

STUDI VIABILITAS BAKTERI PROBIOTIK *Bifidobacterium bifidum*,
Lactobacillus acidophilus DAN *Lactobacillus casei* TERIMOBILISASI
PADA SISTEM EMULSI AIR DALAM MINYAK JAGUNG DAN DAYA
TAHANNYA PADA PERLAKUAN LANJUTAN

Viability of Immobilized Probiotic Bacteria, Bifidobacterium bifidum,
Lactobacillus acidophilus and *Lactobacillus casei*, in an Emulsion
of Corn Oil and Their Survival in Subsequent Treatments

Jaya Mahar Maligan¹⁾, Joni Kusnadi²⁾ dan Erni Sofia Murtini²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Akademi Analisis Farmasi dan Makanan, Jl. Barito 5 Malang,
E-mail : isoleucyn@yahoo.com

²⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,
Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

The effectiveness of corn oil emulsion as a protective agent for immobilization of probiotic bacteria cells, *B. bifidum*, *L. acidophilus* and *L. casei*, and subsequent treatments, i.e. various conditions of storage and processing, was studied. The immobilized cells were subjected to each of the following: storage conditions at low temperatures $4 \pm 1^\circ\text{C}$ and $-10 \pm 1^\circ\text{C}$, at low pH (pH 1.0 and pH 2.0), bile salts 2%, and processing conditions (25% sucrose solution, 10% brine, and heat treatment up to 80°C). The statistical approach employed in the experiment was the Post Test Only with Control Group Design and a paired sample t-test was then conducted.

The results showed that the viability of the tested probiotic bacteria cells varied with the type of bacteria and conditions of storage or processing. The immobilization of probiotics in corn oil emulsion has significant effect on the viability of *B. bifidum*, *L. acidophilus* and *L. casei* subjected to temperature of $-10 \pm 1^\circ\text{C}$, at low pH (1.0 and 2.0), heating process, and 10% brine. Immobilization process has no significant effect on the viabilities of *L. acidophilus* and *L. casei* stored at $4 \pm 1^\circ\text{C}$, of *B. bifidum* subjected to bile salts 2% and 25% sucrose solution. Immobilization process in corn oil emulsion was able to retain the probiotics viability as many as 1.12 – 4.23 log. Therefore, it can be concluded that an emulsion of corn oil is suitable for immobilization media for *B. bifidum*, *L. acidophilus* and *L. casei* protecting them during storage at low temperatures, GI tract condition and above-mentioned processing conditions.

Key words: probiotics, viability, immobilization, corn oil emulsion

PENDAHULUAN

Viabilitas dan aktifitas fungsional dari probiotik merupakan suatu hal yang penting pada suatu suplemen probiotik. Kurmann and Rasic (1991) menyatakan bahwa untuk menyediakan efek fungsional, jumlah minimum bakteri hidup adalah 10^6 cfu/ml untuk tiap produk pada akhir masa kadaluarsa, sedangkan untuk pengobatan dianjurkan dosis konsumsi sebesar 10^8 – 10^9 bakteri hidup tiap harinya. Menurut Miller, *et al.*, (1999), beberapa studi menunjukkan bahwa

bakteri probiotik tidak dapat bertahan hidup dalam jumlah yang cukup dan berkurang baik dari segi jumlah maupun aktifitasnya selama proses pengolahan dan dalam saluran pencernaan manusia.

Diantara beberapa pendekatan metode yang digunakan dalam meningkatkan viabilitas bakteri probiotik, imobilisasi sel merupakan metode yang paling banyak diaplikasikan. Menurut Willaert and Baron (1996) imobilisasi sel adalah proses pengurungan secara fisik atau proses melokalisasi sel utuh dalam suatu wilayah

atau area tertentu dengan tujuan untuk mendapatkan aktivitas sel yang diinginkan.

Proses imobilisasi sel mikrobia yang paling banyak dilakukan adalah metode penjembutan sel hidup dalam mikrokapsul polisakarida. Selain polisakarida yang sering digunakan sebagai biokapsul dalam imobilisasi sel, kemungkinan masih terdapat bahan lain yang bisa digunakan sebagai media imobilisasi sel yang sesuai.

Tzen, *et al.*, (2002) meneliti mengenai penjembutan sel *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* pada sistem emulsi air dalam minyak wijen, dan hasil yang diperoleh bahwa minyak jagung dapat digunakan sebagai media imobilisasi untuk meningkatkan viabilitas *L. bulgaricus* tersebut. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai kemampuan minyak biji-bijian sebagai media imobilisasi yang efektif dalam proses imobilisasi sel bakteri probiotik.

Prinsip imobilisasi sel pada sistem emulsi adalah dengan mengemulsikan medium pertumbuhan yang berisi bakteri probiotik dalam minyak jagung, sehingga diharapkan minyak jagung dapat memberikan proteksi pada sel bakteri probiotik yang terjebak di dalamnya terhadap pengaruh lingkungannya. Proses imobilisasi dalam sistem emulsi juga mempunyai kelebihan mudah diaplikasikan dan relatif lebih murah dibanding proses imobilisasi yang lain.

Pemilihan minyak jagung sebagai media dalam proses imobilisasi sel bakteri probiotik, dikarenakan minyak jagung tidak mempunyai efek toksik bagi pertumbuhan bakteri. Minyak jagung juga memiliki flavour yang tidak terlalu tajam dan memiliki titik cair relatif rendah dibanding minyak biji-bijian yang lain.

Beberapa gambaran tersebut menunjukkan bahwa minyak jagung dapat digunakan sebagai media imobilisasi yang sesuai dalam proses imobilisasi sel bakteri probiotik (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei*).

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh imobilisasi bakteri probiotik (*Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei*) pada

emulsi minyak jagung dalam meningkatkan viabilitas bakteri dan memberi proteksi sel terhadap pengaruh penyimpanan (suhu rendah), asam, garam empedu (simulasi saluran pencernaan) dan pengaruh kondisi pengolahan (pemanasan serta penambahan sukrosa dan NaCl).

BAHAN DAN METODE

Strain Bakteri

Strain bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus acidophilus* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada Yogyakarta, serta bakteri *Lactobacillus casei* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Media yang digunakan adalah media pertumbuhan bakteri probiotik yaitu media "deMan, Rogosa and Sharpe Agar" (MRS Agar dan Broth), dan media pengencer pepton.

Metode

Rancangan penelitian yang diambil adalah metode "Post Test Only with Control Group Design" dimana sampel yang diberi perlakuan dibandingkan dengan grup kontrol yang tidak diberi perlakuan. Pengujian sampel dilakukan hanya setelah perlakuan diberikan, tanpa pengujian awal terhadap sampel.

Penentuan Kurva Pertumbuhan (Modifikasi Speck, 1984)

- Penumbuhan satu ose bakteri probiotik (*B. bifidum*, *L. acidophilus*, *L. casei*) masing-masing pada 10 ml medium MRS broth kemudian diinkubasi pada suhu 37°C.
- Pemindahan kultur pada 100 ml MRS broth steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C.
- Sampel awal diukur absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm dan diukur nilai pHnya
- Selanjutnya untuk tiap interval waktu 5 jam diambil sampel berikutnya untuk dilakukan pembacaan absorbansi pada

panjang gelombang 660 nm dan analisa pH kultur

- Dilakukan pengukuran absorbansi sampai kadar absorbansi kultur tetap atau menurun.
- Dibuat kurva pertumbuhan mikroba hubungan waktu dengan kadar absorbansi dan pH dengan kadar absorbansi.

Persiapan Kultur dan Media (Modifikasi Speck, 1984)

- Penyiapan 10 ml kultur MRS broth steril
- Penambahan 1ml larutan susu skim 10% (v/v) steril
- Inokulasi 1 ose kultur agar miring bakteri (*B.bifidum*, *L.acidophilus*, *L.casei*) masing-masing pada 10 ml MRS broth steril dan inkubasi pada 37°C, dengan waktu inkubasi sesuai dengan waktu puncak fase logaritmik kultur yang didapat pada tahap penentuan kurva pertumbuhan.
- Pemindahan kultur dalam 100 ml MRS broth dan inkubasi pada suhu 37°C, dengan waktu inkubasi sesuai dengan waktu puncak fase logaritmik kultur yang didapat pada tahap penentuan kurva pertumbuhan.

Proses Imobilisasi Sel Bakteri Probiotik (Modifikasi Tzen, et al, 2002)

- Penyiapan 30 ml minyak jagung, distabilisasi pada 70°C selama 1 jam dalam waterbath.
- Didinginkan sampai 40°C, ditambah dengan lesitin 2% (b/v)
- Ditambah dengan kultur bakteri pada tahap 1 (3.4.1) sebanyak 50% (v/v)
- Dishaker selama 15 menit, 300 rpm dan diamati secara mikroskopis

Uji Viabilitas Bakteri Probiotik

Uji viabilitas yang dilakukan mencakup 3 perlakuan yaitu viabilitas selama penyimpanan kultur, simulasi saluran pencernaan dan pengaruh pengolahan.

Uji Viabilitas Selama Penyimpanan (Modifikasi Tzen, et al, 2002)

- Penyiapan 10 ml kultur terimobilisasi dan kultur bebas

- Penyimpanan kultur pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ dan $-10 \pm 1^\circ\text{C}$
- Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan diencerkan sampai 10^{-8}
- Inokulasi sampel (3 pengenceran terakhir) pada media MRS Agar dengan metode Pour Plate
- Inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Penghitungan jumlah koloni yang terbentuk dengan metode SPC
- Inokulasi sampel dilakukan tiap 3 hari selama 15 hari, dimulai hari ke-0

Uji Viabilitas Simulasi Saluran Pencernaan Uji Viabilitas Terhadap Asam (Modifikasi Mosilhey, 2003)

- Penyiapan 10 ml kultur terenkapsulasi dan kultur bebas
- Penambahan HCl 37% sampai pH media mencapai 1
- Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan diencerkan sampai 10
- Inokulasi sampel (3 pengenceran terakhir) pada media MRS Agar dengan metode Pour Plate
- Inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Penghitungan jumlah koloni yang terbentuk dengan metode SPC
- Inokulasi sampel dilakukan tiap 1 jam selama 4 jam, dimulai jam ke-0
- Dilanjutkan uji viabilitas untuk perlakuan penambahan HCl 37% sampai pH media mencapai 2

Uji Viabilitas Terhadap Garam Empedu (Modifikasi Mosilhey, 2003)

- Penyiapan kultur terenkapsulasi dan kultur bebas
- Penambahan 2 ml larutan garam empedu 2% (b/v) steril
- Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan diencerkan sampai 10
- Inokulasi sampel (3 pengenceran terakhir) pada media MRS Agar dengan metode Pour Plate
- Inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Penghitungan jumlah koloni yang terbentuk dengan metode SPC

- Inokulasi sampel dilakukan tiap 1 jam selama 4 jam, dimulai jam ke-0

Uji Viabilitas Selama Pengolahan

Uji Viabilitas Terhadap Pengaruh Suhu Pemanasan (Modifikasi Mosilhey, 2003)

- Penyiapan 10 ml kultur terenkapsulasi dan kultur bebas
- Inkubasi kultur pada suhu 37, 40, 50, 60, 70 dan 80°C selama 30 menit pada waterbath
- Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan diencerkan sampai 10
- Inokulasi sampel (3 pengenceran terakhir) pada media MRS Agar dengan metode Pour Plate
- Inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Penghitungan jumlah koloni yang terbentuk dengan metode SPC
- Inokulasi sampel untuk tiap titik suhu

Uji Viabilitas Terhadap Pengaruh Penambahan NaCl dan Sukrosa (Modifikasi Mosilhey, 2003)

- Penyiapan 10 ml kultur terenkapsulasi dan kultur bebas
- Penambahan Sukrosa 25% (b/v) atau NaCl 10% (b/v), dihomogenisasi merata
- Pengambilan sampel sebanyak 1 ml dan diencerkan sampai 10
- Inokulasi sampel (3 pengenceran terakhir) pada media MRS Agar dengan metode Pour Plate
- Inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C
- Penghitungan jumlah koloni yang terbentuk dengan metode SPC
- Inokulasi sampel dilakukan tiap 3 hari, selama 15 hari, dimulai hari ke-0, kultur disimpan pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Analisa Data

Analisa data menggunakan uji beda nilai tengah ("mean compare") dua sampel berpasangan ("paired sample t - test") pada $\alpha=0,05$. Analisa data dilakukan dengan menggunakan program "SPSS 10.05 for Windows". Data pengamatan viabilitas yang diperoleh dicari nilai penurunan jumlah koloni/ml untuk tiap uji viabilitas, kemudian dibandingkan antara sampel kultur terimobilisasi dengan sampel kultur bebas

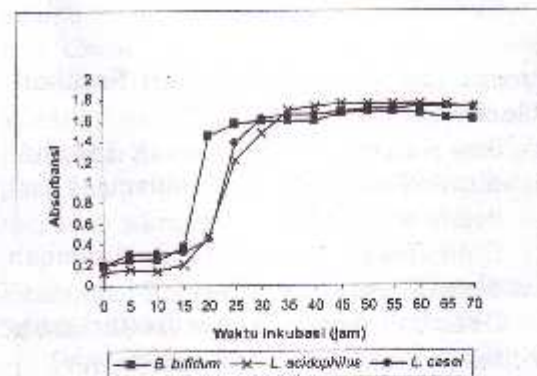
untuk masing-masing bakteri. Perbandingan penurunan viabilitas dengan melihat selisih penurunan viabilitas yang menunjukkan kemampuan proses imobilisasi dalam mempertahankan pertumbuhan bakteri probiotik selama uji viabilitas dilakukan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Kurva Pertumbuhan Bakteri Probiotik

Meningkatnya absorbansi selama waktu inkubasi menunjukkan peningkatan kekeruhan medium. Peningkatan kekeruhan mengindikasikan meningkatnya populasi bakteri probiotik dalam medium pertumbuhan. Menurut Volk and Wheeler (1993) perubahan nilai absorbansi menunjukkan adanya pertumbuhan sel, dimana semakin tinggi nilai absorbansinya maka semakin tinggi pula jumlah sel mikroba dalam medium tersebut. Kurva pertumbuhan menunjukkan hubungan antara lama waktu inkubasi dengan kekeruhan medium yang dinyatakan dalam absorbansi yang menunjukkan kadar biomassa sel mikroba.

Berdasarkan pengamatan parameter

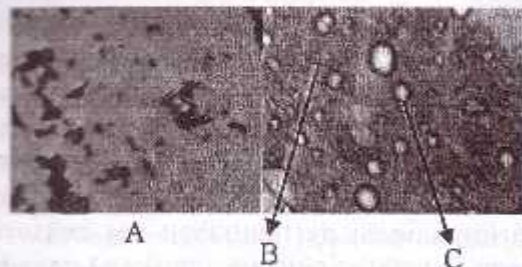


Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Bifidobacterium. bifidum*, *Lactobacillus. acidophilus* dan *Lactobacillus casei*

pengukuran kekeruhan medium, (Gambar 1), waktu pemanenan sel yang optimum untuk nantinya diimobilisasi dalam emulsi minyak jagung adalah waktu dimana titik akhir fase logaritmis tercapai yaitu waktu inkubasi 25 jam untuk *B. bifidum* serta waktu inkubasi jam 35 jam untuk *L. acidophilus* dan *L. casei* dengan suhu inkubasi 37°C.

Imobilisasi Sel Bakteri Probiotik

Proses imobilisasi sel *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* dilakukan dengan penjebakan sel dalam emulsi minyak jagung. Proses imobilisasi sel dalam emulsi minyak ini termasuk dalam jenis teknik imobilisasi



Gambar 2. Fotomikrograf Sel *Bifidobacterium bifidum* Bebas dan Terimobilisasi (perbesaran 1000 x).

Keterangan :

A. Sel *B. bifidum* Bebas

B. Droplet Medium berisi Sel *B. bifidum*

C. Minyak Jagung

yang berisi sel bakteri sehingga minyak dapat berfungsi sebagai dinding penghalang ("barrier-surface") yang mampu mempertahankan viabilitas bakteri *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* selama penyimpanan suhu rendah, simulasi saluran pencernaan dan selama pengolahan.

Fotomikrograf sel bakteri *B. bifidum*, bebas maupun yang terimobilisasi dapat dilihat pada gambar 4. Sedangkan untuk *L. acidophilus* dan *L. casei* fotomikrograf hasil imobilisasi tidak ditampilkan dan serupa dengan *B. bifidum*

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik Selama Penyimpanan Suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$

Data dalam Tabel 1. menunjukkan terjadi penurunan viabilitas (dalam log) untuk masing-masing bakteri sampai akhir uji viabilitas bakteri probiotik selama penyimpanan suhu refrigerasi ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). Penurunan pertumbuhan yang signifikan diduga diakibatkan oleh sifatnya yang anaerob.

Tabel 1. Penurunan Viabilitas Bakteri Probiotik *B. bifidum*, *L. acidophilus* dan *L. casei* bebas (B) dan Terimobilisasi (T) pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ dan $10 \pm 1^\circ\text{C}$, sukrosa, NaCl, pH rendah, garam empedu dan pemanasan pada masa akhir inkubasi 15 hari.

Jenis Mikroba	Jumlah penurunan Viabilitas (Log)							
	Suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$	Suhu $10 \pm 1^\circ\text{C}$	Sukrosa 25%	NaCl 10%	pH 1	pH 2	Garam Empedu 2%	Pemanasan
<i>B. bifidum</i> (B)	3,80	5,36	5,66	6,75	8,39*	8,38*	4,77	8,22*
<i>B. bifidum</i> (T)	1,94	3,89	3,04	3,44	6,21	4,89	1,87	4,18
<i>L. acidophilus</i> (B)	3,41	4,49	4,95	6,18	8,11*	8,66*	4,66*	7,56*
<i>L. acidophilus</i> (T)	1,88	3,49	3,06	3,39	6,88	5,64	1,82	3,33
<i>L. casei</i> (B)	3,33	5,26	4,09	5,60	8,71*	8,93*	5,71*	8,13*
<i>L. casei</i> (T)	1,92	3,13	2,97	3,36	7,04	5,86	2,93	4,10

dengan cara penjebakan sel dalam sistem penghalang ("containment behind a barrier") secara sederhana.

Dasar penjebakan sel ini adalah emulsifikasi yaitu pembentukan emulsi antara bakteri *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei* dalam medium pertumbuhannya dengan minyak jagung dengan penambahan emulsifier lesitin. Emulsi yang terbentuk adalah jenis emulsi air dalam minyak jagung atau "water in oil" (w/o). Globula minyak diharapkan mampu menyelubungi medium

Axelsson (1998) dalam Salminen and Wright (1998) menjelaskan bahwa bakteri *B. bifidum* adalah bakteri asam laktat yang bersifat anaerob namun mikroaerotoleran. Penurunan viabilitas *B. bifidum* yang lebih tinggi juga disebabkan karena suhu optimum dan kisaran suhu pertumbuhannya. Axelsson (1998) dalam Salminen and Wright (1998) menjelaskan bahwa genus *Lactobacillus* lebih bersifat psikrotrof dibandingkan dengan genus *Bifidobacteria*.

Secara umum, penurunan suhu akan menghambat pertumbuhan bakteri probiotik bebas. Pertumbuhan mikroba menurut Ray

(1996), adalah kumpulan reaksi enzimatis. Setiap kenaikan suhu 10°C selama reaksi berlangsung, kecepatan reaksi enzimatis akan berlangsung dua kali lipat. Sama halnya dengan kenaikan suhu, penurunan suhu 10°C akan mengurangi kecepatan reaksi enzimatis menjadi setengahnya dan akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri.

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik Selama Penyimpanan Suhu $-10 \pm 1^{\circ}\text{C}$

Penurunan log jumlah bakteri selama penyimpanan suhu $-10 \pm 1^{\circ}\text{C}$ baik kultur bebas maupun terimobilisasi jauh lebih besar dibandingkan dengan log jumlah bakteri yang disimpan pada suhu $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Penurunan jumlah koloni bakteri probiotik bebas selama penyimpanan suhu pembekuan ($-10 \pm 1^{\circ}\text{C}$) jauh lebih besar yaitu $4,49 - 5,36$ log, dibandingkan penurunan jumlah koloni selama penyimpanan suhu refrigerasi ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$) sebesar $3,33 - 3,80$ log. Hal ini diduga disebabkan oleh efek pembekuan terhadap pertumbuhan mikroorganisme, khususnya efek pembekuan lambat ("slow freezing") terhadap kematian mikroorganisme. Menurut Supardi dan Sukanto (1999), pembekuan lambat dapat merusak populasi mikroba. Jay (1992) menjelaskan bahwa pembekuan lambat akan menyebabkan terbentuknya ukuran kristal es yang lebih besar dibandingkan pembekuan cepat dan diluar sel ("extracellular ice crystal") yang dapat membunuh mikroba.

Sama halnya dengan penyimpanan suhu $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Proses imobilisasi dapat mempertahankan viabilitas bakteri probiotik yang terperangkap di dalam emulsi minyak jagung. Meskipun beberapa komponen asam lemak jenuh rantai pendek membeku, fraksi asam lemak tak jenuh rantai panjang minyak jagung memberikan efek "barrier-surface" pada sel bakteri probiotik terhadap kontak pembekuan. Menurut Ketaren (1986), komposisi asam lemak minyak jagung didominasi asam linoleat dengan titik cair sekitar -5°C dengan jumlah asam linoleat minyak jagung sekitar 56 % dari berat minyak.

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik dalam Simulasi Asam Lambung

Untuk pH 1 kecenderungan penurunan jumlah koloni ketiga jenis bakteri bebas maupun terimobilisasi dengan kondisi penambahan HCL 37% sampai pH medium mencapai 1. Kecenderungan penurunan kultur bebas jauh lebih tinggi dibandingkan kultur terimobilisasi, dimana kultur *B. bifidum* dan *L. acidophilus* bebas sampai waktu inkubasi jam ke-3 tidak menunjukkan viabilitas sama sekali atau jumlah koloni sama dengan nol, sedangkan untuk *L. casei* bebas jumlah koloni sama dengan nol pada waktu inkubasi jam ke-2. Sedangkan kultur terimobilisasi pertumbuhan sel bakteri sampai waktu inkubasi jam ke-4 masih menunjukkan viabilitas meskipun hanya dalam jumlah yang kecil. Untuk pH 2 juga dapat dilihat kecenderungan penurunan viabilitas baik untuk sel bebas maupun terimobilisasi untuk ketiga jenis bakteri.

Dalam saluran pencernaan *B. bifidum* dan *L. acidophilus* lebih toleran terhadap asam lambung dibandingkan dengan *L. casei*. Mitsuoka (1999) dalam Wood (1999) menyatakan bahwa genus *Bifidobacterium* dan *L. acidophilus* merupakan komponen mayoritas ("major component") dalam distribusi mikroflora usus manusia dan hewan. Sedangkan *L. casei* kadang-kadang terdistribusi dalam jumlah tertentu ("occasionally recovered") pada usus manusia dan hewan.

Secara umum pH rendah akan menurunkan dan menghambat pertumbuhan bakteri, Fardiaz (1992) menjelaskan bahwa pada waktu pH diturunkan, proton yang terdapat dalam jumlah tinggi dalam medium akan masuk dalam sitoplasma sel, dan proton ini harus dihilangkan dari dalam sel untuk mencegah terjadinya pengasaman dan denaturasi komponen-komponen sel. Untuk menghilangkan proton keluar sel terjadi gradien konsentrasi yang membutuhkan energi. Semakin rendah pH makin banyak energi yang dibutuhkan untuk mempertahankan pH konstan dalam sel, akibatnya energi yang tersedia untuk sintesis komponen sel berkurang. Oleh karena itu pertumbuhan sel menjadi sangat

lambat, bahkan berhenti sama sekali pada pH yang sangat rendah.

Penurunan jumlah koloni bakteri terimobilisasi sebesar 4,89 – 5,86 log diduga disebabkan oleh terjadinya gangguan pada kestabilan emulsi akibat penambahan asam.

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik dengan Penambahan Garam Empedu

Jumlah awal koloni bakteri bebas berkisar antara 8,45 – 9,11 log, sedangkan untuk kultur terimobilisasi berkisar antara 8,32 – 9,55 log. Terdapat kecenderungan penurunan jumlah koloni baik untuk sel bebas maupun sel terimobilisasi.

Proses imobilisasi tidak berpengaruh nyata pada *B. bifidum*, hal ini dikarenakan penurunan sel bebasnya tidak terlalu jauh berbeda dengan sel terimobilisasi. Hal tersebut diatas diduga disebabkan karena *B. bifidum* lebih toleran terhadap garam empedu dibandingkan *L. acidophilus* dan *L. casei* paling sensitif terhadap pertumbuhan garam empedu. Jawetz, et al, (1995) menjelaskan bahwa garam empedu dapat menyebabkan gangguan pada selaput atau dinding sel. Garam empedu merupakan zat yang berkonsentrasi pada permukaan yang dapat mengubah sifat-sifat fisik dan selaput sel, menghalangi fungsi normal sel dan dengan demikian membunuh dan menghambat sel serta mengakibatkan lisis sel

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik Terhadap Pengaruh Pemanasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada kecenderungan penurunan bakteri *B. bifidum*, *L. acidophilus* dan *L. casei* bebas maupun terimobilisasi terhadap pengaruh pemanasan suhu berbeda (37, 40, 50, 60, 70 dan 80°C) selama 30 menit. Semakin tinggi suhu inkubasi penurunan jumlah koloni semakin besar, kecuali untuk suhu 40°C terjadi kenaikan jumlah koloni walaupun sedikit, dan selanjutnya semakin turun sampai suhu 80°C. Untuk sel bebas dan terimobilisasi, jumlah awal bakteri berkisar antara 9,72 – 9,98 log, dengan jumlah akhir pada suhu 80°C berkisar antara 1,52 – 2,11 log untuk sel bebas dan 5,65 – 6,42 log untuk sel terimobilisasi.

Penurunan viabilitas bakteri probiotik pada suhu inkubasi 80 °C dibandingkan dengan jumlah awal pada suhu 37 °C untuk sel bebas berkisar antara 7,56 – 8,22 log, sedangkan untuk sel terimobilisasi berkisar jumlahnya antara 3,33 – 4,18 log. Penurunan jumlah sel bebas maupun terimobilisasi paling banyak adalah sel *B. bifidum*. Hal tersebut diduga dikarenakan *B. bifidum* mempunyai kisaran suhu optimum pertumbuhan lebih kecil dibandingkan dengan kedua jenis bakteri lainnya. Ballongue (1990) dalam Salminen and Wright (1998) menjelaskan bahwa *B. bifidum* tumbuh optimal pada 36 – 38 °C, dan mati diatas suhu 60 °C. *L. acidophilus* mempunyai suhu optimal pertumbuhan 45 °C (Kwantes, 1998) sedangkan *L. casei* sebesar 37 – 41 °C.

Proses imobilisasi mampu mempertahankan jumlah koloni sebesar 4,04 log untuk *B. bifidum*, 4,23 log *L. acidophilus* dan *L. casei* 4,03 log selama waktu inkubasi pada pemanasan dengan suhu 40 – 80 °C. Minyak jagung sebagai media imobilisasi mampu memberikan "barrier effect" terhadap sel bakteri probiotik selama pemanasan suhu 40 – 80°C. Pardiast (1992) menyatakan bahwa adanya lemak di dalam medium medium pemanasan pada umumnya akan meningkatkan ketahanan panas mikroorganisme.

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik Terhadap Pengaruh Penambahan Sukrosa 25%

Viabilitas sel bakteri mengalami penurunan sampai akhir hari ke-15 dengan jumlah penurunan terbesar untuk sel bebas adalah *B. bifidum* sebesar 4,95 log sedangkan penurunan terkecil untuk sel terimobilisasi adalah *L. casei* yaitu 2,97 log. Selisih penurunan jumlah koloni terbesar juga *B. bifidum* yaitu sebesar 2,62 log disebabkan oleh karena penurunan jumlah koloninya akibat penambahan sukrosa 25 % adalah yang paling besar dibandingkan kedua jenis bakteri lainnya.

Hal diatas diduga disebabkan karena kombinasi perlakuan yaitu efek penghambatan pertumbuhan *B. bifidum* pada suhu inkubasi yang rendah yaitu suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ dan efek toksisitas sukrosa. Dimana

saat uji viabilitas pada suhu penyimpanan $4 \pm 1^\circ\text{C}$, penurunan jumlah koloni *B. bifidum* paling besar diantara kedua jenis bakteri lainnya baik untuk sel bebas maupun sel terimobilisasi. Sehingga penurunan jumlah koloni *B. bifidum* tidak hanya disebabkan oleh penambahan sukrosa namun juga efek suhu rendah.

Hasil uji beda menunjukkan proses imobilisasi hanya berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) pada *B. bifidum*, dan tidak memberikan pengaruh nyata pada *L. acidophilus* dan *L. casei*. Proses imobilisasi tidak memberikan pengaruh nyata pada *L. acidophilus* dan *L. casei* disebabkan karena penurunan jumlah koloni keduanya dengan penambahan sukrosa 25 % tidak sebesar *B. bifidum*.

Proses imobilisasi sel dalam emulsi mampu mempertahankan viabilitas *B. bifidum* sampai 2,62 log, *L. acidophilus* 1,89 log dan 1,12 log *L. casei* selama penyimpanan 15 hari pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$, dengan penambahan sukrosa 25 %.

Studi Viabilitas Bakteri Probiotik Terhadap Pengaruh Penambahan NaCl 10%

Hasil penelitian menggambarkan adanya penurunan viabilitas dan selisih penurunan jumlah koloni *B. bifidum* bebas maupun terimobilisasi adalah yang paling besar dibandingkan kedua jenis bakteri lainnya sampai akhir masa penyimpanan pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$, dengan penambahan NaCl 10%, yaitu sebesar 6,75 log untuk sel bebas dan 3,44 log untuk sel terimobilisasi, selisih penurunan sebesar 3,31 log.

Sama halnya dengan uji viabilitas dengan penambahan sukrosa 25%, penurunan viabilitas *B. bifidum* diduga disebabkan penghambatan pertumbuhan karena kombinasi perlakuan yaitu pada suhu inkubasi yang rendah yaitu suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ dan efek toksisitas NaCl. Penambahan NaCl sebanyak 10% pada sel bebas memberikan efek kematian yang lebih besar dibandingkan dengan penambahan sukrosa 25 %. Hal ini disebabkan karena pengaruh penghambatan NaCl terhadap pertumbuhan mikroorganisme jauh lebih besar daripada sukrosa. Hal ini didukung oleh Jay (1992) yang menyatakan bahwa gula seperti sukrosa memberikan efek preservasi yang

hampir sama dengan garam. Perbedaan yang penting terletak pada konsentrasi keduanya. Umumnya sukrosa memerlukan konsentrasi 6 kali lebih banyak dibanding NaCl untuk memberikan tingkat penghambatan yang sama. Luck and Jager (1997) menambahkan bahwa sama seperti sukrosa, garam secara umum akan menurunkan aktivitas air (Aw) dari sistem sehingga dapat menghambat pertumbuhan dari mikroorganisme.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan proses imobilisasi sel dalam emulsi minyak jagung berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) pada viabilitas *B. bifidum*, *L. acidophilus* dan *L. casei* selama penyimpanan suhu pembekuan ($-10 \pm 1^\circ\text{C}$), selama penambahan HCl sampai pH 1 dan 2, selama pemanasan, dan penambahan NaCl 10%. Sedangkan proses imobilisasi tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) pada viabilitas *L. acidophilus* dan *L. casei* pada penyimpanan suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$, tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0,05$) pada viabilitas *B. bifidum* dengan penambahan garam empedu 2% dan sukrosa 25%.

Proses imobilisasi mampu mempertahankan viabilitas bakteri probiotik sebesar 1,12 - 4,23 log. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa minyak jagung dapat digunakan sebagai media imobilisasi yang sesuai bagi bakteri *B. bifidum*, *L. acidophilus* dan *L. casei* dalam meningkatkan viabilitas dan memberikan proteksi pada bakteri tersebut selama penyimpanan suhu rendah, saluran pencernaan dan kondisi pengolahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Fardiaz. 1992. Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut. PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Jawetz, E ; J. L. Melnick and E. A. Adelberg. 1995. Mikrobiologi Kedokteran. Alih bahasa: E. Nugroho dan K. F. Maulany. Penerbit EGC. Jakarta
- Jay, J. M. 1992. Modern Food Microbiology. 4th Ed. Van Nostrand Reinhold Publisher. New York

- Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. UI Press. Jakarta
- Kurmann, J. A., and J. L. Rasic. 1991. The Health Potential of Products Containing *Bifidobacteria*. In Robinson, R. K. (Ed). 1992. Therapeutic Properties of Fermented Milks. London: Elsevier Science Publishers, Ltd. 117-158.
- Kwantes, J. 1998. *Lactobacillus acidophilus*. <http://www.umn.edu/~microbio/LS221.htm> Tanggal akses: 06/06/05
- Luck, E. and M. Jager. 1997. Antimicrobial Food Additives. Characteristic, Uses, Effects. Springer Verlag. London
- Miller, J. M, S. Shah, and J. T. Winkler. 1999. Public Health Issues Arising From Microbiological and Labeling Quality of Foods and Supplements Containing Probiotic Microorganisms. Public Health Nutr. 2:223-229.
- Mosilhey, S. H. 2003. Influence Of Different Capsule Material on The Physiological Properties of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Dissertation. Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universitat. Bonn.
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology. CRC Press. Boca Raton
- Salminen, S. and A.V. Wright. (Ed). 1998. Lactic Acid Bacteria. Microbiology and Functional Aspects. Marcel Dekker Inc. London
- Speck, M. L. 1984. Compendium of Method For The Microbiological Examination of Foods. 2nd Ed. American Public Health Association Inc. Washington
- Supardi dan Sukanto. 1999. Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Penerbit Alumni. Jakarta
- Tzen R. C. W. Hou; M. Y. Lin and M. M. C. Wang. 2002. Increase of Viability of Entrapped Cells of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in Artificial Sesame Oil Emulsions. J. Dairy Sci., 86:424-428
- Willaert R.G and G.V Baron. 1996. Introduction of Immobilised Living Cells Systems. In Willaert R.G, G.V Baron and L. D. Backer (Ed). 1996. Immobilised Living Cells Systems, Modelling and Experimental Methods. John Wiley and Sons. New York
- Wood, B. J. B. (Ed). 1999. The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. Vol.1. Aspen Publication. Maryland.