



Mikroenkapsulasi *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 dan *Lacticaseibacillus rhamnosus* BD2 dengan Alginat dan Viabilitasnya dalam Sari Buah Mangga Selama Penyimpanan

[Microencapsulation of *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* BD2 in Alginate and their Viability in Mango Juice During Storage]

Rachma Aulia Rhofifah¹⁾, Lilis Nuraida^{1,2)*}, Uswatun Hasanah^{1,2)}

¹⁾ Divisi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University, Bogor, Indonesia

²⁾ South-East Asian Food & Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, IPB University, Bogor, Indonesia

Received July 10th 2025 / Revised February 14th 2026 / Accepted February 26th 2026

ABSTRACT

The rising demand for non-dairy probiotic beverages has driven interest in fruit-based carriers such as mango juice. However, acidic conditions in such products can reduce probiotic viability. To maintain their health-promoting effects, probiotics are required to survive gastrointestinal tract. This study investigated the effect of microencapsulation of local lactic acid bacteria (LAB) with probiotic potential, *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 and *Lacticaseibacillus rhamnosus* BD2, in alginate on their tolerance to pH 2.5 and 0.5% bile salt, and their viability in mango juice during 28 days of storage at 4°C. Emulsion-based microencapsulation was performed by dispersing a 4% alginate solution containing the LAB in soybean oil with Tween 80 as emulsifier, and solidifying using CaCl₂. Microencapsulated of both LABs in alginate showed higher tolerance to acidic and bile conditions than their free cells, with encapsulated cells viability reductions in low pH was 0.42 and 0.33 log CFU/g and bile salt was 0.13 and 0.17 log CFU/g respectively, while those of free cells were 0.97 log CFU/mL and 0.72 log CFU/mL for low pH, and 1.0 and 0.8 log CFU/mL for bile salt respectively. During storage, viability of both free cells and microencapsulated LAB showed only slight decreased after 28 days. Microencapsulation resulted in a smaller decrease during storage of mango juice pH (0.37–0.45) and less increase in total titratable acidity (TTA) (0.007–0.008%) compared to free cells. This study suggested that microencapsulation in alginate improves the survival of the tested probiotic candidate toward harsh condition of gastrointestinal tract. Mango juice has been shown to be a suitable carrier for both LAB with probiotic potential.

Keywords: alginate, lactic acid bacteria, mango juice, microencapsulation, probiotic

ABSTRAK

Permintaan terhadap minuman probiotik terus meningkat, sehingga mendorong pemanfaatan sari buah, seperti sari buah mangga, sebagai media alternatif pembawa probiotik. Namun, sifat asam sari buah dapat menurunkan viabilitas probiotik. Untuk dapat memberikan manfaat kesehatan, probiotik juga harus mempertahankan viabilitasnya dalam saluran pencernaan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh mikroenkapsulasi bakteri asam laktat (BAL) lokal yang berpotensi sebagai probiotik, *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 dan *Lacticaseibacillus rhamnosus* BD2 dalam alginat terhadap ketahanan sel pada pH 2,5 dan 0,5% garam empedu, serta viabilitasnya selama penyimpanan dalam sari buah mangga selama 28 hari pada suhu 4°C. Mikroenkapsulasi dilakukan dengan metode emulsi dengan mendispersikan 4% larutan alginat yang berisi BAL dalam minyak kedelai dengan Tween 80 sebagai emulsifier dan dipadatkan dengan CaCl₂. Mikroenkapsulasi kedua BAL dalam alginat meningkatkan ketahanannya terhadap kondisi asam dan garam empedu dibandingkan dengan sel bebasnya, dengan penurunan viabilitas masing-masing sebesar 0,42 dan 0,33 log CFU/g pada pH rendah, serta 0,13 dan 0,17 log CFU/g dalam garam empedu, sementara pada sel bebas masing-masing penurunan pada kondisi asam sebesar 0,97 dan 0,72 log CFU/mL, serta pada garam empedu sebesar 1,0 dan 0,8 log CFU/mL. Selama penyimpanan, viabilitas sel bebas dan sel termikroenkapsulasi menunjukkan penurunan yang relatif kecil. BAL termikroenkapsulasi menurunkan pH sari buah mangga yang lebih kecil (0,37–0,45) dan peningkatan nilai total asam tertitrasi (TAT) yang lebih kecil (0,007–0,008%) dibandingkan dengan sel bebas. Penelitian ini menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi dalam alginat memperbaiki ketahanan kedua BAL terhadap kondisi saluran pencernaan. Sari buah mangga merupakan medium yang sesuai sebagai pembawa kedua BAL yang berpotensi sebagai probiotik.

Kata kunci: alginat, bakteri asam laktat, mikroenkapsulasi, sari buah mangga, probiotik

*Penulis Korespondensi: E-mail: lnuraida@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Probiotik telah digunakan secara luas dalam berbagai jenis makanan dan minuman seperti yogurt, sayuran fermentasi, dan jus buah (Heidebach *et al.*, 2012). Agar dapat memberikan manfaat kesehatan yang optimal, jumlah sel hidup probiotik tidak boleh kurang dari 10^6 – 10^7 CFU/mL pada saat mencapai saluran pencernaan (Valero-Cases *et al.*, 2020). Untuk dapat memenuhi persyaratan sebagai probiotik, bakteri asam laktat tersebut harus melalui uji klinis (BPOM, 2022). Untuk memberikan manfaat kesehatan, keberadaan probiotik dalam pangan harus memenuhi jumlah minimal 10^6 – 10^7 CFU/mL atau CFU/g dengan ukuran volume pangan 100 mL atau berat 100 g atau konsumsi 10^8 – 10^9 CFU per sajian (Anwer dan Wei, 2024). Oleh karena itu, viabilitas probiotik harus dipertahankan baik dalam produk maupun ketika melewati saluran pencernaan. Mikroenkapsulasi merupakan salah satu strategi untuk mempertahankan viabilitas probiotik dalam produk maupun dalam saluran pencernaan.

Produk probiotik non-susu, seperti minuman probiotik berbasis sari buah, mengalami peningkatan permintaan di kalangan penderita intoleransi laktosa dan konsumen vegetarian. Mangga merupakan buah yang berpotensi sebagai media pembawa probiotik, namun kandungan polifenol yang bersifat antimikroba dan pH buah yang asam dapat mengurangi populasi probiotik dalam jus mangga (Perricone *et al.*, 2015), sehingga perlu dilakukan metode untuk melindungi probiotik di dalam sari mangga. Metode mikroenkapsulasi dapat memberikan perlindungan sel probiotik dari kontak langsung dengan pembawa untuk melindungi sel probiotik dari kondisi pH rendah buah mangga, sehingga diharapkan dapat meningkatkan viabilitas probiotik selama proses produksi dan penyimpanan karena kandungan antioksidan, polifenol, dan β -karoten (Rocha Ribeiro *et al.*, 2007), yang dapat membantu menjaga viabilitas sel probiotik. Penelitian oleh Gheisari *et al.* (2018) menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi dengan alginat-kitosan dapat mempertahankan viabilitas probiotik *L. casei* dalam sari mangga sebanyak 10^9 CFU/mL selama 28 hari penyimpanan di suhu 4 °C, selain itu, viabilitasnya lebih baik 100 kali lipat dibandingkan *L. casei* dalam bentuk sel bebas di hari ke-28 penyimpanan (10^7 log CFU/mL).

Probiotik yang dimasukkan secara langsung ke dalam pembawa buah dapat menginisiasi fermentasi yang dapat menurunkan pH pada sari buah (de Oliveira Ribeiro *et al.*, 2020). Menurut Chew *et al.* (2019), mikroenkapsulasi dapat melindungi probiotik dari lingkungan yang merugikan, seperti keasaman lambung dan kondisi penyimpanan sehingga memberikan perlindungan sel probiotik dari kontak langsung dengan pembawa untuk mencegah fermentasi dan melindungi sel probiotik dari kontak dengan

kondisi pH rendah buah mangga. Mikroenkapsulasi dengan metode emulsi memiliki keunggulan dibandingkan metode ekstrusi, seperti ukuran mikrokapsul yang lebih kecil dan proses yang lebih sederhana (Sarao dan Arora, 2017). Penelitian oleh Holkem *et al.* (2017) menunjukkan bahwa penggunaan bahan enkapsulan alginat terhadap probiotik *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* dapat mempertahankan viabilitas probiotik dalam kondisi pencernaan dan penyimpanan. Oleh karena itu, alginat digunakan sebagai bahan enkapsulan mikrokapsul dalam penelitian ini.

Upaya untuk memperoleh galur-galur probiotik lokal telah banyak dilakukan dengan mengisolasi dan menapis dari pangan fermentasi seperti dadih (Yusuf *et al.*, 2020), sawi asin (Kurnia, 2018), tempe dan tape (Panjaitani *et al.*, 2018), serta pangan fermentasi lainnya. Salah satu bakteri asam laktat (BAL) yang berpotensi sebagai probiotik adalah *Lactocaseibacillus rhamnosus* BD2 yang berasal dari granula kefir (Yusuf *et al.*, 2020). *L. rhamnosus* BD2 memiliki sifat antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Salmonella* Typhimurium (Yusuf *et al.*, 2020) dan mampu bertahan dalam saluran pencernaan tikus (Trinoviyani, 2021). BAL ini juga menghasilkan metabolit yang dapat menghambat α -glukosidase dan memiliki aktivitas antioksidan (Yusuf *et al.*, 2021) dan memproduksi γ -aminobutyric acid (GABA) (Wicaksono *et al.*, 2024). *L. rhamnosus* BD2 telah diketahui dapat menurunkan kolesterol secara *in vitro* (Yusuf *et al.*, 2020) dan secara *in vivo* pada tikus yang diberi diet tinggi kolesterol (Dahlan, 2021). Isolat BAL lokal lainnya, yaitu *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 yang berasal dari sawi asin juga memiliki potensi sebagai probiotik dan mampu bertahan pada saluran pencernaan tikus (Maharani, 2023; Dahlan, 2021). Selain diaplikasikan pada pangan fermentasi, kedua BAL berpotensi sebagai probiotik ini dapat diaplikasikan pada pangan non-fermentasi sebagai pembawa probiotik.

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh mikroenkapsulasi *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dalam alginat terhadap ketahanan sel pada pH 2,5 dan 0,5% garam empedu, serta viabilitasnya dalam sari buah mangga selama penyimpanan 28 hari pada suhu 4 °C. Mikroenkapsulasi *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dalam matriks alginat diharapkan dapat meningkatkan ketahanan sel terhadap kondisi asam (pH 2,5) dan garam empedu (0,5%), serta mempertahankan viabilitasnya dalam sari buah mangga selama penyimpanan pada suhu 4 °C hingga 28 hari. Penelitian dapat menjadi dasar untuk pengembangan produk pangan non-fermentasi sebagai pembawa probiotik, khususnya dalam upaya mempertahankan viabilitasnya selama penyimpanan dan mempertahankan stabilitas produk sari buah mangga dengan penambahan probiotik termikroenkapsulasi. Dengan

mengaplikasikan teknik mikroenkapsulasi, peningkatan viabilitas juga diharapkan terjadi dalam saluran pencernaan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging buah mangga matang beku jenis Harum Manis yang diperoleh dari *e-commerce* (Amanta Shop, Indonesia). Isolat probiotik yang digunakan adalah isolat *L. rhamnosus* BD2 dan *L. plantarum* 4C161 koleksi SEAFast Center IPB. Bahan enkapsulan yang digunakan adalah natrium alginat (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat). Bahan kimia untuk analisis antara lain aquades, gliserol (Merck, Jerman), 0,1 M CaCl_2 (Merck, Jerman), 0,1 M HCl (Merck, Jerman), Na-bikarbonat (Merck, Jerman), garam empedu (Merck, Jerman), buffer fosfat 0,1 M, minyak kedelai (Happy Soya), natrium sitrat (Merck, Jerman), Buffered Pepton Water (Oxoid Ltd., Inggris), Tween 80 (Sigma-Aldrich, Amerika Serikat), alkohol 70%, dan spiritus. Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) Agar (Oxoid Ltd., Inggris) dan MRS Broth (Oxoid Ltd., Inggris).

Pengecekan kemurnian kultur

Pengecekan kemurnian dilakukan dengan pewarnaan Gram dan pengamatan keseragaman morfologi di bawah mikroskop (Olympus CX21FS1, Jepang) dengan perbesaran 1000 $\times$. Kultur diambil dari koloni pada MRS Agar (48 jam). Kultur *Lactobacillus* merupakan Gram positif berbentuk batang yang berwarna biru keunguan. Kultur yang murni menunjukkan keseragaman warna dan bentuk.

Produksi biomassa

Produksi biomassa kultur BAL dilakukan berdasarkan metode Mandal dan Hati (2017). Kultur BAL yang telah ditumbuhkan dalam MRSB (24 jam pada 37 °C) diambil sebanyak 1 mL untuk ditumbuhkan kembali dalam 100 mL MRSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Biomassa dipanen dengan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit pada 4 °C (Labtron LRF-B20, Inggris), kemudian biomassa dicuci sebanyak dua kali menggunakan buffer fosfat 0,1 M (pH 7,0) dan disuspensikan kembali ke dalam 10 mL buffer fosfat 0,1 M (pH 7,0) hingga diperoleh kepadatan sel sekitar $1,0 \times 10^{10}$ hingga 10^{11} CFU/mL. Kepadatan sel dianalisis dengan metode hitungan cawan pada media MRSA dan dinyatakan dalam satuan *colony forming unit* (CFU)/mL.

Mikroenkapsulasi probiotik

Mikroenkapsulasi probiotik dilakukan berdasarkan metode Jati *et al.* (2015). Biomassa sel probiotik sebanyak 1,5 mL dimasukkan ke dalam 20 mL larutan natrium alginat 4% (b/v) steril lalu divortex hingga homogen. Minyak kedelai sebanyak 100 mL dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan dicampur dengan 0,2% Tween 80 sebagai pengemulsi. Larutan alginat yang berisi sel bakteri asam laktat ditambahkan perlahan-lahan sambil diputar dengan *magnetic stirrer* (Velp Scientifica AREC, Italia) dengan kecepatan 600 rpm hingga terbentuk larutan emulsi. Larutan emulsi yang terbentuk kemudian ditambahkan dengan 100 mL CaCl_2 0,1 M perlahan-lahan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 600 rpm untuk membentuk mikrokapsul. Mikrokapsul yang terbentuk kemudian dicuci dua kali dengan aquades dan CaCl_2 0,1 M. Mikrokapsul dipisahkan dengan kertas saring Whatman (Cytiva, Amerika Serikat), lalu ditimbang dan dipindahkan ke dalam cawan petri steril untuk disimpan dalam refrigerator.

Pengujian bentuk dan ukuran mikrokapsul

Pengujian bentuk dan ukuran mikrokapsul dilakukan berdasarkan metode Jati *et al.* (2015) dengan modifikasi. Modifikasi dilakukan pada cara penghitungan ukuran mikrokapsul dengan menggunakan aplikasi Betaview versi 3.7. Mikroskop polarisasi (Olympus CX-31, Jepang) yang dilengkapi dengan kamera mikroskop digunakan untuk mengetahui bentuk dan ukuran mikrokapsul. Bentuk dan diameter rata-rata dua puluh mikrokapsul yang diambil secara acak dari masing-masing kultur probiotik termikroenkapsulasi diamati dan diukur diameternya (μm) menggunakan mikroskop polarisasi dengan aplikasi Betaview versi 3.7.

Pengujian sintasan probiotik

Pengujian sintasan probiotik dilakukan berdasarkan metode Jati *et al.* (2015). Sintasan probiotik ditentukan dengan menghitung jumlah sel hidup sebelum dan setelah proses mikroenkapsulasi. Mikrokapsul probiotik sebanyak 1 g didisintegrasikan ke dalam 9 mL (b/b) larutan natrium sitrat 2% steril (pH 7,0) kemudian dihomogenisasi menggunakan vorteks (Scientific Industries Genie 2, Amerika Serikat) selama 5 menit. Selanjutnya probiotik yang telah dikeluarkan dari mikrokapsul dihitung menggunakan metode Gebara *et al.* (2013). Perhitungan rendemen enkapsulasi (RE) dilakukan menggunakan Persamaan 1.

$$\text{RE (\%)} = [(N \times B) / (N_0 \times V)] \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan: N= jumlah sel probiotik hidup dalam mikrokapsul (log CFU/g), B= berat mikrokapsul yang diperoleh (g), N_0 = jumlah sel probiotik hidup dalam

kultur yang ditambahkan ke produksi mikrokapsul (log CFU/mL), V= volume suspensi sel yang ditambahkan

Pengujian ketahanan probiotik terhadap pH rendah dan garam empedu

Pengujian ketahanan probiotik terhadap pH rendah dan garam empedu dilakukan berdasarkan metode Jati *et al.* (2015) dan Yusuf *et al.* (2020). Pengujian dilakukan dengan memasukkan 1 mL sel bebas (*L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2) atau 1 g sel probiotik termikroenkapsulasi ke dalam 9 mL MRSB (pH 2,5), atau 9 mL MRSB (0,5% garam empedu). Selanjutnya tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 °C untuk pengujian ketahanan terhadap pH rendah, atau diinkubasi selama 5 jam pada suhu 37 °C untuk pengujian ketahanan terhadap garam empedu. Perhitungan jumlah koloni probiotik dilakukan berdasarkan metode Gebara *et al.* (2013) pada jam ke-0 dan pada akhir masa inkubasi.

Preparasi sari buah mangga

Pembuatan sari buah mangga dilakukan berdasarkan metode Rahmana (2014) dengan modifikasi. Modifikasi dilakukan pada formulasi bahan, untuk mengatur pH sari buah mangga ditambahkan 0,01 g asam sitrat dan 0,025 g natrium bikarbonat. Daging buah mangga beku di-defrost pada suhu refrigerator selama sekitar 12 jam, lalu direndam dalam *waterbath* pada suhu 25 °C selama 15–30 menit sampai mangga tidak membeku. Buah mangga kemudian dihancurkan dengan blender jus (Philips 5000 HR2221/00, Belanda) dan disaring dengan kain saring (Mesh No. 200) sehingga menghasilkan bubur buah. Formulasi sari buah mangga dengan volume 1400 ml terdiri dari 340 g bubur mangga; 0,1 g asam sitrat; 0,25 g natrium bikarbonat; 150 g fruktosa cair dan 900 mL air. Bubur buah dicampurkan terlebih dahulu dengan asam sitrat dan natrium bikarbonat yang telah dilarutkan dalam air (9,65 mL air). Setelah tercampur, kemudian ditambahkan gula cair dan air mineral, sehingga menjadi minuman sari buah dengan pH 5,5.

Pengujian viabilitas probiotik, nilai pH, dan total asam tertitrasi sari buah mangga selama penyimpanan

Sebanyak 140 mL sari buah mangga yang telah diatur pHnya menjadi pH 5,5 dimasukkan ke dalam botol tahan panas 250 mL. Sari buah kemudian dipasteurisasi pada suhu 77 °C selama 15 menit. Setelah didinginkan, 5,6 g mikrokapsul probiotik atau 5,6 mL kultur sel bebas *L. rhamnosus* BD2 dan *L. plantarum* 4C161 masing-masing dimasukkan ke dalam botol berisi 140 mL sari buah mangga. Sari buah mangga tanpa penambahan sel probiotik digunakan sebagai kontrol. Penyimpanan dilakukan

pada suhu 4 °C selama 28 hari. Percobaan dilakukan dengan dua kali pengulangan. Analisis dilakukan pada waktu penyimpanan hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28 terhadap nilai pH (Praepanitchai *et al.*, 2019), total asam tertitrasi laktat (*total titratable acidity*) sebagai asam laktat (Tyl dan Sadler, 2017), dan jumlah bakteri asam laktat (Gebara *et al.*, 2013).

Analisis mikrobiologi mikrokapsul

Mikrokapsul dipisahkan dengan cara disaring dari sari buah mangga menggunakan kertas saring Whatman (Cytiva, Amerika Serikat), kemudian dicuci dengan akuades dan ditimbang. Untuk menghitung jumlah BAL pada mikrokapsul, sebanyak 1 g mikrokapsul dilarutkan dalam 9 mL 50 mM natrium sitrat (pH 7,5) untuk melepaskan sel probiotik (Olivares *et al.*, 2019). Suspensi digunakan untuk perhitungan jumlah koloni. Viabilitas probiotik termikroenkapsulasi dihitung sebagai jumlah bakteri asam laktat dalam CFU per g mikroenkapsulat. Untuk menghitung sel yang lepas dari mikrokapsul, analisis jumlah BAL dilakukan terhadap sari buah. Penghitungan jumlah bakteri asam laktat dilakukan pada MRSA dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C (Gebara *et al.*, 2013).

Analisis statistik

Data merupakan nilai rata-rata dari dua ulangan. Uji t sampel independen digunakan untuk menganalisis sintasan mikrokapsulasi terhadap pH rendah dan garam empedu. Uji ANOVA (*analysis of variance*) digunakan untuk menganalisis jumlah probiotik dalam sari buah mangga, nilai pH, dan total asam tertitrasi (TAT) sari buah mangga selama penyimpanan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan dari perlakuan, maka dilakukan dilanjutkan dengan uji beda nyata Tukey pada taraf nyata 5% dengan *software* IBM SPSS versi 27.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bentuk dan ukuran mikrokapsul

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa mikrokapsul alginat yang dihasilkan dengan metode emulsi berukuran rata-rata 94,05 µm (*Figure 1*). Mikrokapsul alginat yang dihasilkan pada studi-studi sebelumnya memiliki ukuran yang beragam. Ji *et al.* (2019) melaporkan bahwa mikrokapsul alginat dengan metode emulsi menggunakan kecepatan perputaran 600 rpm berukuran rata-rata 160 µm. Sementara itu, Mokhtari *et al.* (2019) melaporkan bahwa produksi ukuran mikrokapsul alginat *single layer* dengan metode emulsi menggunakan kecepatan perputaran 200 rpm menghasilkan ukuran mikrokapsul sebesar 54,25 µm. Metode mikrokapsulasi dengan emulsi menghasilkan *range* ukuran mikrokapsul yang luas (>0,1–10.000 µm) (Burgain *et*

al., 2011). Ukuran butiran emulsi dapat dipengaruhi oleh jenis enkapsulan yang dipakai, jumlah lapisan enkapsulan, dan kecepatan perputaran (Camelo-Silva *et al.*, 2022). Alginat memiliki kemampuan pembentukan struktur permukaan yang lebih kohesif melalui interaksi antara molekul alginat dan ion kalsium (Beldarrain-Iznaga *et al.*, 2020), namun kecepatan putaran dan konsistensi dalam pencampuran CaCl_2 untuk pembentukan mikrokapsul sangat memengaruhi ukuran mikrokapsul. Penambahan CaCl_2 pada penelitian ini dilakukan secara manual sehingga sangat memengaruhi konsistensi dalam pembentukan butiran mikrokapsul. Kekurangan lainnya dari metode mikroenkapsulasi secara manual adalah keseragaman ukuran mikrokapsul (Thinkohkaew *et al.*, 2024).

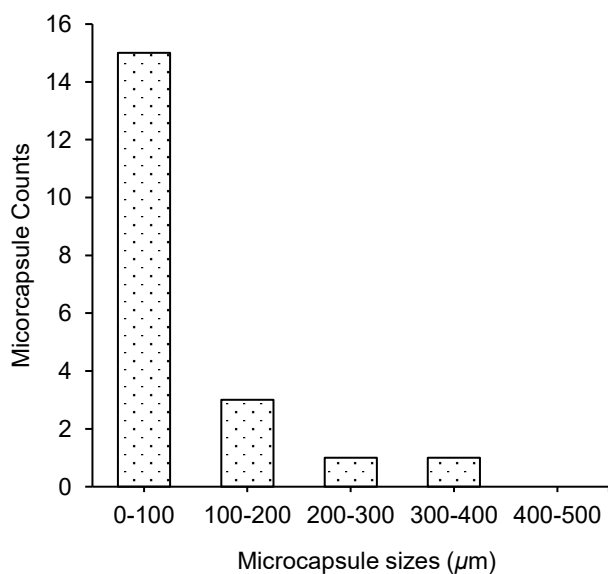


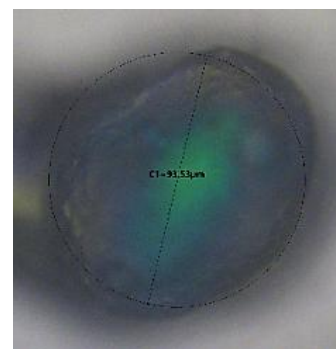
Figure 1. Distribution of alginate microcapsule sizes (n= 20)

Dalam penelitian ini, diperoleh hasil sebaran ukuran mikrokapsul terbanyak, yaitu sebesar 75%, berada pada kisaran 37–100 μm (Figure 1). Meski belum terdapat standar baku mengenai batas ukuran untuk klasifikasi kapsul, beberapa peneliti seperti de la Cruz Pech-Canul *et al.* (2020) dan Yao *et al.* (2020) mengelompokkan kapsul menjadi nanokapsul (<0,2 μm), mikrokapsul (1–1000 μm), dan makrokapsul (>1000 μm), sehingga ukuran mikrokapsul dalam penelitian ini telah sesuai dengan pengelompokan tersebut. Menurut Camelo-Silva *et al.* (2022), rentang ukuran yang dianggap optimal untuk aplikasi pada produk pangan berada pada kisaran 1–100 μm . Mikropartikel dengan ukuran pada rentang ini dapat diterima secara sensoris, namun tetap dapat mempertahankan probiotik di dalam mikrokapsul, sehingga ukuran mikrokapsul dalam penelitian ini dianggap telah optimal untuk diaplikasikan pada pangan.

Mikrokapsul dengan enkapsulan Na-alginat yang diamati di bawah mikroskop polarisasi terlihat berbentuk bulat dan halus (Figure 2). Hal tersebut disebabkan oleh mekanisme penambahan CaCl_2 yang menyebabkan ion Ca^{2+} berdifusi antar muka droplet dan memicu pembentukan gel di permukaan secara bertahap dari luar ke dalam sehingga menghasilkan mikrosfer dengan inti lembut (*liquid core*) dan permukaan padat (Letocha *et al.*, 2022).



A



B

Figure 2. Appearance of alginate microcapsules (A) under microscope with 1000x magnification (B)

Rendemen mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi sel probiotik dengan metode emulsi menggunakan Na-alginat 4% menghasilkan rendemen enkapsulasi (RE) yang tinggi, yaitu sebesar $82,17 \pm 0,39\%$ pada *L. plantarum* 4C161 dan sebesar $81,13 \pm 1,09\%$ pada *L. rhamnosus* BD2 (Table 1). RE tersebut sesuai dengan hasil revidi oleh Camelo-Silva *et al.* (2022) yang merangkum penelitian Song *et al.* (2014) dan Beldarrain-Iznaga *et al.* (2020), yang menyatakan bahwa rendemen mikroenkapsulasi probiotik dengan metode emulsi menggunakan alginat dengan berbagai konsentrasi berada pada kisaran 67,34 sampai 97%. Camelo-Silva *et al.* (2022) menyatakan bahwa penghalang fisik tambahan yang terbentuk oleh material enkapsulan sangat berpengaruh terhadap

peningkatan rendemen sel hidup probiotik, penghalang tersebut memberikan proteksi yang lebih baik terhadap probiotik yang terenkapsulasi. Optimasi mikroenkapsulasi dengan alginat yang dilapisi kitosan meningkatkan rendemen sampai dengan 97.35% (Thinkohkaew *et al.*, 2024).

Sintasan bakteri asam laktat terhadap pH rendah dan garam empedu

Table 2 menunjukkan bahwa perlakuan mikroenkapsulasi meningkatkan ketahanan viabilitas BAL *L. plantarum* 4C161 maupun *L. rhamnosus* BD2, baik terhadap pH rendah (pH 2,5) maupun garam empedu 0,5%, dibandingkan dengan sel bebas ($p < 0,05$). Sel bebas *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 memiliki jumlah awal masing-masing $8,21 \pm 0,05$ dan $8,36 \pm 0,06$ log CFU/mL. Setelah diinkubasi selama 1 jam pada pH 2,5, jumlah sel bebas *viabile* menurun masing-masing sebesar $0,97 \pm 0,08$ dan $0,72 \pm 0,01$ log CFU/mL. Sementara itu, kandidat probiotik termikroenkapsulasi memiliki jumlah awal masing-masing $8,75 \pm 0,07$ dan $8,58 \pm 0,20$ log CFU/g untuk *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2. Penurunan jumlah sel hidup termikroenkapsulasi masing-masing sebesar $0,42 \pm 0,01$ dan $0,33 \pm 0,03$ log CFU/g (Table 2). Ketahanan kandidat probiotik yang lebih baik terhadap pH rendah dapat disebabkan karena sifat

viskoelastisitas gel alginat yang membentuk penghalang fisik terhadap lingkungan asam (Jati *et al.*, 2015).

Kandidat probiotik termikroenkapsulasi yang diinkubasi selama 5 jam dalam 0,5% garam empedu juga menunjukkan penurunan viabilitas yang lebih rendah dibandingkan sel bebasnya ($p < 0,05$). Dari jumlah awal sebesar $8,76 \pm 0,44$ log CFU/mL, sel bebas *L. plantarum* 4C161 menurun sebanyak $1,00 \pm 0,02$ log CFU/mL. Jumlah awal sel bebas hidup *L. rhamnosus* BD2 sebesar $8,62 \pm 0,22$ log CFU/mL, menurun sebanyak $0,80 \pm 0,04$ log CFU/mL setelah paparan terhadap garam empedu. Sementara itu, dengan mikroenkapsulasi, sel hidup *L. plantarum* 4C161 dengan jumlah awal sebesar $8,26 \pm 0,06$ log CFU/g, menurun sebesar $0,13 \pm 0,03$ log CFU/g, sedangkan *L. rhamnosus* BD2 dengan jumlah awal $8,90 \pm 0,34$ log CFU/g menurun sebesar $0,17 \pm 0,01$ log CFU/g setelah terpapar garam empedu (Table 2). Hasil penelitian ini menunjukkan mikroenkapsulasi melindungi sel *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dari paparan garam empedu dan pH rendah. Hal ini penting untuk mempertahankan viabilitas sel dalam saluran pencernaan sehingga dapat berfungsi sebagai probiotik.

Table 1. Yield of microencapsulation of lactic acid bacteria

Probiotic Strain	Free Cell Volume (mL)	Cell Count added to Encapsulant (log CFU/mL vol. LAB Culture)	Microcapsule Yield (g)	Microencapsulated Cell Count (log/CFU g Microcapsules Yield)	Encapsulation Yield (%)
<i>L. plantarum</i> 4C161	4.5	10.83 ± 0.06	35.65 ± 1.15	10.74 ± 0.04	82.17 ± 0.39
<i>L. rhamnosus</i> BD2	4.5	11.01 ± 0.08	34.20 ± 2.80	11.10 ± 0.11	81.13 ± 1.09

Table 2. Survival of microencapsules of probiotic candidates against low pH and bile salt

Parameter	Probiotic Candidates			
	<i>L. plantarum</i> 4C161		<i>L. rhamnosus</i> BD2	
	Microencapsulated (log CFU/g)	Free cells (log CFU/mL)	Microencapsulated (log CFU/g)	Free cells (log CFU/mL)
Survival in low pH				
Number at 0 h	8.75 ± 0.07	8.21 ± 0.05	8.58 ± 0.20	8.36 ± 0.06
Number after 1 h exposure	8.33 ± 0.09	7.24 ± 0.32	8.25 ± 0.18	7.64 ± 0.08
Decrease	0.42 ± 0.01^a	0.97 ± 0.08^b	0.33 ± 0.03^a	0.72 ± 0.01^b
Survival in bile salt				
Number at 0 h	8.26 ± 0.06	8.76 ± 0.44	8.90 ± 0.34	8.62 ± 0.22
Number after 5 h exposure	8.13 ± 0.01	7.76 ± 0.49	8.73 ± 0.33	7.82 ± 0.26
Decrease	0.13 ± 0.03^A	1.00 ± 0.02^B	0.17 ± 0.01^A	0.80 ± 0.04^B
Total decrease due to low pH and bile salt	0.55	1.97	0.50	1.52

Note: Numbers followed by lowercase and uppercase letters on the same line with the same probiotic candidate indicate significant differences ($p < 0.05$) based on independent sample t-test

Mikroenkapsulasi dengan menggunakan enkapsulan alginat dapat melindungi probiotik karena membentuk struktur hidrogel kokoh melalui cross-linking dengan ion Ca^{2+} (*ionotropic gelation*). Struktur ini tahan terhadap penetrasi proton dan garam empedu (Kowalska *et al.*, 2022). Hasil penelitian ini juga sejalan dengan Chandramouli *et al.* (2004) yang menyatakan bahwa pada pH rendah (pH 2,0), viabilitas sel bebas BAL mengalami penurunan sebesar 2 log CFU/mL yang lebih tinggi daripada penurunan sel termikroenkapsulasi. Penelitian tersebut juga menunjukkan penurunan viabilitas BAL terhadap garam empedu berada di kisaran 0,3–0,5 log CFU/mL (Chandramouli *et al.*, 2004). Hasil penelitian ini menunjukkan ketahanan kedua BAL berpotensi sebagai probiotik yang lebih baik dari penelitian sebelumnya. Ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu merupakan persyaratan yang harus dipenuhi oleh bakteri dalam penapisan probiotik.

Viabilitas probiotik dalam sari buah mangga selama penyimpanan

Dengan jumlah awal sebesar 7,48 log CFU/mL, sel bebas *L. plantarum* 4C161 yang dimasukkan ke dalam sari buah mangga tidak menunjukkan penurunan selama 28 hari penyimpanan pada suhu 4 °C, sedangkan viabilitas *L. rhamnosus* BD2 yang pada awalnya sebesar 7,81 log CFU/mL menurun secara nyata ($p < 0,05$) sebesar 0,66 log CFU/mL pada hari ke-28 (Table 3). Penurunan viabilitas sel probiotik bebas yang rendah dalam sari buah mangga disebabkan oleh kandungan serat dan karbohidrat dalam sari buah mangga yang terbukti menguntungkan untuk melindungi mikroorganisme selama penyimpanan suhu rendah (Acevedo-Martínez *et al.*, 2018).

Perlakuan mikroenkapsulasi terhadap *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dengan jumlah awal masing-masing sebesar 9,20 log CFU/g dan 9,42 log CFU/mL (Table 3) menunjukkan penurunan viabilitas yang nyata setelah penyimpanan selama 28 hari pada suhu 4 °C ($p < 0,05$), yaitu masing-masing menurun sebesar 0,29 log CFU/g dan 0,38 log CFU/g. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa dalam bentuk termikroenkapsulasi *L. plantarum* 4C161 dalam sari buah mangga selama penyimpanan 28 hari menunjukkan ketahanan yang sama dengan *L. rhamnosus* BD2. Namun dalam bentuk sel bebas, *L. plantarum* 4C161 sedikit lebih tahan dibandingkan dengan sel bebas *L. rhamnosus* BD2 yang mengalami penurunan yang nyata pada hari ke-28.

Sari buah mangga sebagai pembawa dapat memengaruhi ketahanan probiotik yang berbeda karena karakteristik fisikokimianya, seperti nilai pH dan keberadaan polifenol (Perricone *et al.*, 2015), maupun faktor yang terkait dengan proses pengolahan (tingkat oksigen, pengawet, suhu, dan waktu penyimpanan) (Furtado *et al.*, 2019). Pemilihan galur yang digunakan dalam pembuatan produk sari buah mangga probiotik penting karena setiap galur memiliki karakteristik kelangsungan hidupnya sendiri. Penelitian Reddy *et al.* (2015) menunjukkan bahwa *L. plantarum* dan *L. debrueckii* yang dimasukkan ke dalam jus mangga memiliki viabilitas yang lebih baik dibandingkan BAL lainnya selama 3 hari penyimpanan. Meski suatu galur mampu bertahan terhadap keasaman lambung selama sekitar 2–4 jam, galur tersebut mungkin tidak mampu bertahan terhadap keasaman produk selama penyimpanan yang lama, karena proton intraseluler menumpuk seiring waktu, menyebabkan kerusakan struktural, DNA, dan protein (Adebola *et al.*, 2014).

Table 3. Viability of probiotic candidates in mango juice during storage

Probiotic Candidates	Storage Time (days)	LAB Viability*				
		Free cell (log CFU/mL)	Microencapsulated Cell (log CFU/g)	Released Cells from Microcapsules (log CFU/mL)	Free Viable Cells Count in 140 mL Beverage (log CFU)	Microencapsulated Viable Cell Count in 140 mL Beverage (log CFU)
<i>L. plantarum</i> 4C161	0	7.48±0.00 ^a	9.20±0.03 ^b	6.08±0.00 ^a	9.62±0.00 ^A	9.95±0.04 ^B
	7	7.54±0.06 ^a	9.19±0.10 ^{ab}	6.40±0.06 ^a	9.69±0.06 ^A	9.94±0.10 ^B
	14	7.69±0.09 ^a	9.02±0.02 ^{ab}	6.52±0.35 ^a	9.84±0.09 ^A	9.77±0.02 ^{AB}
	21	7.60±0.00 ^a	8.95±0.01 ^{ab}	6.17±0.24 ^a	9.75±0.00 ^A	9.69±0.00 ^{AB}
	28	7.48±0.00 ^a	8.91±0.02 ^a	6.31±0.27 ^a	9.62±0.00 ^A	9.66±0.02 ^A
<i>L. rhamnosus</i> BD2	0	7.81±0.03 ^b	9.47±0.11 ^b	6.09±0.02 ^a	9.96±0.03 ^B	10.22±0.11 ^B
	7	7.50±0.20 ^{ab}	9.21±0.05 ^{ab}	6.73±0.05 ^b	9.65±0.20 ^B	9.96±0.05 ^{AB}
	14	7.74±0.04 ^{ab}	9.15±0.04 ^{ab}	6.02±0.08 ^a	9.88±0.04 ^{AB}	9.90±0.00 ^{AB}
	21	7.81±0.03 ^b	9.11±0.04 ^a	6.16±0.27 ^a	9.96±0.03 ^{AB}	9.86±0.04 ^A
	28	7.15±0.15 ^a	9.10±0.03 ^a	6.06±0.02 ^a	9.30±0.15 ^A	9.84±0.03 ^A

Note: Numbers followed by different lowercase and uppercase letters in the same column effect of storage with the same probiotic candidate indicate significant differences ($p < 0.05$) based on Tukey's test

Sel probiotik yang lepas dari mikrokapsul, baik *L. plantarum* 4C161 maupun *L. rhamnosus* BD2, berada di kisaran 6,02–6,73 log CFU/mL dan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p>0,05$) selama 28 hari penyimpanan (Table 3). Lepasnya sel BAL ini pada saat awal penyimpanan kemungkinan disebabkan oleh pecahnya mikrokapsul akibat proses pemisahan mikrokapsul dan pemasukan mikrokapsul ke dalam sari buah mangga. Misra *et al.* (2022) menyatakan bahwa pecahnya mikrokapsul kemungkinan terjadi saat kapsul mengalami tekanan fisik. Meskipun demikian, kondisi ini mencerminkan potensi pelepasan sel probiotik dalam lingkungan fisik yang menyerupai kondisi konsumsi aktual, dan oleh karena itu tetap dianggap relevan dalam konteks aplikasi produk pangan fungsional.

Walaupun selama penyimpanan sel bebas dan sel termikroenkapsulasi kedua BAL mengalami penurunan, namun jumlah sel hidup dalam 140 mL sari buah berada di atas 9 log CFU/mL. Untuk memberi manfaat kesehatan, jumlah probiotik yang dikonsumsi direkomendasikan sebanyak 10^8 – 10^9 CFU (Terpou *et al.*, 2019; Tripathi dan Giri, 2014; Anwer dan Wei, 2024). Jumlah sel *viable* dari kedua kandidat probiotik (*L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2) setelah penyimpanan selama 28 hari, baik dalam bentuk sel bebas maupun sel termikroenkapsulasi, dalam 140 mL sari buah mangga berada di kisaran 9,30–9,84 log CFU (Table 3). Jumlah ini telah dapat memenuhi rekomendasi konsumsi harian sel probiotik hidup dalam produk. Dalam bentuk sel bebas, konsentrasi probiotik direkomendasikan sebanyak >7 log CFU/mL produk probiotik (Valero-Cases *et al.*, 2020). Dengan konsentrasi probiotik 7 log CFU/mL, diperlukan konsumsi sebesar 100 mL untuk memperoleh manfaat kesehatan. Penyajian 140 mL sari buah mangga yang berisi probiotik, baik sel bebas maupun sel termikroenkapsulasi melebihi persyaratan minimum untuk memberikan manfaat kesehatan.

Nilai pH sari buah mangga selama penyimpanan

Sari buah mangga dengan nilai pH awal $5,99\pm0,07$ dan ditambahkan sel bebas *L. plantarum* 4C161 menunjukkan penurunan nilai pH sebesar 0,67 pada suhu penyimpanan 4 °C selama 28 hari. Dalam periode dan suhu penyimpanan yang sama, sari buah mangga dengan nilai pH awal $5,80\pm0,05$ dan ditambahkan sel bebas *L. rhamnosus* BD2 menunjukkan penurunan pH sebesar 0,57. Sementara itu, penambahan sel termikroenkapsulasi menunjukkan penurunan nilai pH yang lebih rendah, yaitu sebesar 0,45 (*L. plantarum* 4C161) dan 0,37 (*L. rhamnosus* BD2) (Figure 3). Nilai pH selama penyimpanan sari buah kontrol lebih stabil, karena tidak ada penambahan bakteri asam laktat. Perbedaan pH sari buah pada hari ke-0 antara ketiga sampel kemungkinan disebabkan karena perbedaan

batch mangga beku yang digunakan. Namun demikian penurunan pH menunjukkan pola yang sama, tidak dipengaruhi oleh pH awal (Figure 3).

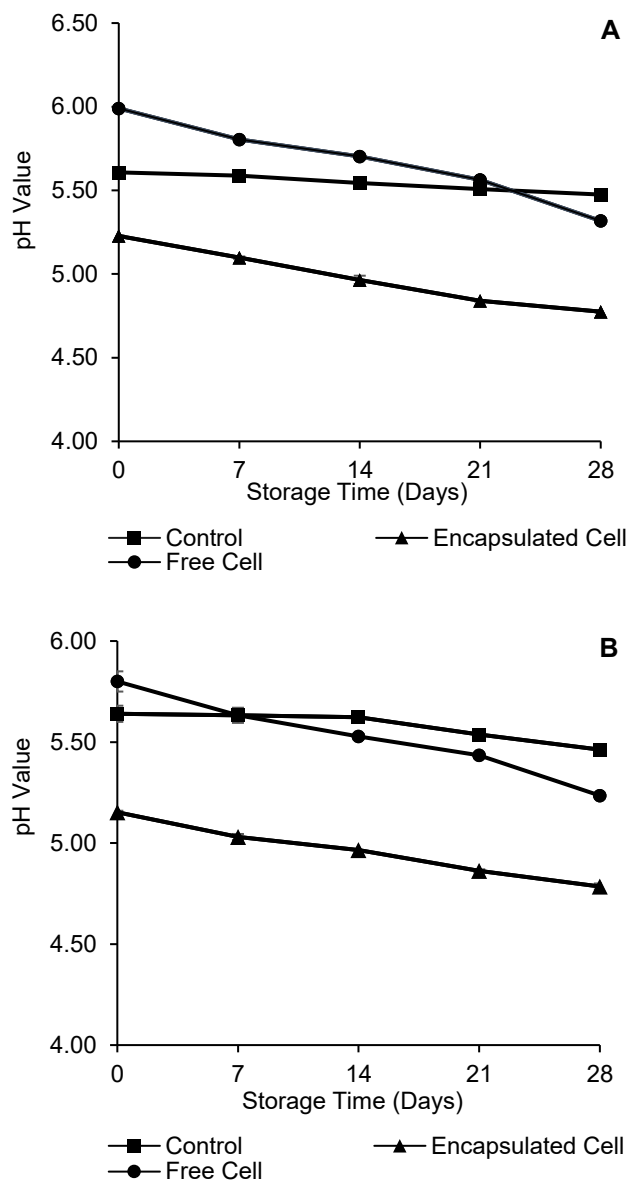


Figure 3. pH values of mango juice with the addition of *L. plantarum* 4C161 (A) and *L. rhamnosus* BD2 during storage (B)

Penurunan pH sari buah mangga dengan penambahan BAL dalam bentuk sel termikroenkapsulasi yang lebih rendah dibandingkan dengan dalam bentuk sel bebas pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Nami *et al.* (2020). Total penurunan pH jus jeruk dengan penambahan mikrokapsul probiotik dengan enkapsulan alginat lebih rendah (0,23) dibandingkan dengan penambahan sel bebas (0,42) selama 6 minggu penyimpanan pada suhu 4 °C (Nami *et al.*, 2020). Mikrokapsulasi diduga mampu

menghambat laju fermentasi dan mencegah penurunan pH sari buah mangga selama 28 hari penyimpanan di suhu 4 °C. Viabilitas BAL *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dalam bentuk sel bebas maupun sel termikroenkapsulasi dalam sari mangga dengan nilai pH di kisaran 5 tetap stabil selama 28 hari penyimpanan di suhu 4 °C. Walaupun kondisi optimum untuk pertumbuhan kedua bakteri tersebut pada pH 5,5–6,2 (Loo *et al.*, 2025), namun kondisi pH sari buah ini tidak membunuh sel kedua BAL. Penurunan hanya sedikit diamati pada penyimpanan hari ke-28.

Total asam laktat tertitrasi (TAT) sari buah mangga selama penyimpanan

Pada sari buah mangga dengan penambahan BAL *L. plantarum* 4C161 dalam bentuk sel bebas, keasaman meningkat secara signifikan sebesar 0,032% selama 28 hari penyimpanan di suhu 4 °C ($p < 0,05$) dari nilai TAT awal sebesar $0,091 \pm 0,001\%$ (Figure 4A). Pada sari buah mangga dengan penambahan BAL *L. plantarum* 4C161 dalam bentuk sel termikroenkapsulasi, peningkatan keasaman terjadi lebih lambat dengan nilai peningkatan sebesar 0,008% dalam periode dan suhu penyimpanan yang sama (Figure 4A). Pola serupa juga teramati pada sari buah mangga dengan penambahan *L. rhamnosus* BD2. Sari buah mangga dengan penambahan sel bebas menunjukkan peningkatan keasaman sebesar 0,029% dengan kenaikan bertahap yang nyata selama penyimpanan ($p < 0,05$) (Figure 4B). Pada sari buah mangga dengan penambahan sel *L. rhamnosus* BD2 termikroenkapsulasi, peningkatan keasaman terlihat sebesar 0,007%, tanpa perbedaan yang nyata antar waktu penyimpanan ($p > 0,05$) (Figure 4B).

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa sel bebas, baik *L. plantarum* 4C161 maupun *L. rhamnosus* BD2, tetap aktif secara metabolik dalam sari buah mangga selama penyimpanan pada suhu dingin (4 °C), namun sel yang termikroenkapsulasi menunjukkan kurang aktif melakukan metabolisme yang terlihat dari perubahan pH dan total asam yang lebih rendah. Mikroenkapsulasi menghalangi kontak antara sel dengan substrat karena substrat harus berdifusi ke dalam alginat. Mokhtari *et al.* (2019) menyatakan bahwa penambahan sel bebas probiotik meningkatkan keasaman yang lebih tinggi pada jus anggur secara nyata dari pada sel terenkapsulasi ($p < 0,05$). Penurunan pH lingkungan dan akumulasi berbagai asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi dapat menurunkan viabilitas probiotik (Kumar *et al.*, 2015). Hal ini mengindikasikan bahwa mikroenkapsulasi berperan penting dalam mencegah kontak antara BAL dengan sari buah mangga yang menyebabkan aktivitas metabolisme BAL yang menghasilkan berbagai asam organik, sehingga

dapat memengaruhi viabilitas BAL selama penyimpanan.

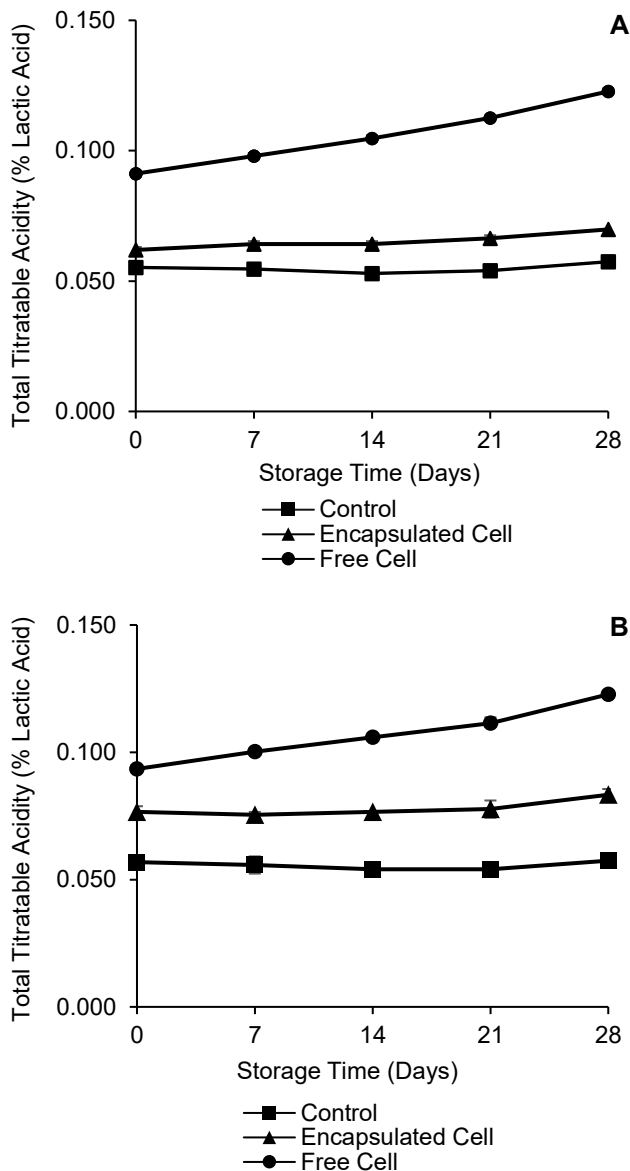


Figure 4. Total titratable lactic acid in mango juice with the addition of *L. plantarum* 4C161 (A) and *L. rhamnosus* BD2 (B) during storage

KESIMPULAN

Mikroenkapsulasi *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 dengan alginat meningkatkan ketahanan sel terhadap pH rendah dan garam empedu. Kedua kandidat probiotik, *L. plantarum* 4C161 maupun *L. rhamnosus* BD2, memiliki ketahanan yang baik dalam sari buah mangga selama 28 hari penyimpanan di suhu 4 °C. Pada akhir penyimpanan, jumlah sel hidup, baik dalam bentuk sel bebas maupun sel termikroenkapsulasi dalam

140 mL sari buah mangga masih memenuhi jumlah asupan probiotik yang dianjurkan untuk memperoleh manfaat kesehatan sebagai probiotik. Sari buah mangga merupakan matriks yang sesuai sebagai pembawa bakteri probiotik. Walaupun sel bebas dan sel termikroenkapsulasi *L. plantarum* 4C161 dan *L. rhamnosus* BD2 memiliki kemampuan mempertahankan viabilitas yang setara selama penyimpanan sari buah mangga pada suhu 4 °C selama 28 hari, namun sel yang termikroenkapsulasi lebih tahan terhadap pH rendah dan garam empedu, sehingga untuk memperoleh manfaat kesehatan dari sari buah yang berisi kedua BAL yang berpotensi sebagai probiotik ini, mikroenkapsulasi tetap diperlukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Acevedo-Martínez, E., Gutiérrez-Cortés, C., García-Mahecha, M., & Díaz-Moreno, C. (2018). Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") beverage. *DYNA (Colombia)*, 85(207), 84–92. <https://doi.org/10.15446/dyna.v85n207.70578>
- Adebola, O. O., Corcoran, O., & Morgan, W. A. (2014). Synbiotics: The impact of potential prebiotics inulin, lactulose and lactobionic acid on the survival and growth of *Lactobacilli* probiotics. *Journal of Functional Foods*, 10, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.010>
- Anwer, M., & Wei, M. Q. (2024). Harnessing the power of probiotic strains in functional foods: nutritive, therapeutic, and next-generation challenges. *Food Science and Biotechnology*, 33(9), 2081–2095. <https://doi.org/10.1007/s10068-024-01630-z>
- Beldarrain-Iznaga, T., Villalobos-Carvajal, R., Leiva-Vega, J., & Armesto, E. S. (2020). Influence of multilayer microencapsulation on the viability of *Lactobacillus casei* using a combined double emulsion and ionic gelation approach. *Food and Bioproducts Processing*, 124, 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.08.009>
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2022). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 1 Tahun 2022 Tentang Pengawasan Klaim pada Label dan Iklan Pangan Olahan.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467–483. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031>
- Camelo-Silva, C., Verruck, S., Ambrosi, A., & Di Luccio, M. (2022). Innovation and trends in probiotic microencapsulation by emulsification techniques. *Food Engineering Reviews*, 14(3), 462–490. <https://doi.org/10.1007/s12393-022-09315-1>
- Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P., & Jones, M. (2004). An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *Journal of Microbiological Methods*, 56(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.09.002>
- Chew, S. C., Tan, C. H., Pui, L. P., Chong, P. N., Gunasekaran, B., & Lin, N. K. (2019). Encapsulation technologies: A tool for functional foods development. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, 8(5s), 154–160.
- Dahlan, A. (2021). Kemampuan kandidat probiotik lokal menurunkan kolesterol serum tikus yang diberi diet tinggi kolesterol [Tesis]. Bogor: Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University Bogor.
- de la Cruz Pech-Canul, A., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., & Solis-Oviedo, R. L. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197. <https://doi.org/10.3390/coatings10030197>
- de Oliveira Ribeiro, A. P., dos Santos Gomes, F., dos Santos, K. M. O., da Matta, V. M., de Grandi Freitas de Sá, D., de Araujo Santiago, M. C., Conte, C., de Oliveira Costa, S. D., de Oliveira Ribeiro, L., de Oliveira Godoy, R. L., & Walter, E. H. M. (2020). Development of a probiotic non-fermented blend beverage with juçara fruit: Effect of the matrix on probiotic viability and survival to the gastrointestinal tract. *LWT*, 118, 108756. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108756>
- Furtado, L. L., Martins, M. L., Ramos, A. M., da Silva, R. R., de Castro Leite, B. R., & Martins, E. M. F. (2019). Viability of probiotic bacteria in tropical mango juice and the resistance of the strains to gastrointestinal conditions simulated in vitro. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(1), 149–162. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n1p149>
- Gebara, C., Chaves, K. S., Ribeiro, M. C. E., Souza, F. N., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L. (2013). Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin-whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 51(2), 872–878. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.008>

- Gheisari, H. R., Davar, M., Shekarforoush, S. S. (2018). Stability of microencapsulated *Lactobacillus casei* in mango fruit juice and its survival at simulated human gastro-intestinal condition. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 7(1), 64–71.
- Heidebach, T., Först, P., & Kulozik, U. (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(4), 291–311. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.499801>
- Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Barin, J. S., Moraes Flores, É. M., Muller, E. I., Codevilla, C. F., Jacob-Lopes, E., Ferreira Grosso, C. R., & de Menezes, C. R. (2017). Production of microcapsules containing *Bifidobacterium* BB-12 by emulsification/internal gelation. *LWT-Food Science and Technology*, 76, 216–221. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.013>
- Jati, A., Jenie, B., & Suliantari. (2015). Mikroenkapsulasi *Lactobacillus* sp. dengan teknik emulsi dan aplikasinya pada dodol sirsak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 26(2), 135–143. <https://doi.org/10.6066/jtip.2015.26.2.135>
- Ji, R., Wu, J., Zhang, J., Wang, T., Zhang, X., Shao L., Chen, D., & Wang, J. (2019). Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1389. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01389>
- Kowalska, E., Ziarno, M., Ekielski, A., & Żelaziński, T. (2022). Materials used for the microencapsulation of probiotic bacteria in the food industry. *Molecules*, 27(10), 3321. <https://doi.org/10.3390/molecules27103321>
- Kumar, B., Vijayendra, S. V. N., & Reddy, O. V. S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6112–6124. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1795-2>
- Kurnia, H. (2018). Manfaat bakteri asam laktat asal sawi (*Brassica juncea* L.) asin dalam menurunkan kolesterol secara *in vitro* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknik dan Teknologi. IPB University Bogor.
- Letocha, A., Małgorzata, M., & Sikora El'zbieta. (2022). Preparation and characteristics of alginate microparticles for food, pharmaceutical and cosmetic applications. *Polymers*, 14(18), 3834. <https://doi.org/10.3390/polym14183834>
- Loo, J. S., Oslan, S. N. H., Mokshin, N. A. S., Othman, R., Amin, Z., Dejtsakdi, W., Prihanto, A. A., & Tan, J. S. (2025). Comprehensive review of strategies for lactic acid bacteria production and metabolite enhancement in probiotic cultures: multifunctional applications in functional foods. *Fermentation*, 11(5), 241. <https://doi.org/10.3390/fermentation11050241>
- Maharani, D. P. (2023). Ketahanan *Lactiplantibacillus plantarum* 4C161 asal sawi asin pada saluran pencernaan tikus yang diberi diet tinggi kolesterol [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University Bogor.
- Mandal, S., & Hati, S. (2017). Microencapsulation of bacterial cells by emulsion technique for probiotic application. In: Opara (Ed). *Cell microencapsulation methods and protocols. Methods in Molecular Biology* (Vol. 1479). Springer Science and Business Media. 273–279. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6364-5_22
- Misra, S., Pandey, P., Dalbhat, C. G., & Mishra, H. N. (2022). Emerging technologies and coating materials for improved probiotic in food products: a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 15, 998–1039. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02753-5>
- Mokhtari, S., Jafari, S. M., & Khomeiri, M. (2019). Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Science and Technology International*, 25(2), 120–129. <https://doi.org/10.1177/1082013218801113>
- Nami, Y., Lornezhad, G., Kiani, A., Abdullah, N., & Haghshenas, B. (2020). Alginate-persian gum-prebiotics microencapsulation impacts on the survival rate of *Lactococcus lactis* ABRINW-N19 in orange juice. *LWT*, 124(2), 109190. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109190>
- Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., & Altamirano, C. (2019). Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42, 42–28. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.10.002>
- Panjaitan, R., Nuraida, L., & Dewanti-Hariyadi, R. (2018). Seleksi isolat bakteri asam laktat asal tempe dan tape sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 29(2), 175–184. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.2.175>
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2015). Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, 1(2), 95–103. <https://doi.org/10.3390/beverages1020095>

- Praepanitchai, O. A., Noomhorm, A., Anal, A. K., & Potes, M. E. (2019). Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed Research International*, 2019(1), 9768152. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>
- Rahmana, M. A. (2014). Minimalisasi proses pengolahan jus buah [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University Bogor.
- Reddy, L. V., Min, J. H., & Wee, Y. J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 43(2), 120–125. <https://doi.org/10.4014/mbl.1504.04007>
- Rocha Ribeiro, S. M., De Queiroz, J. H., Lopes Ribeiro De Queiroz, M. E., Campos, F. M., & Pinheiro Sant'Ana, H. M. 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(1), 13–17. <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0035-3>
- Sarao, L. K., & Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 344–371. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.887055>
- Song, H., Yu, W., Liu, X., & Ma, X. (2014). Improved probiotic viability in stress environments with post-culture of alginate-chitosan microencapsulated low density cells. *Carbohydrate Polymers*, 108(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.084>
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7), 1591. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
- Thinkohkaew, K., Jonjaroen, V., Niamsiri, N., & Panya, A. (2024). Food hydrocolloids microencapsulation of probiotics in chitosan-coated alginate/gellan gum: Optimization for viability and stability enhancement. *Food Hydrocolloids*, 151, 109788. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109788>
- Trinoviyani. (2021). Pengaruh *Lactobacillus rhamnosus* BD2 terhadap mikrobiota saluran pencernaan tikus yang diberi diet tinggi kolesterol [Tesis]. Bogor: Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University Bogor.
- Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9(1), 225–241. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030>
- Tyl, C., & Sadler, G. D. (2017). pH and Titratable Acidity. In: Nielsen, S.S. (eds) *Food Analysis*. Food Science Text Series. Springer, Cham. *Food Analysis*, 389–406. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5>
- Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J., & Frutos, M. J. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12(6), 1666. <https://doi.org/10.3390/nu12061666>
- Wicaksono, S., Nuraida, L., & Faridah, D., N. (2024). Tapping the potential of lactic acid bacteria: optimizing gamma-aminobutyric acid production for enhanced health benefits in fermented milk. *Brazilian Journal of Food Technology*, 27, e2024015. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.01524>
- Yao, M., Xie, J., Du, H., McClements, D. J., Xiao, H., & Li, L. (2020). Progress in microencapsulation of probiotics: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2), 857–874. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12532>
- Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., & Hunaefi, D. (2021). *In vitro* antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of *Lactobacillus* spp. isolated from Indonesian kefir grains. *Applied Food Biotechnology*, 8(1), 39–46. <https://doi.org/10.22037/afb.v8i1.30367>
- Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., & Hunaefi, D. (2020). *In vitro* characterization of lactic acid bacteria from Indonesian kefir grains as probiotics with cholesterol-lowering effect. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 726–732. <https://doi.org/10.4014/jmb.1910.10028>