

Karakterisasi *Bacillus* dan *Lactobacillus* yang Dienkapsulasi dalam Berbagai Bahan Pembawa untuk Probiotik *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei* Boone, 1931)

Characterization of Bacillus and Lactobacillus Encapsulated in Various Carrier Materials for Vannamei Probiotics (Litopenaeus vannamei Boone, 1931)

^{1*)} Yuli Andriani, ²⁾ Aufa Aulia Kanza, ³⁾ Mia Miranti Rustama, ⁴⁾ Ratu Safitri

^{1,4)} Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Jl. Bandung – Sumedang Km 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia.

^{2,3)} Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Bandung – Sumedang Km 21 Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia.

^{*)} Korespondensi : yuli.andriani@unpad.ac.id

Diterima : 3 September 2017 / Disetujui : 11 Desember 2017

ABSTRAK

Bacillus dan *Lactobacillus* merupakan bakteri yang dapat digunakan dalam probiotik sediaan kering dalam pakan udang *vannamei*. Pada penelitian ini, dilakukan untuk mengkapsulasi bakteri probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam beberapa bahan pembawa, yaitu tepung beras, talek, dan maltodekstrin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui jenis bahan pembawa yang dapat memberikan karakter probiotik terbaik pada proses enkapsulasi yang selanjutnya akan digunakan dalam pakan udang *vannamei*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Penelitian dilakukan dengan tahapan preparasi dan uji karakterisasi awal probiotik. Selanjutnya dilakukan proses enkapsulasi probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dengan metode *spray drying* untuk menghasilkan inokulum bubuk, serta uji karakterisasi lanjutan bakteri yang telah dienkapsulasi. Parameter yang diamati adalah viabilitas, ketahanan terhadap suhu, pH dan garam empedu. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA dan Uji Jarak Berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua jenis bahan pembawa yang digunakan dapat mempertahankan karakter probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* setelah proses enkapsulasi. Hal ini terlihat dari karakter probiotik yang berada dalam kategori baik dan layak digunakan sebagai agen probiotik setelah proses enkapsulasi dalam bahan pembawa tepung beras, maltodekstrin, dan talek.

Kata kunci : probiotik, udang *vannamei*, bahan pembawa, enkapsulasi, konsorsium, *bacillus*, *lactobacillus*

ABSTRACT

Bacillus and Lactobacillus are bacteria that can be used in dry-stock probiotics in vannamei shrimp feed. In this study, it was performed to encapsulate Bacillus and Lactobacillus probiotic bacteria in several carrier materials, including rice flour, talc,

and maltodextrin. The purpose of this study was to determine the type of carrier material that can provide the best probiotic character in the encapsulation process which will then be used in vannamei shrimp feed. The method used in this study is experimental method. The study was conducted with the preparation stage and the initial probiotic characterization test. Furthermore, Bacillus and Lactobacillus probiotic encapsulation process used spray drying method to produce powder inoculum, as well as advanced characterization test of bacteria that have been encapsulated. The parameters observed were the viability, resistance to temperature, pH and bile salts. Data were analyzed using ANOVA and Duncan Multiple Range Test. The results showed that all types of carrier materials used maintained the probiotic character of Bacillus and Lactobacillus after the encapsulation process. This can be seen from the character of probiotics that are in good category and deserve to be used as a probiotic agent after encapsulation process in the material of rice flour, maltodextrin, and talc.

Keywords : probiotics, vannamei shrimp, carrier materials, encapsulation, consortium, bacillus, lactobacillus

PENDAHULUAN

Produksi perikanan budidaya dari jenis crustacea (jenis udang-udangan) didominasi oleh produksi jenis udang putih (*Litopenaeus vannamei*) (FAO, 2012). Udang vannamei memiliki banyak keunggulan seperti relatif tahan penyakit, produktivitasnya tinggi, waktu pemeliharaan relatif singkat, tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) selama masa pemeliharaan tinggi, dan permintaan pasar terus meningkat (Hendrajat dan Suryanto, 2007). Peningkatan produksi udang vanamei dapat dilakukan dengan penggunaan probiotik dalam pakan. Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Triana *et al.*, 2006). Kelompok bakteri yang dapat digunakan sebagai probiotik antara lain golongan *Bacillus* sp., dan *Lactobacillus* sp. (Linggarjati *et al.*, 2013). *Bacillus* mampu mengoptimalkan pertumbuhan, efisiensi pakan, dan ketahanan udang windu terhadap bakteri patogen, sedangkan *Lactobacillus* dapat mempertahankan pH asam yang menjadi pembatas bagi sebagian besar bakteri patogen dalam saluran pencernaan inang, serta menghasilkan hidrogen peroksida dan bakteriosin yang bersifat antibakteri (Triana dan Yulinery, 2015). Bakteri ini mempunyai keunggulan bahwa sporanya dapat dibuat dalam bentuk kering sehingga mudah ditambahkan ke dalam pakan buatan (Aslamyah, 2011).

Enkapsulasi dengan teknik *spray drying* merupakan teknik penyalutan suatu bahan sehingga bahan yang disalut dapat terlindung dari pengaruh lingkungan. Menurut Effendi (2000), keuntungan penggunaan *spray drying* adalah produk akan menjadi kering tanpa menyentuh permukaan logam yang panas, temperatur produk akhir rendah walaupun temperatur pengering relatif tinggi, waktu pengeringan singkat dan produk akhir berupa bubuk stabil yang memudahkan penanganan dan transportasi. Enkapsulasi pada bakteri dapat memberikan kondisi yang mampu melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti panas dan bahan kimia (Young *et al.*, 1995; Frazier dan Westhoff, 1998; Victor dan Heldman, 2001 dalam Triana dkk, 2006). Syarat dari bahan penyalut antara lain tidak bersifat racun, mudah diaplikasikan, harga relatif murah, dan bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas sel yang relatif tinggi serta sifat-sifat fisiologis yang relatif sama dengan sebelum dienkapsulasi (Triana

dkk, 2006).Penyalutan dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai bahan pembawa, seperti tepung beras, talek, dan maltodekstrin. Penggunaan beberapa jenis bahan pembawa tersebut disebabkan karena adanya kandungan nutrisi yang sesuai untuk menunjang pertumbuhan probiotik dan sifat bahan pembawa yang mendukung proses enkapsulasi. Untuk mengetahui jenis bahan pembawa yang sesuai untuk probiotik dalam sediaan kering, perlu dilakukan penelitian tentang karakterisasi bakteri probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam berbagai bahan pembawa

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: aluminium foil, autoklaf (*Electric Steroclave*), baki pewarnaan, batang pengaduk, *beaker glass*, botol semprot, bunsen, cawan petri, *cuvet*, erlenmeyer, *heater* (Cimarec), inkubator (Memmert), jangka sorong, kaca objek, lemari pendingin, *magnetic stirrer*, mikropipet (Huawei), mikroskop (Olympus), neraca digital (Acis), ose bulat, oven (Thermo Scientific), penjepit kayu, pinset, pintips, pipet tetes, pH meter (Hanna Instruments), sentrifugator (Hermle Z300), *shaker*, spatula, spektrofotometer (Thermo Scientific), *spray dryer*, stoples, *syringe*, termometer, vortex, dan *water bath*. Sementara itu, bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: air fuchsin, air laut, air tawar, alkohol 70%, alkohol 96%, aquades, *Bile salt* (Oxoid), *buffer phosphate* PBS (Sigma), karbol gentian violet, korek api, kultur probiotik (*Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus curvatus*), kultur bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella thypimurium*, larva udang vannamei stadia PL-12, larutan NaCl fisiologis (0,9%), larutan HCl 1 %, larutan NaOH 1%, maltodekstrin, pakan komersial, putih telur, medium *Nutrient Agar* (Oxoid), *Nutrient Broth* (Oxoid), *deMan, Rogosa and Sharpe Agar* (Oxoid), *deMan, Rogosa and Sharpe Broth* (Oxoid), minyak imersi (Olympus), spirtus, standar Mc Farland 3, standar Mc Farland 0,5, talek, tepung beras, dan tisu.

Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial, faktor pertama adalah jenis bakteri dan faktor kedua adalah jenis bahan pembawa, yang masing-masing diulang sebanyak tiga kali. Metode ini meliputi uji karakterisasi probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* yang dienkapsulasi dalam bahan pembawa. Jenis bakteri yang digunakan adalah *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus curvatus*. Data dianalisis dengan menggunakan ANAVA dan Uji Jarak Berganda Duncan.

Prosedur

Persiapan bakteri probiotik

Isolat *Bacillus* dan *Lactobacillus* dimurnikan dan diremajakan, selanjutnya diperbanyak dalam medium agar miring (Melki dkk, 2011). Selanjutnya bakteri diwarnai dengan pewarnaan gram dan diamati di bawah mikroskop hingga

perbesaran 1000x untuk mengamati bentuk bakteri (Pratita dan Putra, 2012). Isolat probiotik yang telah ditumbuhkan selanjutnya ditumbuhkan kembali pada media 10% tepung beras, talek dan maltodekstrin cair steril, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Biomassa yang diperoleh disuspensikan ke dalam aquades steril. Perbandingan biomassa dengan bahan pembawa yang digunakan adalah sebesar 3:7 (b/b). Biomassa dan bahan pembawa dimasukkan ke dalam lemari pendingin selama 12-24 jam agar semua komponen terhidrasi maksimum. Selanjutnya larutan dihomogenisasi kembali dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Larutan tersebut kemudian dikeringkan *spray dryer* menggunakan kondisi suhu *outlet* 50°C dan suhu *inlet* 100°C (Usmiati dkk, 2014)

Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan melakukan uji karakterisasi probiotik, yang terdiri dari : uji viabilitas, toleransi terhadap suhu, pH, dan garam empedu. Uji viabilitas probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* setelah enkapsulasi menggunakan metode Lian *et al.* (2003), yang dilakukan pada 5 waktu penyimpanan berbeda, yaitu penyimpanan 0 minggu (minggu pertama setelah enkapsulasi), penyimpanan 2 minggu, dan penyimpanan 4 minggu. Pada tiap waktu penyimpanan dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

Pengujian toleransi probiotik terhadap suhu menggunakan metode Rizqiaty *et al.* (2008) dengan modifikasi suhu perlakuan dan waktu pemanasan. Pengujian dilakukan dengan cara tabung reaksi yang berisi suspensi probiotik dipanaskan dalam penangas air sampai bagian dalam suspensi mencapai suhu yang diinginkan (40°C, 50°C, dan 60°C) selama 1 jam. Setelah itu dilakukan inokulasi bakteri pada medium NA dan dihitung dengan metode TPC. Uji toleransi probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* terhadap pH menggunakan metode Lian *et al.* (2003) Uji ini dilakukan untuk melihat kemampuan probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi untuk tumbuh pada pH 2, 3 dan 5. Uji toleransi probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* terhadap garam empedu menggunakan metode Lian *et al.* (2003). Pengujian dilakukan dengan cara 0,1 gram mikrokapsul dimasukan ke dalam 9,9 ml NaCl fisiologis kontrol dan NaCl Fisiologis yang berisi konsentrasi garam empedu. Konsentrasi garam empedu yang digunakan adalah 0,3% dan 0,5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas Probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam Waktu Penyimpanan

Uji viabilitas probiotik dalam formula enkapsulasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mempertahankan diri selama proses penyimpanan agar cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan inangnya.

Hasil ANAVA menunjukkan bahwa adanya interaksi antara probiotik dalam formula enkapsulasi dengan waktu penyimpanan 0 minggu, 2 minggu, dan 4 minggu. Perlakuan waktu penyimpanan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah probiotik dalam formula enkapsulasi (nilai P-value 0,000 < 0,05). Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5% yang disajikan pada Tabel 1.

Hasil Uji Jarak Berganda Duncan menunjukkan bahwa hingga akhir waktu penyimpanan (minggu ke-4), probiotik dalam formula enkapsulasi terbaik yang

dapat mempertahankan viabilitas adalah bakteri *L. bulgaricus* dalam bahan pembawa talek, yaitu sebanyak $1,2 \times 10^9$ CFU's/ml, dengan jumlah pada awal penyimpanan (minggu ke-0) sebanyak $2,5 \times 10^9$ CFU's/ml. Meskipun terjadi penurunan jumlah bakteri pada minggu ke-2 hingga minggu ke-4, namun pada akhir penyimpanan bakteri *L. bulgaricus* dalam bahan pembawa talek menunjukkan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan bakteri dalam formulasi lainnya. Beberapa jenis bahan pembawa memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah probiotik. Bahan pembawa yang dapat mempertahankan viabilitas probiotik pada waktu penyimpanan terbaik adalah talek dan maltodekstrin

Tabel 1. Uji jarak berganda duncan viabilitas probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap waktu penyimpanan

Formula Probiotik		Rata-Rata Jumlah Bakteri (CFU's/ml)		
		0 minggu	2 minggu	4 minggu
<i>B. licheniformis</i>	T. Beras	$9,0 \times 10^8$ a D	$2,0 \times 10^8$ b B	$1,6 \times 10^7$ c E
	Maltodekstrin	$1,9 \times 10^9$ a C	$6,6 \times 10^8$ b B	$2,3 \times 10^8$ c B
	Talek	$6,6 \times 10^8$ a D	$5,5 \times 10^8$ a B	$2,5 \times 10^8$ a B
<i>B. subtilis</i>	T. Beras	$1,4 \times 10^9$ a D	$2,1 \times 10^8$ b B	$3,5 \times 10^7$ c D
	Maltodekstrin	$1,4 \times 10^9$ a D	$5,4 \times 10^8$ b B	$6,8 \times 10^7$ c C
	Talek	$8,7 \times 10^8$ a D	$1,3 \times 10^8$ b B	$4,6 \times 10^7$ c D
<i>L. brevis</i>	T. Beras	$1,1 \times 10^{10}$ a A	$8,3 \times 10^8$ b B	$1,0 \times 10^8$ c C
	Maltodekstrin	$3,8 \times 10^9$ a B	$1,0 \times 10^9$ a B	$8,1 \times 10^7$ b C
	Talek	$2,7 \times 10^9$ a C	$1,5 \times 10^8$ b B	$4,0 \times 10^7$ c D
<i>L. bulgaricus</i>	T. Beras	$5,3 \times 10^8$ a E	$1,1 \times 10^8$ b C	$2,9 \times 10^7$ c D
	Maltodekstrin	$3,3 \times 10^8$ a E	$2,4 \times 10^8$ a B	$2,3 \times 10^8$ a B
	Talek	$2,5 \times 10^9$ a C	$1,8 \times 10^9$ a A	$1,2 \times 10^9$ a A
<i>L. curvatus</i>	T. Beras	$4,1 \times 10^9$ a B	$2,9 \times 10^8$ b B	$1,1 \times 10^7$ c E
	Maltodekstrin	$1,0 \times 10^9$ a D	$5,0 \times 10^8$ b B	$9,2 \times 10^7$ c C
	Talek	$9,3 \times 10^8$ a D	$2,2 \times 10^8$ b B	$3,3 \times 10^7$ c D

Keterangan : Nilai rata-rata jumlah bakteri yang diikuti oleh huruf kapital yang sama (arah vertikal/ tegak lurus) dan huruf kecil yang sama (horizontal/mendatar) menunjukkan nilai tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan.

Pada Tabel 1 dapat diketahui pula bahwa jumlah probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi cenderung mengalami penurunan dari awal hingga akhir penyimpanan. Penurunan jumlah probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi dalam waktu penyimpanan dapat disebabkan oleh kandungan nutrisi yang terdapat dalam bahan pembawa. Menurut Fitriana (2014), pada minggu awal penyimpanan, nutrisi masih digunakan secara maksimal oleh probiotik untuk pertumbuhan, sedangkan pada penyimpanan minggu ke-2 hingga ke-4 kandungan nutrisi yang terdapat pada bahan pembawa semakin berkurang sehingga probiotik tidak dapat bermetabolisme secara maksimal.

Jumlah probiotik dalam formula enkapsulasi hingga waktu penyimpanan minggu ke-4 berkisar antara 10^7 hingga 10^8 CFU's/ml. Jumlah tersebut masih memenuhi syarat sebagai agen probiotik. Menurut Vinderola *et al.* (2000), jumlah minimal kandungan mikroorganisme probiotik dalam bioproduk untuk dapat memberikan manfaat kesehatan dan mempertahankan efek probiotik adalah 10^8 - 10^{10} CFU's/gram.

Toleransi Probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* Terhadap Suhu

Uji toleransi probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap kondisi panas dilakukan untuk mengetahui kemampuan probiotik untuk hidup dalam kondisi suhu tinggi, yaitu pada suhu 40°C, 50°C, dan 60°C. Hasil ANAVA menunjukkan bahwa adanya interaksi antara probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap kondisi suhu tinggi. Perlakuan kondisi suhu tinggi memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah probiotik dalam formula enkapsulasi (nilai P-value $0,000 < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5% yang disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 dapat diketahui bahwa nilai suhu mempengaruhi pertumbuhan probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi. Formula probiotik yang memiliki jumlah tertinggi pada perlakuan suhu 40°C dan 60°C adalah formula bakteri *L. bulgaricus* dalam bahan pembawa maltodekstrin dengan jumlah bakteri secara berturut-turut sebanyak $6,8 \times 10^9$ CFU's/ml dan $1,9 \times 10^9$ CFU's/ml. Sementara itu pada suhu 50°C, formula yang memiliki jumlah tertinggi adalah *L. curvatus* dalam bahan pembawa talek dengan jumlah bakteri sebanyak $3,0 \times 10^9$ CFU's/ml. Hal ini menunjukkan bahwa bahan pembawa maltodekstrin dan talek merupakan bahan pembawa terbaik untuk mempertahankan jumlah bakteri *L. bulgaricus* dan *L. curvatus* dalam kondisi suhu tinggi.

Dari Tabel 2 juga dapat diketahui bahwa semakin tinggi nilai suhu pengujian maka populasi probiotik dalam formula enkapsulasi semakin rendah. Bakteri dengan penurunan jumlah terbesar terdapat pada formula *B. licheniformis* dalam bahan pembawa talek sebesar 2,1 log CFU's/ml, sedangkan penurunan terkecil terdapat pada formula *L. brevis* dan *L. bulgaricus* dalam bahan pembawa tepung beras, yaitu sebesar 0,3 log CFU's/ml. Penurunan jumlah bakteri probiotik dapat terjadi karena kerusakan sel bakteri akibat kondisi suhu tinggi. Menurut Rizqiati dkk (2008), kondisi panas dapat merusak berbagai struktur sel termasuk kerusakan membran sel, ribosom, DNA, RNA, dan enzim. Hasil pengujian ini juga menunjukkan bahwa jenis bahan pembawa memberikan pengaruh yang

berbeda nyata terhadap jumlah probiotik. Bahan pembawa terbaik yang dapat mempertahankan jumlah probiotik pada kondisi suhu tinggi adalah maltodekstrin.

Tabel 2. Uji jarak berganda Duncan toleransi probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap suhu tinggi

Formula Probiotik		Rata-Rata Jumlah Bakteri (CFU's/ml)		
		40°C	50°C	60°C
<i>B. licheniformis</i>	T. Beras	1,6x10 ⁹ a C	1,5x10 ⁹ a ABCD	5,7x10 ⁸ b AB
	Maltodekstrin	2,8x10 ⁹ a ABC	2,0x10 ⁹ a ABC	6,2x10 ⁷ b BCD
	Talek	2,3x10 ⁹ a BC	7,4x10 ⁸ b ABCD	1,9x10 ⁷ c D
<i>B. subtilis</i>	T. Beras	1,9x10 ⁹ a C	2,5x10 ⁸ b D	2,0x10 ⁸ b BCD
	Maltodekstrin	2,0x10 ⁹ a C	1,1x10 ⁹ a ABCD	1,4x10 ⁸ b BCD
	Talek	3,0x10 ⁹ a ABC	2,0x10 ⁹ a ABC	5,8x10 ⁸ b AB
<i>L. brevis</i>	T. Beras	6,8x10 ⁸ b D	7,2x10 ⁸ a ABCD	5,2x10 ⁸ c ABC
	Maltodekstrin	3,5x10 ⁹ a ABC	2,6x10 ⁹ a AB	1,2x10 ⁸ b BCD
	Talek	3,1x10 ⁹ a ABC	6,2x10 ⁸ b ABCD	1,7x10 ⁸ c BCD
<i>L. bulgaricus</i>	T. Beras	5,3x10 ⁸ a D	3,8x10 ⁸ b BCD	2,5x10 ⁸ c ABC
	Maltodekstrin	6,8x10⁹ a A	2,3x10 ⁹ b AB	1,9x10⁹ b A
	Talek	3,1x10 ⁹ a ABC	2,5x10 ⁸ b D	1,9x10 ⁸ b BCD
<i>L. curvatus</i>	T. Beras	2,7x10 ⁹ a BC	1,7x10 ⁹ a ABCD	1,9x10 ⁸ b ABCD
	Maltodekstrin	2,0x10 ⁹ a C	2,7x10 ⁸ b CD	3,3x10 ⁷ c CD
	Talek	5,8x10 ⁹ a AB	3,0x10⁹ a A	2,9x10 ⁸ b ABC

Keterangan : Nilai rata-rata jumlah bakteri yang diikuti oleh huruf kapital yang sama (arah vertikal/ tegak lurus) dan huruf kecil yang sama (horizontal/mendatar) menunjukkan nilai tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan.

Toleransi Probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* Terhadap pH

Uji toleransi probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap kondisi asam atau pH rendah dilakukan untuk mengetahui kemampuan probiotik untuk hidup dalam kondisi pH saluran pencernaan, yaitu pH 2-6.

Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa adanya interaksi antara probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap kondisi pH rendah. Perlakuan kondisi pH rendah memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah

probiotik dalam formula enkapsulasi (nilai P-value $0,000 < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5% yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Uji jarak berganda Duncan toleransi probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap pH rendah

Formula Probiotik		Rata-Rata Jumlah Bakteri (CFU's/ml)		
		pH 2	pH 3	pH 5
<i>B. licheniformis</i>	T. Beras	2,8x10 ⁶ c F	1,2x10 ⁸ b B	2,5x10 ⁸ a B
	Maltodekstrin	2,3x10 ⁶ c G	8,8x10 ⁶ b E	3,5x10 ⁷ a E
	Talek	1,6x10 ⁷ c D	5,5x10 ⁷ b C	9,5x10 ⁷ a D
<i>B. subtilis</i>	T. Beras	7,9x10⁷ c A	1,5x10 ⁸ b B	4,4x10⁸ a A
	Maltodekstrin	1,4x10 ⁷ b D	1,7x10 ⁷ b D	1,2x10 ⁸ a D
	Talek	1,4x10 ⁷ a D	2,2x10 ⁷ a D	1,9x10 ⁷ a F
<i>L. brevis</i>	T. Beras	1,9x10 ⁷ c C	2,1x10 ⁷ b D	1,0x10 ⁸ a D
	Maltodekstrin	1,6x10 ⁷ a D	2,4x10 ⁷ a D	2,3x10 ⁷ a F
	Talek	3,5x10 ⁶ c F	1,9x10 ⁷ b D	2,7x10 ⁷ a F
<i>L. bulgaricus</i>	T. Beras	2,7x10 ⁶ c F	2,1x10 ⁷ b D	3,0x10 ⁸ a B
	Maltodekstrin	9,9x10 ⁶ c E	1,3x10 ⁸ b B	2,6x10 ⁸ a B
	Talek	2,5x10 ⁶ c F	2,1x10 ⁷ b D	3,1x10 ⁷ a E
<i>L. curvatus</i>	T. Beras	3,8x10 ⁶ b F	2,2x10⁸ a A	2,9x10 ⁸ a B
	Maltodekstrin	6,6x10 ⁷ b B	1,3x10 ⁸ a B	1,5x10 ⁸ a C
	Talek	3,4x10 ⁶ c F	9,2x10 ⁶ b E	2,4x10 ⁸ a B

Keterangan : Nilai rata-rata jumlah bakteri yang diikuti oleh huruf kapital yang sama (arah vertikal/ tegak lurus) dan huruf kecil yang sama (horizontal/mendatar) menunjukkan nilai tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa nilai pH mempengaruhi pertumbuhan probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi. Formula probiotik yang memiliki jumlah tertinggi pada pH 2 dan 5 adalah bakteri *B. subtilis* dalam bahan pembawa tepung beras dengan jumlah bakteri secara berturut-turut sebanyak $7,9 \times 10^7$ CFU's/ml dan $4,4 \times 10^8$ CFU's/ml. Sementara itu pada pH 3, formula yang memiliki jumlah tertinggi adalah *L. curvatus* dalam

bahan pembawa tepung beras dengan jumlah bakteri sebanyak $2,2 \times 10^8$ CFU's/ml. Hal ini menunjukkan bahwa bahan pembawa tepung beras merupakan bahan pembawa terbaik untuk mempertahankan jumlah bakteri *B. subtilis* dan *L. curvatus* dalam kondisi asam.

Ketahanan probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap kondisi asam ditunjukkan dengan penurunan jumlah bakteri setelah diinkubasi selama 6 jam. Penentuan masa inkubasi didasarkan pada lamanya makanan berada di lambung yaitu antara 2 hingga 6 jam (Gropper dan Groff, 2001). Bakteri dengan penurunan jumlah terbesar terdapat pada bakteri *L. bulgaricus* dalam bahan pembawa tepung beras sebesar 2,1 log CFU's/ml, sedangkan penurunan terkecil terdapat pada bakteri *B. subtilis* dalam bahan pembawa talek sebesar 0,2 log CFU's/ml. Penurunan jumlah koloni bakteri disebabkan oleh kondisi pH rendah yang memiliki sifat merusak terhadap sel bakteri. Hal ini terjadi karena efek denaturasi enzim-enzim yang ada pada permukaan sel, kerusakan lipoposakarida, dan membran luar serta penurunan pH sitoplasma melalui peningkatan permeabilitas membran sel bakteri (Puspawati, 2010).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa beberapa jenis bahan pembawa memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah probiotik. Bahan pembawa terbaik yang dapat mempertahankan jumlah probiotik pada kondisi asam adalah tepung beras dan maltodekstrin. Puspawati (2010) menyatakan bahwa terjadi penurunan total bakteri asam laktat setelah diinkubasi dalam media asam selama 5 jam. Penambahan bahan pembawa maltodekstrin mampu meningkatkan ketahanan bakteri *L. brevis* A17 terhadap pH rendah sebesar 5,13 log CFU's/ml. Namun secara umum, jumlah probiotik pada keseluruhan kondisi asam masih dalam kondisi baik, dengan jumlah terendah sejumlah 10^6 CFU's/ml yang memenuhi persyaratan untuk diaplikasikan ke dalam saluran pencernaan, yaitu sebesar 10^6 - 10^8 CFU's/ml (Tannock, 1999). Salminen dan Atte (2004) menyatakan bahwa suatu bakteri dapat dikatakan sebagai bakteri probiotik apabila bakteri tersebut masih aktif (hidup) pada kondisi asam lambung. Bakteri probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam penelitian ini dapat dikatakan probiotik karena masih dapat bertahan pada pH 2-5 yang merupakan kondisi pH di saluran pencernaan.

Toleransi Probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* Terhadap Garam Empedu

Uji toleransi probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam formula enkapsulasi terhadap konsentrasi garam empedu (*bile salt*) dilakukan untuk mengetahui kemampuan probiotik untuk hidup dan bertahan dalam lingkungan yang memiliki konsentrasi garam empedu tinggi, yaitu konsentrasi 0,3% dan 0,5%. Hasil ANAVA menunjukkan bahwa adanya interaksi antara konsentrasi garam empedu dengan probiotik dalam formula enkapsulasi. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi garam empedu memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah probiotik dalam formula enkapsulasi (nilai P-value $0,000 < 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf nyata 5% yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji jarak berganda Duncan toleransi probiotik dalam formula enkapsulasi terhadap konsentrasi garam empedu

Formula Probiotik		Rata-Rata Jumlah Bakteri (CFU's/ml)	
		0,3%	0,5%
<i>B. licheniformis</i>	T. Beras	3,3x10 ⁹ a C	1,4x10 ⁸ b D
	Maltodekstrin	3,4x10 ⁹ a C	2,6x10 ⁷ b E
	Talek	6,8x10 ⁹ a A	4,1x10 ⁹ a A
<i>B. subtilis</i>	T. Beras	1,5x10 ⁹ a F	2,9x10 ⁷ b E
	Maltodekstrin	1,8x10 ⁹ a E	4,4x10 ⁸ b C
	Talek	7,5x10⁹ a A	2,4x10 ⁹ a A
<i>L. brevis</i>	T. Beras	3,8x10 ⁹ a C	8,3x10 ⁷ b D
	Maltodekstrin	7,0x10 ⁹ a A	2,6x10 ⁷ b E
	Talek	5,9x10 ⁹ a B	2,4x10 ⁹ a A
<i>L. bulgaricus</i>	T. Beras	2,9x10 ⁹ a D	2,2x10 ⁸ b B
	Maltodekstrin	6,1x10 ⁹ a B	2,8x10 ⁹ a A
	Talek	7,1x10 ⁹ a A	1,8x10 ⁹ a A
<i>L. curvatus</i>	T. Beras	3,4x10 ⁸ a G	1,9x10 ⁷ b F
	Maltodekstrin	7,0x10 ⁹ a A	6,7x10⁹ a A
	Talek	4,1x10 ⁹ a C	2,5x10 ⁹ a A

Keterangan : Nilai rata-rata jumlah bakteri yang diikuti oleh huruf kapital yang sama (arah vertikal/ tegak lurus) dan huruf kecil yang sama (horizontal/mendatar) menunjukkan nilai tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan.

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa formula enkapsulasi yang mengandung jumlah probiotik tertinggi pada konsentrasi 0,3% adalah bakteri *B. subtilis* dalam bahan pembawa talek dengan jumlah 7,5x10⁹ CFU's/ml, sedangkan pada konsentrasi 0,5% adalah bakteri *L. curvatus* dalam bahan pembawa maltodekstrin dengan jumlah 6,7 x 10⁹ CFU's/ml. Probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* dalam penelitian ini mampu tumbuh pada medium dengan konsentrasi garam empedu 0,3% dan 0,5% menandakan bahwa probiotik tersebut mampu bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan tempat disekresikannya garam empedu. Jumlah probiotik dalam formula enkapsulasi ini masih menunjukkan jumlah yang cukup tinggi, yaitu sekitar 10⁷ hingga 10⁹ CFU's/ml.

Kemampuan bakteri untuk resisten terhadap garam empedu salah satunya disebabkan oleh lapisan peptidoglikan dan dinding yang lebih tebal yang dimiliki oleh bakteri gram positif sehingga bakteri tidak mengalami lisis saat terkena garam empedu (Surono, 2004). Selain itu, komponen lipid yang dimiliki bakteri gram positif dapat menjaga struktur membran (Kimoto *et al.*, 2002). Menurut Puspawati (2010), ketahanan bakteri *Lactobacillus* terhadap konsentrasi garam empedu yang tinggi disebabkan karena bakteri ini memiliki enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH) yang dapat menghidrolisis garam empedu. Enzim ini dapat mengubah kemampuan fisik-kimia yang dimiliki garam empedu menjadi bersifat tidak beracun bagi bakteri asam laktat.

Jacobsen *et al.* (1999) menyatakan bahwa konsentrasi garam empedu 0,3% merupakan nilai yang cukup tinggi untuk menyeleksi bakteri yang tahan terhadap garam empedu, sehingga konsentrasi garam empedu 0,3% disebut juga konsentrasi yang kritis. Sementara itu menurut Puspawati (2010), konsentrasi garam empedu yang ekuivalen di dalam usus adalah 0,5%.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa semua jenis bahan pembawa yang digunakan dapat mempertahankan karakter probiotik *Bacillus* dan *Lactobacillus* setelah proses enkapsulasi. Hal ini terlihat dari karakter probiotik yang berada dalam kategori baik dan layak digunakan sebagai agen probiotik setelah proses enkapsulasi dalam bahan pembawa tepung beras, maltodekstrin, dan talek. Berdasarkan bahan pembawa terbaik, talek dapat mempertahankan karakter probiotik bakteri *B. licheniformis* dan *B. subtilis*, bahan pembawa tepung beras dapat mempertahankan karakter probiotik bakteri *L. brevis*, serta bahan pembawa maltodekstrin dapat mempertahankan karakter probiotik bakteri *L. bulgaricus* dan *L. curvatus* setelah proses enkapsulasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan, dengan Nomor Kontrak Penelitian Nomor : 30/E/KPT/2017, Tanggal 3 April 2017, atas pendanaan yang disediakan melalui Hibah Stranas sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Aslamyah, S. 2011. Kualitas Lingkungan dan Aktifitas Enzim Pencernaan Udang *Vannamei (Litopenaeus vannamei)* pada Berbagai Konsentrasi Probiotik Bioremediasi-*Bacillus* sp. *Fish Scientiae Jurnal Ilmu-Ilmu Perikanan dan Kelautan* 1(2): 161-176.
- Effendi, E. 2000. Mikroenkapsulasi Minyak Atsiri Jahe dengan Campuran Gum Arab Maltodekstrin dan Variasi Suhu Inlet Spray-Drier. *Tesis*. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- FAO. 2012. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2012*. Publishing Policy and Support Branch, Office of Knowledge Exchange, Research and Extension, FAO. Rome.
- Fitriana, K. R. 2014. Karakterisasi Probiotik *Lactobacillus* sp. Asal Kolostrum Sapi dalam Beberapa Jenis Formula Enkapsulasi. *Skripsi*. Program Studi Biologi FMIPA UNPAD. Jatinangor.
- Gosper, S. S., dan J. L. Groff. 2001. *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Wadsworth. Canada.
- Hendrajat, E. A., dan H. Suryanto. 2007. Budidaya udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pola tradisional plus di Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. *Media Akuakultur* 2 (2).
- Jacobsen, C. N., V.R. Nelsen., A. E. Hayford., P. L. Moller., K. F. Micahelsen., A. Paerregaard., B. Sandstorm., M. Tvede., dan M. Jakobsen. 1999. Screening of Probiotics Activities of Forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. By in vitro technique and evaluation of the colonization bility of five selected strains in humans. *J. Appl and Environ Microbial* 65 (11): 4949-4959.
- Lian, W., H. Hsiao, dan C. Chou. 2003. Viability of microencapsulated bifidobacteria in simulated gastric juice and bile solution. *International Journal of Food Microbiology* 86: 293 – 301.
- Lingarjati, K. F., A. Djunaedi., dan Subagiyo. 2013. Uji Penggunaan *Bacillus* sp. sebagai Kandidat Probiotik untuk Pemeliharaan Rajungan (*Portunus* sp.). *Journal of Marine Research*, 2(1): 1-6.
- Pratita, M. Y. E. dan S. R. Putra. 2012 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits* 1(1): 1-5.
- Puspawati, N. 2010. Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Air Susu Ibu Pada Proses Pengeringan Beku. *J. Teknol dan Industri Pangan*. 21(1).
- Rizqiati, H, B. S. L. Jenie., N. Nurhidayat., dan C. C. Nurwitri. 2008. Ketahanan dan viabilitas probiotik *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi dengan susu skim dan gum arab setelah pengeringan dan penyimpanan. *Journal Animal Production* 10(3): 179-187.
- Salminen, S., dan V. W. Atte. 2004. *Lactic Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects*. 2nd Edition. Revised and Expanded. Marcel Dekker Inc. New York.
- Surono, I. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya. Jakarta.
- Tannock, G. W. 1999. *Probiotics: A Critical Review*. Horizon Scientific Prod. England.
- Triana, E., E. Yulianto, dan N. Nurhidayat. 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar. 8 Terenkapsulasi. *Biodiversitas* 7(2): 114-117.

- Triana, E., dan T. Yulinery. 2015. Uji Stabilitas Probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 Terenkapsulasi dalam Sediaan Oralit dengan Analisis Viabilitas. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon* 1(2): 278-282.
- Usmiati, S., Y. Sri., dan N. Erliza. 2014. Aktivitas Hambat Terhadap Bakteri Patogen oleh Serbuk Bakteriosin Asal *Lactobacillus* sp. Galur Scg 1223. *J. Tek. Ind. Pet.* 21(2): 102-112.
- Viderola, C. G., N. Bailo., dan J. Reinheimer. 2000. Survival of Probiotic Microflora in Argentinian Yoghurts Refrigerated Storage. *Food Research International* 33: 97-102.

