

KAJIAN PENGGUNAAN ALGINAT DAN SUPLEMENTASI PROTEIN WHEY  
HIDROLISAT TERHADAP PELEPASAN SEL DAN VIABILITAS KULTUR  
*Lactobacillus acidophilus* TERENKAPSULASI DALAM ES KRIM PROBIOTIK

*The Study of Alginate and Whey Protein Hydrolyzed Supplementation Utilization for Cell Release and Microencapsulated Lactobacillus Acidophilus Viability in Probiotic Ice Cream*

Purwadi <sup>1</sup>, Abdul Manab<sup>1</sup> dan Khoiruman<sup>2</sup>

<sup>1</sup>) Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

<sup>2</sup>) Alumni Program Studi Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang

diterima 18 Agustus 2010; diterima pasca revisi 5 Februari 2011  
Layak diterbitkan 28 Maret 2011

**ABSTRACT**

*The objectives of this research were to increase viability and activity of L. acidophilus encapsulated with alginate and whey protein hydrolyzed for cell release and microencapsulated Lactobacillus acidophilus viability in probiotic ice cream. The methods used were factorial experiment using Completely Randomized Design. Data was analysed with Variance Analysis. The results showed that the interaction between alginate and whey protein hydrolyzed supplemented could be increased the function of CaCl<sub>2</sub> and also encapsulated L. acidophilus viability. The used alginate of 1% and whey protein hydrolyzed supplemented of 0,5% produced encapsulated L. acidophilus viability higher than before, ~~but~~ however, the utilization of alginate of 1% and whey protein hydrolyzed supplemented of 0% could release a few cell. Therefore, the utilization of alginate 1% and whey protein hydrolyzed supplemented 0,5% in ice cream produced L. acidophilus highest than other.*

**Keywords :** *Lactobacillus acidophilus, microencapsulation, alginate, whey protein hydrolyzed, cell release, ice cream*

**PENDAHULUAN**

Es krim merupakan produk pangan beku sangat disukai kalangan anak-anak hingga dewasa. Es krim terbuat dari campuran lemak susu, skim, gula pasir, bahan penstabil, penegemulsi, dan cita rasa (Astawan, 2005). Lemak susu yang terkandung dalam es krim mempunyai kelemahan yaitu kandungan kolesterol yang tinggi, berkisar 300 sampai 350 mg kolesterol per 100 gram lemak (Anonymous, 2006), sehingga dapat

membahayakan tubuh berupa kenaikan kolesterol darah yang dapat memicu *stroke* dan jantung koroner. Produk es krim dapat dikembangkan untuk meningkatkan manfaatnya bagi kesehatan, salah satunya adalah menambahkan probiotik ke dalam es krim.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup baik dalam kondisi tunggal atau campuran yang ditambahkan pada bahan pangan dengan tujuan memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan sistem pencernaan, karena sebagai penghambat

bakteri patogen dalam sistem pencernaan, pengendalian kadar serum kolesterol, mengurangi resiko penyakit kanker saluran pencernaan, peningkatan kemampuan cerna laktosa serta mengurangi tingkat resiko sakit perut dan diare. Salah satu contoh probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus* (Widodo, 2003).

*L. acidophilus* merupakan salah satu probiotik yang memiliki viabilitas yang tinggi dan merupakan salah satu bakteri probiotik yang telah diuji secara klinis mampu memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan dan keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan (Aryana, 2006). Penambahan probiotik pada es krim memiliki kendala yang tinggi, karena membran sel probiotik lemah pada penyimpanan beku dan perubahan tekanan osmosis (Mc Gann, 1987; Morice, Bracquart and Linden, 1991; Thunell, 1996). Lemahnya membran sel probiotik disebabkan karena terbentuknya kristal es, sehingga dapat menyebabkan rusaknya dinding sel probiotik dan dapat mengakibatkan kematian serta menurunkan aktivitas probiotiknya. Perubahan tekanan osmosis disebabkan membekunya cairan ekstraseluler yang disertai turunnya permeabilitas membran (Mazur, 1992). Perlindungan sel dari kondisi stres tersebut, perlu adanya perlindungan membran *L. acidophilus* dengan metode mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi merupakan suatu teknik untuk melindungi dan mempertahankan kondisi sel mikroorganisme oleh lingkungan lingkungan yang ekstrim, salah satunya adalah suhu dingin dan beku. Metode ini sangat efisien digunakan untuk melindungi mikroorganisme yang berukuran sangat kecil dengan membentuk lapisan yang dapat mengelilingi mikroorganisme tersebut, sehingga dapat lebih terlindungi daripada metode perlindungan yang lain. Mikroenkapsulasi dapat dilakukan dengan penggunaan alginat (asam alginat).

Alginat mampu membentuk gel (kapsul) apabila dicampur dengan ion kalsium dan membentuk gel kalsium alginat. Kemampuan alginat membentuk gel terkait dengan kandungan asam D-manunorat dan asam L-guluronat. Alginat diduga berperan sangat aktif setelah adanya penambahan protein whey hidrolisat.

Protein whey hidrolisat merupakan produk modifikasi dari protein whey (Mosilhey, 2003). Penambahan protein whey hidrolisat dapat meningkatkan kekuatan dan elastisitas serta kelarutan mikrokapsul yang disebabkan oleh bertambahnya gugus reaktif akibat dari penurunan berat molekul (Sothornvit and Krochta, 2000), disamping itu protein whey hidrolisat berfungsi sebagai sumber peptida dan asam amino bagi *L. acidophilus*.

## MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *L. acidophilus* diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Media pengujian yang digunakan untuk menumbuhkan *L. acidophilus* adalah de-Man Rogosa Sharpe (MRS) broth dan MRS agar (Oxoid). Pengencer yang digunakan adalah pepton (Oxoid) yang dilarutkan aquades dengan konsentrasi 0,1%.

Bahan yang digunakan untuk mikroenkapsulasi adalah alginat, gliserol, protein whey hidrolisat (*Prostar Whey Protein* produk dari *Ultimate Nutrition*), skim, aquades dan CaCl<sub>2</sub> 1M. Bahan yang digunakan untuk pengujian pelepasan sel adalah Sodium Sitrat (Panadia Lab). Es krim yang dibuat dari susu (Koperasi Pujon); sukrosa (Gulaku); *whipping cream* (*Wippi Cream*); skim (Avia); cmc (Bratachem); dan kuning telur.

Peralatan yang dipakai dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Mettler AJ150), *erlenmeyer*, *beaker glass*, pipet tetes, pipet volume, pipet man, *blue*

*tip*, tabung reaksi, tabung, cawan petri, gelas ukur, termometer air, spatula, *magnetic stirrer*, *ice cream maker* (Gelateria), *juicer* (Moulinex), *freezer* (Sanyo), *refrigerator* (Sanyo), kompor, *hot plate* (Ikamag), *vortex* (D.S. Instrument), *sentrifuge* (Digisystem Laboratory Instrument), kawat ose, pengaduk, bunsen, inkubator (Binder), *autoclave* (Hirayama), *waterbath* (GFL), oven (Binder), pH meter (Hanna), dan *Colony Counter* (Stuart Scientific).

Penelitian ini menggunakan percobaan dengan Rancangan Faktorial dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* (Sastrosupadi, 2007), sedangkan untuk pengujian aktivitas penurunan kolesterol menggunakan percobaan dengan teknik analisis deskriptif.

Faktor pertama adalah penggunaan alginat sebagai agen mikroenkapsul sebesar 1% (A<sub>1</sub>), 1,5% (A<sub>2</sub>) dan faktor kedua adalah penambahan whey protein hidrolisat sebesar 0% (H<sub>0</sub>), 0,1% (H<sub>1</sub>), 0,3% (H<sub>2</sub>), 0,5% (H<sub>3</sub>).

### **Proses mikroenkapsulasi probiotik *L. acidophilus***

Kultur *L. acidophilus* ditumbuhkan dalam 5 ml larutan MRS broth dan ekstrak tomat pada suhu 37°C selama 18 jam, disentrifus selama 15 menit pada 10.000 rpm, cairan yang merupakan komponen metabolit dibuang, endapan sel dari 5 ml larutan MRS broth yang telah dibuang metabolitnya dimasukkan dalam 4,5 ml gliserol 1M dan 0,5 ml skim 10%, ditambah alginat (1%, 1,5%) dan protein whey hidrolisat (0%, 0,1%, 0,3%, 0,5%) dari 5 ml aquades steril, kemudian dicampur selama 1 menit menggunakan *magnetic stirrer*, larutan mikroenkapsul diteteskan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,1 M dengan jarak 5 cm menggunakan pipet tetes untuk membentuk butiran, di diamkan selama 30 menit, kemudian dilakukan perhitungan dengan *Total Plate Count* (TPC) pada

media MRS agar untuk mengetahui jumlah koloni dalam mikroenkapsul.

### **Proses Pembuatan es krim probiotik *L. acidophilus***

Pasteurisasi susu segar sebanyak 73,2% dan ditambahkan kuning telur 0,6%, gula 15%, skim 5%, *whipping cream* 6%, CMC 0,2% dari total ICM sambil dilakukan pengadukan pada suhu 82°C selama 30 detik. Suhu diturunkan hingga 42°C kemudian inokulasi starter *L. acidophilus* terenkapsulasi sebanyak 4% dari total ICM, diinkubasi 5 jam pada suhu 42°C. *Aging* 4,4°C semalam dalam *refrigerator* (18–20) jam, kemudian ICM diputar dalam *Ice Cream Maker* selama 30 menit. Pengerasan pada suhu –30°C dalam *freezer* selama 24 jam.

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah viabilitas pada mikroenkapsul, pelepasan sel dan viabilitas *L. acidophilus* selama penyimpanan dalam *refrigerator* dan pembekuan dengan menghitung jumlah *L. acidophilus* (AOAC, 1995),

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA), dan apabila ada perbedaan dilanjutkan dengan menggunakan Uji Jarak Berganda Duncan (UJBD) (Yitnosumarto, 1991).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Pengaruh Penggunaan Alginat dan Penambahan Protein Whey Hidrolisat terhadap Viabilitas *L. acidophilus* Terenkapsulasi dalam Mikroenkapsul**

Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya (penggunaan alginat dan penambahan PWH) dan tingkat penambahan PWH memberikan perbedaan yang sangat nyata (P<0,01), sedangkan tingkat penggunaan alginat memberikan perbedaan yang nyata (P<0,05) terhadap viabilitas *L. acidophilus*

terenkapsulasi dalam mikroenkapsul. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* (log cfu/gram) terenkapsulasi dalam mikroenkapsul pada berbagai level perlakuan dan hasil uji Jarak Berganda Duncan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi dalam mikroenkapsul (log cfu/gram)

Alginat	Penambahan PWH				Rata-rata
	P0	P1	P3	P5	
A1	8,81 <sup>y</sup>	9,00 <sup>y</sup>	9,08 <sup>y</sup>	9,37 <sup>y</sup>	9,07 <sup>b</sup>
A2	7,80 <sup>x</sup>	8,83 <sup>y</sup>	9,27 <sup>y</sup>	9,38 <sup>y</sup>	8,82 <sup>a</sup>
Rata-rata	8,31 <sup>m</sup>	8,91 <sup>n</sup>	9,18 <sup>n</sup>	9,38 <sup>n</sup>	

Keterangan:

- Notasi yang berbeda (a,b dan x,y) pada kolom/ baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,01)
- Notasi yang berbeda (m,n) pada kolom/ baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05)

Interaksi yang sangat nyata diantara kedua faktor tersebut memberikan perbedaan pengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus*. Makin tinggi penambahan PWH makin tinggi kerja alginat dalam pembentukan gel, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup dalam mikroenkapsul.

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan alginat 1,5% jumlah *L. acidophilus* terendah pada penambahan PWH 0%. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya nutrisi dalam mikroenkapsul, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup. Sedangkan semakin menurun penggunaan alginat dan semakin banyak penambahan PWH memberikan perbedaan yang relatif sama, sehingga jumlah *L. acidophilus* cenderung stabil dalam mikroenkapsul. Hal ini disebabkan oleh penambahan PWH dalam mikroenkapsul yang menggunakan alginat mengandung sumber nutrisi yang kaya peptida dan asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri

asam laktat (Mc Comas and Gilliland, 2003).

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan penggunaan alginat 1% rata-rata jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi yang dihasilkan lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan penggunaan alginat 1,5%. Hal ini diduga penggunaan alginat 1,5% dalam aplikasinya untuk mikroenkapsulasi sudah terlalu banyak. Menurut Champagne and Gardner (2001), bahwa jumlah sel dipengaruhi oleh kapasitas dan ukuran alginat tersebut, dan hasil penelitiannya membuktikan bahwa konsentrasi 2-4% alginat menghasilkan sel yang lepas dalam susu fermentasi dalam jumlah yang relatif sama.

Penambahan PWH memberikan perbedaan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah *L. acidophilus* yang dihasilkan. Pada penambahan PWH 0% rata-rata jumlah *L. acidophilus* memberikan jumlah yang sedikit. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya nutrisi dalam mikroenkapsul karena fungsi PWH dalam pertumbuhan bakteri probiotik dalam susu adalah sebagai penyedia sumber nutrisi peptida dan asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, khususnya bakteri probiotik (Mc Comas and Gilliland, 2003). Menurut Young *et al.*, (1993), protein whey memiliki fungsional properties membentuk dinding materi dan mempunyai keefektifan sebagai agen mikroenkapsulasi pada susu lemak anhidrous.

Penambahan PWH sebesar 0,5% menunjukkan rata-rata jumlah *L. acidophilus* tertinggi. Hal ini membuktikan bahwa PWH dengan konsentrasi lebih tinggi, lebih memenuhi kebutuhan nutrisi *L. acidophilus* terenkapsulasi. Komponen PWH yang tidak berikatan dengan materi enkapsulat lainnya juga berfungsi sebagai nutrisi dalam pertumbuhan *L. acidophilus*. Sorensen and O'donnell (2002) menyatakan bahwa salah satu komponen protein whey yaitu laktoferin tidak dapat berikatan

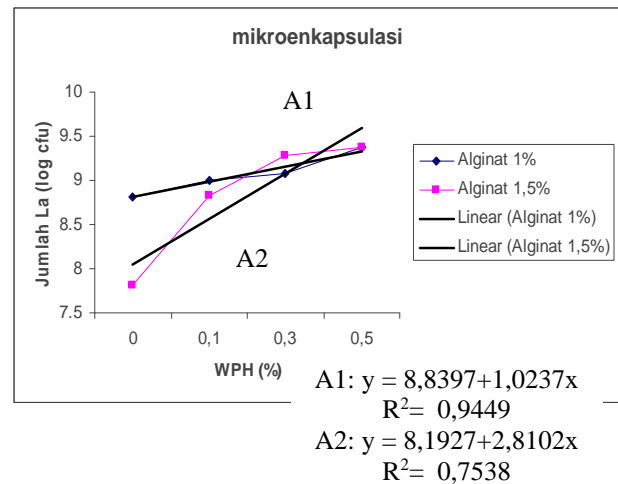
dengan kation (dalam hal ini Ca), namun mempunyai kemampuan untuk mengatur fungsi imun dan sebagai faktor pertumbuhan pada berbagai tipe sel.

PWH yang ditambahkan mengandung peptida bioaktif dalam jumlah tinggi dan berat molekul yang kecil, sehingga protein whey hidrolisat lebih reaktif (Gauthier *et al.*, 2003). Menurut Sothornvit *and* Krochta (2000), penambahan PWH memberikan perbedaan terhadap elastisitas gel.

Hubungan antara penggunaan alginat dan penambahan PWH yang berbeda terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam mikroenkapsulasi terlihat pada Gambar 1. Penggunaan alginat 1% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 8,8397 + 1,0237x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 8,8397 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 1,0237 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,9721 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* dalam mikroenkapsulasi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9449 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam mikroenkapsulasi sebesar 94,49% dan 5,51% berasal dari faktor lain.

Penggunaan alginat 1,5% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 8,1927 + 2,8102x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 8,1927 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 2,8102 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,8682 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* dalam

mikroenkapsulasi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,7538 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam mikroenkapsulasi sebesar 75,38% dan 24,62% berasal dari faktor lain.



Gambar 1. Grafik rata-rata logaritma jumlah *L. acidophilus* dalam mikroenkapsul

### Pengaruh Penggunaan Alginat dan Penambahan Protein Whey Hidrolisat terhadap Pelepasan Sel *L. acidophilus* Terenkapsulasi dalam Ice Cream Mix (ICM).

Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya (penggunaan alginat dan penambahan PWH) dan penambahan PWH memberikan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ), sedangkan tingkat penggunaan alginat memberikan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap pelepasan sel *L. acidophilus* terenkapsulasi dan tidak terenkapsulasi dalam ICM. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* (log cfu/ml) terenkapsulasi dan tidak terenkapsulasi dalam ICM pada berbagai level perlakuan dan hasil uji Jarak Berganda Duncan dapat dilihat pada Tabel 2.

Interaksi yang sangat nyata diantara kedua faktor tersebut memberikan

perbedaan pengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus*. Makin tinggi penambahan PWH makin tinggi kerja alginat dalam pembentukan gel, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup dalam mikroenkapsul serta jumlah sel yang terlepas semakin sedikit dari masing-masing perlakuan.

Tabel 2. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi dan tidak terenkapsulasi dalam ICM (log cfu/ml)

ICM	Alginat	Penambahan PWH				Rata - rata
		P0	P1	P3	P5	
Terenka psulasi	A1	9,01 <sup>y</sup>	9,11 <sup>y</sup>	9,19 <sup>y</sup>	9,40 <sup>y</sup>	9,18 <sup>b</sup>
	A2	8,28 <sup>x</sup>	8,90 <sup>y</sup>	9,36 <sup>y</sup>	9,43 <sup>y</sup>	8,99 <sup>a</sup>
	Rata-rata	8,65 <sup>m</sup>	9,00 <sup>no</sup>	9,28 <sup>n</sup>	9,41 <sup>o</sup>	
Tidak Terenka psulasi	A1	7,42	7,86	8,32	8,03	7,91 <sup>a</sup>
	A2	8,28	8,18	8,19	8,33	8,24 <sup>b</sup>
	Rata-rata	7,85	8,02	8,26	8,18	

Keterangan:

- Notasi yang berbeda (a,b dan x,y) pada kolom/ baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,01)
- Notasi yang berbeda (m,n) pada kolom/ baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05)

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan alginat 1,5% jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi terendah pada penambahan PWH 0%. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya nutrisi dalam mikroenkapsul, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup. Sedangkan semakin menurun penggunaan alginat dan semakin banyak penambahan PWH memberikan perbedaan yang relatif sama, sehingga jumlah *L. acidophilus* cenderung stabil dalam mikroenkapsul. Hal ini disebabkan oleh penambahan PWH dalam mikroenkapsul yang menggunakan alginat mengandung sumber nutrisi yang kaya peptida dan asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Mc Comas and Gilliland, 2003).

Penggunaan alginat 1% jumlah *L. acidophilus* yang terlepas memiliki jumlah terendah dengan penambahan PWH 0%. Hal ini diduga penggunaan alginat 1% dalam aplikasinya dalam mikroenkapsulasi sudah cukup untuk melindungi sel terhadap pelepasan sel. Sedangkan semakin meningkat penggunaan alginat dan semakin banyak penambahan PWH memberikan perbedaan yang relatif sama, sehingga jumlah *L. acidophilus* cenderung stabil.

Rata-rata jumlah pelepasan sel *L. acidophilus* (log cfu/ml) terenkapsulasi dalam ICM pada berbagai level perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah pelepasan sel *L. acidophilus* terenkapsulasi dalam ICM (log cfu/gram)

Alginat	Penambahan PWH				Rata-rata
	P0	P1	P3	P5	
A1	1,59	1,24	0,86	1,37	1,26
A2	0,00	0,72	1,17	1,09	0,75
Rata-rata	0,79	0,98	1,02	1,23	

Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah pelepasan sel *L. acidophilus* meningkat dengan semakin rendah penggunaan alginat dan semakin banyak penambahan PWH. Penggunaan alginat pada semua perlakuan dalam penelitian ini menghasilkan jumlah pelepasan sel *L. acidophilus* memenuhi standar mikroenkapsulasi. Menurut Champagne and Gardner (2001), bahwa pelepasan sel dipengaruhi oleh kapasitas dan ukuran alginat tersebut, tetapi variasi konsentrasi alginat tidak mempengaruhi sel yang lepas dalam susu fermentasi.

Pelepasan sel terjadi pada saat pertumbuhan dari koloni bakteri yang bertambah banyak dalam media mikroenkapsul, maka terjadi dorongan keluar dari jaringan. Hal ini terjadi karena adanya ruang antar matrik yang terbentuk oleh ikatan Ca-alginat dan ditinjau dari kekuatan mikroenkapsulasi (Klinkenberg *et al.*, 2001).

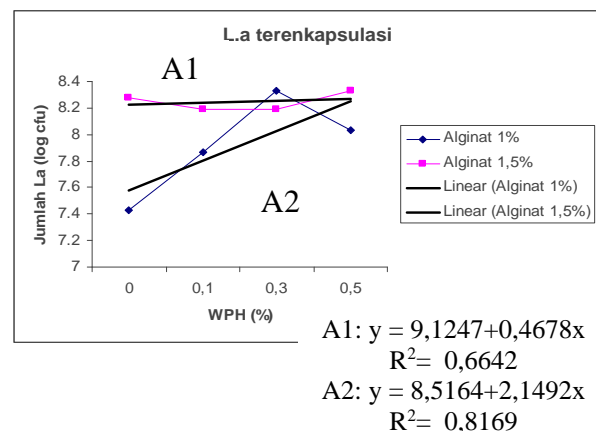
Penggunaan alginat yang semakin sedikit memberikan jumlah sel *L. acidophilus* yang terlepas semakin sedikit. Hal ini diduga penggunaan alginat 1,5% dalam aplikasinya untuk mikroenkapsulasi sudah terlalu banyak. Menurut Champagne and Gardner (2001), bahwa jumlah sel dipengaruhi oleh kapasitas dan ukuran alginat tersebut, dan hasil penelitiannya membuktikan bahwa konsentrasi 2-4% alginat menghasilkan sel yang lepas dalam susu fermentasi dalam jumlah yang relatif sama.

Penambahan PWH 0% menunjukkan rata-rata jumlah pelepasan sel *L. acidophilus* terendah. Hal ini tidak sesuai dengan pendapat Suhartono (1989), bahwa kekuatan gel meningkat dengan kenaikan konsentrasi Na-alginat dan CaCl<sub>2</sub>. Penggunaan PWH yang semakin banyak dapat meningkatkan kekuatan dan elastisitas serta kelarutan mikroenkapsul, hal ini disebabkan oleh meningkatnya jenis ikatan yang reaktif, sehingga dapat meminimalisir pelepasan sel dari mikroenkapsul (Sothornvit and Krochta, 2000).

Hubungan antara penggunaan alginat dan penambahan PWH yang berbeda terhadap jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi terlihat pada Gambar 2. Penggunaan alginat 1% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 9,1247+0,4678x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 9,1247 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 0,4678 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,8150 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi. Koefisien determinasi (R<sup>2</sup>) sebesar 0,6642 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus*

terenkapsulasi sebesar 66,41% dan 33,59% berasal dari faktor lain.

Penggunaan alginat 1,5% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 8,5164+2,1492x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 8,5164 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 2,1492 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,9038 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi. Koefisien determinasi (R<sup>2</sup>) sebesar 0,8169 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi sebesar 81,69% dan 18,31% berasal dari faktor lain.



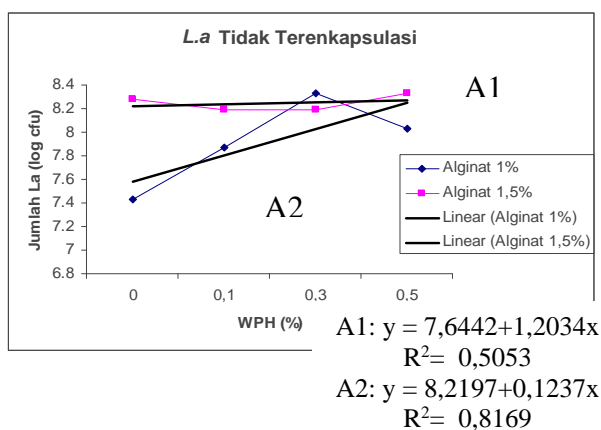
Gambar 2. Grafik rata-rata logaritma jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi

Hubungan antara penggunaan alginat dan penambahan PWH yang berbeda terhadap jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi terlihat pada Gambar 6. Penggunaan alginat 1% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 7,6442+1,2034x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 7,6442 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan



PWH menghasilkan 1,2034 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,7109 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,5053 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi sebesar 50,53% dan 49,47% berasal dari faktor lain.

Penggunaan alginat 1,5% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 8,2197+0,1237x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 8,2197 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 0,1237 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,3950 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,1560 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi sebesar 15,60% dan 84,40% berasal dari faktor lain.



Gambar 3. Grafik rata-rata logaritma jumlah *L. acidophilus* tidak terenkapsulasi

### Pengaruh Penggunaan Alginat dan Penambahan Protein Whey Hidrolisat terhadap Viabilitas *L. acidophilus* Terenkapsulasi dalam Es Krim

Hasil Analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara keduanya (penggunaan alginat dan penambahan PWH) dan penambahan PWH memberikan perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ ), sedangkan tingkat penggunaan alginat tidak memberikan perbedaan yang nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap viabilitas *L. acidophilus* terenkapsulasi dalam es krim. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* (log cfu/ml) terenkapsulasi dalam es krim pada berbagai level perlakuan dan hasil uji Jarak Berganda Duncan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata jumlah *L. acidophilus* terenkapsulasi dalam es krim (log cfu/ml)

Alginat	Penambahan PWH				Rata-rata
	P0	P1	P3	P5	
A1	7,19 <sup>x</sup>	7,71 <sup>xy</sup>	7,93 <sup>y</sup>	8,16 <sup>y</sup>	7,75
A2	7,77 <sup>y</sup>	8,05 <sup>y</sup>	7,81 <sup>y</sup>	7,93 <sup>y</sup>	7,84
Rata-rata	7,48 <sup>m</sup>	7,88 <sup>n</sup>	7,87 <sup>n</sup>	8,05 <sup>n</sup>	

Keterangan:

- Notasi yang berbeda (m,n dan x,y) pada kolom/ baris yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P < 0,05$ )

Interaksi yang nyata diantara kedua faktor tersebut memberikan perbedaan pengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam es krim. Makin tinggi penambahan PWH makin tinggi kerja alginat dalam melindungi sel terhadap pembekuan, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup dalam es krim.

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan penggunaan alginat 1% jumlah *L. acidophilus* terendah pada penambahan PWH 0% dan 1%, hal ini disebabkan oleh sedikitnya nutrisi mikroenkapsul, sehingga memberikan perbedaan terhadap jumlah *L. acidophilus* yang hidup dalam es krim yang disebabkan oleh pembekuan, sedangkan semakin meningkat penggunaan alginat dan



semakin banyak penambahan PWH memberikan perbedaan yang relatif sama, Hal ini disebabkan oleh penambahan PWH dalam mikrenkapsul yang menggunakan alginat mengandung sumber nutrisi yang kaya peptida dan asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Mc Comas and Gilliland, 2003).

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada perlakuan penggunaan alginat 1% dan 1,5% rata-rata jumlah *L. acidophilus* dalam es krim relatif sama. Hal ini disebabkan mikroenkapsul yang menggunakan alginat pecah pada saat proses pembekuan menggunakan *ice cream maker*. Menurut Champagne and Gardner (2001), variasi konsentrasi alginat tidak mempengaruhi sel dalam susu fermentasi.

Penggunaan alginat pada semua perlakuan dalam penelitian ini menghasilkan jumlah *L. acidophilus* memenuhi standar dalam bahan pangan probiotik. Shah (2001) menyatakan bahwa, manfaat kesehatan baru dapat diperoleh apabila bakteri probiotik berada dalam kondisi hidup dan tersedia pada konsentrasi tinggi pada pangan probiotik, standar minimal berjumlah  $10^6$  cfu/gram atau 6 log cfu/gram.

Penambahan PWH memberikan perbedaan yang nyata terhadap jumlah *L. acidophilus* yang dihasilkan. Pada penambahan PWH 0% rata-rata jumlah *L. acidophilus* memberikan jumlah yang sedikit. Hal ini disebabkan oleh tidak adanya nutrisi dalam mikroenkapsul. Pengaruh PWH dalam pertumbuhan bakteri probiotik dalam susu adalah sebagai penyediaan sumber nutrisi peptida dan asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat, khususnya bakteri probiotik (Mc Comas and Gilliland, 2003). Menurut Young *et al.*, (1993), protein whey memiliki fungsional properties membentuk dinding materi dan mempunyai keefektifan sebagai agen mikroenkapsulasi pada susu lemak anhidrous.

Penggunaan PWH pada berbagai konsentrasi yang berbeda memberikan perlindungan terhadap *L. acidophilus*. Pada penambahan PWH 0,5% memberikan perlindungan yang paling tinggi, hal ini disebabkan PWH memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* sehingga dapat tumbuh selama proses agitasi dan pembekuan. Menurut Young (1999), protein whey berperan penting dalam mengatur timbulnya kristal es. Komponen protein whey salah satunya laktoferin tidak dapat berikatan dengan kation (dalam hal ini Ca), namun mempunyai kemampuan untuk mengatur fungsi imun dan sebagai faktor pertumbuhan pada berbagai tipe sel (Sorensen and O'donnell, 2002). Selain itu protein whey berfungsi sebagai *cryoprotectant*.

*Cryoprotectant* yaitu senyawa yang mampu melakukan ikatan hidrogen dan atau berionisasi dengan membran sel bakteri sehingga strukturnya lebih kuat. Kuatnya struktur membran sel memungkinkan bakteri lebih tahan terhadap proses pembekuan (Tamime and Robinson, 1985). Gula pasir (sukrosa) yang merupakan bahan ICM dapat melindungi membran sel bakteri asam laktat dari kerusakan akibat pembekuan (Fardiaz, 1992). Bahan pelindung seperti sukrosa dapat menurunkan titik beku sehingga kristal es akan mulai terbentuk pada suhu sekitar -5°C sampai -15°C. Penggunaan sukrosa didasarkan pada sifatnya yang tidak melewati membran sel tetapi hanya melindungi membran sel mikroorganisme bagian dalam yang akan menstabilkan membran terhadap kerusakan pembekuan.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi ketahanan hidup mikroorganisme adalah penggunaan lemak yaitu dapat menghambat terbentuknya kristal es yang besar pada saat terjadinya proses pembekuan (Padaga dan Sawitri, 2005).

Tahap pembekuan merupakan titik kritis yang memberikan efek negatif terhadap viabilitas dan kondisi fisiologis bakteri. Proses pembekuan bisa menyebabkan penurunan 1,5-1 log jumlah bakteri. Naik turunnya suhu menyebabkan mengurangi viabilitas bakteri (Davidson, Duncan, Hackney, Eigel *and* Boling, 1999). Setelah proses pembekuan membuat intraseluler beku, maka sel harus di *thawing* dengan cepat untuk meminimalkan pembentukan kristal es kembali (Morice *et al.*, 1991; Lund, Bard-parker *and* Gould, 2000; Marth *and* Steek, 2001).

Pembekuan dan *thawing* dapat membentuk kristal es yang lebih kecil dan tidak kasar apabila menggunakan protein whey, karena protein whey dapat mengikat air dalam jumlah banyak. Hal ini dapat meningkatkan viskositas dan juga membantu untuk mencapai kestabilan pembekuan dan *thawing* pada produk akhir dengan membatasi perubahan air menjadi es dan menjadi air kembali. Sodini, Lucas, Tissier, *and* Corriue (2005) juga berpendapat bahwa penambahan PWH selama proses *acidification* dapat mengatur terbentuknya kristal es yang lancip, hal ini disebabkan oleh PWH berinteraksi dengan misel kasein atau serum yang bebas. Pembekuan juga dapat menyebabkan perubahan tekanan osmosis.

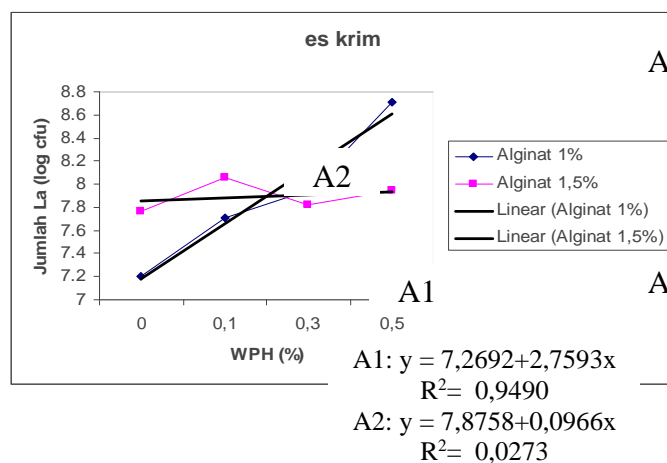
Tekanan osmosis menyebabkan permeabilitas membran sel menurun bahkan bisa rusak sehingga larutan intraseluler terutama air akan keluar dari sel. Menurut Simatos, Blond, Le Meste *and* Morice (1994), bahwa selama pembekuan, perpindahan fase cair ke padat (kristal es) berakibat mengurangi fluiditas membran. Pembentukan kristal es sangat berpengaruh terhadap konsentrasi larutan yang disebabkan oleh kerusakan tekanan osmotik (Maryman, 1968). Kondisi dehidrasi yang dialami sel disebabkan oleh pembentukan es sehingga mengakibatkan meningkatnya konsentrasi zat terlarut intraseluler yang berarti terjadi perbedaan

tekanan osmosis. Tingginya tingkat konsentrasi zat terlarut dapat mengubah sistem enzim intarseluler (Thunell, 1996), sedangkan perbedaan tekanan osmosis direspon oleh sel dengan mengeluarkan sebagian zat terlarut interseluler untuk menyeimbangkan konsentrasi larutan melalui difusi pasif (Baati, Fabre-Ga, Auriol *and* Blanc, 2000). Stres yang diakibatkan oleh tekanan osmosis mempengaruhi terhadap akumulasi humektan atau sintesis komponen osmoregulatori untuk menjaga keseimbangan terhadap perubahan tekanan osmosis (Bayles *and* Wilkinson, 2000).

Hubungan antara penggunaan alginat dan penambahan PWH yang berbeda terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam es krim terlihat pada Gambar 4. Penggunaan alginat 1% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 7,2692 + 2,7593x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 7,2692 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 2,7593 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,9742 menunjukkan bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* dalam es krim. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9490 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam es krim sebesar 94,90% dan 5,10% berasal dari faktor lain.

Penggunaan alginat 1,5% dengan berbagai konsentrasi PWH yang berbeda diperoleh persamaan linier  $y = 7,8758 + 0,0966x$  menunjukkan bahwa mikroenkapsulasi tanpa penambahan PWH menghasilkan *L. acidophilus* sebesar 7,8758 (log cfu/ml) yang selanjutnya setiap level penambahan PWH menghasilkan 0,0966 kali peningkatan jumlah *L. acidophilus* yang mampu bertahan hidup. Koefisien korelasi (r) sebesar 0,1652 menunjukkan

bahwa penambahan PWH menyebabkan kenaikan jumlah *L. acidophilus* dalam es krim. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,0273 menunjukkan bahwa penambahan PWH berpengaruh terhadap jumlah *L. acidophilus* dalam es krim sebesar 2,73% dan 97,27% berasal dari faktor lain.



Gambar 4. Grafik rata-rata logaritma jumlah *L. acidophilus* dalam es krim

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa penambahan PWH dapat meningkatkan kekuatan mikroenkapsul dan meningkatkan meningkatkan viabilitas *L. acidophilus* terenkapsulasi. Kombinasi penggunaan alginat sebesar 1% dan penambahan PWH 0% menghasilkan pelepasan sel dengan jumlah yang sedikit, sedangkan penggunaan alginat 1% dan penambahan PWH 0,5% menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* terenkapsulasi dalam mikroenkapsul yang tinggi, penggunaan alginat 1% dan penambahan PWH 0,5% pada es krim menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* yang tinggi serta dapat disebut sebagai es krim probiotik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2006. Quality Factors In Ice Cream.  
<http://drinc.ucdvis.edu/dfood11New.htm>. Diakses tanggal 6 April 2006
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis 16<sup>th</sup> Edition, Vol II. Maryland
- Aryana, K.J. 2006. Probiotic Dairy Foods For Improved Health Of The Human Gastrointestinal Tract.  
<http://www.lsuagcenter.com/impact/public.asp?i=562>. Diakses tanggal 27 Mei 2007
- Astawan, M. 2005. Ada Penjinak Virus Di Dalam Es Krim, (online), (<http://www.depkes.go.id/index.php?option=articles&task=viewarticle&articleid=226&itemid=>, diakses 30 Maret 2006)
- Baati, L., C. Fabre-Ga, D. Auriol and P.J. Blanc. 2000. Study of The Cryotolerance of *Lactobacillus acidophilus*: Effect of Culture and Freezing Condition on The Viability and Cellular Protein Levels. *In* Carvalho A. S., J. Sila, P. Ho, P. Teixeira F. X. Malcata and P. Gibbs. 2003. Effect of Addition of Sucrosa and Salt and Starvation Upon Thermotolerance and Survival During Storage Offreeze Dried *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci.*, 68 (8): 2538-2541
- Bayles, D.O. and B.J. Wilkinson, 2000. Osmoprotectants and Cryoprotectants for *Listeria monocytogenes*. *In* Carvalho A. S., J. Sila, P. Ho, P. Teixeira F. X. Malcata and P. Gibbs. 2003. Effect of Addition of Sucrosa and Salt and Starvation Upon Thermotolerance and Survival During Storage Offreeze Dried *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Sci.*, 68 (8): 2538-2541

- Champagne, C.P., and N. J. Gardner. 2001. The Effect of Protective Ingredients on The Survival of Immobilized Cells of *Streptococcus thermophilus* to Air and Freeze Drying. *J. Biotechnol.*, 4 (3).
- Davidson, R.H, S.E Duncan, C.R, Hackney, W.N, Eigel and J.W, Boling. 1999. Probiotik Culture In Survival and Implicationt In Fermented Frozen Yoghurt Characteristics. *J. Dairy Sci.*, 83: 666-673
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Gauthier, S.F and Y. Pouliot. 2003. Functional and Biological Properties of Peptides Obtained by Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins. *J. Dairy Sci.*, 86: E78-E87
- Klinkenberg, G., K.Q Lystat., 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
- Lund, B.M., T.C. Bard-parker and G.W. Gould. 2000. The Microbiological Safety and Quality of Food. Aspen Publishers Inc. Geithersburg. Maryland
- Marth, E.H and J.L Steek. 2001. Applied Dairy Microbiology. Second Edition. Marcell Dekker, Inc. New York
- Maryman, H.T., 1968. Cryoprotective Agents. **In** Beal, C., F. Fonseca and G. Corrient, 2001. Resistance to Freezing and Frozen Storage of *Streptococcus thermophilus* is Related to Membrane Fatty Acid Composition. *J. Dairy Sci.*, 84: 2347-2356
- Mazur, 1992. Cryoprotective Compounds. [http://www.ucalgary.ca/~kmuldrew/cryo\\_course/cryo\\_chap8\\_1.html](http://www.ucalgary.ca/~kmuldrew/cryo_course/cryo_chap8_1.html). Diakses tanggal 29 Desember 2007
- Mc Comas, K.A, Jr, and S.E, Gilliland. 2003. Growth of Probiotic and Traditional Yogurt Cultures in Milk Supplemented with Whey Protein Hydrolysate. *J. Food Sci.*, 68 (6).
- Mc Gann, L.E. 1987. Differing Actions of Penetrating and Non-Penetrating Cryoprotective Agent. **In** Beal, C. F. Fonseca and G. Corrient, 2001. Resistance to Freezing and Frozen Storage of *Streptococcus thermophilus* is Related to Membrane Fatty Acid Composition. *J. Dairy Sci.*, 84: 2347-2356
- Morice, M., P. Bracquart and G. Linden. 1991. Colonial Variation and Freeze-Thaw Resistance of *Streptococcus thermophilus*. *J. Dairy Sci.*, 75: 1157-1203.
- Mosilhey, S.H 2003. Influence of Different Capsule Material on The Physiological Properties of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Dissertation. Rheinischan Friedric-Wihelm Universitat. Bon-Germany
- Padaga, M. Ch, dan M. E. Sawitri. 2005. Membuat Es Krim yang Sehat. Tekno Pangan. Jakarta
- Shah, N.P. 2001. Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *J. Food Tech.*, 55(11): 46-52
- Simatos, D., G. Blond, M. Le Meste, and M. Morice. 1994. Conserva-tiondes Bacteries Lactiques Par Congelation et Lyophilisation. **In** Beal, C., F. Fonseca and G. Corrient, 2001. Resistance to Freezing and Frozen Storage of *Streptococcus thermophilus* is Related to Membrane Fatty Acid Composition. *J. Dairy Sci.*, 84: 2347-2356
- Sodini. I, A. Lucas, J.P. Tissier, and Corriue. 2005. Physical Properties and Mikrostructure of Yoghurts Supplemented with Milk Protein Hydrolysates. *J. Dairy Sci.*, 15: 29-34.
- Sorensen, C. and J. O'donell. 2002. Reference Manual for U.S. Whey

- Lactose Products. **In** Song, S. H., Y. H. Cho and J. Park. 2003. Microencapsulation of Lactobacillus Casei Yit 9018 Using A Microporus Glass Membrane Emulsification System. *J. Food Sci.*, 68 (1): 195-200
- Sothornvit, S. *and* J.M. Krochta. 2000. Water Vapor Permeability and Solubility of Film from Hydrolyzed Whey Protein. *J. Food Sci.*, 65 (4)
- Suhartono, M.T. 1989. Enzym dan Bioteknologi. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan IPB. Bogor
- Tamime, A.Y., *and* R. Robinson. 1989. Yoghurt and Science. Pergamon Press. Oxford. New York
- Thunell, R.K., 1996. Frozen Culture Handling and Storage. *J. Agric and Life Sci.*, 8 (4)
- Widodo. 2003. Bioteknologi Industri Susu. Lacticia Press. Yogyakarta
- Yitnosumarto. S., 1991. Percobaan, Perancangan, Analisa dan Interpretasinya. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Young, S.L., X. Sarda *and* M. Rosenberg. 1993. Microencapsulating Properties of Whey Proteins. 1 Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *J. Dairy. Sci.*, 76: 2868-2877
- Young, S. 1999. Whey Products in Ice Cream and Frozen Desserts. US Dairy Export Council