, i.e. ratio of maltodextrin to skim milk powder (1:0; 1:5; and 1:2), bacteriocin load in the microcapsules (20% and 40%), and inlet temperatures of spray drying (150^{o}C and 170^{o}C). Results showed that encapsulated bacteriocin of Lactobacillus sp. strain SCG 1223 of formula A2B1C1 (16.67% maltodextrin and 83.33% skimmed milk powder; liquid bacteriocin concentration of 20%; and inlet feed of spray drying temperature of 150^{o}C) had better inhibitory activity against E. coli (779.82 AU/mL), S. thypimurium (912.68 AU/mL), and L. monocytogenes (947.25 AU/mL) than those without encapsulation. The activity of encapsulated bacteriocin varied with all factors studied.

Keywords: bacteriocin, encapsulation, Lactobacillus sp, Escherichia coli, Salmonella thypimurium, Listeria monocytogenes

ABSTRAK

Selama *penyimpanan*, aktivitas hambat ekstrak bakteriosin cair dari bakteri *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 relatif stabil terhadap bakteri *Escherichia coli, Salmonella thypimurium* dan *Listeria monocytogenes*. Kemampuan aktivitas hambat ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 dalam bentuk serbuk/kering terhadap bakteri patogen tersebut belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hambat serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 terhadap *E. coli, S. thypimurium* dan *L. monocytogenes* pada berbagai kombinasi formulasi dengan metode enkapsulasi *spray drying*. Penelitian didesain menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial (3 x 2 x 2) yaitu perbandingan maltodekstrin dengan bubuk susu skim (A1= 1:0; A2= 1:5; A3= 1:2), volume ekstrak bakteriosin cair (B1= 10 g dengan 190 g akuades (20%); B2= 20 g dengan 180 g akuades (40%)), suhu *inlet* pengeringan *spray dryer* (C1=150^{o}C; C2= 170^{o}C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 yang dienkapsulasi dengan cara *spray drying* pada formula A2B1C1 (bahan pengkapsul 16,67% maltodekstrin dan 83,33% susu skim bubuk, konsentrasi bakteriosin cair 20%; dan suhu *inlet feed* dari *spray drying* 150^{o}C) memiliki aktivitas hambat lebih baik terhadap *E. coli* (779,82 AU/mL), *S. thypimurium* (912,68 AU/mL) dan *L. monocytogenes* (947,25 AU/ml) dibandingkan dalam bentuk ekstrak bakteriosin cair terhadap *E. coli* (477,79 AU/mL), *S. thypimurium* (383,27 AU/mL) dan *L. monocytogenes* (589,13 AU/mL). Aktivitas serbuk ekstrak bakteriosin bervariasi tergantung jenis dan komposisi bahan pengkapsul, volume ekstrak bakteriosin cair, dan penggunaan suhu *inlet* pengeringan serta jenis bakteri yang diuji.

Kata kunci: bakteriosin, enkapsulasi, *Lactobacillus sp, Escherichia coli, Salmonella thypimurium, Listeria monocytogenes*

PENDAHULUAN

Bakteriosin merupakan senyawa peptida yang dihasilkan oleh beberapa galur bakteri asam laktat (BAL), berfungsi sebagai antimikroba alami dan berpotensi sebagai biopreservatif yang aman (Ray dan Field, 1992). Bakteriosin dalam pangan dapat didegradasi oleh enzim proteolitik di dalam saluran pencernaan (De Vuyst dan Leroy, 2007). Bakteriosin memiliki potensi untuk meningkatkan keamanan dan daya simpan pangan karena kemampuannya melawan mikroba pembusuk/

**Penulis untuk korespondensi*

patogen selama pengolahan dan fermentasi pangan (Lee *et al*.,1999).

Kontaminasi oleh mikroba patogen dan pembusuk seperti *Escherichia coli, Salmonella sp* dan *Listeria sp.* dapat menyebabkan degradasi protein menjadi asam amino sehingga menjadi busuk dan rusak. *Escherichia coli* dapat dijumpai pada daging masak yang terkontaminasi sayuran selama pemasakan (Veclerc *et al*., 2002). Strain patogen *E. coli* menimbulkan diare berdarah, pembengkakan ginjal, demam, syaraf, bahkan kematian (Veclerc *et al*., 2002). *Salmonella sp.* bersifat patogen dan pembusuk (Okolocha dan Ellerbroek, 2005) menyebabkan masalah kesehatan bahkan kematian (Veclerc *et al*., 2002). *Salmonella* terdapat pada daging sapi dan kulit daging unggas serta olahan unggas seperti sosis (Deumier dan Collignan, 2003). *Listeria monocytogenes* bersifat psikrotropik patogen, sering mengkontaminasi produk-produk beku (Mataragas, 2003; Ho *et al*., 2004). Kasus infeksi *L. monocytogenes* adalah *bacteriemia* dan gangguan sistem syaraf (Veclerc *et al.*, 2002).

Faktor yang berpengaruh terhadap aktivitas bakteriosin (nisin) antara lain kondisi lingkungan seperti suhu, pH, garam, lemak, agen *curing*, dan ukuran partikel pangan (Jung *et al.*, 1992). Salah satu upaya untuk memperpanjang masa simpan bakteriosin, mempermudah pendistribusiannya, serta tidak memakan tempat dalam penyimpanan maka dilakukan perlindungan dengan cara dienkapsulasi dan dikeringkan untuk memperoleh bentuk serbuk/bubuk. Keunggulan enkapsulasi bakteriosin adalah lebih tahan dan stabil terhadap kondisi eksternal selain menjadi lebih awet dan lebih ringan (Scannell *et al*., 2000). Bakteriosin kering dapat disimpan lebih lama pada kondisi penyimpanan yang sesuai tanpa terjadi reaksi dekomposisi. Pengujian antimikroba pada sistem model daging menunjukkan bahwa pediosin AcH yang dienkapsulasi dengan liposom dari fosfatidilkolin menunjukkan aktivitas antilisteria yang lebih baik dibandingkan dengan pediosin AcH tanpa enkapsulasi (Benech *et al*., 2002). Pediosin AcH adalah bakteriosin yang dihasilkan oleh *Pediococcus acidilactici* (Ray dan Field, 1992) yang diketahui efektif mengontrol bakteri pembusuk dan patogen dalam susu cair, es krim, keju, daging segar, daging giling dan produk daging (Bruno *et al.*, 1992).

Enkapsulasi merupakan salah satu teknik untuk mempertahankan komposisi suatu bahan yang diubah penampilannya menjadi partikel padat dengan melapisi bahan atau kombinasi bahan tersebut oleh bahan lainnya. Terdapat beberapa metode enkapsulasi bahan pangan, salah satu diantaranya adalah pengeringan semprot (*spray drying)* yaitu enkapsulasi yang berjalan secara kontinyu menggunakan suhu tinggi yang diatur sesuai kebutuhan bahan yang dikapsulkan. *Spray drying* adalah metode mikroenkapsulasi yang umum digunakan di industri pangan, bersifat ekonomis dan fleksibel (Dziezak, 1988). Penggunaan suhu tinggi dalam metode enkapsulasi ini tidak sesuai untuk enkapsulasi material berbasis protein yang mudah terdenaturasi panas. Namun, dengan mengatur dan mengontrol kondisi proses yaitu suhu *inlet* dan *outlet feed* pengering maka dapat menghasilkan distribusi ukuran partikel yang dikehendaki dari material/kultur terkapsul dengan daya hidup yang baik (Kailasapathy, 2002).

Umumnya, bahan yang dilapisi berupa cairan, partikel padat atau gas oleh bahan pengkapsul (*internal phase*) (Risch, 1995). Bahan pengkapsul berfungsi sebagai pengikat dan memperbaiki mutu fisik produk. Penggunaan bahan pengkapsul harus memenuhi syarat keamanan pangan, lembut dan tidak toksik. Beberapa bahan pengkapsul yang sering digunakan adalah alginat, pati resisten, kombinasi karagenan-gum *locust bean*, kombinasi *xanthan-gellan*, kitosan dan gelatin (Sultana *et al.*, 2000; Chandramouli *et al*., 2004; Krasaekoopt *et al*., 2004; McMaster *et al.*, 2005; Muthukumarasamy *et al.*, 2006). Pati termodifikasi, maltodextrin, dan sirup jagung padat digunakan dalam enkapsulasi bahan pangan karena mudah larut, viskositas rendah, dan mudah kering dalam *spray drying*, dan produk dapat terenkapsulasi dengan baik (Kenyon, 1995). Konsentrasi bahan pengkapsul umumnya berkisar 2-4%. Susu skim adalah salah satu bahan pengkapsul yang umum digunakan, terutama sebagai penyalut matriks yang diaplikasikan secara oral (Young *et al.*, 1995).

Aktivitas hambat ekstrak bakteriosin cair dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 telah diketahui relatif stabil terhadap bakteri *Escherichia coli, Salmonella thypimurium* dan *Listeria monocytogenes* (Usmiati dan Noor, 2009). Aktivitas ekstrak bakteriosin yang relatif stabil diperoleh pada kondisi penyimpanan pH 2-4 dan suhu 4^{o}C selama 12 minggu, serta suhu pemanasan ekstrak bakteriosin untuk aplikasi hingga 100^{o}C. Penelitian tentang pembuatan serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 dan aktivitasnya belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hambat serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 terhadap *E. coli, S. thypimurium* dan *L. monocytogenes* pada berbagai kombinasi formulasi dengan metode enkapsulasi *spray drying*.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Metode

Produksi Ekstrak Bakteriosin dari Lactobacillus sp. Galur SCG 1223

Propagasi Kultur Lactobacillus sp. Galur SCG 1223 (Usmiati dan Marwati, 2007)

Sebanyak 1 mL kultur *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223 (koleksi kultur Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian hasil isolasi dari susu sapi segar daerah Bogor) dimasukkan kedalam 9 mL

media *deMan Rogosa Sharpe Broth* (Oxoid), kemudian diinkubasi dalam inkubator (Memmert) pada suhu 27^{o}C selama 24 jam atau sudah tampak keruh. Larutan ini digunakan sebagai kultur induk. Produksi bakteriosin dilakukan menggunakan 800 mL media cair yang diperoleh melalui dua tahap propagasi. Tahap pertama, 8 mL kultur induk diinokulasi ke dalam 72 mL MRSB steril, kemudian diinkubasi di dalam inkubator goyang (*orbital incubator* SI 50 Stuart Scientific) berkecepatan 150 rpm pada suhu 27^{o}C selama 24 jam menjadi kultur kerja. Tahap kedua, sebanyak 80 mL kultur kerja diinokulasi ke dalam 720 mL MRS *broth* steril dalam botol *Durham* dan diinkubasi pada *orbital shaker* berkecepatan 150 rpm pada suhu 33,5^{o}C selama 9 jam (Usmiati dan Marwati, 2007).

Produksi Ekstrak Bakteriosin dari Lactobacillus sp. Galur SCG 1223 (Yang et al., 1992) dan Pemurnian Parsial (Kim et al., 2000)

Sebanyak 800 mL cairan kultivasi *Lactobacillus sp* galur SCG 1223 (sel produser) dinetralkan pH-nya menggunakan NaOH 4 N agar ekstrak bakteriosin terkumpul ke bagian tengah sel *Lactobacillus sp* galur SCG 1223 (adsorpsi), kemudian dipanaskan dalam *waterbath* (K&K) bersuhu 80^{o}C selama 5-15 menit (Yang *et al.*, 1992) sehingga sel produser tersebut mati (inaktif). Larutan kemudian disentrifugasi dalam *centrifuge* (Tomy TX-160) berkecepatan 10.000 rpm pada suhu 4^{o}C selama 15 menit. Massa sel diambil dan diresuspensi menggunakan NaCl fisiologis (0,85%). Suspensi tersebut selanjutnya diasamkan dengan HCl 4 N hingga pH 1,5 agar terjadi desorpsi (proses keluarnya ekstrak bakteriosin dari sel produser). Larutan diinkubasi lagi pada suhu 4^{o}C selama 24 jam dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm suhu 4^{o}C selama 15 menit. Selanjutnya, dilakukan penyaringan menggunakan membran filter berdiameter 0,2 µm (Miliphore) untuk memperoleh supernatan atau ekstrak bakteriosin bebas sel (Kim *et al.*, 2000). Ekstrak bakteriosin dipertahankan pada kondisi pH 4 menggunakan HCl 4 N untuk proses enkapsulasi.

Enkapsulasi Ekstrak Bakteriosin dari Lactobacillus sp. Galur SCG 1223 (Modifikasi Metode Kailasapathy, 2002)

Sebanyak 50 g atau 20% b/b bahan pengkapsul (maltodekstrin, skim bubuk) secara tunggal atau kombinasi keduanya (1:0 atau maltodekstrin 100%; 1:5 atau 16,67% maltodekstrin dan 83,33% skim bubuk; dan 1:2 atau 33,33% maltodekstrin dan 66,73% skim bubuk) dilarutkan akuades dalam labu erlenmeyer dan dihomogenisasi menggunakan homogenizer (Kinematica) berkecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Larutan mengandung ekstrak bakteriosin cair dan bahan pengkapsul tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam pendingin selama 12-24 jam agar semua komponen bahan pengkapsul dapat terhidrasi maksimum sehingga mempermudah ekstrak bakteriosin (sebagai bahan aktif) masuk ke dalam pengkapsul (proses difusi). Selanjutnya larutan dihomogenisasi kembali dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Larutan tersebut kemudian dikeringkan *spray dryer* (Buchi) menggunakan kondisi suhu *outlet* 75-80^{o}C dengan laju alir *feed* 20 mL/menit pada suhu *inlet* 150^{o}C dan 170^{o}C. Pengeringan dilakukan hingga kadar air serbuk ekstrak bakteriosin maksimal 5% b/b (SNI 01-2970-2006 kadar air maksimal susu bubuk).

Evaluasi Daya Hambat Serbuk Bakteriosin dari Lactobacillus sp. Galur SCG 1223 (Delgado et al., 2001)

Persiapan Bakteri Uji

Bakteri uji *E. coli, S. thypimurium,* dan *L. monocytogenes* (koleksi Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor) yang telah diaktifkan dalam *Nutrient Broth* (Oxoid) diresuspensi ke dalam 5 mL garam fisiologis (NaCl 0,85%) lalu dibandingkan kekeruhannya menggunakan standar *McFarland No. 9* (setara dengan kekeruhan 10^{9} sel bakteri/mL). Suspensi bakteri tersebut selanjutnya diencerkan *Buffered Pepton Water* (Oxoid) steril hingga tercapai populasi 10^{6} sel/mL.

Pengujian Aktivitas Hambat

Mueller Hinton Agar atau MHA (Oxoid) dituang ke dalam cawan Petri steril, dibiarkan sampai padat. Selanjutnya dibuat sumur berdiameter 6 mm menggunakan *cork borer*. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri indikator diinokulasikan secara merata di atas media MHA. Setelah setengah kering, posisi cawan dibalik dan biarkan sampai suspensi benar-benar kering (pelarut/BPW berdifusi ke dalam MHA).

Sebanyak 1 g serbuk ekstrak bakteriosin 40% b/v dilarutkan ke dalam 2,2 mL air destilasi steril untuk memperoleh 50 µL larutan ekstrak bakteriosin. Larutan ini mengandung 0,00049 g (b/b) serbuk ekstrak bakteriosin (setara dengan 9,7 µL ekstrak bakteriosin cair tidak dikapsul). Larutan tersebut diuji daya hambat dalam sumur pada media MHA padat yang diinokulasi bakteri indikator (Tahap b) dan biarkan selama 30-40 menit agar berdifusi sempurna kedalam MHA. Pada konsentrasi serbuk ekstrak bakteriosin 20% b/v, aktivitas antimikroba diuji secara langsung sebanyak 0,045 g ke dalam tiap sumur pada MHA padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri indikator. Bakteriosin cair tiap sumur sebanyak 9 µL digunakan sebagai pembanding, sedangkan MHA steril tanpa bakteri indikator digunakan sebagai kontrol zona hambat.

Media agar dibiarkan beberapa menit selanjutnya diinkubasi pada 37°C selama 24 jam dan diamati aktivitasnya yaitu dengan mengukur luas zona hambat bakteriosin (zona bening) di sekitar lubang sumur. Zona hambat bakteriosin

berhubungan dengan sifat *single hit inactivation*, satu molekul bakteriosin dapat membunuh satu sel bakteri indikator (Ray, 1996). Aktivitas bakteriosin diekspresikan sebagai *Arbitrary Units* per mL (AU/mL) dari medium kultur (Simonova dan Laukova, 2007). Satu AU/mL merupakan luas daerah hambat per satuan volum sampel bakteriosin yang diuji (mm^2/mL) (Tagg dan McGiven, 1971) ditulis dengan rumus:

$$\text{Aktivitas bakteriosin } (mm^2/mL) = 1 \text{ AU/mL} = \frac{Lz - Ls}{V} \quad \text{..... (1)}$$

Keterangan:
Lz = Luas zona bening (mm^2)
Ls = Luas sumur (mm^2)
V = Volume sampel (mL)

Analisis Kadar Air (Metode AOAC, 1995)

Cawan alumunium bersih dikeringkan dalam oven, kemudian didinginkan dalam desikator lalu ditimbang sebagai bobot cawan kosong. Sebanyak 3-5 g sampel serbuk ekstrak bakteriosin dimasukkan ke dalam cawan, lalu dikeringkan dalam oven bersuhu 100^{o}C selama 6 jam (bobot konstan). Cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator, dan ditimbang kembali. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air (\% b/b)} = c - \frac{(a - b) \times 100\%}{c} \quad \text{.....(2)}$$

Keterangan :
a = bobot cawan dan sampel setelah dikeringkan (gram)
b = bobot cawan kosong (gram)
c = bobot sampel awal (gram)

Analisis Kelarutan (Metode Perez *et al.*, 1999)

Sebanyak 0,5 g sampel dilarutkan 50 mL akuades dalam labu Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditempatkan dalam penangas air pada suhu 70^{o}C selama 2 jam dengan pengadukan secara kontinyu. Sampel tersebut lalu didiamkan beberapa saat sampai terbentuk batas suspensi dan endapan bahan yang tidak larut. Selanjutnya bagian tersebut dipisahkan dengan mengambil 30 mL suspensi dan diletakkan dalam cawan petri yang telah ditimbang sebelumnya. Cawan beserta isinya dikeringkan pada oven suhu 100^{o}C hingga bobot tetap, lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kelarutan sampel dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kelarutan (\%)} = \frac{(b-a) \times 50 \text{ mL}}{0{,}5 \text{ gram} \times 30 \text{ mL}} \times 100\% \quad \text{..... (3)}$$

Keterangan :
a = bobot awal cawan petri (g)
b = bobot akhir cawan petri (g)

Rancangan penelitian

Penelitian didesain menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) pola faktorial 3 x 2 x 2 terdiri atas faktor bahan dan komposisi pengkapsul (A), komposisi ekstrak bakteriosin cair yang dikapsulkan (B), dan suhu *inlet feed* dari *spray dryer* (C), masing-masing diulang dua kali. Komposisi perlakuan disajikan pada Tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Hambat Ekstrak Bakteriosin *Lactobacillus sp.* Galur SCG 1223 terhadap *Escherichia coli, Salmonella thypimurium,* dan *Listeria monocytogenes*

Ekstrak bakteriosin cair dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 memiliki aktivitas sebesar 477,79 AU/mL terhadap *E. coli*, 383,27 AU/mL terhadap *S. thypimurium*, dan 589,133 AU/mL terhadap *L. monocytogenes* (Gambar 1) pada konsentrasi ekstrak bakteriosin 0,00049 g (b/b). Hasil penelitian Ponce *et al.* (2008), substansi serupa bakteriosin dari *Lactococcus lactis* memiliki aktivitas hambat terhadap *L. monocytogenes* sebesar 83,33 AU/mL dan 133,33 AU/mL terhadap *E. coli*.

Tabel 1. Komposisi perlakuan pembuatan serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp* galur SCG 1223

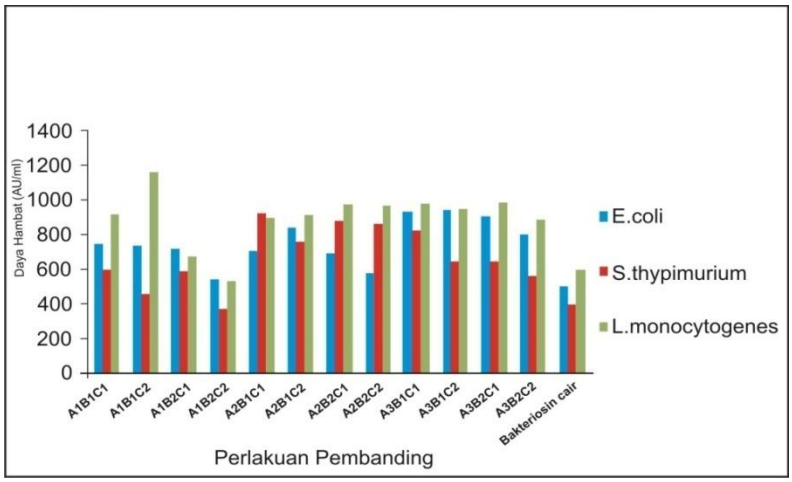
Kombinasi Perlakuan	Air (g)	Ekstrak Bakteriosin Cair (%; g)	Maltodekstrin (%)	Susu Skim Bubuk (%)	Suhu *inlet feed* Pengering (^{o}C)
A1B1C1	190	20% (10 g)	100	0	150
A2B1C1	190	20% (10 g)	83,33	16,67	150
A3B1C1	190	20% (10 g)	66,67	33,33	150
A1B2C1	180	40% (20 g)	100	0	150
A2B2C1	180	40% (20 g)	83,33	16,67	150
A3B2C1	180	40% (20 g)	66,67	33,33	150
A1B1C2	190	20% (10 g)	100	0	170
A2B1C2	190	20% (10 g)	83,33	16,67	170
A3B1C2	190	20% (10 g)	66,67	33,33	170
A1B2C2	180	40% (20 g)	100	0	170
A2B2C2	180	40% (20 g)	83,33	16,67	170
A3B2C2	180	40% (20 g)	66,67	33,33	170

Dengan demikian, dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut, maka aktivitas hambat bakteriosin dalam penelitian ini dikatakan lebih tinggi. Aktivitas hambat serbuk ekstrak bakteriosin dari tiap formula dan ekstrak bakteriosin cair terhadap ketiga bakteri uji disajikan pada Gambar 1.

Aktivitas hambat terhadap *E. coli* dari serbuk ekstrak bakteriosin formula A3B1C2 (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C) adalah tertinggi yaitu sebesar 945,32 AU/mL. Berdasarkan analisis statistik, faktor bahan dan komposisi pengkapsul serta konsentrasi ekstrak bakteriosin secara nyata (P<0,05) mempengaruhi aktivitas hambat terhadap *E. coli*.

Formula serbuk ekstrak bakteriosin dengan komposisi bahan pengkapsul 66,67% maltodekstrin dan 33,33% susu skim bubuk (A3) sebagai formula dengan komposisi susu skim bubuk tertinggi merupakan formula dengan aktivitas hambat rata-rata terhadap *E. coli* yang tertinggi yaitu 900,85 AU/mL (Gambar 1). Menurut Fu dan Chen (2011), enkapsulasi menggunakan susu skim dapat melindungi dengan baik bahan yang dikapsul didalamnya, sehingga aktivitas hambat bakteriosin bubuk bekerja lebih optimum. Aktivitas hambat rata-rata serbuk ekstrak bakteriosin terhadap *E. coli* pada formula dengan konsentrasi ekstrak bakteriosin cair 20% b/v (B1) relatif lebih tinggi (822,07 AU/mL) dibandingkan ekstrak bakteriosin cair 40% b/v (B2) sebesar 711,88 AU/mL. Menurut Nurliana (1997), kemampuan aktivitas hambat bakteriosin dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi bakteriosin yang digunakan. Selanjutnya menurut Jack *et al*. (1995), bakteriosin merupakan senyawa protein yang mudah didegradasi oleh enzim proteolitik serta mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang secara filogenik dekat dengan bakteri penghasilnya.

Ekstrak bakteriosin pada konsentrasi 20% b/v tampaknya lebih dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* yang kemungkinan secara filogenik dekat dengan sel produser bakteriosin tersebut dibandingkan pada konsentrasi 40% b/v. Dalam pengamatan efek bakteriosin terhadap *L. monocytogenes* di dalam model aplikasi pada makanan menunjukkan bahwa bakteriosin dari beberapa BAL bersifat bakterisidal terhadap mikroba target namun sering diikuti oleh sel target yang tumbuh kembali (Bhatti *et al.,* 2004). Pada kasus penggunaan konsentrasi bakteriosin 40% b/v kemungkinan terjadi fenomena serupa, artinya pada awalnya *E. coli* terhambat oleh ekstrak bakteriosin konsentrasi 40% namun kemudian bakteri tersebut mampu tumbuh kembali.



Keterangan:
A1B1C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B1C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A1B2C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B2C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B1C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B1C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B2C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B2C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B1C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B1C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B2C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B2C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C)

Gambar 1. Aktivitas hambat ekstrak bakteriosin cair dan serbuk dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Listeria monocytogenes*

Daya hambat serbuk ekstrak bakteriosin terhadap *S. thypimurium* menggunakan formula A2B1C1 (83,33% maltodekstrin, 16,67% bubuk susu skim; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C) memiliki aktivitas hambat tertinggi yaitu 929,39 AU/mL (Gambar 1). Faktor komposisi bahan pengkapsul dan suhu *inlet* pengeringan secara nyata (P<0,05) mempengaruhi aktivitas hambat terhadap *S. thypimurium*.

Faktor komposisi pengkapsul terbaik adalah 83,33% maltodekstrin dan 16,67% susu skim bubuk (A2) dengan rata-rata aktivitas hambat terhadap *S. thypimurium* yang relatif lebih tinggi (863,25 AU/mL) dibandingkan A3 yaitu sebesar 674,70 AU/mL dan A1 sebesar 505,30 AU/mL. Kandungan protein berhubungan dengan sensitivitas daya hambat bakteriosin terhadap *S. thypimurium.* Menurut Ganzle *et al.* (1999), faktor yang mempengaruhi perbedaan aktivitas setiap bakteriosin antara lain respon organisme target terhadap faktor lingkungan yang dapat merubah kondisi/struktur dinding selnya. Kondisi suhu pengeringan diketahui dapat mempengaruhi aktivitas bakteriosin dan luas spektrum penghambatannya. Hal ini juga tampak bahwa aktivitas hambat terhadap *S. thypimurium* rata-rata lebih rendah (614,77 AU/mL) pada serbuk ekstrak bakteriosin yang dikeringkan dengan suhu *inlet* pengering 170^{o}C dibandingkan pada suhu 150^{o}C (747,39 AU/mL) (Gambar 1).

Selama proses pengeringan dengan suhu *inlet* yang lebih tinggi (yang dapat meningkatkan suhu *outlet*) kemungkinan menyebabkan denaturasi protein baik pada susu skim bubuk maupun pada ekstrak bakteriosin yang dikapsul. Proses *spray drying* membutuhkan panas untuk menguapkan air dari bahan dalam sistem, sehingga proses pengeringan ini tampaknya memiliki kelemahan jika digunakan pada produk yang sensitif terhadap pemanasan (Risch, 1994) misalnya protein. Kailasapathy (2002) menyatakan bahwa salah satu kelemahan *spray drying* adalah tingginya suhu selama proses pengeringan sehingga kurang sesuai untuk mengkapsul kultur bakteri probiotik, karena kemungkinan dapat menyebabkan denaturasi protein dalam sel bakteri. Pada studi Mauriello *et al.* (1999), daya hidup bakteri probiotik menurun pada suhu *inlet* pengeringan *spray drying* yang semakin tinggi. Suhu *inlet* yang semakin tinggi (>120^{o}C) menghasilkan suhu *outlet* yang lebih tinggi (>60^{o}C) dan nyata menurunkan viabilitas bifidobakteria yang dikapsul (O'Riordan *et al.,* 2001). Demikian pula pada strain bakteri lain yang dikeringkan dengan *spray drying* dapat kehilangan viabilitasnya pada suhu *inlet* yang lebih tinggi (Gardiner *et al.,* 2000).

Nilai aktivitas hambat serbuk ekstrak bakteriosin terhadap *L. monocytogenes* menggunakan formula A1B1C2 (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C) menghasilkan daya hambat tertinggi yaitu 1165,95 AU/mL. Teixeira *et al.* (2008) melaporkan bahwa enkapsulasi substansi serupa bakteriosin dari *Bacillus licheniformis* menggunakan fosfatidilkolin menunjukkan aktivitas hambat terhadap *L. monocytogenes* sebesar 400 AU/mL. Faktor bahan komposisi pengkapsul dan konsentrasi ekstrak bakteriosin cair nyata (P<0,05) saling berinteraksi mempengaruhi aktivitas hambat terhadap *L. monocytogenes*.

Aktivitas hambat serbuk ekstrak bakteriosin terhadap *L. monocytogenes* relatif tinggi pada komposisi ekstrak bakteriosin cair 40% b/v (B2) dengan bahan pengkapsul kombinasi maltodekstrin dan susu skim bubuk (A2 dan A3) yaitu 879,24 AU/mL dan 609,20 AU/mL. Namun, aktivitas hambat menjadi paling rendah bila konsentrasi ekstrak bakteriosin cair tersebut dikombinasikan dengan bahan pengkapsul tanpa susu skim bubuk (100% maltodekstrin) yaitu 481,50 AU/mL (Gambar 1). Hal ini kemungkinan karena bahan pengkapsul tersebut tidak mengandung komponen protein dari susu skim bubuk. Menurut Fu dan Chen (2011), enkapsulasi menggunakan susu skim dapat melindungi dengan baik bahan yang dikapsul didalamnya, sehingga aktivitas hambat bakteriosin bubuk bekerja lebih optimum. Sebagai bahan pengkapsul, susu skim memiliki komponen utama laktosa dan protein *whey* yang secara nyata memiliki pengaruh perlindungan karena adanya protein yang tersisa dan tidak terdegradasi (Fu dan Chen, 2011). Penelitian Triana *et al.* (2006) menunjukkan bahwa *Lactobacillus sp.* Mar 8 yang dienkapsulasi menggunakan 10% susu skim memiliki viabilitas lebih tinggi (>70%) dibandingkan yang dienkapsulasi 5% susu skim. Seperti halnya aktivitas penghambatan serbuk ekstrak bakteriosin terhadap *E. coli*, penghambatannya terhadap *L. monocytogenes* juga lebih rendah (842,70 AU/mL) pada konsentrasi 40% b/v dibandingkan konsentrasi 20% b/v (977,31 AU/mL). Hal ini kemungkinan juga antara sel produser (*Lactobacillus sp.* Galur SCG 1223) secara filogenik dekat kekerabatannya dengan *L. monocytogenes.*

Hasil pengujian daya hambat ekstrak bakteriosin terhadap ketiga bakteri indikator tersebut menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan bakteriosin serbuk lebih tinggi dibandingkan dalam bentuk cair (Gambar 1). Ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 yang dienkapsulasi dengan cara *spray drying* pada formula A2B1C1 memiliki aktivitas hambat lebih baik terhadap *Escherichia coli* (779,82 AU/mL), *Salmonella thypimurium* (912,68 AU/mL) *dan Listeria monocytogenes* (947,25 AU/mL). Cutter dan Siragusa (1996) dalam penelitiannya mengamati bahwa nisin yang merupakan bakteriosin dari *Lactococcus lactis*, kurang efektif menghambat pertumbuhan *Brochothrix thermosphacta* saat diaplikasikan langsung dalam bentuk cair pada permukaan karkas sapi selama periode penyimpanan yang lama (Siragusa *et al*., 1999). Kemungkinan

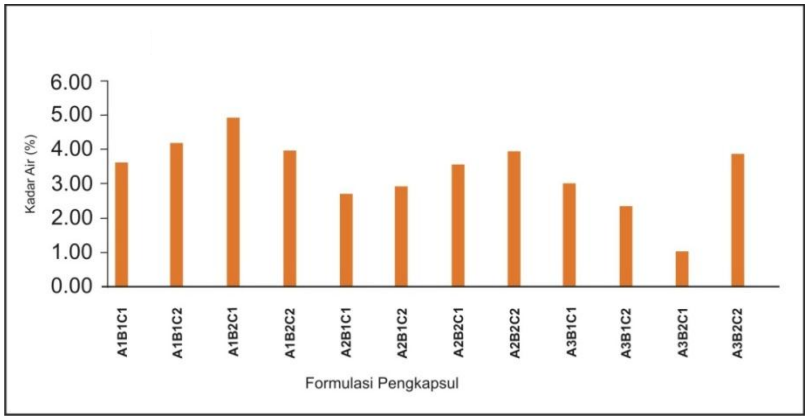
dalam bentuk serbuk kering efektivitas antimikrobial dilindungi oleh lapisan pengkapsul, dalam hal ini maltodekstrin dan bubuk susu skim. Menurut Kailasapathy (2002), mikroenkapsulasi dapat memisahkan material inti dari lingkungan luarnya sampai dilepaskan/dikeluarkan, yaitu memberi perlindungan material inti yang tidak stabil sehingga dapat meningkatkan stabilitas, daya simpan, serta pengaturan dan pengontrolan keluarnya material inti dari bahan pelindung/pengkapsul. Dalam keadaan terkapsul, substansi antimikrobial terlindungi dari pengaruh lingkungan luar yang merusak kemampuan antimikrobialnya seperti suhu, pH, garam, agen *curing*, ukuran partikel (Jung *et al.*, 1992). Sifat pengkapsul dalam sistem 'dinding' dirancang untuk melindungi material inti dan melepaskannya dengan laju terkontrol pada kondisi spesifik yaitu membiarkan molekul-molekul berukuran kecil keluar masuk membran (sistem 'dinding' mikroenkapsulasi) (Gibss *et al.*, 1999). Mikrokapsul disusun dari 'dinding' membran yang semipermeabel, berbentuk bola, tipis, dan kuat sehingga inti (sel bakteri) dapat tertahan di dalam mikrokapsul (Jankowski *et al.*, 1997).

Kadar Air Ekstrak Bakteriosin *Lactobacillus sp.* Galur SCG 1223

Kadar air serbuk ekstrak bakteriosin pada berbagai formula berkisar 1,04-4,93% (Gambar 2). Formula A3B2C1 (66,67% maltodekstrin dan 33,33% bubuk susu skim; 40% ekstrak bakteriosin; suhu *inlet* 150^{o}C) menghasilkan serbuk ekstrak bakteriosin dengan kadar air terendah (1,04%), sedangkan formula A1B2C1 (100% maltodekstrin; 40% ekstrak bakteriosin; suhu *inlet* 150^{o}C) menghasilkan kadar air tertinggi (4,93%). Faktor komposisi bahan pengkapsul, persentase ekstrak bakteriosin cair dan suhu *inlet* pengering nyata ($P<0,05$) berinteraksi terhadap kadar air serbuk ekstrak bakteriosin.

Berdasarkan Gambar 2, kombinasi bahan pengkapsul mengandung maltodekstrin dan bubuk susu skim dengan suhu *inlet* pengering 150^{o}C (C1) memiliki rataan kadar air produk yang relatif rendah (3,15% pada A2 dan 2,03% pada A3) dibandingkan pada suhu *inlet* 170^{o}C (C2) yaitu sebesar 3,45% pada A2 dan 3,13% pada A3. Semakin tinggi komposisi susu skim bubuk dalam bahan pengkapsul, semakin rendah kadar air mikrokapsul. Susu skim bubuk memiliki kadar air berkisar 3-7% (Straatsma *et al.*, 1999). Oleh karena itu kemungkinan bahan pengkapsul yang mengandung kombinasi dengan susu skim bubuk menghasilkan kadar air mikrokapsul yang rendah (Gambar 2).

Penggunaan suhu *inlet* pengeringan 170^{o}C menghasilkan suhu *outlet* berkisar 80-80^{o}C, sedangkan suhu *inlet* 150^{o}C menghasilkan suhu *outlet* berkisar 75-80^{o}C. Selama proses pengeringan thermal dengan suhu yang tinggi, bahan yang dikeringkan biasanya mengalami penurunan kadar air dan suhunya meningkat. Proses pengeringan konvektif sering dihubungkan dengan pengeluaran air yang cepat dari suatu bahan (Fu dan Chen, 2011). Dengan meningkatnya suhu *outlet* pengeringan, otomatis suhu jadi lebih panas sehingga kadar air dalam bahan yang dikeringkan semakin berkurang (menurun).



Keterangan:
A1B1C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B1C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A1B2C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B2C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B1C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B1C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B2C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B2C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B1C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B1C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B2C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B2C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C)

Gambar 2. Kadar air serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223

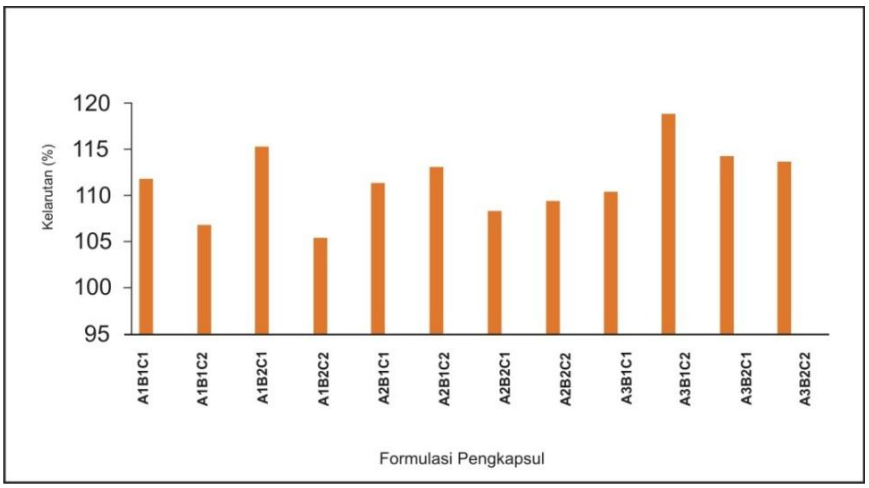
Kelarutan Serbuk Ekstrak Bakteriosin *Lactobacillus sp.* Galur SCG 1223

Kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. SCG 1223 disajikan pada Gambar 3. Kisaran nilai kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin adalah 48,22-61,25%, nilai ini menghasilkan serbuk yang tidak melarut dengan sempurna dalam air.

Berdasarkan Gambar 3, tingkat kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin tertinggi diperoleh dari formula A1B2C2 (100% maltodekstrin; 40% ekstrak bakteriosin; suhu masukan 170^{o}C) yaitu 61,25% artinya relatif paling mudah larut. Formula yang menggunakan pengkapsul maltodekstrin 100% (0% susu skim bubuk) dengan aplikasi suhu *inlet* pengeringan 170^{o}C menghasilkan produk yang relatif mudah larut. Maltodekstrin merupakan bahan pengkapsul yang biasa digunakan dalam enkapsulasi bahan pangan, bersifat mudah larut dalam cairan, dan sifat bahan yang mudah mengering sehingga menjadikan mudah kering dalam proses *spray drying*, dan menjadikan produk terenkapsulasi (Kenyon, 1995).

Tingkat kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin terendah (48,22%) dihasilkan dari formula A3B1C2 (66,67% maltodekstrin dan 33,33% bubuk susu skim; 20% ekstrak bakteriosin; suhu *inlet* 170^{o}C) artinya serbuk relatif paling sulit larut. Serbuk ekstrak bakteriosin dengan bahan pengkapsul mengandung susu skim bubuk juga memiliki rataan tingkat kelarutan relatif baik bila menggunakan suhu *inlet* pengering 150^{o}C. Nilai kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp* SCG 1223 dipengaruhi oleh sifat kelarutan komponen bahan pengkapsul.

Komposisi susu skim bubuk yang semakin banyak dalam bahan pengkapsul dengan pemanasan pada suhu tinggi menyebabkan penurunan tingkat kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin (Gambar 3). Protein susu dapat mengalami denaturasi pada suhu tinggi. Proses denaturasi protein yang berlebihan menyebabkan insolubilitasi, sehingga mempengaruhi sifat fungsional protein yaitu menurunnya tingkat kelarutan (Fennema, 1996). Maltodekstrin adalah bahan pengkapsul yang bersifat mudah larut dalam cairan, dan mudah kering dalam pengeringan *spray* dan produk dapat terenkapsulasi (Kenyon, 1995).



Keterangan:
A1B1C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B1C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A1B2C1= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A1B2C2= (100% maltodekstrin; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B1C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B1C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A2B2C1= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A2B2C2= (83,33% maltodekstrin, 13,67% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B1C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B1C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 20%; suhu *inlet* 170^{o}C);
A3B2C1= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 150^{o}C);
A3B2C2= (66,67% maltodekstrin, 33,33% susu skim bubuk; ekstrak bakteriosin cair 40%; suhu *inlet* 170^{o}C)

Gambar 3. Kelarutan serbuk ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp*. galur SCG 1223

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 yang dienkapsulasi dengan cara *spray drying* pada formula A2B1C1 (bahan pengkapsul 16,67% maltodekstrin dan 83,33% susu skim bubuk; konsentrasi bakteriosin cair 20%; dan suhu *inlet feed* dari *spray drying* 150^{o}C) memiliki aktivitas hambat lebih baik terhadap *Escherichia coli* (779,82 AU/mL), *Salmonella thypimurium* (912,68 AU/mL) *dan Listeria monocytogenes* (947,25 AU/mL) dibandingkan dalam bentuk ekstrak bakteriosin cair terhadap *E. coli* (477,79 AU/mL), *S. thypimurium* (383,27 AU/mL) dan *L. monocytogenes* (589,13 AU/mL).

Aktivitas serbuk ekstrak bakteriosin bervariasi tergantung kepada jenis dan komposisi bahan pengkapsul, volume ekstrak bakteriosin cair, dan penggunaan suhu pengeringan serta jenis bakteri yang diuji.

Saran

Diperlukan penelitian untuk uji aktivitas hambat ekstrak bakteriosin dari *Lactobacillus sp.* galur SCG 1223 terhadap beberapa mikroba patogen lain, dilakukan pemurnian ekstrak bakteriosin, penggunaan metode pengeringan lain misal *freeze drying* dan daya simpan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Siti Rachmiati Nasution, STP (Alumnus), Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

AOAC. 1995. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry*. Washington DC: AOAC Int.

Bhatti MA. Veeramachaneni LA. Shelef. 2004. Factors Affecting the Antilisterial Effect of Nisin in Milk. *J Food Microbiol.* (97): 215–219.

Benech RO, Kheadr EE, Laridi R, Lacroix C, Fliss I. 2002**.** Inhibition of *Listeria innocua* in Cheddar Cheese by Addition of Nisin Z in Liposomes or by In Situ Production in Mixed Culture. *Appl Environ Microbiol* 68 (8): 3683-3690.

Bruno ME, Kaise A, dan Montville TJ. 1992. Depletion of Proton Motive Force by Nisin in *Listeria monocytogenes* Cell. *Appl Environ Microbiol.* 58: 2255-2259.

BSN. 2006. *Standar Nasional Indonesia untuk Susu Bubuk*: SNI 01-2970-2006. Badan Standardisasi Nasional.

Chandramouli V, Kailasapathy K, Peiris P, Jones M. 2004. An Improved Method of Microencapsulation and its Evaluation Toprotect *Lactobacillus* spp. in Simulated Gastric Conditions. *Microbiol Methods.* 56: 27-35.

Cutter CN dan Siragusa GR. 1996. Reduction of *Brochothrix Thermosphacta* on Beef Sufaces Following Immobilization of Nisin In Calcium Alginate Gels. *Lett in Appl Microbiol.* 23: 9-12.

Delgado A, Brito D, Fevereiro P, Peres C, Marques JF. 2001. Antimicrobial Activity of *L.plantarum* Isolated from a Traditional Lactic Acid Fermentation of Table Olives. *EDP Sci*. 81: 203-215.

Deumier F dan Collignan A. 2003. The Effects of Sodium Lactate and Starter Cultures On pH, Lactic Acid Bacteria, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp.* Levels in Pure Chicken Dry Fermented Sausage. *Meat Sci*. 65: 1165–1174.

DeVuyst L dan Leroy F. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J Molec Microbiol Biotechnol.* 13: 194-199.

Dziezak JD. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technol.* 42: 136-151

Fennema OR. 1996. *Food Chemistry. Food Science and Technology*. Third eds. Marcel Dekker Inc. New York, Basel. http://www.damandiri.or.id/file/lailasuhairiipbbab2.pdf. [9 Maret 2011]

Fu N dan Chen XD. 2011. Review: Towards a Maximal Cell Survival in Convective Thermal Drying Processes. *Food Res Int* 44 (5): 1127-1149.

Ganzle MG, Weber S, dan Hammes WP. 1999. Effect of Ecological Factors on Inhibitory Spectrum And Activities Of Bacteriocins. *J Food Microbiol* 46: 207-217.

Gardiner GE, O'Sullivan E, Kelly J, Auty MAE, Fitzgerald GF, Collins JK, Ross RP, Stanton C. 2000. Comparative Survival Rates of Human-Derived Probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* Strains During Heat Treatment and Spray Drying. *Appl Environ Microbiol.* 66: 2605-2612.

Gibbs BF, Kemarsha S, Ali I, Mulligan CH. 1999. Encapsulation in the Food Industry: A Review. *Int J Food Sci Nutr.* 50: 213-224.

Ho CP, Huang NY, dan Chen BJ. 2004. A Survey of Microbial Contamination of Food Contact Surfaces at Broiler Slaughter Plants in Taiwan. *J Food Protect.* 67 (12): 2809-2811.

Jack RW, Tagg JR, dan Ray B. 1995. Bacteriocin of Gram Positive Bacteria. *J. Appl Environ Microbiol.* 59:171-200.

Jankowski T, Zielinska M, dan Wysakowska A. 1997. Encapsulation of Lactic Acid Bacteria with Alginate/Starch Capsules. *Biotechnol Tech.* 11:31-34.

Jung DS, Bodyfelt FW, dan Daeschel MA. 1992. Influence of Fat and Emulsifier on the Efficacy of Nisin in Inhibiting *Listeria Monocytogenes* in Fluid Milk. *J Dairy Sci.* 75: 387-393.

Kailasapathy K. 2002. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Curr Issues Intest Microbiol*. 3: 39-48.

Kenyon MM. 1995. *Modified Starch Maltodextrin, and Corn Syrup Solids as Wall Materials for Food Encapsulation*. Chemical Society. Grain Processing Corporation, 1600 Oregon Street, Muscatine (IA 52761).

Kim CH, GE Ji, dan Ahn C. 2000. Purification And Molecular Characterization of a Bacteriocin from *Pediococcus sp*. KCA 1202-10 Isolated from Fermented Flat Fish. *Food Sci Biotechnol* 9: 270-276.

Krasaekoopt W, Bhandari B, dan Deeth H. 2004. The Influence of Coating Materials on Some Properties of Alginate Beads and Survivability of Microencapsulated Probiotics Bacteria. *Int Dairy J.* 14: 737-743.

Lee HJ, Joo YJ, Park CS, S Ho Kim, Hwang IK, Ahn JS, Mheen TI. 1999. Purification and Characterization of a Bacteriocin Produced by *Lactococcus lactis* Subsp. *lactis* H-559 Isolated from Kimchi. *J Biosci Bioeng.* 88 (2): 153-159.

Mataragas M, Drosinos EH, dan Metaxopoulos J. 2003. Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Against *Listeria monocytogenes* in Sliced Cooked Cured Pork Shoulder Stored Under Vacuum or Modified Atmosphere at 4±2°C. *Food Microbiol.* 20: 259–265.

Mauriello G, Aponte M, Andolfi R, Moschetti G, Villani F. 1999. Spray-drying of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria. *J Food Protect.* 62: 773-777.

McMaster LD, SA Kokott, dan Slatter P. 2005. Micro-encapsulation of *Bifidobacterium lactis* for Incorporation Into Soft Food. *World J Microbiol Biotechnol* 21: 723-728.

Muthukumarasamy P, P Allan-Wojtas, dan RA Holley. 2006. Stability of *Lactobacillus reuteri* in Different Types of Microcapsules. *J Food Sci.* 71(1): M20-M24.

Nurliana. 1997. Pengaruh Penambahan Bakteriosin dan Gabungan Bacteriosin Produksi Bakteri Asam Laktat Terhadap Jumlah Bakteri dalam Susu Pasteurisasi. [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

O'Riordan K, Andrews D, Buckle K, Conway P. 2001. Evaluation of Microencapsulation of a *Bifidobacterium* Strain With Starch as an Applroach to Prolonging Viability During Storage. *J Appl Microbiol*. 91: 1059-1066.

Okolocha EC dan Ellerbroek L. 2005. The Influence of Acid and Alkaline Treatments on Pathogens and The Shelf Life of Poultry Meat. *Food Control* 16: 217–225.

Ponce AG, Moreira MR, del Valle CE, Roura SI. 2008. Preliminary Characterization of Bacteriocin-Like Substances from Lactic Acid Bacteria Isolated From Organic Leafy Vegetables. *LWT* 41: 432-441.

Ray B. 1996. *Fundamental of Food Microbiology*. Tokyo: CRC Press.

Ray B dan Field RA. 1992. Antibacterial Effectiveness of a Pediocin Ach Based Biopreservatif Against Spoilage and Pathogenic Bacteria from Vacuum Packaged Refrigerated Meat. Di dalam *Proceedings 38th International Congress of Meat Science and Technology*. Clermont Ferrand, Prancis. 23-28 Agustus 1992.

Risch SJ. 1995. *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. Washington DC: American Chemical Society.

Scannell AGM, Hill C, Ross RP, Marx S, Hartmeier W, Arendt EK. 2000. Development of Bioactive Food Packaging Materials using Immobilised Bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin®. *Int J Food Microbiol.* 60: 241–249.

Siragusa GR, Cutter CN, dan Wille JL. 1999. Incorporation Of Bacteriocin in Plastic Retains activity and Inhibits Surface Growth of Bacteria on Meat. *Food Microbiol*. 16: 229-235.

Simonova M dan Laukova A. 2007. Bacteriocin Activiy of Enterococci from Rabbits. *Summary of J Vet Res Comm.* 143-152.

Straatsma J, Van Houwelingen G, Steenbergen AE, De Jong P. 1999. Spray Drying of Food Products: 2. Prediction of Insolubility Index. *J Food Eng*. 42 (2): 73-77.

Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P, Kailasapathy K. 2000. Encapsulation of Probiotic Bacteria With Alginate-Starch and Evaluation of Survival in Simulated Gastrointestinal Conditions and in Yoghurt. *Int J Food Microbiol.* 62: 47-55.

Tagg JR dan McGiven AR. 1971. Assay System for Bacteriocins. *J Appl Microbiol.* 21: 943.

Teixeira ML, dos Santos J, Silveira NP, Brandelli A. 2008. Phospholipid Nanovesicles Containing a Bacteriocin-Like Substance for Control of *Listeria monocytogenes*.

Innovative Food Sci and Emerg Technol. 9: 49-53.

Tortora GJ, Funke BR, dan Case CL. 2007. *Microbiology: An Introduction*, 9th ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings.

Triana E, Yulianto E, dan Nurhidayat N. 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus sp.* Mar 8 Terenkapsulasi. *Biodiversitas.* 7 (2): 114-117.

Usmiati S dan Marwati T. 2007. Seleksi Dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus sp. J Pascapanen.* 4 (1).

Usmiati S dan Noor E. 2009. Karakteristik Ekstrak Bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat Galur SCG 1223 Selama Penyimpanan pada Berbagai pH dan Suhu Pemanasan. Di dalam *Prosiding Simposium Teknologi Inovatif Pascapanen II, Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian*. Bogor. 14 Agustus 2009.

Veclerc V, Dufour B, Lombard B, Gauchard F, Garin-Bastuji B, Salvat G, Brisabois A, Poumeyrol M, De Buyser ML, Gnanou-Besse N, Lahellec C. 2002. Pathogens in Meat and Milk Products: Surveillance and Impact on Human Health in France. *Livestock Product. Sci.* 76: 195–202.

Yang R, Johnson MC, dan Ray B. 1992. Novel Method to Extract Large Ammount of Bacteriocins From Lactic Acid Bacteria. *Appl Microbiol*. 58: 3355-3359.

Young SL, Sarda X, dan Rosenberg M. 1995. Microencapsulating Properties of Whey Proteins With Carbohydrate. *J Dairy Sci*. 76: 2878-2885.