

VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 TERIMOBIL DALAM GEL ALGINAT YANG MENGANDUNG TEPUNG PEPAYA DAN KETAHANANNYA PADA KONDISI ASAM LAMBUNG DAN GARAM EMPEDU SECARA *IN VITRO*

Theresia Endang Widoeri Widyastuti*, Netty Kusumawati*, Indah Kuswardani*, Zlatika Wibowo**
dan Xavira Amelia**

*Dosen Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya,

** Alumni Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya
widoeri@ymail.com

Abstrak

Tepung pepaya mengandung serat pangan dan manitol yang berpotensi sebagai komponen prebiotik, sedangkan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 mampu bertahan hidup dalam kondisi asam lambung dan garam empedu sehingga berpotensi sebagai probiotik. Namun efektivitas kombinasinya dalam suatu produk masih perlu dikembangkan. Tujuan penelitian untuk mengetahui pengaruh interaksi berbagai konsentrasi tepung pepaya dan jumlah sel kultur *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil terhadap viabilitas dan ketahanan sel pada kondisi asam lambung dan garam empedu secara *in vitro*. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi tepung pepaya terdiri dari 3 level (P1, P2, P3) berturut-turut sebesar 1, 3 dan 6%, dan jumlah sel kultur terdiri dari 3 level (K1, K2, K3) berturut-turut $12 \log_{10}$, $11 \log_{10}$, dan $10 \log_{10}$ cfu/mL. Data dianalisa dengan ANAVA pada $\alpha=5\%$ dan dilanjutkan dengan uji DMRT. Perbedaan jumlah kultur awal berpengaruh nyata terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dengan viabilitas terbesar yaitu $10,3 \log_{10}$ cfu/gram diperoleh dari kultur pekat (K1). Semakin tinggi konsentrasi tepung pepaya atau semakin sedikit jumlah kultur awal yang digunakan secara signifikan meningkatkan ketahanan sel terimobil terhadap asam. Jika tepung pepaya konsentrasi rendah digunakan, ketahanan terhadap garam empedu menurun dengan peningkatan jumlah sel awal. Penggunaan tepung pepaya sebesar 6% (P3) dengan jumlah sel awal $12 \log_{10}$ (K1) menghasilkan jumlah sel terimobil terbesar yaitu $8,9 \log_{10}$ cfu/gram setelah kontak dengan asam dan garam empedu.

Kata kunci: tepung-pepaya, sinbiotik, viabilitas, asam-lambung, garam-empedu

PENDAHULUAN

Prebiotik merupakan makanan tidak dapat dicerna, yang memberi manfaat bagi *host* dengan secara selektif menstimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas bakteri tertentu di dalam kolon yang membantu meningkatkan kesehatan manusia (Gibson dan Roberfroid, 1995). Prebiotik pada umumnya merupakan karbohidrat yang tidak dapat diserap, tidak dapat dicerna, dan berbentuk oligosakarida atau serat pangan (Silalahi dan Hutagalung, 2002). Selain itu golongan polyol juga

dapat berfungsi sebagai prebiotik. Suskovic *et al.* (2001), Cummings *et al.* (2001), dan Monedero *et al.* (2010) menyatakan *polyol* dapat berfungsi sebagai prebiotik yang efektif untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Tepung pepaya Thailand pada tingkat kematangan *firm ripe stage* (mengkal) memiliki kandungan serat pangan total $15,74\% \pm 0,220\%$ (Widyastuti dkk., 2006) dan mengandung gula alkohol (*polyol*) berupa manitol dapat menjadi sumber prebiotik (Widyastuti, 2003).

Idealnya strain probiotik tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan, tetapi mampu berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan empedu. Probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* yang merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan manusia (Sujaya *et al.*, 2008). Untuk dapat memberi manfaat terhadap kesehatan, jumlah sel bakteri probiotik yang hidup pada makanan pembawanya (*carrier*) harus cukup tinggi yaitu minimal 10^6 cfu/gram (ISAAP, 2009). Adanya kontak dengan asam lambung dan garam empedu dalam saluran pencernaan dapat memberi tekanan pada sel hingga menyebabkan kematian. Salah satu cara untuk meningkatkan viabilitas probiotik adalah dengan cara imobilisasi sel.

Teknik imobilisasi sel dapat digambarkan sebagai pembatasan gerak fisik atau lokalisasi dari sel pada suatu wilayah ruang (Goksungur dan Zorlu, 2001). Natrium alginat merupakan bahan yang umum digunakan sebagai penjerat sel karena memiliki kemampuan untuk membentuk gel. (Monedero dkk., 2010). Selain itu umumnya ditambahkan kation bivalen dalam bentuk larutan CaCl_2 1% agar terbentuk gel yang keras dan tidak rapuh. Chandramouli *et al.* (2004), mengungkapkan bahwa penggunaan konsentrasi larutan alginat lebih dari 2% tidak memungkinkan untuk menghasilkan manik-manik homogen karena peningkatan viskositas larutan dan penurunan difusivitas massa. Bakteri probiotik yang diimobilisasi memiliki ketahanan lebih tinggi dibandingkan jumlah sel bakteri probiotik tanpa imobilisasi (Brachkova *et al.*, 2010; Fahimdanesh *et al.*, 2012) sehingga teknik imobilisasi memberikan keuntungan untuk mempertahankan ketahanan sel bakteri terhadap asam dan garam empedu.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh interaksi berbagai konsentrasi tepung pepaya dan jumlah sel kultur terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dalam gel alginat dan ketahanannya pada kondisi asam lambung dan garam empedu secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Kultur bakteri *L. acidophilus* FNCC 0051, Na-alginat murni (Sigma A2033-100G), larutan CaCl_2 1%, Pepaya Thailand mengkal dari Malang, larutan NaCl 0,85% (Riedel-de Haën 31434), *oxgall* (Pronadisa Cat. 1612.00), larutan HCl 37% p.a (Merck 1.00317), larutan Na-sitrat 0,1 M, MRS Broth (Oxoid CM0359), Agar "American Bacteriological Agar" (Pronadisa Cat. 1802), Pepton from meat (Merck 1.07224), akuades, alkohol 96%, larutan untuk pewarnaan Gram.

Pembuatan Tepung Pepaya (Monica, 2008, dengan modifikasi)

Putih telur sebanyak 10% (b/b) dari berat *slurry* pepaya dikocok menggunakan *handmixer* dengan kecepatan sedang selama 1 menit sampai sedikit berbusa kemudian dimasukkan dekstrin 1% (b/b) dari berat *slurry* pepaya dan dikocok dengan kecepatan tinggi selama 8 menit. Busa yang diperoleh dikocok bersama dengan *slurry* pepaya. *Slurry* pepaya berbuih dihamparkan pada loyang dan dikeringkan pada suhu 60°C selama sekitar 5 jam. Serpih pepaya hasil pengeringan *slurry* dihancurkan menggunakan *blender* dan diayak dengan ayakan 80 mesh hingga diperoleh tepung dengan kadar air sekitar 10%.

Pembuatan Sel Imobil (Sheu and Marshall, 1993; Lee and Heo, 2000; Klinkenberg (2001)

Na-alginat steril 2% (b/v) yang disimpan dalam *refrigerator* ($T=4-7^\circ\text{C}$) selama 24 jam dipanaskan dalam *waterbath* suhu $\pm 100^\circ\text{C}$ selama 5 menit. Tepung pepaya sebanyak 1% (b/v), 3% (b/v), atau 6% (b/v) dimasukkan ke dalam larutan Na-alginat dan divortex 3 menit hingga homogen. Sebelum digunakan, tepung pepaya dipanaskan dalam *waterbath* suhu 95°C selama 30 menit untuk membunuh mikroba kontaminan yang mungkin ada dalam tepung. Kemudian 1% (v/v) kultur cair *L. acidophilus* FNCC 0051 dalam MRS broth dengan jumlah sel awal $12 \log_{10}$, $11 \log_{10}$, atau $10 \log_{10}$ cfu/mL dimasukkan dalam campuran Na-alginat yang telah dihomogenkan dengan tepung pepaya dan

dihomogenisasi dengan vortex selama 3 menit. Setelah itu ditetaskan ke dalam 300 mL larutan CaCl_2 dingin dan didiamkan pada suhu $4-7^\circ\text{C} \pm 15$ menit selanjutnya dicuci dengan larutan NaCl 0,85% sebanyak tiga kali (3x) masing-masing 100 mL.

Pengujian Ketahanan pada Asam Lambung (Lee and Heo, 2000, dengan modifikasi)

Tiga gram sel imobil (*beads*) dimasukkan dalam media MRS broth pH 2,5 (diatur dengan HCl 0,08 M) kemudian diinkubasi 30 menit, 37°C . Setelah inkubasi, *beads* diambil secara aseptis, dilarutkan ke dalam 27 mL larutan Na-sitrat 0,1 M steril dan divortex 3 menit sampai terlarut semua. Setelah itu, dilakukan seri pengenceran, penuangan MRS agar, dan diinkubasi selama 37°C , 48 jam dan dilakukan perhitungan koloni yang tumbuh. Ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil terhadap asam lambung dihitung dengan rumus: **Jumlah penurunan sel = $\log(\text{ALT tabung a}) - (\text{ALT tabung b})$** . Keterangan: Tabung a adalah sel imobil tanpa dikontakkan dan tabung b adalah sel imobil yang dikontakkan dengan HCl pH 2,5.

Pengujian Ketahanan pada Garam Empedu (Lee and Heo, 2000, dengan modifikasi)

Tiga gram sel imobil yang telah dikontakkan dengan asam lambung dimasukkan ke MRS *Broth+oxgall* sebanyak 1% (b/v), diinkubasi 37°C , 3 jam, diambil dengan sendok steril secara aseptis dan dilarutkan dalam 27 mL larutan Na-sitrat 0,1 M steril. Kemudian divortex 3 menit sampai terlarut semua dan dilakukan seri pengenceran, penuangan dalam MRS agar yang telah dicairkan, dan dilanjutkan dengan inkubasi 37°C , 48 jam. Sebagai kontrol, dilakukan prosedur di atas tetapi dalam media MRS broth tanpa penambahan *oxgall*. Ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil terhadap garam empedu dinyatakan sebagai ketahanan relatif yang diperoleh dengan rumus: **Jumlah penurunan sel pada garam empedu = $\log(\text{ALT tabung c} - \text{ALT tabung b}) - \log(\text{ALT tabung d} - \text{ALT tabung b})$** . Keterangan: Tabung b adalah sel imobil yang dikontakkan dengan HCl pH 2,5. Tabung c adalah sel imobil yang dikontakkan

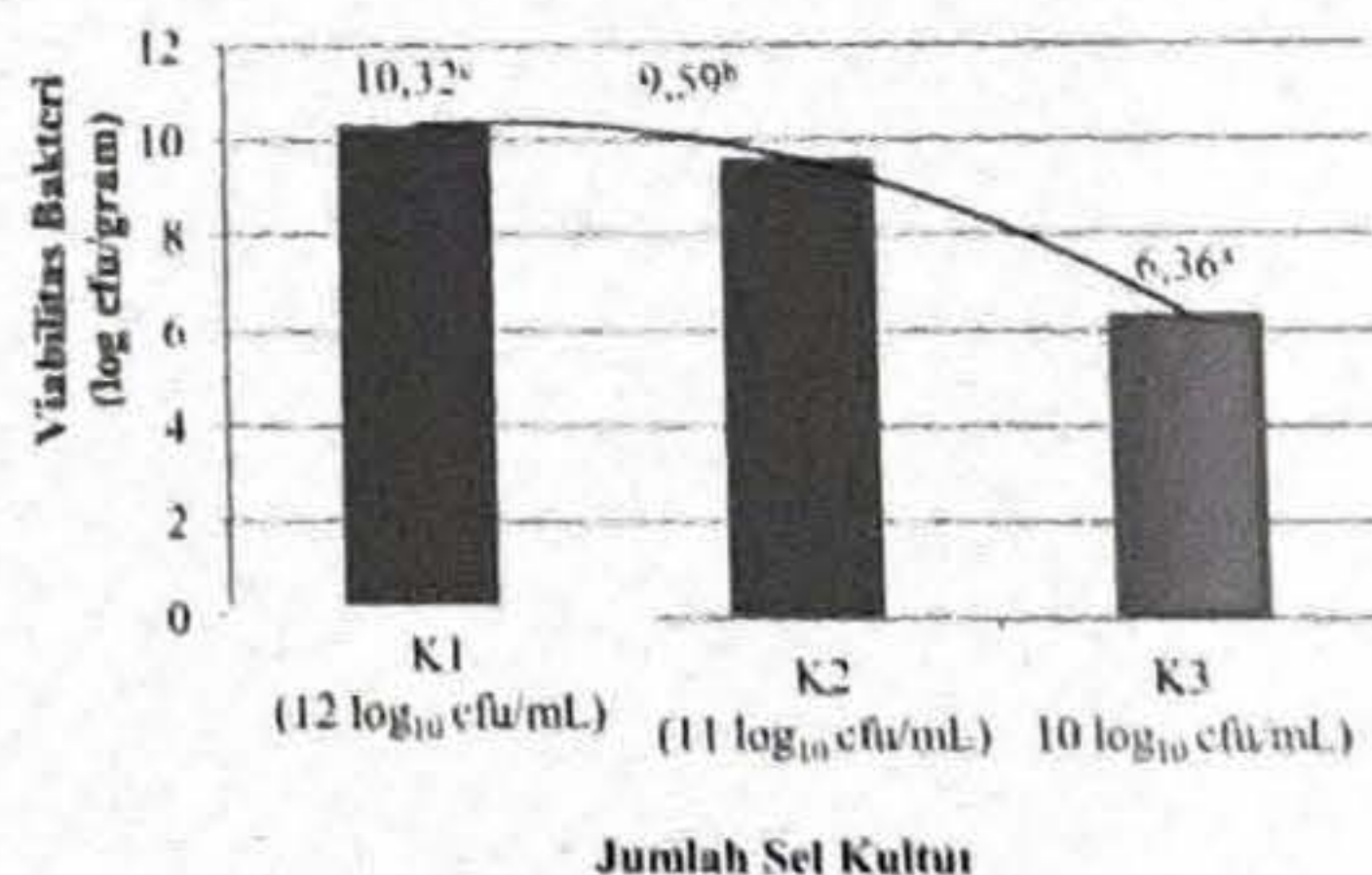
dengan *oxgall* 0%. Tabung d adalah sel imobil yang dikontakkan dengan *oxgall* 1%.

Rancangan Penelitian

Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial digunakan. Dua faktor yang diteliti yaitu konsentrasi tepung pepaya terdiri dari 3 level (P1, P2, P3) berturut-turut sebesar 1, 3 dan 6%, dan jumlah kultur awal terdiri dari 3 level (K1, K2, K3) berturut-turut $12 \log_{10}$, $11 \log_{10}$, dan $10 \log_{10}$ cfu/mL. Data dianalisa dengan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada $\alpha=5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 merupakan data yang menunjukkan banyaknya sel bakteri yang dapat terperangkap dan hidup dalam *beads* dengan berbagai jumlah kultur sel yang digunakan. Viabilitas bakteri ini diukur dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT). Hasil pengujian ANAVA (pada $\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dan jumlah sel kultur awal serta pengaruh faktor konsentrasi tepung pepaya, namun terdapat pengaruh nyata jumlah sel kultur yang digunakan terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051. Grafik pengaruh jumlah sel kultur yang ditambahkan terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dapat dilihat pada Gambar 1.

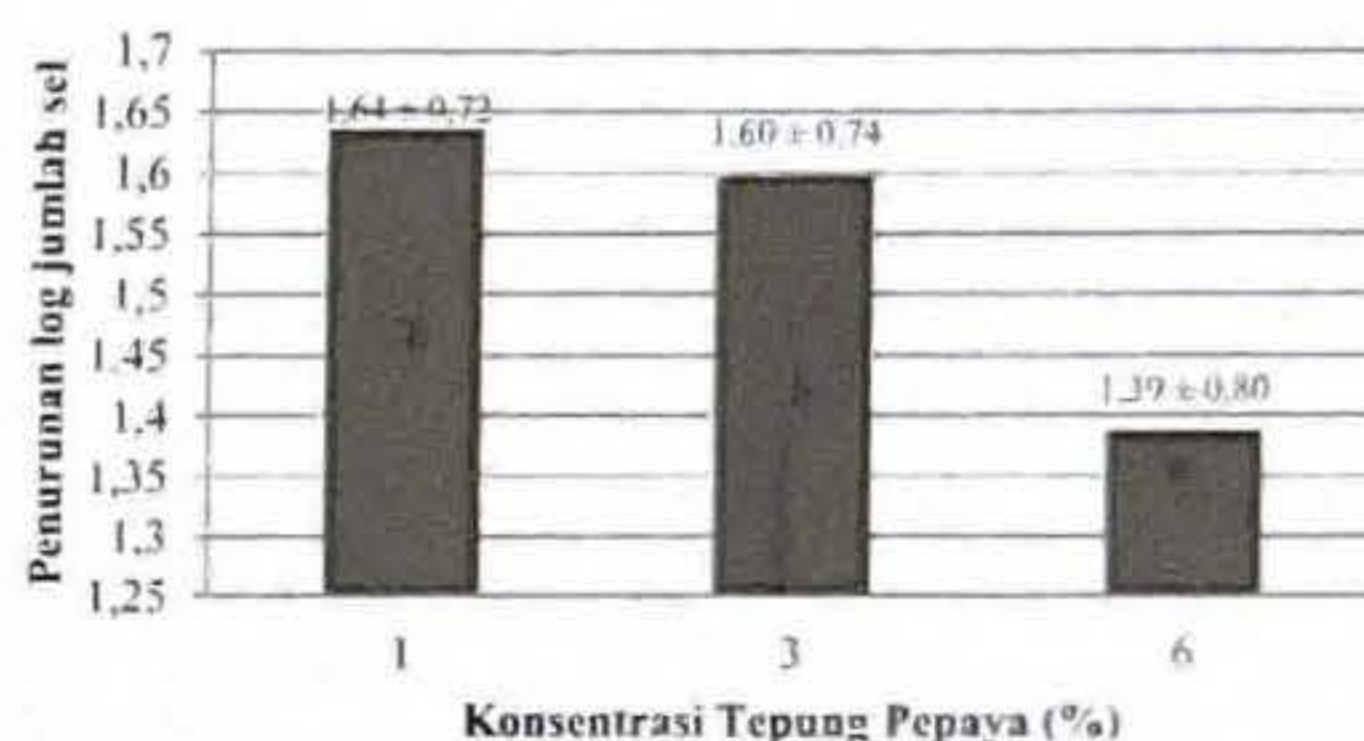


Gambar 1. Pengaruh Jumlah Sel Kultur terhadap Viabilitas Bakteri *L. acidophilus* FNCC 0051

Semakin sedikit jumlah kultur sel yang ditambahkan, maka jumlah bakteri yang terperangkap akan semakin sedikit. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan viabilitas

bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 yang signifikan berdasar uji DMRT ($\alpha=5\%$). Mortazavian *et al.* (2007), menyatakan bahwa semakin banyak jumlah bakteri awal yang ditambahkan maka jumlah sel yang terperangkap pada setiap *beads* juga akan meningkat sehingga akan meningkatkan efisiensi pemerangkapan. Walaupun begitu, jumlah sel terperangkap yang terlalu banyak akan menyebabkan pelunakan matriks *beads* serta *mouthfeel* yang tidak diinginkan karena adanya peningkatan diameter (Mortazavian *et al.*, 2007).

Hasil ANAVA pada taraf $\alpha=5\%$ menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dan jumlah sel kultur yang digunakan, namun masing-masing faktor tersebut memiliki berpengaruh nyata terhadap ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada asam lambung. Hasil uji DMRT ($\alpha=5\%$) dan histogram pengaruh konsentrasi tepung pepaya terhadap ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada asam lambung dapat dilihat pada Gambar 2. Pada gambar tersebut tampak bahwa penggunaan tepung pepaya dengan konsentrasi 6% menyebabkan peningkatan ketahanan sel yang nyata (penurunan log jumlah sel terkecil) dibanding penggunaan tepung pepaya dengan konsentrasi 1% atau 3%. Menurut Rokka dan Rantamäki (2010) serta Gouin (2004), kapsul kalsium alginat sangat berpori yang memungkinkan cairan media dapat berdifusi keluar masuk matriks. Tepung pepaya mengandung serat larut berupa pektin yang dapat mengisi kekosongan rongga pada kapsul (*beads*) kalsium alginat sehingga menghasilkan matriks gel yang lebih rapat yang melindungi sel-sel bakteri didalamnya yang aktif bermetabolisme. Selain itu, pektin juga bersifat stabil pada pH 2-4 sehingga saat kontak dengan asam lambung, kestabilan gel pektin tidak terganggu dan tetap dapat mempertahankan struktur gel. Oleh karena itu, pada penambahan tepung pepaya dengan konsentrasi yang lebih besar dapat meningkatkan ketahanan sel pada kondisi asam lambung karena menghasilkan *beads* yang lebih rapat sehingga kontak antara sel terimobil dengan lingkungan sekitar lebih terbatas.



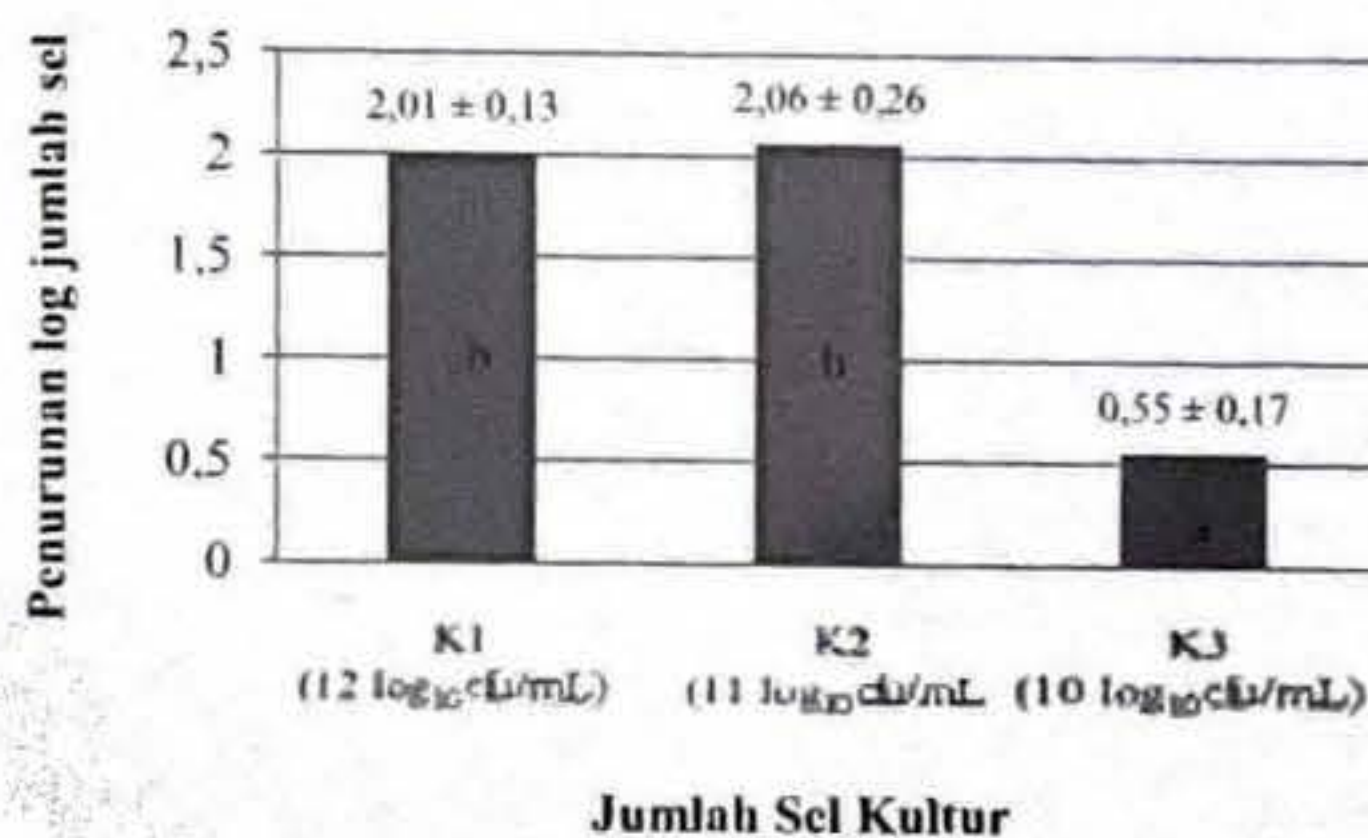
Gambar 2. Histogram Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap Ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 Terimobil pada Kondisi Asam Lambung

Adanya asam kuat yang digunakan dalam pembuatan media asam lambung mempengaruhi ketahanan gel Ca alginat pada *beads*. Pada pH 1,2 terjadi pelepasan kalsium dari cangkang kapsul kalsium alginat. Kalsium yang terlepas berasal dari kalsium yang berikatan dengan alginat dalam bentuk kalsium alginat dan kalsium yang terjerat diantara jaringan-jaringan kalsium alginat sebagai pembentuk dinding kapsul. Menurut Bender dan Marquis (1987), bakteri gram positif dinding selnya terdiri dari 90% peptidoglikan, yang merupakan suatu lapisan yang tersusun atas rantai glikan yang dihubungkan dengan asam-asam amino (L-alanin, D-asam glutamat, D-alanin, asam mesodiamino pimelat) melalui ikatan silang peptida. HCl adalah asam kuat yang mudah terdisosiasi di luar sel menghasilkan proton. Asam ini dapat memutuskan ikatan silang peptida pada peptidoglikan sehingga dinding sel menjadi rapuh dan rusak, selanjutnya juga mengakibatkan kerusakan membran serta inti sel sehingga terjadi kematian sel bakteri.

Selain tepung pepaya, jumlah sel kultur juga berpengaruh nyata terhadap ketahanan sel pada kondisi asam lambung. Hasil uji DMRT ($\alpha=5\%$) terhadap penurunan log jumlah sel akibat perlakuan jumlah sel kultur awal dapat dilihat pada Gambar 3.

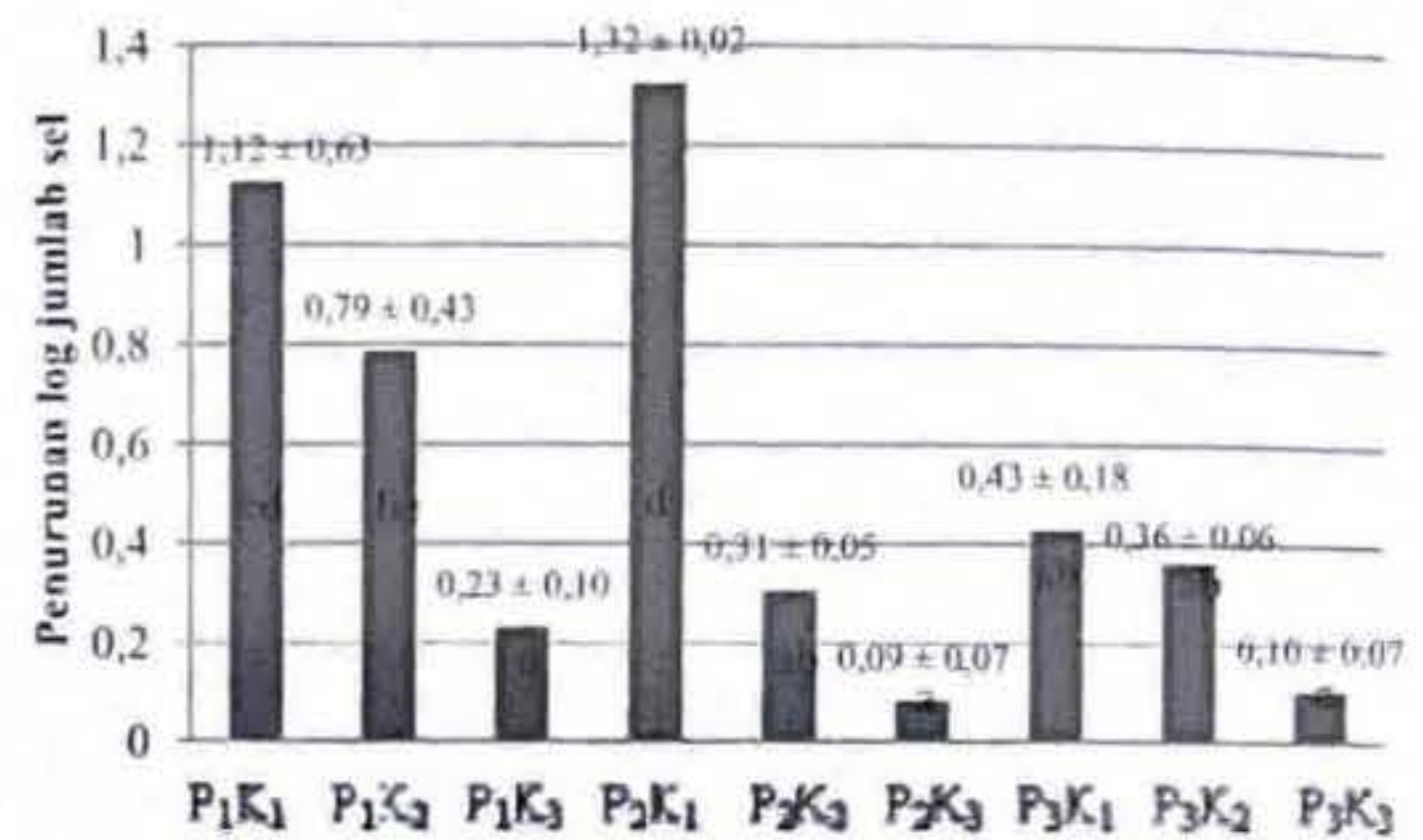
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan jumlah sel kultur yang terkecil (K_1) secara nyata berakibat pada ketahanan sel terhadap kondisi asam lambung yang paling tinggi (penurunan log jumlah sel terendah). Hal ini dapat disebabkan jika terlalu banyak sel yang ditambahkan dalam pembuatan *beads* menyebabkan penurunan kekuatan matriks untuk menjerat sel sehingga banyak sel yang terlepas ke lingkungan. Menurut Mortazavian dkk. (2007), seiring dengan

peningkatan jumlah sel dalam larutan enkapsulasi maka jumlah sel yang terjatuh dalam setiap *beads* juga akan meningkat. Akan tetapi perlu diketahui bahwa jumlah sel yang berlebihan akan menyebabkan pelunakan struktur kapsul. Jika jumlah sel yang terperangkap dalam matriks relatif rendah maka akan lebih besar kemungkinan matriks Ca-alginat-tepung pepaya dapat mempertahankan sel agar tidak keluar ke lingkungan asam. Dengan demikian maka ketahanan sel akan meningkat meskipun *beads* yang menjerat sel telah mengalami kontak dengan lingkungan asam selama 30 menit.



Gambar 3. Histogram Pengaruh Jumlah Sel Kultur terhadap Ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 Terimobil pada Kondisi Asam Lambung

Berdasarkan hasil penelitian, tampak bahwa jumlah sel hidup yang terdapat dalam matriks Ca alginat-tepung pepaya setelah kontak dengan garam empedu pada semua kombinasi perlakuan berkisar antara $5,53 \times 10^5$ - $8,10 \times 10^8$ cfu/gram *beads*. Jumlah tersebut tidak jauh berbeda dengan jumlah sel setelah kontak dengan asam ($4,47 \times 10^5$ - $2,77 \times 10^8$ cfu/gram *beads*) yang menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 relatif tahan terhadap garam empedu. Hal ini disebabkan adanya kemampuan pertahanan bakteri terhadap garam empedu, seperti yang dikemukakan oleh Moser dan Savage (2001), bahwa bakteri dapat bertahan terhadap garam empedu karena bakteri dapat memproduksi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH). Produksi BSH oleh bakteri pada lingkungan bergaram empedu dapat membantu bakteri tersebut untuk bertahan terhadap tekanan garam empedu.



Keterangan :

P₁: Tepung Pepaya 1%

P₂: Tepung Pepaya 3%

P₃: Tepung Pepaya 6%

K₁: jumlah sel kultur 12log₁₀ cfu/mL

K₂: jumlah sel kultur 11log₁₀ cfu/mL

K₃: jumlah sel kultur 10log₁₀ cfu/mL

notasi yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT dengan $\alpha = 0,05$.

Gambar 4. Histogram Pengaruh Interaksi Konsentrasi Tepung Pepaya dan Jumlah Sel Kultur terhadap Ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Terimobil pada Kondisi Garam Empedu

Hasil ANAVA pada taraf $\alpha = 5\%$ menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dan jumlah sel kultur yang digunakan terhadap ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terimobil pada garam empedu. Hasil uji DMRT dan histogram pengaruh interaksi tersebut dapat dilihat pada Gambar 4. Pada kombinasi perlakuan dengan menggunakan konsentrasi tepung pepaya 1% (P₁), semakin banyak jumlah sel yang ditambahkan maka ketahanan sel terhadap garam empedu semakin menurun. Sedangkan pada kombinasi perlakuan dengan menggunakan konsentrasi tepung pepaya 6% (P₃), jumlah sel tidak berpengaruh nyata terhadap ketahanan sel setelah kontak dengan garam empedu.

Secara umum, kombinasi perlakuan yang menggunakan tepung pepaya 6% (P₃) berpengaruh meningkatkan ketahanan *L. acidophilus* FNCC 0051 terhadap garam empedu. Tepung pepaya mengandung serat larut berupa pektin yang dapat mengisi kekosongan rongga pada *beads* kalsium alginat sehingga menghasilkan matriks gel yang lebih rapat dan dapat melindungi sel-sel bakteri di dalamnya yang aktif bermetabolisme. Sedangkan pada perlakuan yang menggunakan jumlah sel kultur paling kecil (K₁), perbedaan konsentrasi tepung pepaya yang digunakan tidak mempengaruhi

ketahanannya terhadap garam empedu. Hal ini dapat disebabkan jika terlalu banyak sel yang ditambahkan dalam pembuatan *beads* menyebabkan penurunan kekuatan matriks untuk menjerat sel sehingga banyak sel yang terlepas ke lingkungan.

Setelah kontak dengan asam dan garam empedu, jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dalam *beads* yang dihasilkan dengan berbagai perlakuan mengalami penurunan antara 0,3 sampai 2,2 log₁₀ cfu/g dengan jumlah sel hidup dalam *beads* berkisar antara 5,7 - 8,9 log₁₀ cfu/g seperti terlihat dalam Tabel 1. Perlakuan yang menghasilkan jumlah sel hidup terbesar adalah perlakuan P3K1 yaitu *beads* yang dibuat menggunakan tepung pepaya konsentrasi 6% dengan jumlah sel kultur awal 12 log₁₀ cfu/mL.

Tabel 1. Jumlah Sel Terimobil dan Penurunannya Setelah Kontak Asam dan Garam Empedu

Perlakuan	Penurunan setelah Kontak Asam dan Garam Empedu (log ₁₀ cfu/g)	Jumlah Sel Terimobil setelah Kontak Asam dan Garam Empedu (log ₁₀ cfu/g)
P1K1	1,9	8,2
P1K2	2,2	7,4
P1K3	0,6	5,7
P2K1	2,0	8,4
P2K2	2,1	7,6
P2K3	0,5	5,8
P3K1	1,6	8,9
P3K2	1,7	7,8
P3K3	0,3	5,9

KESIMPULAN

Perbedaan jumlah kultur awal berpengaruh nyata terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dengan viabilitas terbesar yaitu 10,3 log₁₀ cfu/gram diperoleh dari kultur dengan jumlah sel 10¹² cfu/mL (K1). Semakin tinggi konsentrasi tepung pepaya atau semakin sedikit jumlah kultur awal yang digunakan secara signifikan meningkatkan ketahanan sel terimobil terhadap asam. Jika tepung pepaya konsentrasi rendah digunakan, ketahanan terhadap garam

empedu menurun dengan peningkatan jumlah sel awal. Penggunaan tepung pepaya sebesar 6% (P3) dengan jumlah sel awal 12 log₁₀ (K1) menghasilkan jumlah sel terimobil terbesar yaitu 8,9 log₁₀ cfu/gram setelah kontak dengan asam dan garam empedu.

DAFTAR PUSTAKA

- Bender, G.R. and R.E. Marquis. 1987. Membrane ATPases and Acid Tolerance of Actinomyces Viscosus and *Lactobacillus casei*. *Appl. Environment Microbiology*. 53:2124-2218.
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris and M.Jones. 2004. An Improved Method of Microencapsulation and Its Evaluation to Protect *Lactobacillus spp.* In Simulated Gastric Condition. *J. of Microbiol Methods* 56:27-35.
- Cummings J.H., G.T. Macfarlane, H.N. Englyst. 2001. Prebiotic Digestion and Fermentation. *Am. J. Clin. Nutr* 73:415S-420S.
- Gibson, G.R dan M.B.Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of The Human Colonic Mikrobiota: Introducing The Concept of Prebiotics, *J. Nutr* 125:1401-1412.
- Goksungur, Y, dan N. Zorlu. 2001. "Production of Ethanol From Beet Molasses by Ca-Alginate Immobilized Yeast Cells in a Packed-Bed Bioreactor", *Turk J Biol*, 25: 265-275.
- Gouin, S. 2004. Microencapsulation-Industrial Appraisal of Existing Technologies and Trend. *Trends Food Sci Technol*. 15:330-347.
- ISAPP. 2009. *Clarification of the Definition of a Probiotic*. www.isapp.net (4 Juni 2014).
- Klinkenberg, G., K. Q. Lystad, D. W. Levine, and N. Dyrset. 2001. Cell Release from Alginate Immobilized *Lactococcus lactis ssp. Lactis* in Chitosan and Alginate Coated Beads. *J. Dairy Sci*. 84:1118-1127.
- Lee, K.Y. dan T. R. Heo. 2000. Survival of *Bifidobacterium longum* Immobilized in Calcium Alginate Beads in Simulated Gastric Juices
- Monedero, V., G.P. Martinez, and M. Yebra. 2010. Perspectives of Engineering Lactic

- Acid Bacteria for Biotechnological Polyol Production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86: 1003-1015.
- Monica, M. 2008. Pengeringan Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan *Foam Mat Drying*; Kajian Konsentrasi Putih Telur Pada Dua Tingkat Kematangan Pepaya, *Skripsi S-1*, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Mortazavian, A., S. H. Razavi, R. M. Ehsani, dan S. Sohrabvandi. 2007. Principles and Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology* 5 (1): 1-18.
- Moser S.A and D.C. Savage. 2001. Genes Encoding Bile Salt Hydrolases and Conjugated Bile Salt Transporters In *Lactobacillus Johnsonii* 100-100 and Other *Lactobacillus* Species. *Microbiology*.147:3403.
- Rokka, S. and P. Rantamaki. 2010. Protecting Probiotic Bacteria by Microencapsulation: Challenges for Industrial Applications. *Eur. Food Res. Technol.* 231:1-12.
- Suskovic, J., K. Blazenska, G. Jadranka and M. Srecko. 2001. Role of Lactic Acid Bacteria And *Bifidobacterium* In Symbiotic Effect. *Food Technol. Biotechnol.* 39:227-235.
- Sujaya, I N., Y. Ramona, N.P. Widarini, N.P. Suariani, N.M.U. Dwipayanti, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini. 2008. Isolasi dan Karakteristik Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *J. Vet.* 9 (2):52-59.
- Widyastuti, T. E. W., A. Ingani, I. Srianta. 2006. "Studi Potensi Beberapa Varietas dan Tingkat Kematangan Pepaya (*Carica papaya*) sebagai Minuman Fungsional untuk Mengatasi Konstipasi" Laporan Tahun I Penelitian Hibah Bersaing XIV. Surabaya: Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Widyastuti, T. E. W., Y. Marsono, dan N. Zuheid. 2003. Karakterisasi Tepung Pepaya Sebagai Bahan Laksatif: Respon Intestinal Tikus Sparague Dawley. *Seminar Nasional dan Pertemuan Tahunan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*. Yogyakarta: (GM:14).

CATATAN DISKUSI

Pertanyaan :

Bagaimanakah kondisi papaya yang digunakan mentah atau matang?

Jawaban :

Pepaya yang digunakan berupa papaya mengkal yang memiliki serat tinggi dan manitol tinggi karena ketika papaya matang yang terkandung adalah kandungan gula yang tinggi.

Pertanyaan :

Bagaimana ketahanan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 pada konsentrasi alginate yang tinggi (lebih dari 6%)?

Jawaban :

Konsentrasi yang digunakan berpengaruh terhadap tekstur. Penggunaan konsentrasi yang lebih dari 6% akan menghasilkan tekstur yang kurang bagus. Ca alginate memiliki kemampuan sebagai gel, dengan konsentrasi yang tinggi akan mengakibatkan kelarutan yang tidak sempurna sehingga kemampuannya dapat menyerap probiotik akan berkurang.

Pertanyaan :

Jenis varietas papaya apakah yang digunakan?

Jawaban :

Papaya Thailand.