

## UJI VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM ENKAPSULASI MENGGUNAKAN ALGINAT DAN SUSU SKIM SECARA KERING DINGIN

Michael Vincentius Pratama<sup>1</sup>, Vincentia Irene Meitiniarti<sup>2</sup>, Andreas Binar Aji Sukmana<sup>3</sup>  
Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga, Jawa Tengah  
mv.140696@gmail.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL untuk pembuatan keju, memperbanyaknya dalam kultur murni, serta menentukan *carrier* yang paling tepat untuk membuat inokulan sehingga BAL mampu bertahan hidup lebih lama dan mudah digunakan sebagai *starter* pembuatan keju. Bakteri asam laktat yang diisolasi berasal dari *starter* kering pembuatan keju. BAL yang telah berhasil diisolasi selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan uji *litmus milk*. Hasil uji litmus milk menunjukkan bahwa isolate BAL mampu menggumpalkan protein susu dan membentuk asam. Penelitian ini menggunakan 3 jenis bahan pengkapsul yang digunakan yaitu alginat 2%, campuran alginat 2% dan susu skim 1%, serta susu skim 5%. Tidak terdapat perbedaan nyata viabilitas bakteri asam laktat pada masing-masing bahan pengkapsul. Bahan pengkapsul berupa susu skim memiliki kelarutan yang lebih baik di air dibandingkan dengan bahan pengkapsul berupa alginat. Nilai viabilitas bakteri asam laktat pada enkapsulasi kering dengan masing-masing bahan pengkapsul memiliki nilai viabilitas yang sama, yaitu pada kisaran 24%. Komposisi bahan pengkapsul tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai viabilitas bakteri asam laktat terenkapsulasi kering. Bahan pengkapsul terbaik adalah susu skim 5% dikarenakan memiliki nilai kelarutan yang terbaik sehingga dinilai lebih efektif dalam pengaplikasiannya sebagai *starter* kering pembuatan keju.

**Kata kunci:** bakteri asam laktat, enkapsulasi, *starter culture* keju, viabilitas bakteri asam laktat

### ABSTRACT

*This study aims to isolating lactic acid bacteria (LAB) for cheese making, reproduce it in pure culture, and determine the most appropriate carrier to make inoculants so that LAB can survive longer and be easier to use as a cheese-making starter. The lactic acid bacteria isolated came from a dry cheese starter. LAB which has been successfully isolated is then characterized using the litmus milk test. Litmus milk test results showed that LAB isolates were able to agglomerate milk protein and form acids. This study uses 3 types of encapsulation material, 2% alginate, 2% alginate mixture and 1% skim milk, and 5% skim milk. There was no significant difference in the viability of lactic acid bacteria in each capsule. The encapsulation material in the form of skim milk has better solubility in water compared to the encapsulation material in the form of alginate. The viability value of lactic acid bacteria in dry encapsulation with each capsule has the same viability value, which is in the range of 24%. The composition of the encapsulating material does not have a significant effect on the viability value of dry encapsulated lactic acid bacteria. The best encapsulating ingredient is 5% skim milk because it has the best solubility value so that it is considered more effective in its application as a dry starter in making cheese.*

**Keywords:** lactic acid bacteria, encapsulation, cheese culture starter, viability of lactic acid bacteria

### PENDAHULUAN

Susu merupakan suatu bahan makanan yang mudah sekali untuk membusuk. Mengubah susu menjadi keju atau produk fermentasi susu lainnya merupakan cara yang paling ideal untuk mengawetkan susu dengan tetap menjaga kandungan nutrisi didalamnya. Sudah lama diketahui bahwa susu segar yang belum diproses hanya dapat bertahan beberapa jam dalam kondisi temperatur ruang sedangkan produk susu fermentasi seperti keju dapat disimpan hingga jangka waktu 5 tahun (tergantung pada jenisnya).

Pembuatan keju didasarkan pada pengaplikasian bakteri asam laktat (BAL) dalam bentuk *starter culture* yang terdefinisi atau tidak terdefinisi yang dapat menyebabkan

pengasaman susu secara cepat melalui produksi asam laktat, sehingga terjadi penggumpalan protein susu sebagai konsekuensinya terjadi penurunan pH. Proses fermentasi ini juga mempengaruhi sejumlah aspek dari proses pembuatan keju dan pada akhirnya mempengaruhi komposisi keju dan kualitas keju (Briggiler-Marcó et al., 2007)

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri Gram-positif yang banyak digunakan sebagai starter fermentasi. BAL mengeksresikan asam laktat sebagai produk akhir fermentasi yang berperan sebagai preservasi bahan makanan. Pemanfaatan BAL sebagai *culture starter* telah digunakan untuk berbagai fermentasi produk makanan seperti susu, daging, dan tepung (Magnusson et al., 2002). Seleksi terhadap galur BAL yang akan digunakan sebagai *starter* penting dilakukan untuk mengefektifkan proses fermentasi, meningkatkan kualitas produk akhir, serta aman bagi mikroorganisme lain di dalam tubuh (Stanbury & Whitaker, 1984). Dua kriteria penting yang digunakan untuk seleksi tersebut yaitu kemampuan produksi asam laktat dan sensitivitas antibiotik.

Kriteria BAL yang dapat digunakan sebagai starter kering fermentasi makanan yaitu memiliki viabilitas tinggi setelah proses preservasi dan stabil selama proses penyimpanan (Carvalho et al., 2004). Enkapsulasi telah lama dikenal sebagai teknologi preservasi BAL yang efektif untuk meningkatkan viabilitas sel dan mempertahankannya selama proses penyimpanan (Nazzaro et al., 2009). Proses enkapsulasi merupakan pembungkusan suatu bahan inti dibungkus dengan kapsul (biopolimer) atau membran yang bersifat semipermeabel sehingga inti dapat keluar (*release*) pada kondisi yang terkontrol (Anal & Singh, 2007). Teknik enkapsulasi bakteri asam laktat dapat dilakukan dengan mudah, murah, dan tidak toksik, yaitu menggunakan alginat. Proses enkapsulasi probiotik menggunakan alginat dapat dilakukan dengan teknik ekstrusi atau dengan teknik emulsi yang akan membentuk jel hidrokoloid (kalsium alginat) berbentuk manik-manik (*beads*). Diantara kedua teknik tersebut, ekstrusi merupakan teknik yang lebih sederhana dan membutuhkan biaya yang lebih rendah (Krasaekoopt et al., 2003).

Bahan pengisi yang digunakan sebagai bahan pengkapsul adalah biopolimer berbasis protein, salah satunya yaitu susu skim bubuk (*skim milk powder/SMP*). Penggunaan bahan pengisi berbasis protein diharapkan meningkatkan daya tahan sel lebih baik selama proses pengeringan serta menghasilkan BAL terenkapsulasi dalam bentuk kering untuk *starter* kering susu fermentasi yang bersifat *fast release* dan memiliki kemampuan aktivitas fermentasi yang tinggi (Adrianto, 2011).

Jenis atau bentuk starter yang umum digunakan untuk membuat susu fermentasi adalah starter cair (*bulk starter*) berupa BAL tunggal maupun kombinasi beberapa BAL. Namun, selama ini penggunaan starter cair memiliki beberapa kendala, yaitu menurunnya viabilitas dan kinerja starter selama proses penyimpanan, sehingga harus selalu dilakukan peremajaan kultur (*reactivation*). Salah satu cara mengatasi permasalahan pada starter cair adalah dengan memberikan perlindungan terhadap sel bakteri dalam bentuk kering. Teknik melindungi sel bakteri adalah melalui enkapsulasi menggunakan bahan pengkapsul (*enkapsulan*) yang mampu melindungi sel dari kondisi lingkungan yang menyebabkan

viabilitas sel menurun. Selain itu, enkapsulasi bakteri untuk menghasilkan starter dalam bentuk kering akan memudahkan dalam penggunaan dan pengemasan serta meningkatkan umur simpan starter (Krasaekoopt et al., 2003). Dipasaran umum starter culture untuk pembuatan keju berupa starter kering umumnya memiliki harga yang cukup mahal dan sulit untuk didapat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BAL untuk pembuatan keju, memperbanyaknya dalam kultur murni, serta menentukan *carrier* yang paling tepat untuk membuat inokulan sehingga BAL mampu bertahan hidup lebih lama dan mudah digunakan sebagai *starter* pembuatan keju.

## METODE

1. Isolasi bakteri asam laktat dari *starter culture* pembuat keju
  - 1 ose *starter culture* dilarutkan dengan garam fisiologis steril. Larutan *starter culture* selanjutnya ditanamkan pada media *nutrient*. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama semalam. Koloni yang diduga sebagai BAL memiliki ciri morfologi: berwarna putih, bulat dan tepiannya jelas.
2. Pengkarakterisasian isolat

Kultur yang telah diinkubasi selama semalam selanjutnya dilakukan pengecatan gram dan diamati dibawah mikroskop. Untuk pegujian selanjutnya isolate yang diduga sebagai bakteri asam laktat diuji dengan metode *litmus milk test*
3. Perbanyakkan kultur (produksi biomassa)
  - a. Pembuatan pre-kultur

Medium yang digunakan adalah medium *nutrient broth*. 25 mL medium *nutrient broth* disiapkan di dalam Erlenmeyer 100 mL. medium kemudian disterilisasi dengan *autoclave* selama 20 menit. Biakan bakteri asam laktat yang telah diremajakan sebelumnya diambil sebanyak seujung kecil ose dan diinokulasikan pada medium pre-kultur yang telah disiapkan. Medium kemudian dishaker selama semalam pada kecepatan 100 RPM dan pastikan suhu ruangan cukup hangat untuk pertumbuhan bakteri ( $\pm 35^{\circ}\text{C}$ ).
  - b. Inokulasi pre-kultur ke medium baru

Biakan pre-kultur yang telah ditumbuhkan selama semalam selanjutnya diukur nilai ODnya pada panjang gelombang 600 nm, bila nilai OD yang didapat lebih dari 1 maka biakan perlu diencerkan agar hasil yang didapat lebih akurat. Biakan pre-kultur selanjutnya diinokulasikan kedalam medium baru yang telah steril dengan jumlah tertentu tergantung pada konsentrasi biakan pre-kultur. Medium selanjutnya diinkubasi sambil dishaker dengan kecepatan 100 RPM selama 7 jam dan pastikan suhu ruangan *shaker* cukup ideal untuk pertumbuhan bakteri ( $\pm 35^{\circ}\text{C}$ ).
  - c. Pembuatan suspensi sel dengan nilai OD 10

Biakan yang telah diinkubasi selama 7 jam di ukur nilai OD nya pada panjang gelombang 600 nm, bila nilai OD yang didapat lebih dari 1 maka kultur perlu terlebih dahulu diencerkan agar nilai OD yang didapat lebih akurat. Kultur selanjutnya ditingkatkan konsentrasinya dengan cara sentrifugasi hingga didapatkan suspensi sel dengan nilai OD 10.
4. Proses enkapsulasi isolat

Pembuatan starter culture ini menggunakan bahan *carrier* susu skim sedangkan untuk pelindungnya digunakan alginat. Penelitian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

**Tabel 1.** Perlakuan enkapsulasi

| Perlakuan        | Alginat 2%         |                    | Alginat – susu skim<br>(alginat 2% : susu skim 1%) |                    | Susu skim 5%       |                    |
|------------------|--------------------|--------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|
|                  | Dengan isolat      | Tanpa isolat       | Dengan isolat                                      | Tanpa isolat       | Dengan isolat      | Tanpa isolat       |
| Lemari es 3 hari | 3 kali pengulangan | 3 kali pengulangan | 3 kali pengulangan                                 | 3 kali pengulangan | 3 kali pengulangan | 3 kali pengulangan |

- a. Pencampuran isolat dengan susu skim
 

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan maka didapat bahwa konsentrasi susu skim yang digunakan adalah 5% karena pada konsentrasi ini larutan susu skim yang dikeringkan membentuk kristal yang terbaik. Susu skim ditimbang sebanyak 0.045 gram dengan menggunakan neraca analitik agar menunjukkan angka yang akurat. Susu skim kemudian dilarutkan dengan menggunakan 9 mL akuades. Suspensi susu skim dicampur dengan suspensi sel dengan perbandingan 9:1. 9 mL suspensi susu skim dicampur dengan 1 mL suspensi sel.
- b. Enkapsulasi isolat dengan alginat
  - 1) Persiapan suspensi biopolimer
 

Konsentrasi alginat yang digunakan adalah 2% (m/v). Sebanyak 0.2 gram natrium alginat ditimbang dengan menggunakan neraca analitik untuk mendapatkan hasil yang akurat. Alginat dilarutkan di wadah beaker glass dengan 10 mL akuades. Suspensi biopolimer selanjutnya dicampur dengan suspensi sel dengan perbandingan suspensi biopolimer dan suspensi sel 9:1.
  - 2) Pembuatan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M dingin
 

Sebanyak 1,11 gram kristal  $\text{CaCl}_2$  dilarutkan ke dalam 100 mL akuades dalam wadah beaker glass, lalu disimpan di dalam lemari es hingga cukup dingin.
  - 3) Pembuatan *beads*

Suspensi biopolimer-sel dimasukkan ke dalam *syringe* yang telah disterilisasi dengan alkohol lalu suspensi diteteskan ke dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M dingin yang telah disiapkan sebelumnya. Suhu larutan  $\text{CaCl}_2$  dipertahankan dingin dengan cara meletakkan es batu di sekitar wadah  $\text{CaCl}_2$ . Pengerasan jel dilakukan selama 30 menit di dalam lemari es. *Beads* kemudian disaring menggunakan saringan bersih dan dibilas menggunakan NaCl 0,85% yang telah disterilisasi. *Beads* basah kemudian diletakkan dalam cawan petri steril
- c. Enkapsulasi isolat dengan alginat dan dengan *filler* susu skim
  - 1) Persiapan suspensi biopolimer
 

Konsentrasi alginat yang digunakan adalah 2% (m/v) dan *filler* sebanyak 1% (m/v). Sebanyak 0.2 gram natrium alginat dan 0.1 gram susu skim ditimbang

dengan menggunakan neraca analitik untuk mendapatkan hasil yang akurat. Alginat dan susu skim dilarutkan di wadah beaker glass dengan 10 mL akuades. Suspensi biopolimer selanjutnya dicampur dengan suspense sel dengan perbandingan suspense biopolimer dan suspense sel 9:1.

2) Pembuatan larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M dingin

Sebanyak 1,11 gram kristal  $\text{CaCl}_2$  dilarutkan ke dalam 100 mL akuades dalam wadah beaker glass, lalu disimpan di dalam lemari es hingga cukup dingin.

3) Pembuatan beads

Suspensi biopolimer-sel dimasukan ke dalam *syringe* yang telah disterilisasi dengan alkohol lalu suspensi diteteskan ke dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  0,1 M dingin yang telah disiapkan sebelumnya. Suhu larutan  $\text{CaCl}_2$  dipertahankan dingin dengan cara meletakkan es batu di sekitar wadah  $\text{CaCl}_2$ . Pengerasan jel dilakukan selama 30 menit di dalam lemari es. Beads kemudian disaring menggunakan saringan bersih dan dibilas menggunakan NaCl 0,85% yang telah disterilisasi. Beads basah kemudian diletakkan dalam cawan petri steril

5. Pengujian viabilitas BAL pada kapsul dengan berbagai perlakuan

*Beads* basah yang telah didapat selanjutnya diletakan pada cawan petri dengan perlakuan diletakan di lemari es selama 3 hari tiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

6. Perhitungan jumlah sel pada beads basah

Jumlah sel yang terenkapsulasi di dalam beads dihitung dengan metode berikut: Sebanyak 1 gram beads basah (1 mL untuk enkapsulasi dengan susu skim) disuspensikan ke dalam 9 ml garam fisiologis yang telah disiapkan sebelumnya (pengenceran  $10^{-1}$ ) lalu divorteks selama beberapa menit hingga beads hancur dan diencerkan berseri menggunakan garam fisiologis sampai pengenceran  $10^{-7}$ . Setelah itu larutan dengan tingkat pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  diambil sebanyak 0,1 mL dan dilakukan pemupukan dalam M17 agar dengan masing-masing 3 kali pengulangan kemudian dinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ , untuk selanjutnya dihitung CFU.

7. Perhitungan jumlah sel pada beads kering

Jumlah sel yang terenkapsulasi pada beads kering dihiung dengan cara sebagai berikut: beads kering sebanyak 0,05 gram disuspensikan dalam 10 ml garam fisiologis yang telah disiapkan sebelumnya (pengenceran  $10^{-1}$ ) lalu divorteks selama beberapa menit hingga beads hancur dan diencerkan berseri menggunakan garam fisiologis sampai pengenceran  $10^{-7}$ . Setelah itu larutan dengan tingkat pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  diambil sebanyak 0,1 mL dan dilakukan pemupukan dalam M17 agar dengan masing-masing 3 kali pengulangan kemudian dinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ , untuk selanjutnya dihitung CFU. Nilai viabilitas bakteri dihitung dengan rumus berikut

$$\text{Nilai Viabilitas}(\%) = \frac{\text{CFU setelah pengeringan}}{\text{CFU sebelum pengeringan}} \times 100\%$$

## HASIL



Gambar 1. Koloni bakteri yang diduga sebagai bakteri asam laktat



Gambar 2. Hasil pengamatan bakteri yang diduga sebagai bakteri asam laktat di bawah mikroskop

Bakteri asam laktat yang akan digunakan sebagai suspensi sel dalam penelitian ini diisolasi dari *starter culture* kering pembuatan keju. *Starter culture* kering terlebih dahulu dilarutkan pada medium NB untuk mengaktifkan bakterinya lalu selanjutnya diinokulasikan pada medium. Isolat yang diduga sebagai bakteri asam laktat perlu diidentifikasi dengan pengecatan gram dan diamati dibawah mikroskop. Terlihat pada Gambar 2. isolat yang diamati tampak berwarna ungu dan memiliki bentuk bulat/*coccus*.

Isolat yang telah didapat perlu dipastikan bahwa mikroorganisme yang ada merupakan spesies *Lactococcus sp.* yang berperan penting dalam pembuatan keju. Metode yang digunakan untuk mengkonfirmasi spesies mikroorganisme yang didapat adalah dengan metode *litmus milk test* dengan metode ini dapat diketahui kemampuan bakteri dalam mensekresikan asam laktat dan reaksinya terhadap susu. Berdasarkan hasil *litmus milk test* terlihat susu menggumpal dan berubah warna dari ungu menjadi merah muda yang menandakan bahwa mikroorganisme tersebut menghasilkan asam dan mampu memetabolisme protein susu terlihat dari pembentukan *curd* serta *supernatant* yang bening.



Gambar 3. Media *Litmus milk test* sebelum diinkubasi setelah diinokulasikan isolat



Gambar 4. Hasil *litmus milk test* setelah diinkubasi selama 24 jam

Sebelum mempersiapkan suspensi biopolimer, terlebih dahulu mempersiapkan suspensi sel yang akan digunakan untuk enkapsulasi. Konsentrasi sel awal perlu ditingkatkan untuk meningkatkan viabilitas sel selama proses enkapsulasi dan pengeringan (Mortazavian, Razavi, Ehsani, &

Sohrabvandi, 2007). Konsentrasi sel yang tinggi dapat diperoleh dengan cara sel terlebih dahulu ditumbuhkan sampai pada kondisi optimum selanjutnya disentrifugasi sampai didapat konsentrasi sel yang diinginkan (Rokka & Rantamäki, 2010). Metode peningkatan konsentrasi sel dengan metode sentrifugasi umumnya banyak dilakukan pada skala industri dalam proses pembuatan *starter* susu fermentasi (Makinen and Bigret, 2004)



Gambar 5. Enkapsulasi isolat dengan alginat



Gambar 6. Enkapsulasi isolat dengan alginat + *filler* (susu skim)



Gambar 7. Enkapsulasi isolat dengan susu skim

Karakteristik dari beads alginat akan sangat ditentukan oleh komposisi biopolimer yang digunakan. Menurut Sandoval-Castilla *et al.*, (2010) komposisi biopolimer yang digunakan dalam proses enkapsulasi akan mempengaruhi diameter dan bentuk beads yang dihasilkan. Selain itu, komposisi biopolimer juga akan mempengaruhi viabilitas probiotik yang dienkapsulasi. Biopolimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah sodium alginat dengan bahan pengisi berbasis protein berupa *skim milk powder*. Penggunaan bahan pengisi (*filler*) berupa protein bertujuan untuk melindungi bakteri probiotik selama proses pengeringan beads.

Penggunaan susu skim sebagai bahan pengkapsul dalam proses enkapsulasi masih termasuk jarang digunakan. Susu skim mempunyai banyak kelebihan diantaranya memiliki partikel dengan bentuk yang baik, memiliki efisiensi enkapsulasi yang tinggi bila dibandingkan dengan enkapsulasi dengan alginat (Bayram, Bayram, & Teki, 2007), serta susu skim akan mengisi ruang (pori-pori) yang terbentuk pada matriks na-alginat, sehingga mengurangi kontak langsung antara sel dengan udara (oksigen) selama proses pengeringan (Triana, Yulianto, & Nurhidayat, 2006). Susu skim juga merupakan salah satu bahan berbasis protein yang sering digunakan sebagai pelindung sel dari panas (*thermoprotectant*) selama proses enkapsulasi dengan teknik *spray dryer* (Triana, Yulianto, & Nurhidayat, 2006).

Menurut penelitian Adrianto (2011), perbandingan 2:1 pada bahan filler (*skim milk powder*) adalah komposisi yang optimum untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya. Hal ini dikarenakan rendemen pada perbandingan alginat-filler 2:1 tidak berbeda nyata dengan perbandingan 3:1 dan menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan perbandingan alginat-filler 1:1. Selain itu, filler yang digunakan pada perbandingan 2:1 juga memiliki konsentrasi lebih banyak dibandingkan 3:1, sehingga filler yang lebih banyak kemungkinan dapat lebih baik melindungi probiotik saat pengeringan. Selain itu, perlakuan dengan perbandingan alginat-filler 2:1 memiliki ukuran beads yang lebih kecil dibandingkan 3:1. Ukuran beads yang lebih kecil kemungkinan memiliki proses fermentasi dan pengeringan yang lebih cepat. Konsentrasi natrium alginat yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2% (b/b). Konsentrasi ini tergolong ideal sebagai pelindung dari sel probiotik yang akan digunakan sebagai starter dalam pembuatan keju



Gambar 7. Enkapsulasi isolat dengan alginat setelah dikeringkan selama 3 hari di lemari es.



Gambar 8. Enkapsulasi isolat dengan alginat-susu skim setelah dikeringkan selama 3 hari di lemari es



Gambar 9. Enkapsulasi isolat dengan susu skim setelah dikeringkan selama 3 hari di lemari es

Pada tahapan penelitian pembuatan starter kering, proses enkapsulasi menggunakan alginat dan susu skim dilanjutkan dengan proses pengeringan untuk mendapatkan sel terenkapsulasi dalam bentuk kering. Beads tersebut dikeringkan dengan cara diletakkan di lemari es selama 3 hari. Pengeringan menggunakan lemari es dinilai lebih murah dan mudah dibandingkan pengeringan menggunakan alat *freeze dryer* atau *spray dryer*. Pada tahapan penelitian ini, proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan lemari es dengan suhu sekitar 8 °C. Bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik pada rentang suhu 25 – 45 °C, sedangkan pada suhu yang lebih rendah daripada itu bakteri asam laktat masih hidup dan tumbuh hanya saja pertumbuhannya sangat lambat atau bersifat non-aktif

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Viabilitaas dan Efisiensi Enkapsulasi dengan berbagai Perlakuan

| Perlakuan                 | Jumlah koloni beads basah ( $10^8$ koloni) | Jumlah koloni dalam beads kering ( $10^8$ koloni) | Viabilitas sel terenkapsulasi (%) |
|---------------------------|--|---|-----------------------------------|
| Alginat 2%                | 233.4                                      | 55.8  | 23.9                              |
| Alginat - susu skim (2:1) | 242.8                                      | 58.8  | 24.2                              |
| Susu skim 5%              | 296.4                                      | 73.6  | 24.8                              |

**Tabel 3.** Hasil Analisis Data dengan Menggunakan Uji One-Sample T-Test

| Test Value = 24                           |       |    |                 |                 |        |        |
|---|-------|----|-----------------|-----------------|--------|--------|
| 95% Confidence Interval of the Difference |       |    |                 |                 |        |        |
|   | t     | Df | Sig. (2-tailed) | Mean Difference | Lower  | Upper  |
| Data                                      | 1.134 | 2  | .374            | .30000          | -.8384 | 1.4384 |

Berdasarkan hasil yang tertera pada Tabel 2, menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri asam laktat terenkapsulasi yang signifikan selama proses pengeringan berlangsung. Penurunan jumlah sel yang cukup signifikan (>75%) antara enkapsulasi basah dan setelah pengeringan terjadi pada seluruh perlakuan enkapsulasi baik dengan alginat maupun tidak. Pengaruh komposisi bahan pengkapsul yang digunakan tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel terenkapsulasi. Pada Tabel 3. Terlihat bahwa Masing-masing perlakuan enkapsulasi memiliki nilai viabilitas yang seragam yaitu senilai 24%. Tiap perlakuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan ( $p > 0.05$ ).

Penurunan jumlah sel terenkapsulasi kemungkinan diakibatkan karena hilangnya air yang merupakan komponen utama sel yang sangat dibutuhkan pada proses metabolisme. Selain itu, penurunan jumlah sel juga mungkin karena sel terpapar oksigen dari udara di

dalam lemari es. Oksigen merupakan racun bagi bakteri asam laktat karena akan membentuk senyawa hidrogen peroksida. Senyawa ini mampu berdifusi melintasi membran sel dan menyebabkan kerusakan oksidatif pada membran lipid, enzim dan DNA (Talwalkar & Kailasapathy, 2004). Untuk melindungi sel dari paparan oksigen diperlukan penambahan bahan berjenis *oxygen scavengers* berupa *L-ascorbic acid* atau *L-cysteine hydrochloride* (Talwalkar & Kailasapathy, 2004). Menurut Homayouni *et al.*, (2008) dalam penilitan yang dilakukannya penambahan bahan *L-cysteine hydrochloride* melindungi bakteri asam laktat lebih baik dibandingkan dengan penambahan *L-ascorbic acid* . oleh karena itu diperlukan adanya penambahan *L-cysteine hydrochloride* sebanyak 0.05% kedalam bahan pengkapsul.

Faktor lain yang menyebabkan penurunan jumlah sel yang signifikan adalah konsentrasi bahan pengkapsul yang relative sedikit (2% alginat ; 5% susu skim). Rendahnya konsentrasi bahan pengkapsul membuat daya tahan bakteri menurun, hal ini disebabkan karena rendahnya konsentrasi bahan pengkapsul berarti ikut menurunnya kadar protein pada bahan pengkapsul. Protein berfungsi untuk melindungi sel selama proses pengeringan. Triana *et al.*, (2006) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa enkapsulasi bakteri asam laktat dengan menggunakan susu skim 10% memiliki nilai viabilitas yang lebih baik dibandingkan enkapsulasi dengan menggunakan bahan pengkapsul susu skim 5%.

Salah satu syarat utama *starter* kering pembuatan keju adalah mudah untuk pengaplikasiannya. Berdasarkan kemudahan pengaplikasiannya, enkapsulasi kering dengan bahan pengkapsul berupa susu skim 5% merupakan yang paling mudah untuk diaplikasikan. Hal ini dikarenakan enkapsulasi kering dengan bahan pengkapsul berupa susu skim 5% menjadi bahan pengkapsul yang paling mudah larut di air, diikuti dengan bahan pengkapsul berupa alginat dengan bahan pengisi susu skim, dan bahan pengkapsul berupa alginat tanpa bahan pengisi menjadi yang paling sulit untuk larut di air. Bahan pengkapsul yang mengandung susu umumnya lebih mudah larut, dikarenakan susu memiliki kandungan laktosa yang merupakan suatu bahan yang mudah larut di air. Laktosa mampu larut sekitar 50 gram per 100 gram air (Fox *et al.*, 2015). Bahan pengkapsul berupa susu skim akan lebih mudah larut dibandingkan bahan pengkapsul berupa alginat oleh karena itu sel bakteri yang terenkapsulasi susu skim akan lebih cepat *release* dibandingkan dengan sel bakteri yang terenkapsulasi alginat.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pengaruh komposisi bahan pengkapsul tidak memberikan pengaruh terhadap nilai viabilitas sel terenkapsulasi. Nilai viabilitas bakteri asam laktat terenkapsulasi kering dengan berbagai perlakuan bahan enkapsulasi memiliki nilai viabilitas yang hampir seragam yaitu berada pada kisaran 24%. Berdasarkan kemudahan pengaplikasiannya, *starter* kering terenkapsulasi susu skim 5% merupakan yang terbaik, hal ini dikarenakan enkapsulasi kering dengan susu skim merupakan yang paling mudah untuk larut di cairan.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Saya mengucapkan terimakasih pertama-tama kepada Tuhan Yesus Kristus oleh karena-Nya tugas akhir saya ini dapat selesai dengan baik, kepada Ibu Irene dan Bapak Andreas selaku pembimbing tugas akhir saya yang telah banyak membantu dengan pikiran, tenaga, serta waktunya. Ucapan terimakasih juga saya berikan kepada orang tua dan

keluarga saya yang dari jauh selalu menyemangati dan tanpa lelah memberikan bantuan berupa moril dan material. Terimakasih kepada Kak Kristi yang selalu setia mendampingi dalam penelitian maupun saat penyusunan *paper*. Kepada teman-teman yang juga selalu memberikan dukungan saya ucapkan terimakasih. Sekali lagi terimakasih kepada pihak lain yang telah membantu terhadap keberhasilan tugas akhir saya.

## DAFTAR RUJUKAN

- Adrianto, A. (2011). *Enkapsulasi Lactobacillus casei dengan Teknik Ekstrusi Sebagai Starter Untuk Pembuatan Dadih Susu Sapi*.
- Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*, 18(5), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004>
- Bayram, Ö. A., Bayram, M., & Teki, A. R. (2007). Whey Powder As a Carrier in Spray Drying of Sumac Concentrate. *Journal of Food Process Engineering*, 31(2008), 105–119.
- Briggiler-Marcó, M., Capra, M. L., Quiberoni, A., Vinderola, G., Reinheimer, J. A., & Hynes, E. (2007). Nonstarter lactobacillus strains as adjunct cultures for cheese making: In vitro characterization and performance in two model cheeses. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4532–4542. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0180>
- Carvalho, A. S., Silva, J., Ho, P., Teixeira, P., Malcata, F. X., & Gibbs, P. (2004). Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 14(10), 835–847. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.001>
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H., & O'Mahony, J. A. (2015). Dairy chemistry and biochemistry, second edition. In *Dairy Chemistry and Biochemistry, Second Edition*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>
- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., & Razavi, S. H. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.036>
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13(1), 3–13. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00155-3)
- Magnusson, J., Jonsson, H., Schnürer, J., & Roos, S. (2002). Weissella soli sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 831–834. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02015-0>
- Mortazavian, A., Razavi, S. H., Ehsani, M. R., & Sohrabvandi, S. (2007). Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *IRANIAN JOURNAL of BIOTECHNOLOGY*, 5(1), 1–18.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A., & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated Lactobacillus acidophilus and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 319–323. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.02.001>
- Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1246-2>
- Salminen, S., Wright, A. von, & Ouwehand, A. (2004). Lactic acid Bacteria: Microbiology and

- Functional Aspects, 2nd edn. In *International Journal of Food Science and Technology* (Vol. 33). <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1998.33201914.x>
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., García-Galindo, H. S., Alvarez-Ramírez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2010). Textural properties of alginate-pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Food Research International*, 43(1), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.010>
- Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2004). *Role of Oxygen in the viability of probiotic bacteria*. 1–8.
- Triana, E., Yulianto, E., & Nurhidayat, N. (2006). Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar 8 Terenkapsulasi. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, 7(2), 114–117. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d070204>