

Viabilitas Sel dan Aktivitas Antimikroba Bio-Kapsul Probiotik *Lb paracasei ssp paracasei* ML3 Hasil Ekstrusi Karagenan- SKIM

Cell Viability and Antimicrobial Activity of Probiotic Bio-Capsule *Lb paracasei ssp paracasei* ML3 by Extrusion Karagenan- SKIM

Mutia Elida¹, Gusmalini Gusmalini², Agustina Agustina³, Iza Ayu Saufani⁴

^{1,2,3}Program Studi Teknologi Pangan, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Payakumbuh, Sumatera Barat, 26271, Indonesia

⁴Program Studi Teknologi Pangan dan Gizi, Universitas M. Natsir Bukittinggi, Bukittinggi, Sumatera Barat, 26218, Indonesia

elida_mutia@yahoo.com

Abstract

Production of *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* ML3 bio-capsules using a coating agent of carrageenan and skim milk as a protective and stabilizer for the viability of encapsulated bacterial cells during processing. This research was carried out to examine the viability of *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* ML3 and the antimicrobial activity against *Escherichia coli* in wet and dry bio-capsules after contact 3 hour. Production of bio-capsules uses extrusion method, with the ratio of coating materials for carrageenan and skim milk, namely 1: 1, 2: 1, and 3: 1. Each treatment was repeated 3 times. The result showed that the coating material (carrageenan: skim milk) with 2:1 ratio in wet and dry bio-capsules were able to maintain the viability of *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* ML3 and only decreased 0.72 log cfu/g and 1.31 log cfu/g, respectively. Antimicrobial activity was indicated by the highest decrease number of *Escherichia coli* after contact 3 hour with bio-capsules 2:1, namely 2.21 log cfu/g and 2.15 log cfu/g, respectively.

Keywords: Antimicrobial Activity, Bio-Capsules, Carregeenan-Skim, Cell Viability, Probiotics

I. PENDAHULUAN

Pangan fungsional merupakan bahan pangan (makanan maupun minuman) yang dapat memberikan manfaat tambahan selain fungsi dasar sebagai sumber gizi bagi manusia. Fungsi tambahan yang dimaksud adalah dapat meningkatkan kesehatan, yang dapat diperoleh secara alami dari bahan pangan maupun melalui fortifikasi, pengkayaan atau peningkatan komponen gizi. Salah satu produk pangan fungsional yang saat ini banyak dikembangkan dan digemari yaitu produk pangan probiotik (Begum et al, 2017) [1] karena keberadaan probiotik dalam tubuh merupakan salah satu

indikator kesehatan khususnya kesehatan sistem pencernaan. Oleh karena itu, pengembangan produk pangan probiotik tersebut sangat beragam baik dalam bentuk makanan maupun minuman.

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan manusia, dimana bakteri probiotik mampu bertahan hidup sampai pada usus manusia dan mampu menghasilkan metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan meningkatkan kesehatan manusia yang mengonsumsinya. Namun, manfaat bakteri probiotik ini akan maksimal jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup. Sarkar et al, (2016) [2] menyebutkan bahwa jumlah bakteri

probiotik yang harus tersedia dalam makanan dan sampai ke usus manusia berkisar antara 10^6 - 10^9 cfu/ml. Oleh karena itu, jumlah bakteri probiotik merupakan salah satu hal penting yang harus diperhatikan dalam mengembangkan produk pangan fungsional probiotik, khususnya produk pangan berbasis produk lokal. Salah satu produk lokal yang berasal dari Sumatera Barat adalah dadih (susu kerbau fermentasi), yang merupakan sumber bakteri probiotik yaitu *Lb. Paracasei ssp paracasei ML3* (telah diisolasi dan diskriming). Isolat bakteri tersebut mampu memproduksi asam laktat sekitar 1.2%, dan memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Listeria monocytogenes* (Elida et al, 2013) [3], serta mampu menurunkan kadar kolesterol pada mencit (Elida dan Ermiami, 2016) [4].

Escherichia coli merupakan salah satu mikroba patogen penyebab gastroenteritis yang mampu hidup pada berbagai jenis produk pangan dan di saluran pencernaan manusia khususnya di usus besar. Pada kondisi tertentu, *E. coli* tetap dapat bertahan hidup pada produk pangan yang telah melalui proses pengawetan seperti suhu rendah, Modified Atmosphere Packaging (MAP), pengemasan vakum, maupun pasteurisasi konvensional (Dimitrijević et al, 2007) [5]. Oleh karena itu, diperlukan suatu proses atau teknologi pengolahan pangan yang mampu menghambat bahkan membunuh bakteri *E. coli*. Teknologi pengolahan yang dimaksud adalah teknologi pengawetan yang dapat memperpanjang umur simpan produk pangan dan dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* tanpa menggunakan pengawet kimia (Clarke et al, 2017) [6].

Salah satu alternatif solusi teknologi yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan bakteri probiotik. Seperti yang kita ketahui bahwa bakteri probiotik banyak digunakan dalam pengawetan makanan karena kemampuannya dalam menghasilkan metabolit-metabolit sekunder yang bersifat antimikroba. Disamping itu, bakteri probiotik mampu mengubah aktivitas mikroflora usus dan menghambat pertumbuhan mikroba patogen (Doleyres, Fliss dan Lacroix, 2004) [7]. Dengan demikian, keberadaan bakteri probiotik ini memiliki fungsi sebagai pengawet bahan pangan sekaligus meningkatkan status kesehatan manusia yang mengonsumsinya. Namun, dalam pengaplikasiannya sangat penting memperhatikan teknologi proses yang digunakan karena dapat mempengaruhi viabilitas bakteri probiotik. Dimana viabilitas probiotik dalam bahan pangan sangat sensitif terhadap proses pengolahan dan penyimpanan, paparan oksigen, suhu tinggi, pH asam, serta cahaya yang berpotensi menurunkan viabilitas sel probiotik. Untuk menghindari penurunan viabilitas tersebut, dapat dilakukan dengan metode enkapsulasi. Dimana enkapsulasi dapat

mempertahankan bahkan meningkatkan viabilitas sel probiotik, dengan menggunakan bahan penyalut atau enkapsulan seperti alginat, karagenan, xantan, pektin atau kitosan (Kwiecien dan Kwiecien, 2018) [8].

Bahan-bahan penyalut yang telah disebutkan di atas, dapat digunakan secara tunggal maupun dapat dikombinasikan dengan bahan lain. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi beberapa bahan penyalut dapat meningkatkan kualitas bahan penyalut itu sendiri maupun kualitas kapsul yang dihasilkan. Moody et al, (2019) [9] menyatakan bahwa kombinasi susu skim dengan maltodextrin terbukti meningkatkan performa minuman probiotik. Disamping itu, bakteri probiotik yang dienkapsulasi dengan kombinasi alginat dan susu skim memiliki viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan viabilitas sel yang hanya dienkapsulasi dengan alginat saja (Dumitriu, 2004) [10].

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi yang tepat terkait perbandingan bahan penyalut karagenan dengan susu skim melalui metode ekstrusi terhadap viabilitas bio-kapsul basah dan bio-kapsul kering serta aktivitas antimikrobanya terhadap patogen *E.coli*.

II. METODE PENELITIAN

A. Pengumpulan data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan (perbandingan penyalut karagenan : susu skim) yaitu 1:1, 2:1, dan 3:1. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT). Variabel yang diamati adalah viabilitas bio-kapsul setelah ekstrusi (bio-kapsul basah) dan viabilitas bio-kapsul setelah pengeringan (bio-kapsul kering), dan aktivitas antimikroba terhadap pathogen *E.coli* dari bio-kapsul basah maupun bio-kapsul kering.

B. Persiapan Biomassa Probiotik

Persiapan biomassa probiotik mengacu pada metode Harmayani et al, (2001) [11] yang dimodifikasi. Kultur bakteri *Lb paracasei ssp paracasei ML3* sebanyak 10% disegarkan atau disubkultur selama 24 jam selanjutnya ditumbuhkan kembali dalam bentuk kultur kerja. Biomassa kemudian dipanen dengan cara disentrifus pada 4500 rpm selama 15 menit. Selanjutnya dicuci dengan air steril dan disentrifus kembali kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

C. Pembuatan Bio-Kapsul

Pembuatan bio-kapsul mengacu pada metode Le-Tien et al, (2004) [12] dan Rokka dan Rantamaki (2010) [13] yang dimodifikasi. Biomassa *Lb paracasei ssp paracasei ML3* yang telah dihasilkan,

kemudian dibuat menjadi suspensi dengan konsentrasi 10%. Selanjutnya disiapkan bahan enkapsulasi sesuai perlakuan dan masing-masing ditambahkan biomassa *Lb paracasei* ssp *paracasei* MI3 dengan perbandingan 4:1. Campuran enkapsulan dan biomassa *Lb paracasei* ssp *paracasei* MI3 selanjutnya dimasukkan ke dalam syringe dan ditampung dengan KCL 3% dan didinginkan selama 2 jam (Tsen dan King, 2003) [14]. Bio-kapsul kemudian disaring dan dibilas menggunakan larutan garam fisiologis. Bio-kapsul yang dihasilkan merupakan bio-kapsul basah.

D. Pengerinan Bio-kapsul

Bio-kapsul basah yang dihasilkan kemudian dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 35-40°C selama 1 jam.

E. Analisis Viabilitas Bio-kapsul

Perhitungan jumlah sel dalam bio-kapsul mengacu pada Le-Tien et al, (2004) [12] dan Ivanovska et al, (2012) [15] yang dimodifikasi. Bio-kapsul diambil sebanyak 1 gr dan ditambahkan 9,9 ml larutan pengencer steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} , dan dilanjutkan hingga pengenceran 10^{-7} , kemudian divorteks dan didiamkan selama 1 jam. Selanjutnya diambil 3 seri pengenceran terakhir dan ditumbuhkan pada media tumbuh yang telah disiapkan, dan diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 27°C. Jumlah koloni bakteri dihitung dengan metode Total Plate Count (TPC).

F. Analisis Aktivitas Antimikroba

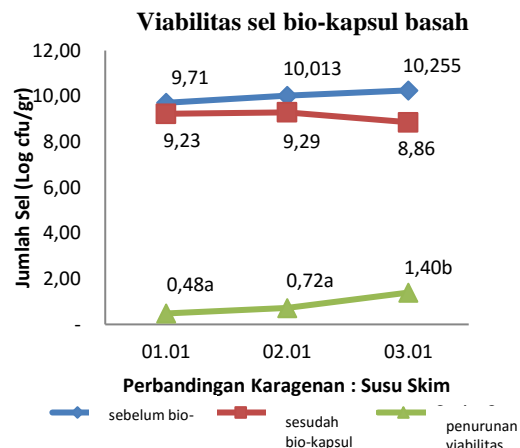
Pengujian aktivitas antimikroba mengacu pada metoda kontak Nuraida et al, (2012) [16], terhadap patogen *E. coli*, dengan terlebih dahulu melepaskan bio-kapsul terenkapsulasi dari enkapsulannya dengan natrium sitrat 2%. Sebanyak 0.2 ml *E.coli* (10^5 CFU/ml) dan 0,2 ml sel probiotik (10^8 CFU/ml) diinokulasikan ke dalam 20 ml susu skim steril (Sunlack, Malay). Kemudian dilakukan homogenisasi secara manual dan diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan perhitungan sel *E.coli* setelah waktu kontak menggunakan media EMBA dan dibandingkan dengan jumlah *E. coli* yang telah dikontakkan dengan sel probiotik bebas.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Viabilitas Bio-Kapsul

Viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 ditunjukkan melalui kemampuan tumbuh sel bakteri tersebut pada media tumbuh dan kondisi lingkungan tertentu. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3, salah satunya adalah

teknologi proses yang digunakan misalnya dengan teknologi enkapsulasi. Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 pada bio-kapsul basah dan bio-kapsul kering.



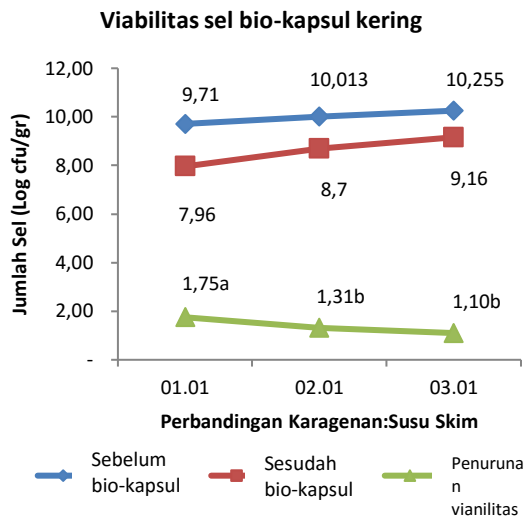
Gambar 1. Viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 bebas (log cfu/gr) dan dalam bio-kapsul basah karagenan-susu skim (log cfu/gr)

Keterangan: rata-rata perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha=5\%$

Gambar 1 menunjukkan bahwa perbandingan bahan penyalut karagenan:susu skim berpengaruh nyata terhadap penurunan viabilitas sel karena ekstrusi, khususnya pada perbandingan 2:1 dan 3:1. Namun, untuk perbandingan 1:1 dan 2:1 tidak berbeda nyata yang ditunjukkan dengan keduanya memiliki simbol huruf yang sama setelah dilakukan uji lanjut BNT ($\alpha=5\%$). Penurunan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 tertinggi terjadi pada perbandingan penyalut 3:1 yaitu sebesar 1.40 log cfu/gr, sedangkan penurunan yang terendah terjadi pada perbandingan 1:1 yaitu 0.50 log cfu/gr dan tidak berbeda nyata dengan perbandingan 2:1 yaitu 0.72 log cfu/gr.

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 pada perbandingan bahan penyalut karagenan:susu skim 3:1 disebabkan oleh jumlah sel bebas *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 yang digunakan pada proses enkapsulasi serta jumlah atau konsentrasi karagenan yang digunakan. Triana et al, (2006) [17] menyebutkan bahwa proporsi jumlah sel bakteri dan konsentrasi bahan penyalut yang digunakan dapat mempengaruhi viabilitas sel bakteri terenkapsulasi. Hal ini terkait dengan diameter bio-kapsul yang dihasilkan, dimana bio-kapsul pada perbandingan 1:1 dan 2:1 memiliki diameter lebih besar dibandingkan dengan perbandingan 3:1. Perbedaan diameter bio-kapsul secara langsung dapat mempengaruhi viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3, dimana jumlah sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3

yang terjepit dalam bio-kapsul yang berdiameter lebih besar lebih banyak dibandingkan dengan diameter lebih kecil. Kondisi tersebut mendukung terjadinya penurunan viabilitas sel pada perbandingan 3:1. Hal ini sesuai pernyataan Elida et al, (2019) [18] bahwa diameter bio-kapsul dengan perbandingan bahan penyalut karagenan: susu skim 1:1, 2:1 dan 3:1 masing-masing yaitu 3.82 mm, 3.68 mm dan 3.70 mm.



Keterangan: rata-rata perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha=5\%$

Gambar 2. Viabilitas sel *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 bebas (log cfu/gr) dan dalam bio-kapsul kering karagenan-susu skim (log cfu/gr)

Gambar 2. menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 tertinggi terjadi pada perbandingan bahan penyalut 1:1 yaitu 1.75 log cfu/gr dan berbeda nyata dengan viabilitas sel pada perbandingan bahan penyalut 2:1 dan 3:1, yang ditunjukkan dengan perbedaan simbol huruf setelah dilakukan uji BNT ($\alpha=5\%$). Hal ini berbeda dengan kondisi penurunan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 pada bio-kapsul basah (Tabel 1). Penyebab utama terjadinya perbedaan tersebut karena pada bio-kapsul kering ini dilakukan pengeringan pada suhu 40°C. Sebagaimana kita ketahui bahwa salah satu sifat karagenan khususnya kappa karagenan adalah tidak stabil pada suhu Thawing (Prihastuti dan Abdassah, 2019) [19]. Namun, meskipun terjadi penurunan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 baik pada bio-kapsul basah maupun kering, jumlahnya masih memenuhi kriteria jumlah sel probiotik yang ditetapkan oleh WHO yaitu 10^6 - 10^7 cfu/gr atau 7 log cfu/gr. Kemampuan *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 tetap tumbuh setelah proses pengeringan ini mengindikasikan bahwa bakteri tersebut termasuk bakteri termofilik atau tahan panas khususnya mampu survive pada suhu 40°C.

Karagenan merupakan polisakarida alami yang memiliki sifat membentuk gel. Karagenan telah banyak digunakan sebagai bahan enkapsulasi karena memiliki sifat dapat melindungi sel bakteri dari pengaruh tekanan dan lingkungan yang tidak menguntungkan (Ding dan Shah, 2009) [20]. Disamping itu, karagenan merupakan material yang sering digunakan sebagai coating dan pelindung probiotik jika digunakan sebagai penyalut kapsul serta mampu mempertahankan viabilitas sel bakteri terenkapsulasi pada berbagai kondisi lingkungan yang tidak baik (Muhardina et al, 2020) [21]. Penggunaan karagenan sebagai bahan penyalut atau enkapsulan ini dapat dikombinasikan dengan bahan lain seperti protein dan lipid (Setiarto et al, 2018) [22]. Kombinasi ini mampu meningkatkan kemampuan kapsul dalam melindungi sel bakteri yang dienkapsulasi. Sebagaimana hasil penelitian Lu-E et al, (2013) [23] bahwa kekuatan gel karagenan dapat ditingkatkan menggunakan protein susu sebagai lapisan dalam kapsul, sedangkan karagenan sebagai lapisan luar untuk melapisi mikrosfer susu, sehingga keberadaan lapisan ganda ini memberikan dampak pada peningkatan perlindungan sel bakteri yang dienkapsulasi baik selama proses produksi maupun selama penyimpanan. Hal ini sesuai pula dengan hasil penelitian ini (Tabel 2) bahwa viabilitas sel bakteri *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 tetap dapat dipertahankan yang ditunjukkan dengan penurunan viabilitas sel terendah pada perbandingan penyalut 3:1.

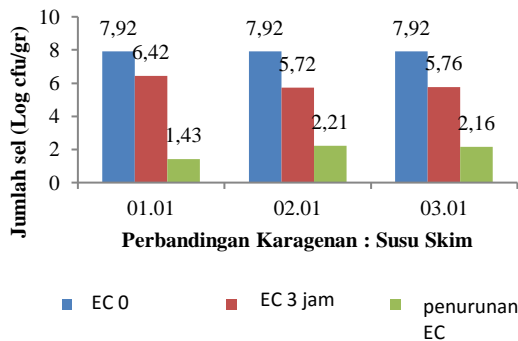
B. Aktivitas Antimikroba Bio-Kapsul Basah dan Bio-Kapsul Kering *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 Terenkapsulasi terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Pengujian aktivitas antimikroba bio-kapsul *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Hasil pengujian aktivitas antimikroba bio-kapsul basah dan bio-kapsul kering secara berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Gambar 3 menunjukkan bahwa bio-kapsul *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 basah mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E.coli*. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya penurunan jumlah *E.coli* setelah kontak 3 jam dengan bio-kapsul *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 basah. Penurunan tertinggi terjadi pada perbandingan penyalut 2:1 yaitu 2.21 log cfu/gr, sedangkan penurunan terendah terjadi pada perbandingan penyalut 1:1. Hal ini tidak terlepas dari peranan bakteri *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* M13 dan bahan penyalut yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Kedua faktor tersebut juga merupakan faktor penyebab terhambatnya pertumbuhan *E.coli* pada

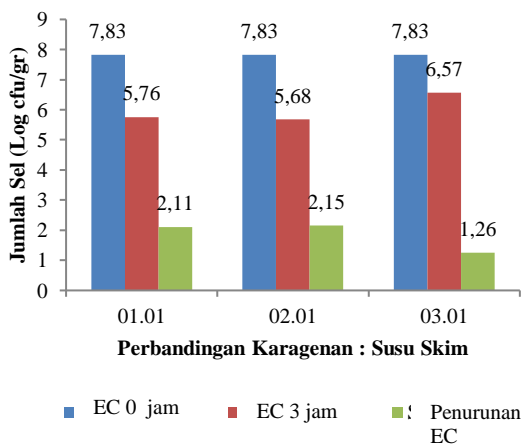
bio-kapsul *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 kering, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.

Aktivitas antimikroba bio-kapsul basah



Keterangan : EC = *Eschericia coli*
 Gambar 3. Antivitas antimikroba bio-kapsul basah *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 terhadap mikroba patogen *E.coli*

Aktivitas antimikroba bio-kapsul kering



Keterangan : EC = *Eschericia coli*
 Gambar 4. Antivitas antimikroba bio-kapsul kering *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 terhadap mikroba patogen *E.coli*

Gambar 4 menunjukkan bahwa bio-kapsul kering *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Penurunan jumlah bakteri *E.coli* tertinggi terjadi pada perbandingan bahan penyalut 2:1 yaitu 2.15 log cfu/gr. Seperti yang telah disebutkan sebelumnya bahwa baik pada bio-kapsul basah maupun bio-kapsul kering faktor utama yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *E.coli* adalah karena kemampuan *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 dalam menghasilkan metabolit-metabolit sekunder yang bersifat antimikroba maupun karakteristik dari bahan penyalut yang digunakan yang juga memiliki aktivitas antimikroba khususnya terhadap bakteri patogen *E. coli*. *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 merupakan salah satu spesies bakteri asam laktat dan berpotensi probiotik, yang mampu menghasilkan metabolit-metabolit sekunder seperti asam organik

(asam laktat, asam asetat), katabolit gula lainnya (etanol, diasetil, karbodioksida), hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut akan terakumulasi dalam sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 dan hanya akan dilepaskan jika kondisi lingkungan tidak menguntungkan. Asam-asam organik, hidrogen peroksida dan bakteriosin merupakan senyawa-senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen termasuk *E. coli*.

Karagenan juga memiliki aktivitas antimikroba. Wang et al, (2012) [24] menyebutkan bahwa karagenan merupakan salah satu kelompok oligosakarida yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen diantaranya *E. coli*, *S. aureus*, *Penicilium citrinum* dan *Mucor* sp. Perbedaan konsentrasi karagenan yang digunakan akan mempengaruhi tingkat penghambatan terhadap mikroba patogen. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa perbedaan konsentrasi karagenan yang digunakan memberikan efek penghambatan yang berbeda terhadap *E. coli* (Gambar 1 dan Gambar 2). Berdasarkan hasil uji viabilitas dan kemampuan antimikroba bio-kapsul basah maupun kering *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 terbaik yaitu dengan menggunakan bahan penyalut dengan perbandingan 2:1 (Karagenan : Susu skim).

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji viabilitas dan kemampuan antimikroba bio-kapsul basah maupun kering *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 terbaik yaitu dengan menggunakan bahan penyalut dengan perbandingan 2:1 (Karagenan : Susu skim), dimana bio-kapsul basah dan kering dengan perbandingan 2:1 mampu mempertahankan viabilitas sel *Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* MI3 dan hanya mengalami penurunan masing-masing 0.72 log cfu/gr dan 1.31 log cfu/gr. Sedangkan aktivitas antimikroba ditunjukkan dengan penurunan jumlah bakteri *E. coli* tertinggi yaitu masing-masing 2.21 log cfu/gr dan 2.15 log cfu/gr.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat karena telah mendanai pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Begum, P.S., Madhavi,G., Rajagopal, S., Viswanath,B., A.Razak,M., & Venkataratnamma, V. (2017). Probiotics as Functional Foods: Potential Effects on Human Health and its Impact on Neurological Diseases.” *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, Vol. 7, 2. 23-33. DOI: 10.4103/ijnpnd.ijnpnd_90_16

- [2] Sarkar, S., Sur, A., Sarkar, K., Majhi, R., Basu, S., Chatterjee, K., & Sikder, B. (2016) "Probiotics: A Way of value addition in functional food," International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics., Vol. 5, 4. DOI: 10- 19070/2326- 3350-1600052
- [3] Elida, M., Gusmalini, Rahzarani, & Ramaiyulis. 2013. Pathogenicity Test of Isolate Mokal Dadih Origin at Gastrointestinal Pathogens". Seminar Nasional Ketahanan Pangan. Prosiding. Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh. ISBN 978-979-9869-2-8
- [4] Elida, M., & Ermiami. (2016). Karakterisasi Isolat Probiotik Dadih Yang Di Enkapsulasi Untuk Pembuatan Minuman Fungsional Instan Berbasis Ubi Ungu". Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi. Politani Payakumbuh
- [5] Dimitrijević, S. I., Mihajlovski, K.R., Antonović D. G., Mirjana, R., Milanović- Stevanović Mijin D. Ž. (2007). A study of the synergistic anti listerial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L, and *Origanum vulgare* L. Food Chem. 104 774 – 782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.028>
- [6] Clarke, D., Tyuftin A. A., Cruz-Romero M. C., Bolton, D., Fanning, S., Pankaj S. K., Bueno-Ferrer,C., Cullen, P.J., Kerry, J.P. (2017). Surface attachment of active antimicrobial coatings onto conventional plastic-based laminates and performance assessment of these materials on the storage life of vacuum- packaged beef sub-primals. **Food Microbiol.** 62, 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.022>
- [7] Doleyres, Y., Fliss, I., & Lacroix, C. (2004). Continuous production of mixed lactic starters containing probiotics using immobilized cell technology. *Biotechnol Prog*, 20,145-150. Doi:10.1021/bp020096w
- [8] Kwiecien, I. & Kwiecien, M. (2018). Application of Polysaccharide-Based Hydrogels as Probiotic Delivery Systems. *Gels Journal*, 4 (2), 47. <https://doi.org/10.3390/gels4020047>.
- [9] Moody, D.S., Hanidah, I.I., Kayaputri, I.L., Rialita, T., Sukarminah, E., & Zakaria, R.A.P. (2019). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with freeze drying method and application to synbiotic beverage of banana corn stone. *International Journal Advanced Science Engineering Information Technology*, (IJASAIT) . vol. 9, 2.532-537
- [10] Dumitriu, S. (2004). *Polysaccharides Structural Diversity and Functional Versality*, 2nd ed, New York, CRC Press
- [11] Harmayani, E., Ngatirah. Rahayau E,S, Utami. (2001). Ketahanan dan viabilitas probiotik asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan pengeringan semprot. *J. Teknol Industri Pangan*. 12:126-132.
- [12] Le-Tien, C., Millette,M., Lacrox, M., & Mateescu, M.A. 2004. Modified Alginate matrices for the immobilization of bioactive agents". *Biotechnol Appl Biochem.* 39 (pt2): 189-98. <https://doi.org/10.1042/BA200330054>
- [13] Rokka, S., & Rantamaki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol.* . DOI: 10.007/s00217-010-1246-2.
- [14] Tsen, J.H., Lin, Y.P., & AN-Erl King, V. (2003). Fermentation of banana media by using K-carrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *Int Journal of Food Microbiology*..91. 215-20. www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00376-3
- [15] Ivanovska, T. P., Petrusavska-Tozi, L., Kostoska, M. D., Geskovski, N., Grozdanov, A., Stain, C., Stafilov, T., & Mladenovska, K. (2012). Microencapsulation of *Lactobacillus casei* in chitosan-Ca-alginate microparticles usng spray-dryng method". *Maced J Chemistry and Chemical Eng* .31: 1115-123.
- [16] Nuraida L., Hana, Hartanti AW., & Prangdimurti, E. (2012). Potensi *Lactobacillus* yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare. *J. Teknol Industri Pangan.* 22:158-164. DI: 10.6066/jtlp.2012.23.2.158.
- [17] Triana, E., Yulianto, E., & Nurhidayat, N., 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar 8 Terenkapsulasi. *Biodiversitas*, Volume 7, 2: 114-117. DOI: 10.13057/biodiv/d070204
- [18] Elida, M., Gusmalini, Saufani, IA. 2019. Visualisasi dan Viabilitas Probiotik *Lactobacillus paracasei ssp paracasei* MI3 Terenkapsulasi Karagenan-Susu Skim. Seminar Nasional Terapan Riset Nasional. Prosiding. Sentrinov. Volume 8. ISBN 2477-2097
- [19] Prihastuti, D., Abdassah, M., 2019. Karagenan dan Aplikasinya di Bidang Farmasetik. *Majalah Farmasetika*, Vol 4, No 5. <https://doi.org/10.24198/farmasetika.v4i5.23066>
- [20] Ding, W.K., & Shah, N.P. (2009). An improvedm of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage. *Journal of Food Science*, vol. 74, 2.M 53-61. Doi: 10.1111/j. 1750-3841.2008. 01030.x
- [21] Muhardina, V., Sari, PM., Aisyah, Y, Haryani, S., & Akbar, SA. 2020. Optimization Of Encapsulation Efficiency And Lactic Acid Bacteria Viability Through A Combination Between Capsule Agents And Tofu Waste Prebiotic. *Rasayan J.Chem.* Vol. 13. No. 1. <http://www.rasayanjournal.co.in>
- [22] Setiarto, RHB., Kusumaningrum, HD., Jenie, BSL., & Khusniati, T. 2018. Pengembangan Teknologi Mikroenkapsulasi Bakteri Probiotik dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *Jurnal Veteriner*. Vol. 19, No. 4 : 574-589. DOI: 10.19087/jveteriner.2018.19.4.574
- [23] Lu-E. Shi., Li, Z.H., Zhang, Z. L., Zhang, T.T., Yu, W.M., Zhou, M.L., & Tang, Z.X. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure". *LWT - Food Science and Technology*. 54. 147-151. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>
- [24] Wang, F., Yao, Z., Wu, H., Zhang, S., Zhu, N., & Gai, X. 2012. Antibacterial Activities of Kappa-Carrageenan Oligosaccharides. *Applied Mechanics and Materials* Vol 108, pp 194-199. doi:10.4028/www.scientific.net/AMM.108.194