

PENGARUH KONSENTRASI NATRIUM ALGINAT DAN JENIS BAL TERHADAP VIABILITAS SEL ENKAPSULASI PROBIOTIK BAL

Effect of Sodium Alginate Concentration and Types of LAB on Cells Viability in LAB Probiotics Encapsulation

Oleh:

Mukhtarudin Muchsiri¹, Basuni Hamzah², Agus Wijaya², dan Rindit Pambayun²

¹ Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian
Universitas Muhammadiyah Palembang

Jln. Jend. A. Yani 13 Ulu Palembang 30263

² Jurusan Teknologi Pertanian Universitas Sriwijaya Palembang

Kampus Palembang, Jalan Padang Salasa No.1948 Bukit Besar Palembang

Alamat korespondensi: Mukhtarudin Muchsiri (e-mail: kun_nahfath@yahoo.com)

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk menguji pengaruh konsentrasi natrium alginat dan jenis BAL terhadap viabilitas sel enkapsulasi probiotik BAL. Penyiapan enkapsulasi probiotik BAL menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial, konsentrasi natrium alginat terdiri 1% (A₁), 2% (A₂) dan 3% (A₃). Jenis BAL terdiri B₁= *Lactobacillus bulgaricus*, dan B₂= *Streptococcus thermophilus* dengan tiga ulangan. Parameter yang diamati terdiri viabilitas sel BAL, jumlah enkapsul, massa enkapsul, bentuk dan ukuran enkapsul. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi natrium alginat (w/v), jenis BAL, dan kelompok mempengaruhi nilai viabilitas sel BAL digambarkan dengan persamaan $Y = 10,753 - 0,235X_1 - 1,1007X_2 + 0,085X_3 + E$. Rata-rata viabilitas tertinggi log 9,67 CFU/mL pada A₃B₁ (alginat 3% dan *L. bulgaricus*) dan terendah pada A₁B₂ (alginat 1% dan *S. thermophilus*) log 8,82 CFU/mL. Konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL mempengaruhi jumlah enkapsul digambarkan dengan persamaan $Y = 363,665 - 3,233X_1 + 5,667X_2 + E$. Rata-rata jumlah enkapsul tertinggi pada A₃B₁ (alginat 3% dan *L. bulgaricus*) 375,33 enkapsul, dan terendah pada A₁B₂ (alginat 1% dan *S. thermophilus*) sebesar 360,67 enkapsul. Konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL mempengaruhi massa enkapsul digambarkan dengan persamaan $Y = 10,052 - 0,413X_1 + 1,103X_2 + E$. Rata-rata massa enkapsul tertinggi pada A₂B₁ (alginat 2% dan *L. bulgaricus*) 12,659 gram, dan terendah pada A₁B₂ (alginat 1% dan *S. thermophilus*) sebesar 9,778 gram. Ukuran diameter panjang enkapsul yang terpendek 7,5mm pada A₃B₂ (alginat 3% dan *S. thermophilus*) dan terpanjang 10mm pada A₂B₂ (alginat 2% dan *S. thermophilus*). Sedangkan diameter melintang berkisar 1,0 mm.

Kata kunci: enkapsulasi probiotik, BAL, viabilitas sel

ABSTRACT

The aim of this study were to examine the effect of sodium alginate concentration and types of LAB on cells viability of LAB probiotic encapsulation. Preparation of LAB probiotic encapsulation using the randomized block design (RBD) factorial, sodium alginate concentration (w/v) comprises 1% (A₁), 2% (A₂) and 3% (A₃). The types of LAB comprises *Lactobacillus bulgaricus* (B₁), and *Streptococcus thermophilus* (B₂) with three replications. The observed parameters consisted of cells viability, number, mass, type and size of bead from probiotics encapsulation. The result showed that sodium alginate concentration (w/v) and types of LAB, block effect on cells viability by the regression equation $Y = 10,753 - 0,235X_1 - 1,1007X_2 + 0,085X_3 + E$. The highest average viability log 9.67 CFU/mL on A₃B₁ (alginate 3% and *L. bulgaricus*) and the lowest in the A₁B₂ (alginate 1% and *S. thermophilus*) log 8.82 CFU / mL. The sodium alginate concentration (w/v) and types of LAB effect on the amount of probiotics encapsulation expressed by the regression equation $Y = 363,665 - 3,233X_1 + 5,667X_2 + E$. The highest average number of bead in A₃B₁ (alginate 3% and *L. bulgaricus*) 375.33 bead, and the lowest in A₁B₂ (alginate 1% and *S. thermophilus*) amounted to 360.67 bead. The sodium alginate concentration (w/v) and types of LAB effect on mass of bead represented by the regression equation $Y = 10,052 - 0,413X_1 + 1,103X_2 + E$. The highest average mass of bead in A₂B₁ (alginate 2% and *L. bulgaricus*) 12.659 grams, and the lowest in A₁B₂ (alginate 1% and *S. thermophilus*) amounted of 9.778 grams. While the size of the probiotics encapsulation diameter range from the shortest length of 7.5 mm in A₃B₂ (concentration of 3% sodium alginate and *S. thermophilus*) and 10 mm in the longest A₂B₂ (concentration of 2% sodium alginate and *S. thermophilus*), with a diameter ranging from 1.0 mm

Key words: Probiotics encapsulation, LAB, cells viability

PENDAHULUAN

Cuko pempek adalah saus pendamping dalam menyantap pempek, kuliner khas Palembang. Cuko pempek merupakan cairan atau larutan berasa asam, manis, dan pedas dengan rasa dan aroma bumbu (*spice*) yang khas dan menyengat, diperoleh dari suatu racikan terdiri dari gula, cabai, asam jawa, asam cuka, bawang putih, dan garam dengan komposisi tertentu. Salah satu komponen dalam cuko pempek adalah asam cuka atau asam asetat yang memberi cita rasa asam dalam cuko pempek.

Untuk meningkatkan fungsional cuko pempek, dipandang perlu menjadikannya sebagai cuko pempek probiotik. Akan tetapi karakteristik spesifik cuko pempek khususnya kandungan asam cuka-nya menjadi hambatan karena asam asetat merusak gigi lebih kuat dari asam laktat (Hoppenbrouwers dan Driessens, 1988), asam asetat juga bersifat anti-mikrobia, (Ludovico *et al.*, 2003) Selain itu masih ada komponen bumbu cuko pempek yang memiliki sifat anti-mikrobia yaitu capsaicin dan alisin (Snyder, 1997) Walaupun Skrinjar dan Nemet, (2009) menjelaskan bahwa sifat anti-mikrobia dari bumbu rempah-rempah termasuk capsaicin dan alisin merupakan tingkat lemah. Lebih lanjut, Zeyrek dan Oguz, (2005) bahwa capsaicin pada konsentrasi 25 $\mu\text{mol/mL}$ memiliki pengaruh sebagai bakterisida dan

konsentrasi 50 $\mu\text{mol/mL}$ dengan inkubasi selama 4 jam memiliki efek bakterisida terbaik. Tetapi penelitian Farag *et al.*, 1995 menyimpulkan bahwa bubuk rempah-rempah dari marjoram (semacam pepermin), jahe dan capsaicin dari cabe yang telah di-irradiasi masih ditumbuhi bakteri berturut-turut sebesar $4,2 \times 10^3/\text{g}$; $14,3 \times 10^3/\text{g}$; dan $9,2 \times 10^5/\text{g}$. Namun demikian perlu dikaji adanya strategi dalam mensuplementasikan BAL ke dalam cuko pempek untuk menghasilkan cuko pempek probiotik. Strategi tersebut harus mampu menjawab dua permasalahan pokok yaitu *pertama*, tetap membiarkan keberadaan capsaicin dari cabai dan alisin dari bawang putih karena keberadaan cabai dan bawang putih merupakan *character impact* cuko pempek; dan *kedua*, melindungi BAL agar tetap dapat hidup dalam cuko pempek yang mengandung capsaicin dan alisin.

Cuko pempek probiotik adalah cuko pempek yang mengandung golongan bakteri asam laktat (BAL), dan diharapkan dengan suplementasi BAL tersebut, akan meningkatkan fungsional cuko pempek. Probiotik didefinisikan sebagai makanan tambahan yang mengandung mikrobia hidup yang memberikan keuntungan inangnya baik manusia atau hewan dengan menyeimbangkan mikrobia dalam saluran pencernaan (Fuller, 1989). Selanjutnya Senok *et al.*, (2005) menjelaskan probiotik adalah mikroorganisme yang hidup yang

apabila diatur dalam jumlah tertentu akan memberikan manfaat bagi kesehatan inangnya.

Mikro-organisma yang berperan sebagai probiotik adalah golongan bakteri seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* (Hattingh dan Viljoen, 2001); *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Drakes *et al.*, 2004); *Lactococcus lactis* dan *Lactobacillus sakei* (Nanasombat dan N. Sriwong, 2007); *Lactobacillus johnsonii* Strain NCC533 (Denou *et al.*, 2008); *Lactobacillus salivarius* CECT 5713 (Jime'nez *et al.*, 2010).

Untuk melindungi BAL dalam cuko pempek agar tetap bertahan hidup dengan tidak mengurangi atau menghilangkan cabai dan bawang putih, maka metode enkapsulasi merupakan strategi yang dapat dijadikan pilihan. Enkapsulasi adalah proses pembentukan lapisan berbentuk matrik dimana bagian dalamnya yang berbentuk bulatan menyerupai dinding kapsul yang berperan sebagai penyelubung dari bahan yang di-enkapsulasi. (Vidhyalakshmi *et al.*, 2009). Gbassi dan Vandamme (2012) menyebut istilah

Probiotic Encapsulation Technology (PET) sebagai terobosan biofarmasi yang keberadaan dan perkembangannya sangat pesat dimana berdasarkan teknologi tersebut mikroorganisma dapat secara luas di-immobilisasi menggunakan bahan-bahan semipermeabel dan biokompatibel yang mengatur pengantaran sel-sel mikroorganisma tersebut. Selanjutnya (Vidhyalakshmi *et al.*, 2009) menjelaskan bahwa enkapsulasi cenderung menstabilkan sel-sel, berpotensi meningkatkan viabilitas dan stabilitas sel selama produksi, penyimpanan, dan penanganan.

Enkapsulasi dalam bidang pangan memiliki peranan dan fungsi sangat luas, selain untuk melindungi mikro-organisma (probiotik) (Lotfipour *et al.*, 2012; Gbassi and Vandamme, 2012), enkapsulasi juga berfungsi untuk melindungi zat warna alami seperti karotinoid, antosianin, dan klorofil (Ozkan and Bilek, 2014), bahkan enkapsulasi digunakan untuk melindungi sel-sel epitel penangkap warna pada manusia (Wikstrom, 2013).

Komponen utama dalam pembuatan enkapsulasi berbahan alginat adalah natrium alginat dan kalsium klorida sebagaimana dikemukakan oleh peneliti terdahulu bahwa penyiapan enkapsulasi dibutuhkan natrium alginat (3%), larutan tween 80 dalam minyak nabati 0,1% dan 0,2%, larutan kalsium klorida 0,05M (Sheu and Marshall, 1993). Sultana *et al.*, (2000)

dalam pembuatan enkapsulasi menggunakan alginat 2% dicampur pati resisten 2%, larutan tween 80 0,02%, larutan kalsium klorida 0,1M. Bahan dasar pembuatan enkapsulasi adalah alginat, karagenan, gelatin, sitosan, selulosa, protein, dan pati, tetapi paling banyak digunakan adalah alginat (Gbassi and Vandamme, 2012). Kelebihan alginat sebagai bahan enkapsul karena sederhana, biokompatibel dan murah (Krasaekoopt *et al.*, 2004).

Metode enkapsulasi dapat menggunakan metode pemisahan fase (Sheu and Marshall, 1993; Sultana *et al.*, 2000), teknik ekstrusi (Lotfipour *et al.*, 2012), teknik penyemprotan kering, teknik pengeringan beku, ko-aservasi, dan teknik emulsi (Ozkan and Bilek, 2014). Selajutnya dijelaskan bahwa teknik yang paling luas digunakan dalam industri pangan, kesehatan dan industri biokimia adalah enkapsulasi menggunakan teknik penyemprotan kering (Ozkan and Bilek, 2014), tetapi tidak dapat dipungkiri yang paling memungkinkan dilaksanakan untuk industri rumah tangga adalah teknik emulsi dengan pemisahan fase.

Berdasar pemikiran diatas, peneliti bermaksud mengkaji dan menganalisis pengaruh konsentrasi tween 80 dan konsentrasi kalsium klorida terhadap enkapsulasi berbahan alginat.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan menggunakan rancangan acak kelompok faktorial (Montgomery, 1991). Faktor I konsentrasi larutan natrium alginat terdiri dari $A_1 = 1\%$; $A_2 = 2\%$; dan $A_3 = 3\%$. Faktor II jenis BAL terdiri dari $B_1 = Lactobacillus bulgaricus$, dan $B_2 = Streptococcus thermophylus$ dan dilakukan tiga kali ulangan.

Penyiapan enkapsulasi probiotik BAL

Penyiapan enkapsulasi berbahan alginat menurut Sheu dan Marshall (1993) dan Sultana *et al.*, (2000), sebagai berikut.

1. Persiapan larutan natrium-alginat terdiri 1%, 2%, dan 3% diaduk dengan pengaduk magnet selama 10menit; larutan tween 80 (w/v) dalam 250mL minyak nabati 0,2%; pembuatan larutan kalsium klorida sebanyak 500mL (w/v) konsentrasi 0,05M; kultur sel-sel probiotik BAL serta aquades steril.
2. Sebanyak 20mL campuran larutan natrium-alginat dan kultur sel BAL dalam gelas ukur sebanyak perlakuan, diteteskan menggunakan suntikan 5mL ke dalam 500mL larutan tween 80 0,2% dalam minyak nabati (*vegetable oil*) dalam gelas beaker 1000mL.
3. Selanjutnya ditambahkan larutan kalsium klorida 0,05M sebanyak 250mL secara cepat kira-kira 20 mL/detik melalui pinggir gelas, maka

- terjadi pemisahan air/minyak dari emulsi tersebut.
4. Campuran dibiarkan selama 10 menit, sehingga terbentuk granula.
 5. Granula kalsium alginat dikumpulkan dengan melakukan sentrifugasi dengan kecepatan 350xg selama 10 menit.
 6. Granula kalsium alginat dicuci menggunakan aquades steril, inilah enkapsul probiotik kalsium alginat.
 7. Dilakukan penyimpanan enkapsul kalsium alginat pada suhu 4°C, menanti waktu analisis dan uji terkait.

Analisis statistik

Parameter penelitian meliputi jumlah enkapsul, massa enkapsul, bentuk dan ukuran enkapsul berbahan alginat yang dihasilkan. Data dianalisis dengan teknik regresi linear menggunakan program SPSS versi 19 dari IBM Co.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Viabilitas Sel-sel BAL Enkapsulasi probiotik Cuko pempek

Hasil deskripsi statistika analisis regresi pengaruh konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL terhadap viabilitas sel-sel BAL enkapsulasi probiotik bahwa nilai rata-rata viabilitas sel BAL enkapsulasi probiotik adalah 8,8033; rata-rata konsentrasi natrium alginat (w/v) 2%; dan jenis BAL 1,5.

Hubungan antara konsentrasi natrium alginat (w/v), jenis BAL, dan kelompok

mempengaruhi nilai viabilitas sel BAL berurut-urut sebesar 0,097, -0,772, dan -0,269 nilai positif berarti viabilitas sel BAL makin meningkat dan negatif berarti makin menurun digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 10,753 - 0,235X_1 - 1,1007X_2 + 0,085X_3 + E$. Rata-rata viabilitas sel BAL log 9,08 CFU/mL. Rata-rata jumlah tertinggi log 9,67 CFU/mL pada A₃B₁ (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) dan terendah pada A₁B₂ (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermophilus*) sebesar log 8,82 CFU/mL.

Viabilitas tertinggi diperoleh dari *L. bulgaricus* dalam enkapsulasi dengan konsentrasi natrium alginat 3%, merupakan konsentrasi yang paling pekat menghasilkan enkapsul kalsium alginat yang memiliki dinding lebih kokoh dan lebih rigid dibanding lainnya sehingga mampu memberikan perlindungan lebih optimal dari konsentrasi natrium alginat yang lainnya oleh karena itu konsentrasi natrium alginat 3% menghasilkan enkapsul kalsium alginat yang mampu memberikan viabilitas sel-sel BAL tertinggi. Chen *et al.*, (2014) mendapatkan viabilitas *L. bulgaricus* yang di-enkapsulasi dengan alginat diatas kisaran 10⁸ CFU/gram bahkan sampai penyimpanan 4 minggu.

2. Jumlah enkapsul dalam enkapsulasi probiotik BAL

Hasil deskripsi statistika analisis regresi pengaruh konsentrasi natrium

alginat (w/v) dan jenis BAL terhadap jumlah enkapsul bahwa nilai rata-rata jumlah enkapsul 370,165 dengan standar deviasi 5,879; rata-rata konsentrasi natrium alginat (w/v) 2% dengan standar deviasi 0,894 dan jenis BAL 1,5 dengan standar deviasi 0,5477 mempengaruhi nilai jumlah enkapsul yang dihasilkan.

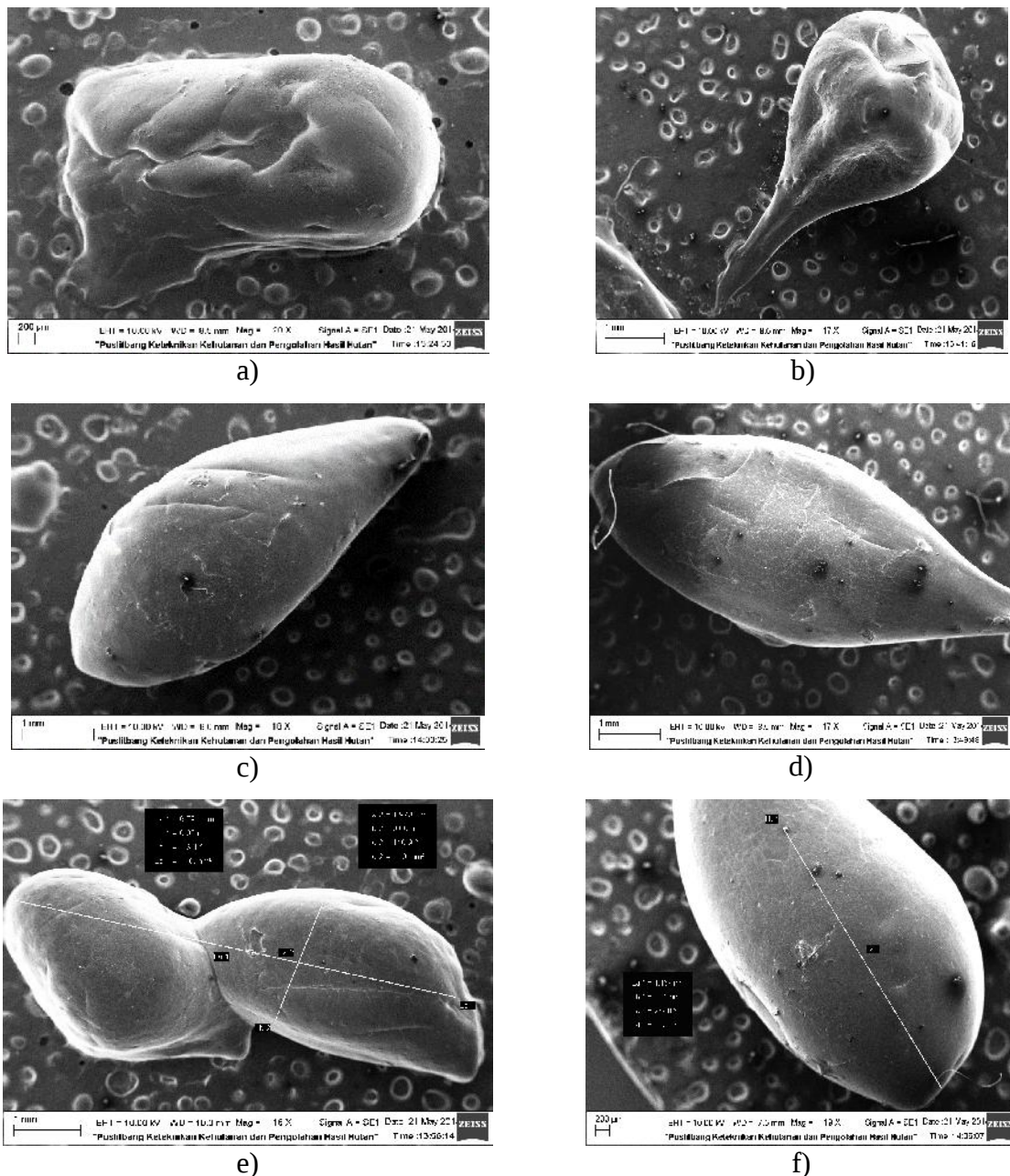
Hubungan antara konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL mempengaruhi jumlah sebesar 0,862 dan -0,300, nilai positif berarti jumlah enkapsul makin meingkat dan negatif berarti makin menurun, digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 363,665 - 3,233X_1 + 5,667X_2 + E$. Rata-rata jumlah enkapsul 370,17 enkapsul, sedangkan rata-rata jumlah enkapsul tertinggi pada A₃B₁ (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) sebesar 375,33 enkapsul, dan terendah pada A₁B₂ (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermopylus*) sebesar 360,67 enkapsul. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada saat campuran larutan natrium alginat dan sel-sel BAL ditetaskan ke dalam larutan tween 80, semakin pekat larutannya pergerakan tetesan campuran larutan alginat dan sel-sel BAL semakin lambat dan memungkinkan permukaan tetesan natrium alginat berinteraksi lebih sempurna dengan larutan tween 80, hal ini mengurangi kemungkinan terjadi lengket antar tetesan sehingga menyatu dan mengurangi jumlah enkapsul yang dihasilkan. Sebaliknya

konsentrasi tween 80 yang lebih encer mengakibatkan pergerakan yang lebih cepat dan rawan terjadi penumpukan dan lengket di dasar gelas. Semakin encer larutan tween 80 mempercepat meluncurnya tetesan larutan natrium alginat dan rawan terjadi penumpukan dan lengket sehingga mempengaruhi menurunnya jumlah enkapsul sebaliknya semakin pekat larutan tween 80 semakin meningkatkan jumlah enkapsul yang dihasilkan. Akan tetapi dalam hal ini konsentrasi larutan tween 80 yang digunakan sama, maka yang berperan adalah tingkat kepekatan larutan natrium alginat. Konsentrasi kalsium klorida akan bereaksi dengan permukaan tetesan-tetesan alginat dengan melapisi seluruh bagian permukaan alginat sehingga permukaan tetesan alginat menjadi kukuh dan rigid sehingga terbentuk enkapsul kalsium alginat. Larutan kalsium klorida yang makin pekat memberikan reaksi yang lebih cepat dan lebih kuat sehingga membantu menghindarkan lengket antar tetesan sehingga meningkatkan jumlah enkapsul.

Reaksi pembentukan enkapsul kalsium alginat antara natrium alginat dengan kalsium klorida terjadi menurut reaksi berikut. $2(\text{Na-Alginat}) + \text{CaCl}_2 \rightarrow \text{Ca-(Alginat)}_2 + 2\text{NaCl}$ (Haeberle *et al.*, 2008). Berdasarkan reaksi tersebut menggambarkan bahwa satu molekul Ca^{++} dapat berikatan dengan dua molekul alginat

sehingga membentuk matrik ikatan yang lebih kuat sehingga setiap tetesan alginat praktis terbentuk enkapsul karena tidak terjadi lengket dan penggabungan antar tetesan oleh karena itu menghasilkan jumlah enkapsul optimal. Hasil ini selaras dengan yang dikemukakan oleh Homayouni *et al.*, (2007) bahwa jumlah enkapsul

berbahan alginat yang dihasilkan dipengaruhi oleh konsentrasi kalsium klorida, peningkatan larutan kalsium klorida akan meningkatkan efisiensi adsorpsi molekul emulsifier ketika proses penetasan larutan alginat sehingga meningkatkan jumlah kapsul algiat yang dihasilkan.



Gambar 1. Foto SEM a) A₁B₁; b) A₂B₁; c) A₃B₁; d) A₁B₂; e) A₂B₂; dan f) A₃B₂

3. Massa enkapsul dalam enkapsulasi probiotik BAL

Hasil deskripsi statistika analisis regresi pengaruh konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL terhadap massa enkapsul dalam enkapsulasi probiotik bahwa nilai rata-rata massa enkapsul dalam enkapsulasi probiotik adalah 11,637 gram dengan standar deviasi 1,226 dengan rata-rata konsentrasi natrium alginat (w/v) 2% dengan standar deviasi 0,894 dan jenis BAL 1,5 dengan standar deviasi 0,5477 mempengaruhi nilai rata-rata massa enkapsul yang dihasilkan.

Hubungan antara konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL dengan massa enkapsul bahwa konsentrasi natrium alginat mempengaruhi nilai massa enkapsul sebesar 0,804; Jenis BAL mempengaruhi nilai jumlah enkapsul sebesar -0,185; nilai positif berarti massa enkapsul semakin meningkat dan negatif berarti makin menurun digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 10,052 - 0,413X_1 + 1,103X_2 + E$. Rata-rata jumlah enkapsul sebesar 11,637 gram, sedangkan rata-rata massa enkapsul tertinggi pada A₂B₁ (konsentrasi alginat 2% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) sebesar 12,659 gram, dan terendah pada A₁B₂ (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermophilus*) sebesar 9,778 gram.

Konsentrasi larutan natrium alginat 2% memberikan massa enkapsul yang tertinggi dikarenakan larutan natrium

alginat 2% memberikan tingkat gel yang optimum untuk penetrasi dan reaksi permukaan gel natrium alginat dengan larutan kalsium klorida dalam proses pembentukan enkapsul kalsium alginat dibanding dengan konsentrasi natrium alginat 1% yang lebih encer atau konsentrasi natrium alginat 3% yang lebih semi solid.

Seperti dikemukakan oleh Salsac *et al.*, (2009) bahwa konsentrasi mempengaruhi densitas kapsul yang dihasilkan dalam enkapsulasi berbahan alginat. Dan densitas atau kerapatan merupakan hal penting dari massa kapsul, sehingga kapsul yang memiliki densitas tinggi semakin meningkat massanya.

4. Bentuk dan ukuran enkapsul dalam enkapsulasi probiotik BAL

Pengamatan bentuk dan ukuran kapsul enkapsulasi probiotik cuko pempek dilakukan dengan alat scanning electron microscopy (SEM) untuk memperoleh foto-foto seperti dapat dilihat pada Gambar 1, bahwa ukuran enkapsul hasil enkapsulasi probiotik BAL untuk diameter panjang berkisar dari yang terpendek 7,5 mm pada A₃B₂ (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *S. thermophilus*) sampai yang terpanjang 10 mm pada A₂B₂ (konsentrasi alginat 2% dan jenis BAL *S. thermophilus*). Sedangkan diameter melintang berkisar lebih kurang 1,0 mm. Berbeda dengan foto kapsul hasil SEM untuk kapsul enkapsulasi

yang tanpa BAL, foto kapsul yang menggunakan probiotik BAL terlihat halus karena sebelum difoto, masing-masing kapsul dilakukan *coating* dengan pelapis logam mulia agar permukaan kapsul tidak terpengaruh efek panas dalam SEM.

KESIMPULAN

1. Konsentrasi natrium alginat (w/v), jenis BAL, dan kelompok mempengaruhi nilai viabilitas sel BAL berurut-urut sebesar 0,097; -0,772; dan -0,269; nilai positif berarti viabilitas sel BAL makin meningkat dan negatif berarti makin menurun digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 10,753 - 0,235X_1 - 1,1007X_2 + 0,085X_3 + E$. Rata-rata viabilitas sel BAL log 9,08 CFU/mL. Rata-rata jumlah tertinggi log 9,67 CFU/mL pada A_3B_1 (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) dan terendah pada A_1B_2 (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermophylus*) sebesar log 8,82 CFU/mL.
2. Konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL mempengaruhi jumlah enkapsul sebesar 0,862; dan -0,300; nilai positif berarti jumlah enkapsul makin meningkat sedangkan negatif berarti makin menurun, digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 363,665 - 3,233X_1 + 5,667X_2 + E$. Rata-rata jumlah enkapsul sebesar 370,17 enkapsul, sedangkan rata-rata jumlah enkapsul tertinggi pada A_3B_1 (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) sebesar 375,33 enkapsul, dan terendah pada A_1B_2 (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermophylus*) sebesar 360,67 enkapsul.
3. Konsentrasi natrium alginat (w/v) dan jenis BAL mempengaruhi massa enkapsul sebesar 0,804; dan -0,185; nilai positif berarti massa enkapsul semakin meningkat dan negatif berarti semakin menurun digambarkan dengan persamaan regresi $Y = 10,052 - 0,413X_1 + 1,103X_2 + E$. Rata-rata enkapsul sebesar 11,637 gram, sedangkan rata-rata massa enkapsul tertinggi pada A_2B_1 (konsentrasi alginat 2% dan jenis BAL *L. bulgaricus*) sebesar 12,659 gram, dan terendah terdapat pada A_1B_2 (konsentrasi alginat 1% dan jenis BAL *S. thermophylus*) sebesar 9,778 gram.
4. Ukuran diameter panjang enkapsul hasil enkapsulasi probiotik BAL berkisar dari yang terpendek 7,5 mm pada A_3B_2 (konsentrasi alginat 3% dan jenis BAL *S. thermophylus*) sampai yang terpanjang 10 mm pada A_2B_2 (konsentrasi alginat 2% dan jenis BAL *S. thermophylus*). Sedangkan diameter melintang berkisar lebih kurang 1,0 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, M.Y., W. Zheng, Q.Y. Dong, Z.H. Li, L.E. Shi, and Z.X. Tang. 2014. Activity of Encapsulated *Lactobacillus bulgaricus* in Alginate-whey Protein Microspheres. *Braz. Arch. Biol. Technol*, 57(5): 736-741.
- Denou, E., R.D. Pridmore, B. Berger, J.M. Panoff, F. Arigoni, and H. Bru'ssow. 2008. Identification of Genes Associated with the Long-Gut-Persistence Phenotype of the Probiotic *Lactobacillus johnsonii* Strain NCC533 Using a Combination of Genomics and Transcriptome Analysis. *J. of Bacteriol.*, 190(9): 3161-3168.
- Drakes, M., T. Blanchard, and S. Czinn. 2004. Bacterial Probiotic Modulation of Dendritic Cells. *Infection and Immunity*, 3299 – 3309.
- Farag, S. D. A., N. H. Aziz and S. A. Attia. 1995. Effect of irradiation on the microbiological status and flavouring materials of selected spices. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 201 (3): 283-288.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in Man and Animals. *Journal Applied Bacteriol*, 66 (5): 365 – 378.
- Gbassi, G. K. and T. Vandamme. 2012. Probiotic Encapsulation Technology: From Microencapsulation to Release into the Gut. *Pharmaceutics*, 4: 149-163.
- Haerberle, S., L. Naegele, R. Burger, F.V. Stetten, R. Zengerle, and J. Durcre'e. 2008. Alginate bead fabrication and encapsulation of living cells under centrifugally induced artificial gravity conditions. *Journal of Microencapsulation*, 25(4): 267 – 274.
- Hattingh, A. L. and B. C. Viljoen. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11: 1–17.
- Homayouni, A., M.R. Ehsani, A. Azizi, M.S. Yarmand, and S.H. Razavi. 2007. Effect of Lecithin and Calcium Chloride Solution on the Microencapsulation Process Yield of Calcium Alginate Beads. *Iranian Polymer Journal*, 16 (9): 597-606
- Hoppenbrouwers, P.M.M. and F.C.M. Driessens. 1988. The Effect of Lactic and Acetic acid on the Formation of Artificial Caries Lesions. *Juornal Dental Research*, 67 (12): 1466 – 1467.
- Jime'nez, E., R. Martín, A. Maldonado, V. Martín, A. G. de Segura, L. Ferná'ndez, and J. M. Rodríguez. 2010. Complete Genome Sequence of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a Probiotic Strain Isolated from Human Milk and Infant Feces. *Journal of Bacteriology*, 5266 – 5267.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, B.H. 2004. The Influence of Coating Materials on Some Properties of Alginate Beads and Survivability of Microencapsulated Probiotic Bacteria. *International Dairy Journal*. 14: 737-743.
- Lotfipour, F., S. Mirzaeei, dan M. Maghsoodi. 2012. Preparation and Characterization of Alginate and Psyllium Beads Containing *Lactobacillus acidophilus*. *The Sci. World J.*, Vol 2012: 1 – 8.
- Ludovico, P., F. Sansonetty, M. T. Silva, and M. Corte-Real. 2003. Acetic Acid Induces a Programmed Cell Death Process in The Food Spoilage Yeast *Zygosaccharomyces bailii*. *FEMS Yeast Research*, 3: 91 – 96.
- Montgomery, D. C. 1991. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

- Nanasombat, S. and N. Sriwong. 2007. Improving Viability of Freeze-Dried Lactic Acid Bacteria Using Lyoprotectants in Combination with Osmotic and Cold Adaptation. *KMITL Sciences Technology Journal* 7 (S1).
- Ozkan, G., dan S.E. Bilek. 2014. Microencapsulation of natural food colourants. *Internt J. of Nutrition and Food Sciences*, 3(3): 145 – 156.
- Salsac, A.V., L. Zhang, and J.M. Gherbezz. 2009. Measurement of Mechanical Properties of Alginate Beads Using Ultrasound. *19`eme Congr`es Franc,ais de M´ecanique Marseille*, 24-28.
- Senok, A. C., A. Y. Ismaeel, and G. A. Botta. 2005. Probiotics: facts and myths. *Clin. Microbiol. Infect.*, 11: 958 – 966.
- Sheu, T.Y., and R.T. Marshall. 1993. Microentrapmenotf Lactobacilliin Galcium Alginate Gels. *J. of Food Science*, 54(3): 557 – 561.
- Snyder, O. P. 1997. *Antimicrobial Effects of Spices and Herbs*. (online) <http://www.hi-tm.com/Documents/Spices.html> diakses 23 Januari 2012.
- Skrinjar, M. M. and N. T. Nemet. 2009. Antimicrobial Effects of Spices and Herbs Essensial Oils. *APTEFF*, 40: 195 – 209.
- Sultana, K., G. Godward, N. Reynolds, R. Arumugaswamy, and P.P.K. Kailasapathy. 2000. Encapsulation of Probiotic Bacteria with Alginate–Starch and Evaluation Of Survival In Simulated Gastrointestinal Conditions And In Yoghurt. *Inter J. of Food Microbiol.*, 62 (2000): 47–55.
- Vidhyalakshmi, R., R. Bhakyaraj and R.S. Subhasree. 2009. Encapsulation “The Future of Probiotics”-A Review. *Advances in Biological Research*, 3 (3-4): 96 – 103.
- Wikstrom, J. 2013. Alginate-Based Microencapsulation and Lyophilization of Human Retinal Pigment Epithelial Cell Line (ARPE-19) for Cell Therapy. *Academic Dissertation*, Faculty of Pharmacy of the University of Helsinki, Finland. (on line), <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/38293/alginate.pdf?sequence=1>. diakses 6 November 2014.
- Zeyrek, F.Y. and E. Oguz. 2005. *In Vitro Activity of Capsaicin Against Helicobacter pylori*. *Annal of Microb.*, 55 (2): 125 – 127.