

## EVALUASI COATING MATERIALS UNTUK MELINDUNGI BAKTERI PROBIOTIK *PSEUDOALTEROMONAS PISCICIDA* SELAMA PROSES MIKROENKAPSULASI DAN PENYIMPANAN

### EVALUATION OF COATING MATERIALS TO PROTECT PROBIOTIC BACTERIA OF *PSEUDOALTEROMONAS PISCICIDA* DURING MICROENCAPSULATION AND STORAGE PROCESS

D E Ramadhani<sup>1</sup> dan W Lesmanawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dosen Program Studi Teknologi Produksi dan Manajemen Perikanan Budidaya, Sekolah Vokasi, IPB University

email: [dianeka06@apps.ipb.ac.id](mailto:dianeka06@apps.ipb.ac.id)

#### ABSTRACT

Disease is an obstacle in Pacific white shrimp culture that can cause economic losses. Probiotic bacteria *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub Rf<sup>R</sup> is able to improve the growth performance and immune responses of Pacific white shrimp and has the potential to be developed into dry products to make it more practical for use in the field. This study aims to obtain the best coating materials that can protect probiotic bacteria during the microencapsulation and storage process. This research was conducted in September-December 2020 at the Laboratory of Microbiology of IPB Sukabumi Campus and South-East Asia Food and Agricultural Science and Technology (SEAFASST). This research consists of 2 Chapters, Chapter 1 to obtain the best coating materials and Chapter 2 to obtain the best results after the microencapsulation process. Coating materials used in this study were whey protein and maltodextrin. The microencapsulation technique used is freeze drying and spray drying. The probiotic bacteria used was *P. piscicida* from Fish Health and Management Laboratory, Department of Aquaculture, FPIK IPB and was marked with rifampicin resistance (1Ub Rf<sup>R</sup>). The research in Chapter 1 consisted of 4 treatments, including K (without coating material), A (single coating with whey protein), B (single coating with maltodextrin), and C (double coating with whey protein and maltodextrin). Furthermore, each treatment in Chapter 1 is continued for the microencapsulation process. The results showed that the treatment with double coating and encapsulated by freeze drying was the best probiotic products compared other treatments.

**Keywords:** *probiotic, coating materials, microencapsulation, Pseudoalteromonas piscicida*

#### ABSTRAK

Penyakit merupakan kendala dalam budidaya udang vaname yang dapat mengakibatkan kerugian. Bakteri probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub Rf<sup>R</sup> mampu meningkatkan performa pertumbuhan dan respon imun udang vaname dan berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk kering agar lebih praktis dalam penggunaan di lapangan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh *coating materials* terbaik yang dapat melindungi bakteri probiotik selama proses mikroenkapsulasi dan penyimpanan. Penelitian ini dilakukan pada bulan September-Desember 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Kampus IPB Sukabumi dan South-East Asia Food and Agricultural Science and Technology (SEAFASST). Penelitian ini terdiri dari 2 Chapter yaitu: Chapter 1 untuk memperoleh coating material terbaik dan Chapter 2 untuk memperoleh hasil terbaik setelah proses mikroenkapsulasi. *Coating material* yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein whey dan maltodekstrin. Teknik mikroenkapsulasi yang digunakan adalah *freeze drying* dan *spray drying*. Bakteri probiotik yang digunakan adalah *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub yang berasal dari Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, FPIK IPB dan telah diberi penanda resisten rifampicin (1 Ub Rf<sup>R</sup>). Penelitian pada Chapter 1 terdiri dari 4 perlakuan yaitu K (tanpa *coating material*), A (*single coating* dengan protein whey), B (*single coating* dengan maltodekstrin), dan C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin). Selanjutnya masing-masing perlakuan pada Chapter 1 dilanjutkan untuk proses mikroenkapsulasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan double coating dan dienkapsulasi dengan *freeze drying* menghasilkan produk probiotik yang terbaik dibandingkan perlakuan lainnya.

**Kata kunci:** *probiotik, coating materials, mikroenkapsulasi, Pseudoalteromonas piscicida*

---

Dian Eka Ramadhani, Wida Lesmanawati. 2021. Evaluasi Coating Materials untuk Melindungi Bakteri Probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* Selama Proses Mikroenkapsulasi dan Penyimpanan. *Jurnal Mina Sains*, 7 (2) : 52 – 61.

---

## PENDAHULUAN

Penyakit merupakan salah satu kendala utama dalam kegiatan budidaya udang karena dapat mengakibatkan kerugian ekonomi yang cukup besar bagi para petambak udang. Salah satu alternatif untuk menanggulangi penyakit pada budidaya udang yaitu probiotik. Probiotik merupakan mikroba hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang cukup dapat memberikan pengaruh menguntungkan bagi kesehatan inang dan dapat meningkatkan keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan, efisiensi pakan, dan kualitas lingkungan (Nayak 2010). Beberapa penelitian melaporkan bahwa probiotik mampu meningkatkan kelangsungan hidup, performa pertumbuhan dan respons imun pada udang vaname (Hamsah *et al.* 2017; 2019; Zokaeifar *et al.* 2014; Nimrat *et al.* 2012). Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub yang telah teruji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi* dan secara signifikan mampu meningkatkan kelangsungan hidup serta performa pertumbuhan pada larva udang windu (Widanarni *et al.* 2009).

Hasil penelitian Hamsah *et al.* (2017) menunjukkan bahwa kultur segar bakteri probiotik *P. alteromonas* 1Ub mampu meningkatkan performa pertumbuhan larva udang vaname. Namun, penggunaan kultur segar bakteri probiotik memiliki kelemahan diantaranya daya simpan yang terbatas dan tidak praktis dalam penggunaannya. Berdasarkan hasil riset tersebut bakteri probiotik ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk kering. Mikroenkapsulasi merupakan teknologi yang berfungsi untuk mempertahankan viabilitas bakteri dalam waktu yang lama (Martin *et al.* 2015).

Teknologi ini banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang farmasi, pangan, dan

akuakultur. Proses mikroenkapsulasi bakteri probiotik sendiri memerlukan berbagai persiapan, diantaranya menyiapkan bahan penyalut atau *coating materials*. Pemilihan *coating materials* tergantung pada bahan aktif yang akan dienkapsulasi, kemampuan untuk melindungi materi inti dengan baik, dan kemampuan *release* di air maupun di saluran pencernaan inang. Beberapa *coating materials* yang umumnya digunakan diantaranya, maltodekstrin, cyclodextrin, selulosa, lipid (wax, paraffin, diacylglycerols), gum (agar, carrageenan) dan protein (gluten, casein, dan gelatin).

Penelitian ini menggunakan *coating material* protein whey dan maltodekstrin. Protein whey merupakan protein globular yang banyak ditemukan dalam fraksi whey susu seperti  $\beta$ -laktoglobulin ( $\beta$ -LG),  $\alpha$ -laktobumin ( $\alpha$ -LA), dan bovine serum albumin (BSA) (Maqsood *et al.* 2019). Protein whey banyak digunakan sebagai bahan fungsional dalam berbagai aplikasi seperti industri makanan, terutama sebagai pengemulsi, pembentuk gel, bahan susu formula, bahan penyalut untuk enkapsulasi, dan sebagainya (Krolczyk *et al.* 2016). Protein whey ini memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan berbagai molekul aktif dan memiliki kemampuan untuk melindungi molekul aktif (Martin *et al.* 2015). Doherty *et al.* (2011) melaporkan bahwa protein whey sebagai *coating material* yang dapat melindungi probiotik selama inkubasi 3 jam secara *in-vitro*. Maltodekstrin merupakan *coating material polysaccharides-based* yang memiliki kemampuan melindungi molekul aktif, meningkatkan viabilitas sel selama proses mikroenkapsulasi dan selama penyimpanan bakteri kering (Semyonov *et al.* 2011). Kedua bahan ini adalah *coating material* yang mudah didapatkan, harganya murah, mampu melindungi bakteri probiotik selama proses enkapsulasi dan *feasible* secara ekonomi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memperoleh *coating*

*material* terbaik yang dapat melindungi bakteri probiotik selama proses mikroenkapsulasi.

## BAHAN DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September-Desember 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Kampus IPB Sukabumi dan South-East Asia Food and Agricultural Science and Technology (SEAFASST) IPB.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain mikropipet 100-1000  $\mu\text{L}$ , mikropipet 10-100  $\mu\text{L}$ , erlenmeyer 1.5 mL, mikrotip 200  $\mu\text{L}$ , mikrotip 1.000  $\mu\text{L}$ , erlenmeyer 100 mL, 250 mL, dan 500 mL, *shaker*, *spray drying* menggunakan MINIBUCHI *spray dryer* pada suhu inlet 110 – 113  $^{\circ}\text{C}$  dan suhu outlet 80  $^{\circ}\text{C}$ . Sedangkan *freeze drying* menggunakan LABCONCO *freeze dryer* pada suhu -50  $^{\circ}\text{C}$ , *freeze dryer*, *spray dryer*, sentrifuse, cawan petri, tabung reaksi, batang pengaduk, batang penyebar, jarum ose, kompor listrik, korek api, dan panci. Bahan yang digunakan antara lain, sea water complete-agar; 0.5 g bactopectone, 0.1 g yeast extract, 0.3 mL glycerol, 1.5 g bacto agar, 75 mL air laut, 25 mL akuades, rifampisin, *phosphate buffer saline* (PBS, 0.8 g NaCl, 0.02 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.05 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.02 KCl, 100 mL akuades), susu sapi, pill rennet, maltodekstrin, dan  $\text{CaCl}_2$  40% (m/v).

### Desain Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 2 Chapter yaitu : Chapter 1 untuk mendapatkan *coating materials* terbaik dan Chapter 2 untuk mendapatkan teknik mikroenkapsulasi terbaik. Chapter 1 terdiri dari 4 perlakuan diantaranya K (tanpa *coating material*, hanya menggunakan

PBS), A (*single coating* dengan protein whey), B (*single coating* dengan maltodekstrin), dan C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin). Sedangkan Chapter 2 terdiri dari 8 perlakuan yaitu K (tanpa *coating material* dan dilakukan *spray drying*), A (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *spray drying*), B (*single coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *spray drying*), C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin, serta dilakukan *spray drying*), D (tanpa *coating material* dan dilakukan *freeze drying*), E (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), F (*double coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), dan G (*double coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *freeze drying*).

### Penyiapan Probiotik

Probiotik yang digunakan adalah bakteri probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub hasil isolasi dari nauplii udang vaname (Widanarni *et al.* 2009) dan telah dibuat resisten terhadap antibiotik rifampisin 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (1Ub  $\text{Rf}^{\text{R}}$ ) sebagai penanda. Bakteri probiotik 1Ub  $\text{Rf}^{\text{R}}$  ditumbuhkan dalam media SWC-agar (sea water complete-agar; 0.5 g bactopectone, 0.1 g yeast extract, 0.3 mL glycerol, 1.5 g bacto agar, 75 mL air laut, 25 mL akuades) dan diinkubasi pada suhu 29  $^{\circ}\text{C}$  dalam inkubator selama 24 jam. Kemudian bakteri probiotik 1Ub  $\text{Rf}^{\text{R}}$  dikultur dalam 50 mL media SWC-cair dan diinkubasi di *shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 140 rpm selama 18 jam. Setelah itu kultur bakteri probiotik dilanjutkan dengan metode upscaling (1:10), dimana hasil kultur bakteri probiotik pada media 50 mL SWC-cair dituang secara steril dalam media 500 mL SWC-cair dan diinkubasi di *shaker* pada suhu ruang (25  $^{\circ}\text{C}$ ) dengan kecepatan 140 rpm selama 18 jam. Selanjutnya bakteri probiotik 1Ub  $\text{Rf}^{\text{R}}$  disentrifugasi menggunakan sentrifuse kecepatan 10.000

rpm selama 10 menit. Selanjutnya pellet bakteri tersebut dicuci menggunakan 500 mL larutan PBS. Bakteri probiotik siap digunakan untuk proses penyalutan dan mikroenkapsulasi.

### Penyiapan *Coating Materials*

*Coating materials* atau bahan penyalut yang digunakan adalah maltodekstrin 10% (100 g maltodekstrin; 1 L akuades steril) dan protein whey. Protein whey didapatkan dari proses koagulasi enzimatis dari susu pasteurisasi (De Castro-Cislaghi *et al.* 2012) dengan penambahan pill rennet 0.05 g L<sup>-1</sup> (Enzimaks, IIEC Iran) dan CaCl<sub>2</sub> 40% (m/v) (0.04 mL L<sup>-1</sup>). Susu sapi segar dimasak pada suhu 60°C selama 15 menit dan diaduk-aduk. Setelah itu didiamkan hingga suhunya mencapai sekitar 20-30°C, lalu ditambahkan pill rennet dan CaCl<sub>2</sub> yang sebelumnya telah dilarutkan dalam 5-10 mL akuades steril. Selanjutnya diaduk hingga merata dan didiamkan pada suhu ruang hingga terbentuk gumpalan yang terpisah dari cairan di bawahnya. Setelah itu disaring menggunakan kain mori warna putih dan cairan yang terbentuk merupakan protein whey yang siap digunakan sebagai *coating material*. Protein whey dapat langsung digunakan atau dapat disimpan dalam suhu 4 °C (suhu kulkas).

### Proses Mikroenkapsulasi

Teknik mikroenkapsulasi yang digunakan adalah *spray drying* dan *freeze drying*. Tahap pertama yaitu pencampuran bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup>, protein whey dan maltodekstrin 1:1:0.1 (v/v/v). Tahap kedua (mikroenkapsulasi) yaitu *spray drying* menggunakan MINIBUCHI spray dryer pada suhu inlet 110-113°C dan suhu outlet 80 °C. Sedangkan *freeze drying* menggunakan LABCONCO freeze dryer pada suhu -50 °C. Hasil enkapsulasi kemudian disimpan dalam wadah kemasan dan dapat digunakan langsung maupun

disimpan pada lemari pendingin pada suhu -20 °C.

### Parameter Pengamatan

Parameter yang diukur pada Chapter 1 diantaranya a) kurva pertumbuhan bakteri 1 Ub Rf<sup>R</sup>, b) kepadatan sel bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah dicampur dengan *coating materials*, dan c) kepadatan sel bakteri probiotik setelah diinkubasi pada suhu ruang, 4 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C dan 100 °C. Sedangkan pada Chapter 2 yaitu a) kepadatan sel bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah mikroenkapsulasi, b) visualisasi hasil produk, c) persentase produk setelah pengeringan, dan d) persentase produk selama penyimpanan.

### Analisis Data

Data penelitian ditabulasikan dalam Microsoft Excel 2016 dan analisis data dilakukan menggunakan SPSS 24.0. Parameter pada Chapter 1 dan 2 dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel dan grafik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Chapter 1. *Coating Materials*

#### Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diberikan *coating materials*

Berikut ini adalah Gambar 1 yang menunjukkan kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diberikan *coating materials*. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan B (2.00 x 10<sup>9</sup> CFU/mL) dan C (1.96 x 10<sup>9</sup> CFU/mL) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan K (1.40 x 10<sup>9</sup> CFU/mL) dan A (8.20 x 10<sup>8</sup> CFU/mL).

Tabel 1. Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diberikan *coating material*

Perlakuan	Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf <sup>R</sup> setelah dicoating (CFU/mL)
K	1.40 x 10 <sup>9</sup>
A	8.20 x 10 <sup>8</sup>
B	2.00 x 10 <sup>9</sup>
C	1.96 x 10 <sup>9</sup>

Keterangan: A (*single coating* dengan protein whey), B (*single coating* dengan maltodekstrin), dan C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin)

**Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diinkubasi pada berbagai suhu**

Berikut ini adalah Tabel 2 yang menunjukkan kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diinkubasi pada berbagai suhu yakni suhu ruang (25-29 °C), 4 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C, 80 °C, 90 °C, dan 100 °C. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan B dan C menghasilkan viabilitas bakteri lebih tinggi saat diinkubasi dalam suhu ruang, 4 °C, 30 °C, dan 40 °C, dibandingkan pada perlakuan K dan A. Pada saat diinkubasi pada suhu 50°C-100°C tidak ada bakteri yang tumbuh.

Tabel 2 Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah diinkubasi pada berbagai suhu

Perlakuan	Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf <sup>R</sup> setelah diinkubasi di berbagai suhu (CFU/mL)				
	4°C	25°C	30°C	40°C	50-100°C
K	1.30 x 10 <sup>9</sup>	1.40 x 10 <sup>9</sup>	1.20 x 10 <sup>9</sup>	1.10 x 10 <sup>9</sup>	TB
A	8.12 x 10 <sup>8</sup>	8.20 x 10 <sup>9</sup>	7.80 x 10 <sup>8</sup>	7.20 x 10 <sup>8</sup>	TB
B	1.98 x 10 <sup>9</sup>	2.00 x 10 <sup>9</sup>	1.86 x 10 <sup>8</sup>	1.86 x 10 <sup>9</sup>	TB
C	1.83 x 10 <sup>9</sup>	1.96 x 10 <sup>9</sup>	1.76 x 10 <sup>8</sup>	1.76 x 10 <sup>9</sup>	TB

Keterangan: A (*single coating* dengan protein whey), B (*single coating* dengan maltodekstrin), dan C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin), TB (tidak tumbuh).

**Chapter 2. Teknik Mikroenkapsulasi Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah dienkapsulasi menggunakan metode *spray drying* dan *freeze drying***

Berikut ini adalah Tabel 3 yang menunjukkan kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah dienkapsulasi menggunakan metode *spray drying* dan *freeze drying*. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan G menghasilkan viabilitas bakteri tertinggi yaitu 8.60 x 10<sup>5</sup> CFU/mL dibandingkan perlakuan lainnya. Selanjutnya hasil pengamatan secara visual terhadap produk bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> yang telah dienkapsulasi dan disimpan selama 1 bulan. Hasil menunjukkan bahwa *coating material* yang mengandung maltodekstrin dan dienkapsulasi dengan *spray drying* memberikan hasil warna serbuk putih, kering, serbuk yang dihasilkan lebih kecil dan tidak lengket. Hasil *coating material* dari protein whey dan dienkapsulasi dengan *freeze drying* menghasilkan produk berwarna krem kekuningan, kering, dan tidak lengket.

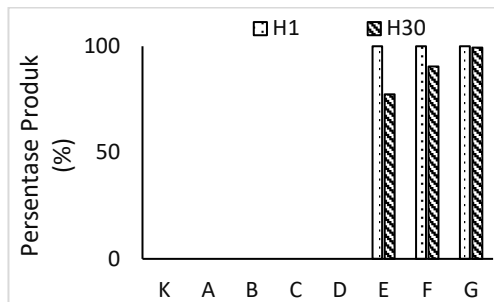
Tabel 3. Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah dienkapsulasi dan hasil visualisasi produk enkapsulasi

Perlakuan	Kepadatan bakteri probiotik 1Ub Rf <sup>R</sup> setelah dienkapsulasi	Hasil visualisasi produk
K	0	putih kering
A	0	putih kering
B	0	putih kering
C	0	putih kering
D	0	krem dan sedikit lengket
E	1.16 x 10 <sup>4</sup>	krem, kering
F	5.80 x 10 <sup>4</sup>	krem agak bening dan kering
G	8.60 x 10 <sup>5</sup>	krem kekuningan dan kering

Keterangan: K (tanpa *coating material* dan dilakukan *spray drying*), A (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *spray drying*), B (*single coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *spray drying*), C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin, serta dilakukan *spray drying*), D (tanpa *coating material* dan dilakukan *freeze drying*), E (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), F (*double coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), dan G

(*double coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *freeze drying*).

Berikut ini adalah Gambar 1 yang menunjukkan persentase produk bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah penyimpanan selama 1 bulan. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan G menghasilkan persentase tertinggi (99.40%) dibandingkan perlakuan lainnya.



Gambar 1. Persentase produk bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> setelah penyimpanan selama 1 bulan. K (tanpa *coating material* dan dilakukan *spray drying*), A (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *spray drying*), B (*single coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *spray drying*), C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin, serta dilakukan *spray drying*), D (tanpa *coating material* dan dilakukan *freeze drying*), E (*single coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), F (*double coating* dengan protein whey dan dilakukan *freeze drying*), dan G (*double coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *freeze drying*).

## Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri probiotik yang diberikan *coating material* B (*single coating* dengan maltodekstrin) memiliki viabilitas lebih tinggi yaitu sekitar  $2.00 \times 10^9$  CFU/mL, kemudian pada perlakuan C (*double coating* dengan protein whey dan maltodekstrin) juga menunjukkan viabilitas yang tinggi yaitu  $1.96 \times 10^9$  CFU/mL dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya penambahan *coating material* tidak membuat viabilitas bakteri menjadi turun dan lebih stabil. Selanjutnya bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> diujikan dengan beberapa uji dengan tujuan untuk melihat pengaruhnya terhadap suhu dingin dan panas. Hasil menunjukkan bahwa bakteri

probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> hanya dapat bertahan pada suhu 4°C-40°C dan perlakuan yang menghasilkan viabilitas tinggi pada saat diinkubasi pada suhu tersebut yaitu perlakuan B dan C dibandingkan dengan perlakuan K dan A. Pada saat suhu dinaikkan menjadi 50°C-100°C, bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> tidak ada yang tumbuh.

*Coating material* memberikan perlindungan terhadap mikroorganisme melalui kontrol mekanisme respons stress terhadap lingkungan lambung yang melibatkan kelembaban, migrasi zat terlarut, pertukaran gas, laju reaksi oksidatif dan sebagainya (Peach-Canul *et al.* 2020). *Coating material* maltodekstrin merupakan makromolekul yang tidak membawa muatan formal (polisakarida non-ionik). Maltodekstrin sering digunakan sebagai *coating material* untuk mikroenkapsulasi probiotik (Peach-Canul *et al.* 2020; Shori 2017). Maltodekstrin memiliki beberapa sifat yang cocok untuk mikroenkapsulasi diantaranya memiliki kelarutan yang baik, pembentukan film yang baik, kontrol kelembaban, mudah dicerna, memudahkan pada tahap pengeringan semprot, dan sebagainya (Peach-Canul *et al.* 2020). Dalam hal ini, maltodekstrin memiliki efek secara positif dapat melindungi dan mempertahankan viabilitas bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> lebih baik dibandingkan pemberian protein whey secara tunggal.

Perlakuan *double coating* antara maltodekstrin dan protein whey juga dapat melindungi bakteri probiotik dan menghasilkan viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan *single coating* protein whey dan kontrol pada suhu 4°C-40°C. Hasil ini selanjutnya akan diteruskan pada tahap mikroenkapsulasi dan sebagai dasar untuk pemilihan metode mikroenkapsulasi yang tepat. Protein merupakan bahan yang baik untuk mikroenkapsulasi probiotik dan sering digunakan dalam campuran dengan *coating material* lainnya (Dolly *et al.* 2011; Gomez *et al.* 2016; Doherty *et al.* 2011; Zou

*et al.* 2012). Protein telah banyak digunakan sebagai *coating material* karena memiliki sifat sebagai penghambat yang baik terhadap permeabilitas O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub>. Protein yang digunakan sebagai *coating material* dapat dikategorikan menurut sifatnya yaitu protein nabati dan hewani. Contoh protein dari sumber hewani yaitu gelatin, kasein, konsentrat protein whey (WCP, isolate protein whey (WPI), putih telur dan kaseinat. Protein susu yang digunakan sebagai *coating material* tersedia dalam bentuk asli dan olahan. Protein whey didefinisikan sebagai protein yang tetap ada dalam larutan setelah penghilangan kasein dari susu (Mulvihill *et al.* 1987; Augustin *et al.* 2014). Protein whey terdiri dari lactoglobulin ( $\beta$ -LG), alpalaktalbumin ( $\alpha$ -LA), immuno-globulin, dan serum albumin. Pada pH 4.6 protein larut. Protein whey tersedia secara komersial sebagai konsentrat (WCP) dan isolate (WPI) yang masing-masing mengandung 35-85% dan >95% protein. Protein -LG dalam susu sapi mewakili jumlah tertinggi dari komposisi protein whey yaitu 50-60%.

Bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> tidak dapat bertahan pada saat suhu dinaikkan hingga 50 – 100 °C. Hal tersebut kemungkinan karena strain dari bakteri probiotik tidak tahan terhadap suhu panas. Perlindungan dari coating material sendiri belum bisa melindungi bakteri tersebut dalam kondisi suhu panas. Bakteri probiotik *Pseudoalteromonas piscicida* 1Ub Rf<sup>R</sup> merupakan bakteri Gram negatif yang banyak ditemukan di air laut dan umumnya tumbuh baik pada suhu sekitar 25°C (Richard *et al.* 2017). Bakteri ini sebelumnya belum pernah dilakukan mikroenkapsulasi dan belum pernah diuji coba dengan beberapa coating material. Beberapa penelitian melaporkan bahwa mikroenkapsulasi sering digunakan untuk melindungi probiotik dari lingkungan ekstrim (McClements *et al.* 2012; Monnard *et al.* 1997).

Mikroenkapsulasi merupakan salah satu metode yang paling efisien untuk mempertahankan viabilitas sel mikroorganisme selama pengeringan, penyimpanan dan mengubahnya dalam bentuk bubuk sehingga lebih mudah unuk digunakan (Mortazavian *et al.* 2007). Efisiensi perlindungan yang diberikan oleh mikroenkapsulasi tergantung pada metode mikroenkapsulasi, strain mikroorganisme probiotik, *coating material* dan sebagainya (Peach-Canul *et al.* 2020; Shori 2017). Mikroenkapsulasi yang biasa digunakan diantaranya *spray drying*, *freeze drying*, *rennet-gelled protein encapsulation*, *fluid bed*, *two-step drying*, *spray-freeze drying*, dan sebagainya. *Spray drying* merupakan metode mikroenkapsulasi yang paling umum digunakan dalam industri makanan karena ekonomis dan fleksibel (Martin *et al.* 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri probiotik pada perlakuan yang dienkapsulasi dengan *spray drying* tidak ada bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> yang tumbuh. Hal ini dapat disebabkan karena suhu tinggi yang digunakan dalam proses kemungkinan tidak cocok untuk bakteri probiotik yang tidak tahan panas. Pada saat proses pengeringan, suhu outlet sekitar 80-90°C dan ini akan mematikan bagi strain bakteri probiotik tersebut (Peach-Canul *et al.* 2020). Faktor lain yang mempengaruhi viabilitas probiotik *spray drying* adalah jenis strain dan toleransinya terhadap kondisi stress, suhu, dan waktu pengeringan (Martin *et al.* 2015).

Hasil enkapsulasi pada *freeze drying* dengan *single coating* maltodekstrin, *single coating* protein whey dan *double coating* (maltodekstrin dan protein whey) menunjukkan bahwa bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> dapat tumbuh mulai dari 1.16 x 10<sup>4</sup> – 8.60 x 10<sup>5</sup> CFU/mL. Hasil tertinggi didapatkan pada perlakuan *double coating* yang menghasilkan viabilitas bakteri yaitu 8.60 x 10<sup>5</sup>CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> dapat

dikeringkan menggunakan *freeze drying* dan kombinasi *coating material* yang tepat adalah maltodekstrin dan protein whey. Selain itu, suhu pada mesin *freeze drying* juga mendukung untuk pembuatan bakteri probiotik menjadi kering. Pada tahap sebelumnya juga telah diujikan bahwa bakteri ini dapat bertahan pada suhu dingin sedangkan pada suhu panas mengalami kematian sel. Selain itu, persentase produk yang dihasilkan lebih tinggi dan sebanyak 99.40% bakteri probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> dapat bertahan selama 1 bulan. Menurut Amezcua *et al.* 2016 prinsip *freeze drying* yaitu sublimasi yang terjadi ketika tekanan uap air dan suhu es lebih rendah dari titik 0.61 kPa (4.58 mmHg atau 0.006 atm) dan 273.16 K (0.01°C). Suhu pada *freeze dryer* dapat mencapai antara  $\leq -80$  °C -  $\leq -56$  °C. Menurut Wang *et al.* (2004) pengeringan menggunakan *freeze drying* lebih ringan dibandingkan dengan pengeringan dengan *spray drying* dan viabilitas bakteri probiotik lebih tinggi. *Freeze drying* telah banyak digunakan untuk memproduksi probiotik kering dalam dekade terakhir. Prosesnya didasarkan pada sublimasi dan terdapat tiga fase diantaranya, pembekuan, pengeringan primer dan pengeringan skunder (Santivarangkna *et al.* 2007). Berbagai coating material yang dapat ditambahkan sebelum *freeze drying* dapat berupa protein whey, glukosa, maltodekstrin, trehalose dan lain-lain (Basholli-Salihu *et al.* 2014). Peneliti lainnya melaporkan bahwa bahwa mikroenkapsulasi dengan *spray freeze drying* *Lactobacillus paracasei* menggunakan maltodekstrin dan trehalose sebagai *coating materials* yang secara signifikan meningkatkan kelangsungan hidup dan viabilitas probiotik (Semyonov *et al.* 2010).

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa karakteristik produk yang diberikan *coating material* maltodekstrin cenderung berwarna putih, sedangkan produk yang diberikan *coating material* protein whey

cenderung berwarna krem kekuningan. Kombinasi antara maltodekstrin dan protein whey menghasilkan karakteristik warna putih sedikit kekuningan. Karakteristik hasil enkapsulasi dengan *spray drying*, produk yang dihasilkan umumnya berwarna putih dan halus, sedangkan hasil enkapsulasi dengan *freeze drying* produk yang dihasilkan umumnya berwarna krem-kekuningan. Setelah penyimpanan selama 1 bulan, perlakuan *double coating* dengan maltodekstrin dan dilakukan *freeze drying*) menghasilkan persentase produk tertinggi 99.40% yang artinya bakteri probiotik memiliki kepadatan sel yang tetap selama periode penyimpanan tersebut.

## KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

### Kesimpulan

Coating material terbaik yang didapatkan adalah *double coating* antara maltodekstrin dan protein whey. Metode terbaik yang dapat digunakan untuk membuat produk probiotik 1Ub Rf<sup>R</sup> kering yaitu *freeze drying* dengan *double coating* material maltodekstrin dan protein whey. Kombinasi *coating material* dan metode mikroenkapsulasi terbaik dalam penelitian ini menghasilkan produk probiotik lebih baik dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

### Rekomendasi

Penelitian selanjutnya diperlukan kombinasi *coating material* untuk mendapatkan produk probiotik 1UB Rf<sup>R</sup> dengan viabilitas lebih tinggi daripada penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Augustin MA, Oliver CM. 2014. Use of milk proteins for encapsulation of food ingredients. In Microencapsulation in the Food Industry. Elsevier BV: Amsterdam, The Netherlands. 211–226.
- Amezcua LEG, Chanes JW, Balderas FTV, Aquirre DB. 2016. Freeze-drying: The



- Basic Process. Encyclopedia of Food and Health.* 104-109.
- Basholli-Salih M, Mueller M, Salar-Behzadi S, Unger FM, Viernstein H. 2014. Effect of lyoprotectants on b-glucosidase activity and viability of *Bifidobacterium infantis* after freeze-drying and storage in milk and low pH juices. *LWT - Food Science and Technology* 57:276–282.
- Castro-Cislaghi FPD., Silva CDRE, Fritzen-Freire CB, Lorenz JG, Sant'Ánna ES. 2012. *Bifidobacterium* Bb-12 microencapsulated by spray drying with whey: Survival under simulated gastrointestinal conditions, tolerance to NaCl, and viability during storage. *Journal of Food Engineering* 113: 186–193.
- Doherty S, Gee V, Ross RP, Stanton C, Fitzgerald G, Brodkorb A. 2011. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids* 25: 1604–1617.
- Dolly P, Anishaparvin A, Joseph GS, Anandharamakrishnan C. 2011. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (mtcc 5422) by spray-freeze-drying method and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Microencapsulation* 28: 568–574.
- Gómez-Mascaraque LG, Morfin RC, Pérez-Masiá R, Sánchez G, López-Rubio A. 2016. Optimization of electrospraying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in-vitro digestion. *LWT-Food Science and Technology* 69: 438–446.
- Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana M, Junior M Z. 2017. Bacterial population, activity of enzymes and growth rate of Pacific white shrimp larvae administered *Pseudoalteromonas piscicida* and mannan-oligosaccharide through bioencapsulation of *Artemia* sp. *Research Journal of Microbiology* 12: 128–136.
- Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana M, Junior MZ, Hidayatullah D. 2019. Immune response and resistance of Pacific white shrimp larvae administered probiotic, prebiotic, and symbiotic through the bio-encapsulation of *Artemia* sp. *Aquaculture International* 27: 567-580.
- Krolczyk JB, Solowiej BG, Turak, EJ. 2016. Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry- a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 66(3): 157-165.
- Martin MJ, Lara-Villoslada F, Ruiz MA, Morales. 2015. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 27: 15-25.
- Maqsood S, Al-Dowaila A, Mudgil P, Kamal H, Jobe B, Hassan HM. 2019. In-dept characterization of protein and lipid fractions from camel and cow milk, their functionality, antioxidant and antihypertensive properties upon simulated gastro-intestinal digestion. *Food Chemistry* 279: 328-338.
- McClements DJ. 2012. Requirements for food ingredient and nutraceutical delivery systems. In *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals*. Woodhead Publishing: Sawston, UK 3–18.
- Monnard PA, Oberholzer T, Luisi P. 1997. Entrapment of nucleic acids in liposomes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes* 1329: 39–50.
- Mortazavian A, Razavi SH, Ehsani MR, Sohrabvandi S. 2007. Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology* 5: 1–18.
- Mulvihill DM, Donovan M. 1987. Whey proteins and their thermal denaturation—A review. *Irish Journal of Food Science and Technology* 11:43–75.
- Nayak S K. 2010. Probiotics and immunity: A Fish Perspective. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 2–14.
- Nimrat S, Suksawat S, Boonthai T, Vuthiphandchai V. 2012. Potential *Bacillus* probiotics enhance bacterial numbers, water quality and growth during early development of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Veterinary Microbiology* 159: 443-450.

- Pech-Canul ADLC, Ortega D, Garcia-Triana A, Gonzalez-Silva N, Solis-Ovedo RL. 2020. A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings* 10: 197.
- Richards GP, Watson MA, Needleman DS, Uknalis J, Boyd EF, Fay JP. 2017. Mechanisms for *Pseudoalteromonas piscicida*-induced killing of vibrios and other bacterial pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 83 (11): 175-17.
- Santivarangkna C, Kulozik U, Foerst P. 2007. Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures. *Biotechnology Progress* 23: 302–315.
- Semyonov D, Ramon O, Kaplun Z, Levin-Brener L, Gurevich N, Shimoni E. 2010. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by spray freeze drying. *Food Research International* 43: 193–202.
- Shori AB. 2017. Microencapsulation improved probiotics survival during gastric transit. *HAYATI Journal of Biosciences* 24: 1–5.
- Wang YC, Yu RC, Chou CC. 2004. Viability of lactic acid bacteria and *Bifidobacteria* in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. *International Journal of Food Microbiology* 93: 209–217.
- Widanarni, Tepu I, Sukenda, Setiawati M. 2009. Selection of probiotic bacteria for vibriosis biocontrol in tiger shrimp larvae, *Penaeus monodon* uses a shared culture method. *Jurnal Riset Akuakultur* 4: 95-105.
- Zokaeifar H, Babaei N, Saad CR, Kamarudin MS, Sijam K, Balcazar JL. 2014. Administration of *Bacillus subtilis* strains in the rearing water enhances the water quality, growth performance, immune response, and resistance against *Vibrio harveyi* infection in juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology* 36: 68–74.
- Zou Q, Liu X, Zhao J, Tian F, Zhang H, Zhang H, Chen W. 2012. Microencapsulation of *Bifidobacterium bifidum* F-35 in Whey Protein-Based Microcapsules by Transglutaminase-Induced Gelation. *Journal of Food Science* 77(5): 270.