



Enkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 Menggunakan Alginat dan Susu Skim Metode Emulsi Serta Pengaruhnya Terhadap Viabilitas Sel Pada Berbagai Suhu dan pH

^{1*}Rahmawati, I, ²Firsta, N.C, ³Purwandhani, S.N, ⁴Suladra, M.

^{1,2,3,4} Universitas Widyamatarem, Alamat Instansi

*e-mail korespondensi: siti_nurp@yahoo.com

Article Info	Abstract
<p>Keywords: Encapsulation, <i>Lactobacillus acidophilus</i> SNP 2, viability, temperature, pH</p>	<p><i>The encapsulation technique is a process of protecting cells so they avoid damage and death. The purpose of this study was to determine the number of cells trapped in the microcapsule and to determine the effect of high temperature and low pH on encapsulated cell viability. The encapsulation technique was carried out using one layer method (alginate) and a two-layer method (alginate and skim milk). The obtained microcapsules were then counted for the number of cells and analyzed for their resistance to temperatures of 50, 60, and 70°C as well as to pH 3, 4, and 5. The results showed that the number of cells encapsulated by the one-layer method was 2.4×10^{10} CFU/g, whereas the two-layer method was 1.3×10^{10} CFU/g. Based on the results of the analysis of the resistance of encapsulants to high temperatures, it is known that encapsulated cells are more resistant than cells that are not encapsulated. At 70°C, the encapsulated cells using the one-layer method and the two-layer method had the same number of 1.1×10^7 CFU/g, while the cells that were not encapsulated were <101 CFU/g. The analysis results show that encapsulated cells are more resistant to low pH (pH 3). The number of encapsulated cells at pH 3 with the one-layer method was 3.5×10^6 CFU/g and with the two-layer method was 4.3×10^8 CFU/g, while the cells that were not encapsulated were 3.9×10^2 CFU/g.</i></p>
Info Artikel	Abstrak
<p>Kata Kunci: Enkapsulasi, <i>Lactobacillus acidophilus</i> SNP 2, viabilitas, suhu, pH</p>	<p>Teknik enkapsulasi merupakan proses perlindungan sel sehingga terhindar dari kerusakan dan kematian. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jumlah sel yang terperangkap pada mikrokapsul serta mengetahui pengaruh suhu tinggi dan pH rendah terhadap viabilitas sel enkapsulan. Teknik enkapsulasi dilakukan dengan metode satu lapis (alginat) dan metode dua lapis (alginat dan susu skim). Mikrokapsul yang telah didapat kemudian dihitung jumlah selnya dan dianalisa ketahanannya terhadap suhu 50, 60, dan 70°C serta terhadap pH 3, 4, dan 5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel enkapsulan metode satu lapis adalah $2,4 \times 10^{10}$ CFU/g, sedangkan metode dua lapis adalah $1,3 \times 10^{10}$ CFU/g. Berdasarkan hasil analisa ketahanan enkapsulan terhadap suhu tinggi diketahui bahwa sel yang dienkapsulasi lebih tahan dibandingkan sel yang tidak dienkapsulasi. Pada suhu 70°C, sel enkapsulan metode satu lapis dan dengan metode dua lapis memiliki jumlah yang sama $1,1 \times 10^7$ CFU/g, sedangkan sel yang tidak dienkapsulasi berjumlah < 101 CFU/g. Hasil analisa menunjukkan sel yang dienkapsulasi lebih tahan terhadap pH rendah (pH 3). Jumlah sel enkapsulan pada pH 3 metode satu lapis adalah $3,5 \times 10^6$ CFU/g dan dengan metode dua lapis adalah $4,3 \times 10^8$ CFU/g, sedangkan sel yang tidak dienkapsulasi berjumlah $3,9 \times 10^2$ CFU/g.</p>



1. PENDAHULUAN

Bakteri Asam Laktat (BAL) memiliki peranan penting pada kehidupan manusia, baik melalui keterlibatannya pada fermentasi makanan maupun kemampuannya tumbuh pada jalur intestin. Pada fermentasi makanan, selain memberikan rasa yang khas, bakteri ini juga dapat memperpanjang daya awet karena asam dan metabolit lain yang dihasilkan selama fermentasi berlangsung dapat menghambat bakteri pembusuk dan bakteri patogen. Bakteri asam laktat juga berpotensi sebagai agensia probiotik karena dapat memberikan efek positif terhadap kesehatan tubuh melalui kemampuannya menekan pertumbuhan patogen intestin penyebab diare serta menstimulasi sistem imun (Ray, 1996).

Beberapa strain BAL berpotensi sebagai agensia probiotik misalnya *Bifidobacterium*, *L. reuteri*, dan *L. acidophilus*. Sebagai probiotik, BAL dapat ditambahkan dalam makanan atau dikonsumsi langsung (Fuller, 1989). Saat ini istilah probiotik lebih diartikan sebagai konsumsi mikrobial hidup sebagai aditif makanan untuk meningkatkan kesehatan. Pengaplikasian probiotik pada makanan perlu mempertimbangkan beberapa hal, diantaranya adalah ketahanannya selama proses dan penyimpanan agar sel tetap memiliki viabilitas tinggi. Salah satu cara yang digunakan untuk mempertahankan viabilitas probiotik adalah dengan bioenkapsulasi probiotik. Bioenkapsulasi merupakan suatu teknik pemisahan sel bakteri dari kondisi lingkungan yang ekstrim sehingga aktivitas dan viabilitasnya optimum.

Penelitian ini ditujukan untuk mempertahankan viabilitas sel, meliputi produksi biomassa agensia probiotik menggunakan media air kelapa dan ekstrak kecambah, serta mempelajari teknik enkapsulasi sel menggunakan metode emulsi satu lapis menggunakan alginat dan dua lapis menggunakan alginat dan protein (susu skim). Sel enkapsulasi yang dihasilkan diuji pada suhu tinggi dan pH rendah lalu dilakukan uji viabilitas sel. Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus acidophilus* SNP 2. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 memiliki potensi sebagai probiotik (Purwandhani & Suladra, 2003). Penelitian ini menggunakan pelapis enkapsulan alginat dan susu skim karena alginat dan susu skim mempunyai kelebihan yaitu aman sebagai bahan tambahan makanan. Tujuan penelitian ini adalah: mempelajari teknik enkapsulasi untuk meningkatkan daya tahan sel probiotik *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 terhadap suhu tinggi dan pH rendah, sehingga viabilitas sel tetap dapat dipertahankan serta menguji viabilitas sel probiotik yang telah dienkapsulasi terhadap suhu tinggi dan pH rendah.

2. METODE PENELITIAN

Bahan

Kultur bakteri yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* SNP 2, yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas UGM Yogyakarta. Bahan – bahan yang digunakan untuk enkapsulasi adalah Susu Skim (*Lactona skim*) dan alginat. Medium yang digunakan untuk pembuatan stok kultur adalah medium *Peptone Glucose and Yeast Extract* (PGY). Komposisi media PGY cair per 100 ml adalah glukosa 1 %, yeast ekstrak 1 %, pepton 0,5 %, larutan Tween 80 1 %, larutan mineral 0,5 % ($MgSO_4$



7H₂O 40 mg/ml, MnSO₄ 4H₂O 2 mg/ml. FeSO₄ 7H₂O 2 mg/ml, dan NaCl 2 mg/ml) dan Na asetat trihidrat 0,2 %. Bahan yang digunakan untuk produksi biomassa yaitu air kelapa, ekstrak taoge dan glukosa. Minyak salad dan tween 80 digunakan pada proses emulsifikasi. Bahan kimia pendukung yang digunakan adalah NaCl, Larutan buffer, CaCO₃, CaCl₂, Gliserol, NaOH, HCl.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi inkubator (*Berkaf Mediatama*), autoclave (*Hirayama & portable*), sentrifuge (*Heareus*), pH-meter, timbangan analitik (*Mettler PM 4600 Delta Range*), vortex mode select type 37600 mixer, freezer (*Decby*), water bath, oven pengering (*Heareus*), Colony counter (*Quebec*), almari pendingin, laminar air flow (*Gelaire*), stomacher 80 (*Seward*), hot plate (*Tika Labortechnik*), sterilisator kering (*Fisher Scientific*), inkubator (*Memmert*), cool room, mikroskop, dan lain-lain. Peralatan gelas dan peralatan lain yang mendukung antara lain cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, eppendorf, conical, corong, pipet ukur, magnetic stirrer, kaca benda, ose, transferpet.

Metode Penelitian

Pembuatan Media Air Kelapa dan Ekstrak Taoge

Air kelapa disaring dengan kapas dan kertas saring, sehingga dihasilkan air kelapa bersih. Pembuatan ekstrak taoge dilakukan dengan perebusan kacang hijau (*Phaseolus radiatus L.*) pada 200 ml air hingga mendidih selama 20 menit, selanjutnya disaring menggunakan kapas dan kertas saring. Air kelapa dan ekstrak taoge yang didapatkan dicampur dan ditambah glukosa, kemudian diatur hingga pH 6,5. Media tersebut kemudian disterilisasi dan didinginkan.

Produksi Biomassa

Sebanyak 5 ml kultur *Lactobacillus acidophilus SNP 2* dalam PGY cair umur 18 jam diinokulasikan ke dalam 80 ml medium air kelapa dan ekstrak taoge yang ditambahkan ekstrak yeast dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Selanjutnya kultur tersebut diinokulasikan ke dalam 800ml media yang sama dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Sel dipanen dengan cara sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm dan dilakukan pencucian sel sebanyak dua kali menggunakan NaCl 0,85%, sehingga diperoleh pelet basah.

Pembuatan Mikroenkapsulasi

Pembuatan mikroenkapsulan dilakukan dengan pencampuran suspensi sel dalam 10 ml saline water untuk metode satu lapis, sedangkan untuk metode dua lapis dilakukan pencampuran suspensi sel pada 5 ml larutan susu skim : 5 ml saline water, lalu ditambahkan dengan 60 ml larutan alginat 3% (b/v). Masing-masing campuran tersebut kemudian ditambah dengan 100 ml minyak salad yang mengandung 1% Tween 80 dan dihomogenisasi menggunakan magnetic stirrer. Larutan CaCl₂ (150 ml) ditambahkan secara cepat namun dengan hati-hati turun dari sisi beaker hingga emulsi pecah. Setelah terbentuk bead kalsium alginat dalam waktu 10 menit, bead diambil dengan sentrifugasi 3500 rpm lalu dicuci

dengan *saline water*. Mikrokapsul yang terbentuk disimpan dalam larutan NaCl 0,8 % pada suhu 4°C.

Analisa Viabilitas

Enumerasi Bakteri

Enumerasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate*. Kultur media cair diencerkan dengan saline water steril sampai pengenceran 10⁹, dari tiap pengenceran diambil 1 ml dan diletakkan pada cawan Petri, selanjutnya PGY Agar cair (suhu ± 50°C) dituang dan ditunggu hingga memadat. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 hari hingga muncul koloni-koloni BAL di bawah permukaan agar.

Penghitungan Jumlah Sel dalam Mikrokapsul

5 g mikrokapsul yang dimasukkan dalam larutan buffer pH 7 dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua mikrokapsul larut. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sel pada mikrokapsul dengan metode plating.

Pengujian Resistensi Sel dalam Mikrokapsul Pada Suhu Tinggi

1 g mikrokapsul dilarutkan dalam 9 ml buffer fosfat steril 9, kemudian dipanaskan pada suhu 50, 60, dan 70 °C masing-masing selama 5, 10, dan 15 menit. Selanjutnya mikrokapsul dipecah menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dilakukan *plating* dengan metode *pour plate* pada media agar PGY yang ditambahkan CaCO₃ dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 48 jam. Koloni BAL yang tumbuh akan membentuk zona jernih di sekelilingnya yang disebabkan oleh asam yang terbentuk selama pertumbuhan sel.

Pengujian Resistensi Sel dalam Mikrokapsul Pada pH Rendah

1g mikrokapsul ditimbang sebanyak dan dimasukkan dalam larutan buffer pH 3, 4, dan 5 dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Mikrokapsul kemudian disaring menggunakan kertas saring steril dan dimasukkan ke dalam larutan buffer pH 7 dan dipecah menggunakan *magnetic stirrer*. Sel yang telah dikeluarkan dari dalam mikrokapsul dilakukan *plating* menggunakan metode *pour plate* dengan media agar PGY yang ditambahkan CaCO₃.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Biomassa

Produksi biomassa sel pada penelitian ini dipanen pada jam 17-18. Hasil enumerasi produksi biomassa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Enumerasi Produksi Biomassa

Komponen	Jumlah Sel (CFU/ml)
Starter	1,0 x 10 ⁹
Kultur	1,1 x 10 ⁹
Pelet induk	1,4 x 10 ¹¹

Biomassa sel dipanen pada jam ke 17-18 karena pada jam ini sel mencapai fase akhir logaritmik yang merupakan puncak pertumbuhan sel sehingga jumlah sel yang didapat maksimal (Ngatirah, 2002). Hasil enumerasi pada Tabel 1 terlihat bahwa jumlah sel pada starter dan kultur induk tidak berbeda jauh, yaitu $1,0 \times 10^9$ CFU/ml pada starter dan $1,1 \times 10^9$ CFU/ml pada kultur induk. Sedangkan jumlah sel pada pelet yang berasal dari sentrifugasi kultur induk adalah $1,4 \times 10^{11}$ CFU/ml. Adanya peningkatan jumlah sel menunjukkan selama fermentasi terjadi pertumbuhan bagi sel yang masih muda dan memperbanyak sel bagi sel dewasa.

Sel melakukan pertumbuhan dan memperbanyak dengan menggunakan nutrisi yang terdapat dalam media air kelapa sebagai sumber makanan dan pendukung kehidupannya. Selain itu, peningkatan jumlah sel terjadi akibat pemekatan karena proses sentrifugasi. Proses-proses metabolisme yang terjadi diantaranya metabolisme karbohidrat, asam amino, dan metabolisme asam lemak. Karbohidrat digunakan sebagai sumber karbon utama. Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini adalah glukosa yang berasal dari media air kelapa. Glukosa dimetabolisme melalui lintasan *Embden Meyerhoff Parnas* (EMP) oleh bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif. Hasil akhir dari metabolisme ini adalah asam laktat dalam jumlah banyak dan senyawa-senyawa lain dalam jumlah sedikit (Wibowo, 1989).

Metabolisme asam amino digunakan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, yaitu asam glutamat dan valin, sedangkan kebutuhan asam amino yang lain tergantung pada spesies bakteri. Metabolisme asam lemak juga terjadi karena bakteri asam laktat membutuhkan asam lemak tertentu. Asam lemak yang telah diketahui menstimulasi pertumbuhan bakteri adalah Tween 80 (70 % asam oleat dan 30 % campuran asam linoleat, asam palmitat, dan asam stearat), asam oleat, asam linoleat, asam lidiadat, lesitin, dan asam vanesat (Wibowo, 1989).

Pengaruh Emulsifier Terhadap Ukuran *Bead*

Penggunaan emulsifier Tween 80 memberikan pengaruh terhadap ukuran *bead* sel yang dihasilkan. Hasil pengukuran enkapsulan metode emulsi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Mikrokapsul

Pengukuran	Ukuran Mikrokapsul (μm)
1	50
2	50
3	60
4	60
5	50
6	57
7	53
8	50
9	75

Ukuran mikrokapsul yang didapatkan dari 10 kali pengukuran berkisar antara 50 - 75 μ m. Tween 80 dipilih karena memiliki nilai *Hydrophylic-Lipophylic Balance* (HLB) yang tinggi sehingga memudahkan pemisahan minyak pada fase air. Tween 80 diperlukan untuk mencegah terjadinya penggabungan sebelum pemecahan emulsi. Sistem yang mengandung Tween 80 memiliki ukuran *bead* yang secara signifikan lebih kecil ($p < 0,001$) daripada sistem tanpa Tween 80 (Ishizaka et al., 1981; Joung et al., 1987).

Berdasarkan penelitian ini, jumlah sel dalam enkapsulan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Sel dalam Enkapsulan

Metode Enkapsulasi	Jumlah Sel (CFU/g)
Satu lapis	$2,4 \times 10^{10}$
Dua lapis	$1,3 \times 10^{10}$

Berdasar data di atas dapat diketahui bahwa jumlah sel setelah dienkapsulasi turun hampir satu *log cycle* dari jumlah sel sebelum dienkapsulasi. Hal ini disebabkan karena pengenceran pellet sebelum dienkapsulasi. Selain itu, alginat dan susu skim disamping sebagai bahan pelapis juga mengisi ruang kosong antar sel di dalam mikrokapsul (sebagai bahan pengisi).

Pengujian Resistensi Terhadap Suhu Tinggi

Pengujian resistensi mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 terhadap suhu 50°C, 60°C dan 70°C selama 5, 10 dan 15 menit dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Jumlah Sel Dalam Mikrokapsul (CFU/g)

Metode	Jumlah sel awal	Suhu 50°C			Suhu 60°C			Suhu 70°C		
		5 menit	10 menit	15 menit	5 menit	10 menit	15 menit	5 menit	10 menit	15 menit
1 lapis	$2,4 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$1,5 \times 10^8$	$4,3 \times 10^7$	$5,7 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$<10^1$	$<10^1$
2 lapis	$1,3 \times 10^{10}$	$4,4 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$	$1,1 \times 10^8$	$5,7 \times 10^7$	$7,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^7$	$<10^1$	$<10^1$
Kontrol	$1,4 \times 10^{11}$	$7,8 \times 10^8$	$7,2 \times 10^8$	$5,9 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^6$	$6,7 \times 10^3$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$

Berdasarkan data pada Tabel 4, jumlah sel dalam mikrokapsul dengan metode satu lapis maupun dua lapis lebih besar daripada jumlah sel pada kontrol. Gel kalsium alginat bersifat *thermo-irreversibel* dan tahan untuk tidak terurai pada kondisi panas sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap sel dalam mikrokapsul (Widodo, 2003). Hasil analisa juga menunjukkan bahwa mikrokapsul dengan pelapis alginat dan susu skim (metode dua lapis) memberikan jumlah sel yang lebih besar daripada mikrokapsul dengan pelapis alginat (metode satu lapis). Hal ini karena skim milk mengandung nutrisi yang mencukupi seperti laktosa dan protein yang dapat digunakan untuk perbaikan sel bakteri yang

mengalami kerusakan. Pada mikrokapsul metode satu lapis dan dua lapis, semakin lama waktu pemanasan jumlah sel semakin berkurang.

Suhu merupakan salah satu faktor penting bagi aktivitas pertumbuhan suatu organisme. Jika suhu lingkungannya sesuai dengan suhu optimum pertumbuhannya, maka organisme tersebut mampu mempertahankan hidupnya (Buckle et al., 1987). *Lactobacillus acidophilus* termasuk dalam kelompok bakteri mesofil. Ketika terjadi perubahan suhu lingkungan, sebagai dampak dari pengaruh suhu tersebut akan menyebabkan sel mengalami gangguan mekanisme pengaturan metabolisme, reaksi enzimatik, permeabilitas membran sel, dan stabilitas komponen selnya. Suhu mempengaruhi lama fase lag, kecepatan pertumbuhan, konsentrasi sel, kebutuhan nutrisi, kegiatan enzimatik, dan komposisi sel.

Kematian bakteri karena panas disebabkan akibat kehilangan kemampuan untuk tumbuh dan tidak adanya kegiatan dalam sel. Kedua hal tersebut terjadi karena : Terjadi denaturasi yang akan menyebabkan inaktivasi enzim dan terganggunya sistem metabolisme, DNA rusak karena putusannya ikatan hidrogen intramolekular DNA, terjadi gerak Brown (molekul saling berbenturan) karena panas yang akan mengakibatkan sel menjadi rusak. membran sel rusak karena protein membran sel rusak terdenaturasi sehingga mengganggu fungsi membrane, bagian luar yang terkena panas terlebih dulu akan meledak (termasuk membran) yang mengakibatkan ikatan antar membran rusak sehingga fungsi membran rusak dan komponen sel akan keluar karena membran bersifat selektif permeabel.

Pengujian Resistensi Terhadap Kondisi Asam

Pengujian resistensi terhadap kondisi asam dilakukan pada sel yang berada di dalam *bead* maupun setelah dikeluarkan dari dalam mikrokapsul (sel bebas). Kondisi asam yang diujikan adalah pH 3, 4, dan 5. Hasil enumerasi pengujian resistensi terhadap asam dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh Kondisi Asam Terhadap Jumlah Sel dalam Mikrokapsul (CFU/g)

Metode	Jumlah sel awal	pH 3	pH 4	pH 5
1 lapis	$2,4 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$	$3,7 \times 10^8$
2 lapis	$1,3 \times 10^{10}$	$4,3 \times 10^8$	$9,8 \times 10^8$	$5,5 \times 10^9$
Kontrol	$1,4 \times 10^{11}$	$3,9 \times 10^2$	$1,6 \times 10^5$	$4,9 \times 10^6$

Berdasarkan hasil penelitian, jumlah sel yang dienkapsulasi dengan metode dua lapis lebih resisten pada kondisi asam dibandingkan dengan sel yang dienkapsulasi menggunakan metode satu lapis. Hal ini terjadi karena susu skim mempunyai kemampuan sebagai *film forming agent*. Mikrokapsul dengan metode dua lapis pada pH 3 mampu memberikan stabilitas yang lebih tinggi daripada mikrokapsul dengan metode satu lapis, yaitu $4,3 \times 10^8$ CFU/g. Sedangkan jumlah sel dalam mikrokapsul dengan metode satu lapis lebih tinggi daripada kontrol, yaitu $3,5 \times 10^6$ CFU/g. Begitu juga pada pH 4 dan 5, jumlah sel dalam mikrokapsul dengan metode dua lapis lebih banyak daripada jumlah sel dalam mikrokapsul metode satu lapis dan kontrol, yaitu $9,8 \times 10^8$ CFU/g pada pH 4 dan $5,5 \times 10^9$ CFU/g pada pH 5. Jumlah sel dalam mikrokapsul dengan pelapis alginat pada pH 4 dan 5 lebih tinggi

daripada jumlah sel kontrol, yaitu $1,2 \times 10^7$ CFU/g pada pH 4 dan $3,7 \times 10^8$ CFU/g pada pH 5. Sedangkan jumlah sel kontrol pada pH 4 adalah $1,6 \times 10^5$ CFU/g dan pada pH 5 adalah $4,9 \times 10^6$ CFU/g.

Stabilitas gel alginat sangat rendah dengan adanya *chelating agents* seperti posfat, laktat, dan sitrat karena memberikan afinitas pada kalsium. Gel alginat memiliki berat molekul besar, tetapi ketika dimasukkan dalam larutan asam, berat molekul alginat akan menjadi kecil. Hal ini akan menyebabkan pori-pori gel alginat akan membesar dan larutan asam dapat masuk ke dalam gel alginat. Kematian sel akibat pH rendah disebabkan karena dalam kondisi dengan keasaman tinggi akan menurunkan pH isi sel. Hal ini menyebabkan sel menjadi lemah karena usaha menyeimbangkan kondisi, terjadi denaturasi enzim atau komponen protein sel, serta terjadi kerusakan sistem permeabilitas membran yang akan mengakibatkan terganggunya kestabilan sistem transport substrat atau elektron.

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu jumlah *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 yang dienkapsulasi dengan metode satu lapis ($2,4 \times 10^{10}$ CFU/g) menghasilkan jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan enkapsulasi metode dua lapis ($1,3 \times 10^{10}$ CFU/g). Sel *Lactobacillus acidophilus* SNP 2 yang dienkapsulasi memiliki viabilitas yang lebih tinggi pada suhu tinggi (70°C) dan pH rendah (pH 3) dibandingkan sel yang tidak dienkapsulasi terhadap perlakuan suhu tinggi (70°C). Pada suhu 70°C , jumlah sel yang dienkapsulasi dengan satu lapis dan dua lapis memiliki jumlah sel yang sama yaitu $1,1 \times 10^7$ CFU/g, sedangkan sel yang tidak dienkapsulasi adalah $< 10^1$ CFU/g. Sedangkan pada pH 3, jumlah sel dalam enkapsulan metode satu lapis adalah $3,5 \times 10^6$ CFU/g dan dengan metode dua lapis adalah $4,3 \times 10^8$ CFU/g, sedangkan sel yang tidak dienkapsulasi berjumlah $3,9 \times 10^2$ CFU/g.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., & Wootton. (1987). *Ilmu Pangan*. UI Press.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in Man and Animals. *J. Appl. Bacteriol*, 66, 365–378.
- Ishizaka, T., Endo, K., & Koishi, M. (1981). Preparation of Egg Albumin Microcapsules and Microspheres. *J. Pharm. Sci*, 70(4), 358.
- Joung, J. J., Akin, C., & Royer, G. P. (1987). Immobilization of Growing Cells by Polyethylenimine Modified Alginate. *Appl. Biochem. Biotechnol*, 34, 359.
- Ngatirah. (2002). *Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Agensia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol*. Universitas Gadjah Mada.
- Purwandhani, S. N., & Suladra, M. (2003). Optimasi Produksi Biomassa Bakteri Asam Laktat *Latobacillus acidophilus* SNP 2 pada Media Air Kelapa dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Taoge. *Seminar Nasional Dan Pertemuan Tahunan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*.
- Ray, B. (1996). *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press Boca Raton.
- Wibowo. (1989). *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi.
- Widodo, B. (2003). *Bioteknologi Susu* (1st ed., Vol. 1). Lacticia Press.