

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 PENENTUAN KOMPOSISI BIOPOLIMER SEBAGAI BAHAN PENGKAPSUL

Karakteristik *beads* kalsium alginat sangat ditentukan oleh jenis dan komposisi biopolimer yang digunakan. Menurut Castilla *et al.* (2010), komposisi biopolimer yang digunakan dalam proses enkapsulasi akan mempengaruhi diameter dan bentuk *beads* yang dihasilkan. Selain itu, komposisi biopolimer juga akan mempengaruhi viabilitas probiotik yang dienkapsulasi. Biopolimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium alginat dan bahan pengisi berbasis protein, yaitu *whey protein concentrate* (WPC 35), *sodium caseinate* dan *skim*.

Dalam penelitian ini, komposisi bahan pengkapsul dirancang untuk mendapatkan probiotik terenkapsulasi yang bersifat *fast release* karena akan digunakan sebagai *starter* susu fermentasi. Selain itu, komposisi bahan pengkapsul juga dirancang agar mampu melindungi probiotik selama proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 40 °C.

4.1.1 Pengaruh Konsentrasi Natrium Alginat terhadap Rendemen, Bentuk dan Ukuran *Beads* Kalsium-Alginat

Jel kalsium alginat (*beads*) terbentuk setelah larutan natrium alginat diteteskan kedalam larutan CaCl₂ karena ikatan silang yang terbentuk antara anion karboksilat (COO⁻) dari monomer alginat dan kation divalen (Ca²⁺) (McNeely dan Pettit 1973). Total padatan bahan pengkapsul yang optimum dapat ditentukan dengan mengetahui konsentrasi natrium alginat yang optimum dengan parameter bentuk, ukuran, dan rendemen *beads*. Konsentrasi natrium alginat yang digunakan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap bentuk, ukuran (diameter), dan rendemen *beads* dalam penelitian ini adalah 2%, 3%, 4% dan 5% (b/b).

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi Na-alginat terhadap rendemen, ukuran dan bentuk *beads*

Konsentrasi natrium alginat (%)	Viskositas larutan (cP)	Rendemen (%)	Ukuran <i>beads</i> (mm)	Bentuk <i>beads</i>
2	81	52,0 ± 3,5 ^c	2,4 ± 0,1 ^d	Oval/elips
3	282	74,4 ± 1,7 ^b	3,1 ± 0,1 ^b	Bola
4	610	90,8 ± 1,1 ^a	3,2 ± 0,1 ^a	Bola
5	1640	90,7 ± 2,2 ^a	2,8 ± 0,1 ^c	Bola Berekor

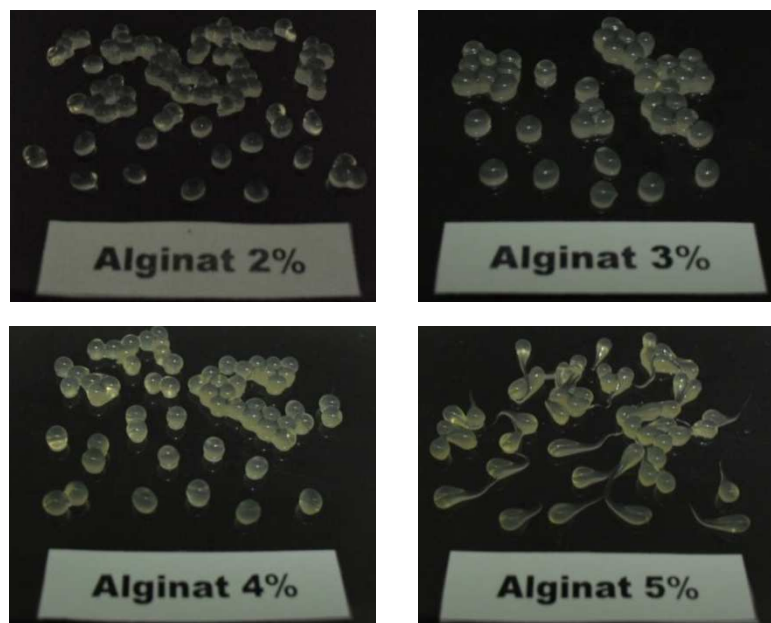
Nilai dalam kolom rendemen adalah rata-rata ± standar deviasi dari $n=2$

Nilai dalam kolom ukuran *beads* adalah rata-rata ± standar deviasi dari pengukuran 10 *beads*

Rata-rata dengan huruf (a-d) yang sama pada kolom yang sama adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$) berdasarkan uji lanjut Duncan

Rendemen yang dihasilkan berkisar 52 – 91% dengan bentuk *beads* oval (*elliptical*), bola (*spherical*), dan juga berekor (Gambar 7). Berdasarkan Tabel 5, terlihat bahwa natrium alginat 4% memiliki rendemen tertinggi (90,8%) dan ukuran *beads* terbesar (3,2 mm), sedangkan alginat 2% memiliki rendemen terendah (52,0%) dan ukuran *beads* terkecil (2,4 mm). Menurut Krasaekoopt *et al.* (2003), *beads* kalsium alginat yang dihasilkan dengan metode ekstrusi memiliki ukuran 2 – 5 mm tergantung pada viskositas, ukuran jarum (*syringe*), dan jarak tetes. Hasil analisis varian (Lampiran 5) menunjukkan bahwa konsentrasi natrium alginat berpengaruh nyata ($p<0,05$) terhadap rendemen dan ukuran *beads*.

Peningkatan konsentrasi natrium alginat dari 2% hingga 4% menyebabkan rendemen meningkat dari 52,0% menjadi 90,8%. Peningkatan rendemen seiring dengan meningkatnya konsentrasi natrium alginat terjadi karena peningkatan ikatan silang yang terbentuk antara anion karboksilat dengan ion Ca^{2+} . Ikatan silang tersebut membentuk jel kalsium alginat. Namun, berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 5), penggunaan natrium alginat 5% menghasilkan rendemen yang tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan natrium alginat 4%. Pembentukan jel kalsium alginat dipengaruhi oleh jumlah anion karboksilat dan ion Ca^{2+} yang tersedia dalam sistem. Jika anion karboksilat dalam sistem terlalu banyak dan ion Ca^{2+} tidak mencukupi, jel tidak akan terbentuk. Hal inilah yang kemungkinan menyebabkan penggunaan alginat 5% tidak meningkatkan rendemen *beads*. Rendemen (yield) akan sangat berpengaruh pada jumlah sel yang terenkapsulasi dalam *beads* kalsium alginat. Hasil penelitian Sultana *et al.* (2000) dan Castilla *et al.* (2010) menunjukkan bahwa efisiensi enkapsulasi sel meningkat seiring dengan meningkatnya rendemen *beads*.



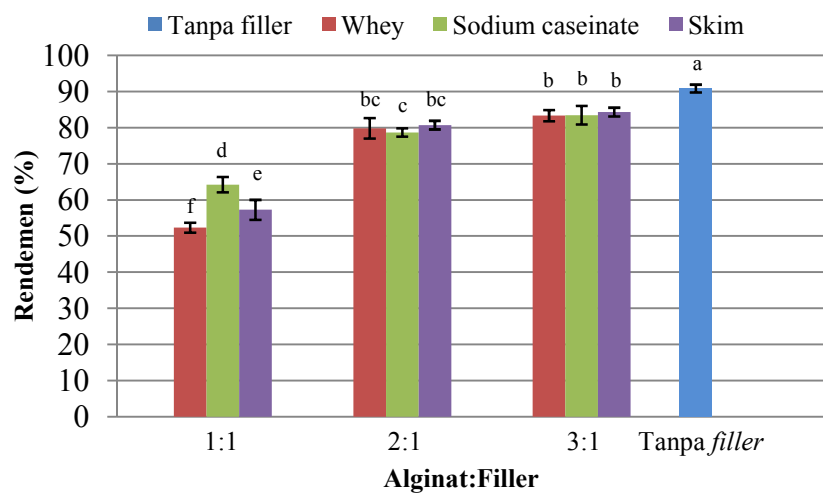
Gambar 7. Bentuk *beads* kalsium alginat pada berbagai konsentrasi alginat (2 – 5%)

Gambar 7 memperlihatkan bentuk *beads* pada konsentrasi alginat 2 – 5%. Pada Gambar 7 terlihat bahwa semakin besar konsentrasi alginat, bentuk *beads* yang dihasilkan akan menyerupai bola. Namun, penggunaan konsentrasi natrium alginat yang terlalu besar (5%), menyebabkan *beads* yang dihasilkan memiliki ekor. Bentuk *beads* yang mendekati bola dihasilkan pada penggunaan natrium alginat dengan konsentrasi 3% dan 4%. Perbedaan bentuk *beads* pada setiap konsentrasi natrium alginat dikarenakan perbedaan viskositas larutan natrium alginat. Semakin besar viskositas larutan natrium alginat, bentuk *beads* yang dihasilkan hampir menyerupai bentuk bola. Namun, larutan natrium alginat yang terlalu kental dapat menyebabkan bentuk *beads* yang berekor. Oleh karena itu, total biopolimer 4% dipilih sebagai total padatan bahan pengkapsul pada tahap berikutnya karena menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dari natrium alginat 3% namun tidak berbeda nyata dengan penggunaan biopolimer 5% dan dapat lebih menghemat penggunaan natrium alginat serta menghasilkan bentuk *beads* menyerupai bola.

4.1.2 Pengaruh Perbandingan Alginat-Bahan Pengisi terhadap Rendemen, Bentuk dan Ukuran *Beads*

Bahan pengisi yang digunakan sebagai bahan pengkapsul adalah biopolimer berbasis protein, yaitu *whey protein concentrate* (WPC 35), *sodium caseinate*, dan susu skim bubuk. Penggunaan bahan pengisi berbasis protein diharapkan dapat melindungi sel selama proses pengeringan serta menghasilkan *Lb. casei* terenkapsulasi dalam bentuk kering untuk *starter* susu fermentasi yang bersifat *fast release* dan memiliki kemampuan aktivitas fermentasi yang tinggi.

Konsentrasi biopolimer yang digunakan adalah 4%. Penggunaan total biopolimer 4% adalah berdasarkan hasil yang didapat pada tahap penentuan total biopolimer bahan pengkapsul. Perbandingan alginat dan bahan pengisi (*filler*) yang digunakan adalah 1:1 (alginat 2% : *filler* 2%), 2:1 (alginat 2,67% : *filler* 1,33%), dan 3:1 (alginat 3% : *filler* 1%). Pengaruh perbandingan alginat-*filler* terhadap rendemen *beads* yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 8.



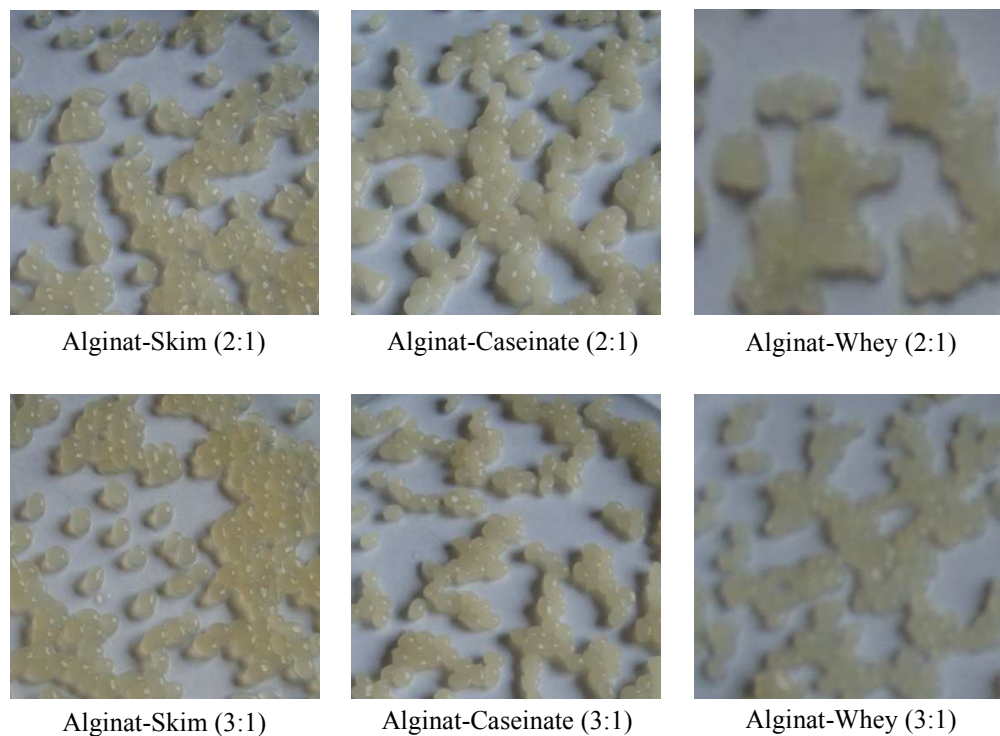
Gambar 8. Pengaruh jenis *filler* dan perbandingan alginat-*filler* terhadap rendemen *beads*. Error bar mengindikasikan standar deviasi dari rata-rata ($n=2$). Rata-rata dengan huruf (a-f) yang sama adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$) berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 7)

Penggunaan *Skim* sebagai bahan pengisi menghasilkan rendemen antara 57,3 – 84,3%, *sodium caseinate* menghasilkan rendemen 64,2 – 83,5%, sedangkan *whey* menghasilkan rendemen 52,3 – 83,3%. Pada Gambar 8 terlihat bahwa semakin kecil perbandingan alginat:*filler*, semakin rendah rendemen yang dihasilkan. Alginat 4% (tanpa bahan pengisi) menghasilkan rendemen tertinggi, sedangkan penggunaan bahan pengisi pada perbandingan 2:1 dan 3:1 menghasilkan rendemen yang relatif sama. Hal ini mengindikasikan bahwa jenis *filler* yang digunakan pada perbandingan 2:1 dan 3:1 tidak mempengaruhi rendemen *beads* kalsium alginat yang dihasilkan. Selain itu, penggunaan bahan pengisi yang terlalu banyak cenderung menurunkan rendemen yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan penggunaan bahan pengisi yang terlalu banyak akan menurunkan konsentrasi alginat yang digunakan, sehingga matriks yang terbentuk semakin sedikit. Hasil yang sama juga didapatkan Sultana *et al.* (2000), yang melaporkan bahwa penggunaan prebiotik (Hi-maize) lebih dari 2% akan menurunkan rendemen *beads* kalsium alginat.

Tabel 6. Pengaruh jenis *filler* dan perbandingan alginat-*filler* terhadap ukuran dan bentuk *beads*

Jenis <i>filler</i>	Alginat- <i>filler</i>	Ukuran <i>beads</i> (mm)*	Bentuk <i>beads</i>
Tanpa <i>filler</i>	1:0	3,2 ± 0,1 ^a	Bola
	1:1	2,0 ± 0,1 ^f	Oval/elips
	2:1	2,8 ± 0,1 ^c	Bola-Oval
<i>Whey</i>	3:1	3,0 ± 0,1 ^b	Bola-Tetes air
	1:1	2,1 ± 0,1 ^e	Oval/elips
	2:1	2,7 ± 0,1 ^d	Bola-Tetes air
<i>Sodium caseinate</i>	3:1	3,0 ± 0,1 ^b	Bola-Tetes air
	1:1	2,1 ± 0,2 ^{ef}	Oval/elips
	2:1	2,7 ± 0,1 ^d	Bola-Oval
<i>Skim</i>	3:1	3,0 ± 0,1 ^b	Bola-Tetes air

* Nilai dalam tabel adalah rata-rata ± standar deviasi dari pengukuran 10 *beads*. Rata-rata dengan huruf (a-f) yang sama adalah tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 7).



Gambar 9. Penampakan *beads* kalsium alginat dengan penambahan *filler*

Tabel 6 memperlihatkan ukuran dan bentuk *beads* pada berbagai komposisi bahan pengkapsul menggunakan bahan pengisi. Diameter rata-rata dari masing-masing perlakuan berkisar 2,0 – 3,2 mm berbentuk oval hingga bulat berekor dan berwarna putih kecoklatan (Gambar 9). Penelitian oleh Purwandhani *et al.* (2007) menggunakan bahan pengkapsul alginat dan skim dengan metode ekstrusi dua lapis menghasilkan *beads* berukuran 2,5 – 4 mm. Penelitian ini menghasilkan *beads* berukuran besar yang kemungkinan akan mempengaruhi tekstur dan sifat sensori produk yang dihasilkan, namun jika terlalu kecil akan membatasi jumlah sel yang dapat dienkapsulasi (Anal dan Singh 2007).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa perbandingan alginat-*filler* berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap ukuran *beads* kalsium alginat. Semakin besar perbandingan alginat-*filler*, ukuran *beads* yang dihasilkan semakin besar. Pada perbandingan alginat-*filler* yang sama, ukuran *beads* relatif sama pada *whey*, *sodium caseinate*, dan *skim*. Hal ini mengindikasikan bahwa jenis *filler* yang digunakan tidak mempengaruhi ukuran *beads* kalsium alginat yang dihasilkan.

Pada massa yang sama, *beads* berukuran besar memiliki luas permukaan yang kecil sehingga luasan kontak antara sel yang terenkapsulasi dengan substrat selama proses fermentasi semakin kecil. Luas permukaan kontak akan mempengaruhi laju difusi substrat dan metabolit. Oleh karena itu, *beads* yang berukuran lebih kecil kemungkinan memiliki laju difusi yang lebih baik.

Penggunaan bahan pengisi ditujukan untuk melindungi probiotik selama proses pengeringan. Berdasarkan parameter rendemen, ukuran, dan bentuk *beads*, perbandingan 2:1 pada setiap jenis bahan pengisi (*whey*, *sodium caseinate*, dan *skim*) adalah komposisi yang optimum untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya. Hal ini dikarenakan rendemen pada alginat-*filler* 2:1 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) dengan 3:1 dan menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan dengan perbandingan alginat-*filler* 1:1. Selain itu, *filler* yang digunakan pada perbandingan 2:1 juga memiliki konsentrasi lebih banyak dibandingkan 3:1, sehingga *filler* yang lebih banyak kemungkinan dapat lebih melindungi probiotik saat pengeringan. Selain itu, perlakuan dengan perbandingan alginat-*filler* 2:1 memiliki ukuran *beads* yang lebih kecil dibandingkan 3:1. Ukuran *beads* yang lebih kecil kemungkinan memiliki proses fermentasi dan pengeringan yang lebih cepat.

4.1.3 Enkapsulasi *Lb. casei* dalam *Beads* Kalsium Alginat dan Aktivitas Metabolisme *Lb. casei* Terenkapsulasi

Komposisi bahan pengkapsul yang digunakan pada tahap penelitian ini adalah komposisi yang didapatkan pada tahap penentuan perbandingan alginat dan bahan pengisi optimum, yaitu perbandingan 2:1 pada masing-masing jenis bahan pengisi. Terdapat empat perlakuan komposisi bahan pengkapsul yang digunakan, yaitu alginat 4% (tanpa bahan pengisi), alginat-*whey* (2:1), alginat-*sodium caseinate* (2:1), dan alginat-*skim* (2:1).

Jumlah *Lb. casei* yang terenkapsulasi dalam *beads* dapat dilihat pada Tabel 7. *Lactobacillus casei* terenkapsulasi di dapat dengan cara menginokulasikan 0,02 ml suspensi sel ($7,0 \times 10^9$ cfu/ml) ke dalam 20 gram suspensi alginat (bahan pengkapsul) sehingga didapat jumlah sel $6,9 \times 10^6$ cfu/ml suspensi alginat-sel atau 6,84 log cfu/ml suspensi alginat-sel. *Beads* yang dihasilkan memiliki populasi 6,51 – 6,61 log cfu/gram *beads*. Jumlah sel selama proses enkapsulasi mengalami penurunan. Berdasarkan analisis varian (Lampiran 9), komposisi bahan pengkapsul yang digunakan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap viabilitas dan efisiensi enkapsulasi. Enkapsulasi menggunakan alginat 4% mengalami penurunan jumlah sel sebesar $0,23 \pm 0,02$ siklus log dibandingkan dengan populasi sel sebelum dienkapsulasi, sedangkan penggunaan alginat-*whey* (2:1) mengalami penurunan $0,28 \pm 0,03$ siklus log, alginat-*sodium caseinate* (2:1) mengalami penurunan $0,33 \pm 0,04$ siklus log, dan alginat-*skim* (2:1) mengalami penurunan $0,29 \pm 0,01$ siklus log. Penurunan jumlah sel kemungkinan disebabkan oleh sel yang terbawa dalam larutan CaCl_2 dan sel mati atau kehilangan viabilitasnya selama didalam *beads* (Castilla *et al.* 2010).

Faktor yang berpengaruh dalam proses enkapsulasi sel menggunakan alginat adalah konsentrasi natrium alginat. Menurut Castilla *et al.* (2010), efisiensi enkapsulasi meningkat secara signifikan dengan meningkatnya konsentrasi biopolimer. Pada Tabel 7 terlihat bahwa populasi sel

dalam *beads* pada masing-masing perlakuan relatif sama. Namun, efisiensi enkapsulasi perlakuan alginat 4% (tanpa bahan pengisi) lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan bahan pengisi. Hal ini dikarenakan perlakuan alginat 4% (tanpa bahan pengisi) memiliki rendemen yang lebih tinggi. Menurut Castilla *et al.* (2010), efisiensi enkapsulasi meningkat seiring dengan meningkatnya rendemen *beads*.

Tabel 7. Karakteristik *Lb. casei* terenkapsulasi dalam jel kalsium alginat

Parameter	Alginat 4% (1:0)	Alg-Whey (2:1)	Alg-SCN (2:1)	Alg-Skim (2:1)
Populasi sel di dalam MRS broth (log cfu/ml)	9,84	9,84	9,84	9,84
Populasi sel dalam bahan pengkapsul (log cfu/gram suspensi sel)	6,84	6,84	6,84	6,84
Populasi <i>Lb. casei</i> dalam <i>beads</i> (log cfu/gram <i>beads</i> basah)	6,61 ± 0,02	6,56 ± 0,03	6,51 ± 0,04	6,55 ± 0,01
Efisiensi enkapsulasi (%)	53,6 ± 3,4 ^a	38,3 ± 1,5 ^b	33,5 ± 2,2 ^b	36,9 ± 1,4 ^b
Viabilitas (%)	96,6 ± 0,3 ^a	95,9 ± 0,5 ^{ab}	95,1 ± 0,6 ^b	95,7 ± 0,1 ^{ab}
Ukuran (mm)	3,2	2,8	2,7	2,7
Bentuk	Bola	Bola-elips	Bola-tetesan air	Bola-elips
Warna	Coklat transparan	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan
Kelarutan pada media dan suhu fermentasi	Tidak larut	Tidak larut	Tidak larut	Tidak larut

* Nilai dalam tabel adalah rata-rata ± standar deviasi dengan $n=2$. Rata-rata dengan huruf (a-b) yang sama pada baris yang sama adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$) berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 9). Perhitungan mengenai nilai yang terdapat dalam Tabel 7 dapat dilihat pada Lampiran 8.

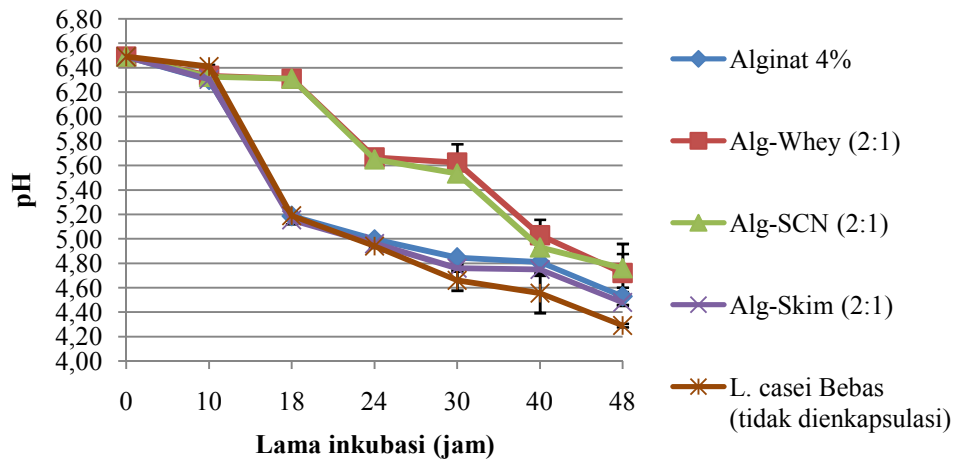
Populasi *Lb. casei* yang terenkapsulasi dalam *beads* mengandung bahan pengisi, jumlahnya relatif sama yaitu berkisar 6,5 log cfu/gram *beads*. Selain itu, efisiensi enkapsulasi dan viabilitas *Lb. casei* terenkapsulasi dengan bahan pengisi memberikan hasil yang relatif sama. Hal ini mengindikasikan bahwa jenis bahan pengisi tidak memberikan pengaruh terhadap efisiensi enkapsulasi dan viabilitas sel.

Enkapsulasi probiotik menggunakan alginat umumnya dilakukan untuk melindungi probiotik dari kondisi lingkungan ekstrim yang dapat menyebabkan ketahanan probiotik menurun. Membran kalsium alginat yang menyelubungi sel memberikan perlindungan terhadap sel sehingga tidak terjadi kontak langsung dengan lingkungan. Beberapa penelitian untuk meningkatkan ketahanan membran kalsium alginat, diantaranya adalah menambahkan prebiotik (Hi-maize) (Sultana *et al.* 2000) dan Chitosan (Krasaekoopt *et al.* 2006). Membran kalsium alginat mudah terdegradasi dengan cepat pada pH rendah (Krasaekoopt *et al.* 2006) dan kehilangan kestabilannya jika terdapat senyawa pengkelat seperti fosfat, laktat dan sitrat (Krasaekoopt *et al.* 2003). Terdegradasinya kalsium alginat dapat menyebabkan sel keluar (*release*) ke lingkungan. Probiotik terenkapsulasi yang penggunaannya ditujukan sebagai *starter* susu fermentasi, keluarnya sel (*release*) serta terjadinya difusi laktosa dan metabolit merupakan kondisi yang diharapkan terjadi, sehingga media (susu) dapat terfermentasi. Sel probiotik harus mampu *release* dengan cepat dari membran kalsium alginat, sehingga proses fermentasi dapat berjalan dengan cepat.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Aktivitas fermentasi dan kemampuan *release* *Lb. casei* terenkapsulasi dapat diukur dari kemampuannya menurunkan pH media *reconstituted skim milk* (RSM). Pengujian perubahan pH media fermentasi setelah diinokulasikan bakteri terenkapsulasi dilakukan untuk menunjukkan bahwa sel bakteri yang dienkapsulasi masih aktif dan mampu menghasilkan asam seperti sel bakteri bebas (Homayouni *et al.* 2008a).



Gambar 10. Perubahan pH RSM setelah diinokulasikan *Lb. casei* terenkapsulasi dan *Lb. casei* bebas (tidak dienkapsulasi)

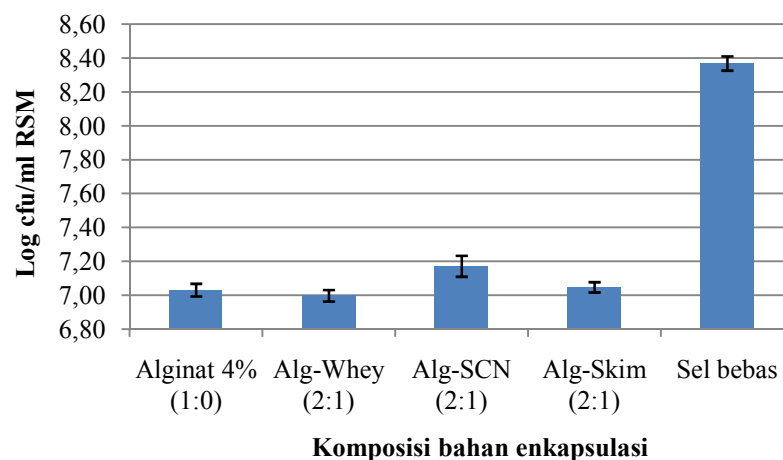
Gambar 10 menunjukkan perubahan pH media RSM selama inkubasi setelah diinokulasikan *Lb. casei* bebas dan *Lb. casei* terenkapsulasi. Hasil pengukuran pH media RSM menunjukkan bahwa *Lb. casei* terenkapsulasi dapat menurunkan pH media RSM selama masa inkubasi. Hal ini mengindikasikan sel *Lb. casei* yang dienkapsulasi dapat hidup dan aktif di dalam *beads* kalsium alginat. Akan tetapi, terdapat perbedaan laju pengasaman media RSM antara *Lb. casei* bebas dengan *Lb. casei* terenkapsulasi.

Lactobacillus casei terenkapsulasi alginat 4% dan alginat-skim (2:1) memiliki pola pengasaman yang relatif sama dengan *Lb. casei* bebas. Perubahan pH media RSM ketiganya lebih cepat dibandingkan *Lb. casei* terenkapsulasi alginat-whey (2:1) maupun alginat-sodium caseinate (2:1). Sebagai contoh, *Lb. casei* bebas dan *Lb. casei* terenkapsulasi alginat 4% dan alginat-skim (2:1) mencapai pH 5,0 setelah 24 jam diinkubasi, sedangkan *Lb. casei* terenkapsulasi alginat-whey (2:1) dan alginat-sodium caseinate (2:1) membutuhkan waktu 40 jam untuk mencapai pH 5,0. Penelitian oleh Sultana *et al.* (2000) menunjukkan bahwa *Lb. casei* dan *L. acidophilus* terenkapsulasi alginat-prebiotik membutuhkan waktu lebih dari 30 jam untuk mencapai pH 5,0. Hal ini terjadi karena difusi nutrisi dan metabolit yang lambat saat melintasi kapsul kalsium-alginat (Sultana *et al.* 2000, Hamayouni *et al.* 2008a).

Lactobacillus casei yang dienkapsulasi menggunakan alginat 4% (tanpa bahan pengisi) dan alginat-skim (2:1) mampu mengasamkan susu lebih cepat. Hal ini berkaitan dengan sifat bahan pengkapsul dari masing-masing perlakuan. Menurut Vidhyalakshmi *et al.* (2009), material yang dienkapsulasi dapat keluar (*release*) dengan beberapa cara seperti pemecahan dinding bahan pengkapsul, pelarutan bahan pengkapsul, dan difusi melewati bahan pengkapsul. Matriks kalsium alginat sangat berpori, sehingga dapat menyebabkan terjadinya difusi air keluar dan masuk dalam kapsul (Rokka dan Rantamäki 2010). Selain itu, ikatan kalsium alginat dalam *beads* mudah terdegradasi karena adanya laktat (Krasaekoopt *et al.* 2003) yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat selama fermentasi. *Lactobacillus casei* tergolong bakteri asam laktat yang memiliki kemampuan menghasilkan produk metabolit asam laktat (Tamime *et al.* 2006). Hal inilah yang kemungkinan menyebabkan *Lb. casei* yang dienkapsulasi alginat (tanpa bahan

pengisi) memiliki kemampuan mengasamkan susu dan *release* lebih cepat dibandingkan dengan *Lb. casei* yang dienkapsulasi dengan penambahan bahan pengisi. Widodo *et al.* (2003) melaporkan bahwa *Lb. casei* terenkapsulasi tanpa *filler* lebih cepat menurunkan pH pada fermentasi yoghurt dibandingkan *Lb. casei* terenkapsulasi dengan penambahan *filler* tepung terigu dan *pollard*.

Lactobacillus casei terenkapsulasi alginat-*skim* (2:1) mampu mengasamkan susu lebih cepat dibandingkan *Lb. casei* yang dienkapsulasi dengan penambahan *whey* dan *sodium caseinate*. Hal ini kemungkinan karena komposisi utama media RSM adalah susu skim, sehingga *Lb. casei* terenkapsulasi alginat-*skim* (2:1) telah beradaptasi selama di dalam *beads* kalsium alginat-*skim*. Pada Gambar 10 terlihat bahwa hingga jam ke 10, penurunan pH berlangsung sangat lambat. Pada awal inkubasi (jam ke 1 – 10) kemungkinan merupakan masa adaptasi bagi *Lb. casei* dan terjadi difusi nutrisi (laktosa) dari media RSM menuju sel *Lb. casei* melintasi kapsul kalsium alginat-bahan pengisi. Difusi laktosa ke dalam *beads* terjadi karena perbedaan konsentrasi laktosa antara media RSM yang memiliki konsentrasi laktosa lebih tinggi dibandingkan konsentrasi laktosa di dalam *beads*. Setelah jam ke 10, pH media *Lb. casei* terenkapsulasi alginat 4% dan alginat-*skim* (2:1) menurun dengan cepat. Hal ini terjadi karena metabolit (asam laktat) berdifusi keluar *beads* sehingga menyebabkan penurunan pH media RSM. Pada *Lb. casei* terenkapsulasi alginat-*whey* (2:1) dan alginat-*sodium caseinate* (2:1), pH media RSM baru menurun dengan cepat setelah jam ke 18. Perbedaan komposisi laktosa dan protein pada *whey protein concentrate*, *sodium caseinate* dan *skim* kemungkinan menyebabkan perbedaan difusi nutrisi ke dalam *beads* dan metabolit yang keluar dari *beads*. Selain itu, kelarutan dari masing-masing bahan pengisi juga diduga berpengaruh terhadap keluarnya (*release*) sel dari dalam *beads*. Kasein mengandung 35 – 45% asam amino non polar (Val, Leu, Ile, Phe, Tyr, Pro) yang bersifat *hydrophobic*, sehingga menyebabkan sulit larut dalam sistem yang mengandung air (Fox dan McSweeney 1998). Skim bubuk memiliki komponen utama laktosa (sekitar 52%, Tabel 2) yang lebih tinggi dibandingkan *whey protein concentrate* (WPC 35) maupun *sodium caseinate*. Pada suhu 20 °C, sekitar 7 gram laktosa akan larut dalam 100 gram air dan pada suhu 60 °C laktosa mampu larut sekitar 50 gram per 100 gram air (Fox dan McSweeney 1998). Oleh karena itu, bahan pengisi yang memiliki laktosa lebih tinggi akan lebih mudah larut. Skim memiliki kandungan laktosa yang lebih tinggi dibanding WPC 35 maupun *sodium caseinate*, oleh karena itu komponen skim lebih banyak yang larut dan menyebabkan sel *release* lebih cepat dibandingkan WPC 35 maupun *sodium caseinate*.



Gambar 11. Populasi *Lb. casei* pada media RSM (diluar *beads*) pada akhir inkubasi

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

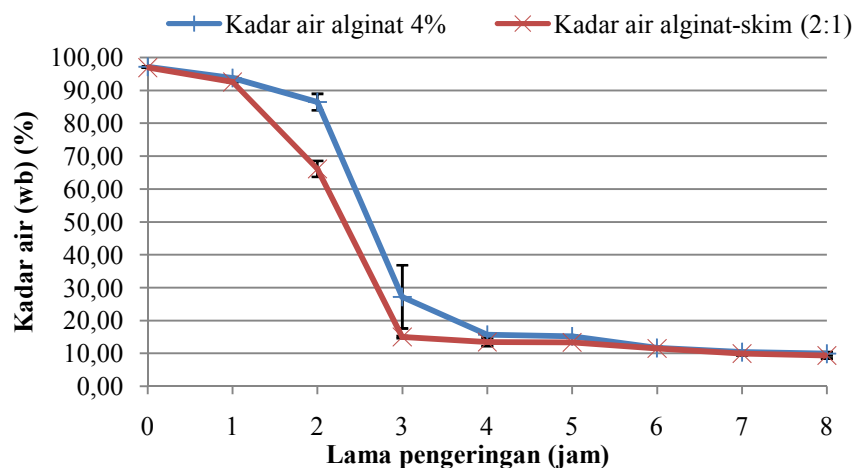
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Gambar 11 memperlihatkan populasi *Lb. casei* pada akhir inkubasi. Populasi probiotik dalam media RSM yang diinokulasikan *Lb. casei* terenkapsulasi memiliki populasi yang relatif sama yaitu berkisar 7,00 – 7,17 log cfu/ml RSM. Sedangkan RSM yang diinokulasikan dengan *Lb. casei* bebas (tidak dienkapsulasi) memiliki populasi yang lebih tinggi, yaitu 8,37 log cfu/ml RSM. Pada akhir inkubasi, masih terdapat *beads* berbentuk jel dan tidak larut dalam media RSM. Namun, senyawa laktat yang dihasilkan *Lb. casei* merupakan senyawa pengkelat yang menyebabkan lepasnya ikatan antara Ca^{2+} dengan alginat sehingga menyebabkan sebagian sel keluar (*release*) dari *beads* ke media RSM. Sel yang *release* selanjutnya melakukan aktivitas metabolisme dan pembelahan sel di dalam media RSM. Jumlah sel di dalam media RSM yang lebih besar dibandingkan jumlah awal sel di dalam *beads* sebelum inkubasi mengindikasikan bahwa sebagian *Lb. casei* di dalam *beads* (tanpa bahan pengisi maupun dengan bahan pengisi) dapat *release* dari *beads* kemudian aktif berkembang di dalam media RSM dan melakukan aktivitas metabolisme (fermentasi).

Berdasarkan pertimbangan terhadap efisiensi enkapsulasi, viabilitas sel, dan karakteristik (bentuk dan ukuran) *beads* yang tidak berbeda nyata antar jenis bahan pengisi serta kemampuan mengasamkan susu lebih cepat, maka perlakuan alginat 4% (tanpa bahan pengisi) dan alginat-skim (2:1) dipilih sebagai bahan pengkapsul pada tahap penelitian berikutnya untuk pembuatan *starter* kering dadih susu sapi.

2 PEMBUATAN *Lb. casei* TERENKAPSULASI DALAM BENTUK KERING

Pada penelitian pembuatan *starter* kering, proses enkapsulasi menggunakan alginat dilanjutkan dengan proses pengeringan untuk mendapatkan sel terenkapsulasi dalam bentuk kering. Komposisi bahan pengkapsul yang digunakan adalah alginat 4% dan alginat-skim (2:1). *Beads* tersebut dikeringkan menggunakan oven bersuhu 40 °C. Pengeringan menggunakan oven dinilai lebih murah dan mudah dibandingkan pengeringan menggunakan *freeze dryer*. Suhu 40 °C digunakan karena pada suhu tersebut masih memungkinkan probiotik untuk tetap hidup. Grafik pengeringan *beads* dapat dilihat pada Gambar 12, sedangkan penampakan *Lb. casei* terenkapsulasi kering dapat dilihat pada Gambar 13.

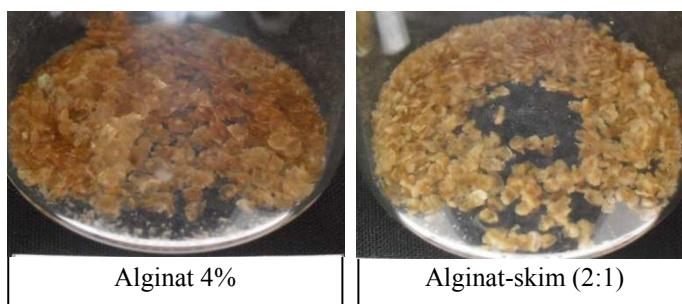


Gambar 12. Pengaruh lama waktu pengeringan terhadap kadar air *beads*

Beads basah alginat 4% dan alginat-skim (2:1) masing-masing memiliki kadar air 97,23% dan 97,00%. Selama pengeringan menggunakan *hot air oven* pada suhu 40°C terjadi penurunan kadar air *beads*. Kadar air *beads* sudah terlihat stabil pada pengeringan jam ke 4. Pada kondisi ini dihasilkan *Lb. casei* terenkapsulasi dalam bentuk kering. Pada pengeringan jam ke 4

- Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

telah didapat *beads* kering dengan kadar air 15,67% untuk alginat 4% dan 13,43% untuk alginat-skim (2:1). Namun, pada pengeringan jam ke 4 dan 5, *beads* kering masih menempel pada cawan petri sehingga masih sulit dilepaskan. *Beads* kering cukup mudah dilepaskan dari cawan petri setelah pengeringan jam ke 6. Kadar air pada *Lb. casei* terenkapsulasi kering dengan bahan pengkapsul alginat 4% dan alginat-skim (2:1) setelah pengeringan selama 6 jam adalah 11,65% dan 11,51%. Pada Gambar 13 terlihat *beads* kering berbentuk kepingan tak beraturan dengan ukuran sekitar 1 – 2 mm dan berwarna coklat pada alginat 4% dan coklat muda pada alginat-skim (2:1). Oleh karena itu, lama pengeringan optimum yang digunakan untuk mengeringkan *beads* jel kalsium alginat menggunakan oven pada suhu 40 °C menggunakan wadah cawan petri adalah selama 6 jam.



Gambar 13. Penampakan *beads* *Lb. casei* terenkapsulasi setelah dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 6 jam

Karakteristik *beads* basah dan *beads* kering yang dihasilkan pada pembuatan *starter* kering dapat dilihat pada Tabel 8. Populasi awal sel (*initial cell concentration*) pada suspensi bahan pengkapsul-sel adalah 9.9×10^7 cfu/gram. Populasi ini didapat dengan menginokulasikan 5 ml suspensi sel dalam MRS broth dengan populasi $9,9 \times 10^8$ cfu/ml ke dalam 45 gram suspensi bahan pengkapsul. Proses enkapsulasi menghasilkan *Lb. casei* terenkapsulasi dalam *beads* jel kalsium alginat dengan populasi $5,7 \pm 0,1 \times 10^7$ cfu/gram *beads* basah (alginat 4%) dan $4,8 \pm 0,3 \times 10^7$ cfu/gram *beads* basah (alginat-skim (2:1)).

Tabel 8. Karakteristik *Lb. casei* terenkapsulasi kering

Parameter	Alginat 4% (1:0)	Alginat-skim (2:1)
Pembuatan <i>beads</i> basah		
Populasi sel dalam bahan pengkapsul (log cfu/gram suspensi sel)	8,00	8,00
Populasi <i>Lb. casei</i> dalam <i>beads</i> basah (log cfu/gram <i>beads</i> basah)	$7,76 \pm 0,01$	$7,68 \pm 0,03$
Efisiensi enkapsulasi (%)	$52,6 \pm 1,0$	$35,2 \pm 3,1$
Viabilitas (%)	$96,6 \pm 0,3$	$95,7 \pm 0,1$
Kadar air (%)	97,23	97,00
Pengeringan		
Populasi <i>Lb. casei</i> dalam <i>beads</i> kering (log cfu/gram <i>beads</i> kering)	< 2	$5,32 \pm 0,1$
Rendemen (%)	3,1	3,4
Kadar air (%)	11,65	11,51
Ketahanan (%) (basis kering)	< 22,1	$58,4 \pm 0,7$
Warna	Coklat	Coklat muda
Kelarutan pada media dan suhu fermentasi	Tidak larut, membentuk jel	Tidak larut, membentuk jel

* Nilai dalam tabel adalah rata-rata \pm standar deviasi dengan $n=2$. Perhitungan mengenai nilai yang terdapat dalam Tabel 8 dapat dilihat pada Lampiran 12.

Setelah mengalami pengeringan selama 6 jam, populasi sel mengalami penurunan. Populasi *Lb. casei* terenkapsulasi kering dengan bahan pengkapsul alginat 4% (tanpa bahan pengisi) memiliki populasi $< 10^2$ cfu/gram, sedangkan pada alginat-skim (2:1) memiliki populasi $(2,1 \pm 0,4) \times 10^5$ cfu/gram. Selama pengeringan terjadi penurunan lebih dari 5,76 siklus log pada enkapsulasi menggunakan alginat 4%, sedangkan pada enkapsulasi menggunakan alginat-skim (2:1) hanya mengalami penurunan sebesar 2,36 siklus log.

Enkapsulasi probiotik untuk menghasilkan bentuk kering (*powder*) biasa dilakukan dengan *freeze dryer* dan *spray dryer*. Pengeringan probiotik menggunakan *freeze dryer* dan *spray dryer* juga menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel. Pada pengeringan *beads* kalsium alginat 2% dan alginat 2% yang ditambahkan Hi-maize 2% menggunakan *freeze dryer* terjadi penurunan sel sekitar 2 siklus log dan 3,4 siklus log (Sultana *et al.* 2000). Hasil yang sama juga didapatkan Harmayani *et al.* (2001) dimana pengeringan bakteri asam laktat menggunakan *freeze dryer* menyebabkan penurunan sebesar 0,5 – 2 siklus log dan penurunan sebesar 2,5 – 4 siklus log pada penggunaan *spray dryer*. Ketahanan probiotik pada pengeringan menggunakan *freeze dryer* dan *spray dryer* adalah berkisar 70 – 85% (Rokka dan Rantamäki 2010).

Pada pengeringan menggunakan *freeze dryer*, penurunan jumlah sel disebabkan karena pembekuan air yang menyebabkan kesetimbangan sel terganggu. Pada pengeringan probiotik menggunakan *freeze dryer* ditambahkan *cryoprotectants* yang dapat menghambat terbentuknya kristal es di dalam dan di luar sel (Capela *et al.* 2006). *Cryoprotectants* yang biasa ditambahkan pada enkapsulasi probiotik adalah Unipeptine™ RS 150, Satialgine™ GCF 639 (Capela *et al.* 2006), atau gliserol (Sultana *et al.* 2000). Sedangkan penurunan sel pada pengeringan menggunakan *spray dryer* terjadi karena penggunaan suhu inlet yang terlalu tinggi (100 – 175 °C). Pengurangan kadar air yang terlalu cepat pada *spray dryer* menyebabkan kerusakan membran sel. Ketika *spray dryer* digunakan untuk pengawetan kultur probiotik, banyak aktivitas spesifik yang dimiliki probiotik hilang setelah beberapa minggu penyimpanan pada suhu ruang (Anal dan Singh 2007). Untuk meningkatkan ketahanan probiotik selama pengeringan, dapat dilakukan dengan penambahan *thermoprotectants*. Beberapa bahan yang telah digunakan untuk meningkatkan ketahanan probiotik pada pengeringan *spray dryer* diantaranya adalah bahan berbasis polisakarida seperti pati atau gum arab (Lian *et al.*, 2003) atau berbasis protein seperti gelatin, skim, (Lian *et al.* 2003) atau whey (Picot dan Lacroix 2004).

Pada penelitian ini, pengeringan dilakukan menggunakan *hot air oven* pada suhu 40 °C. *Lactobacillus casei* memiliki suhu pertumbuhan 15 – 45 °C, sehingga pada suhu pengeringan yang digunakan masih memungkinkan bakteri yang dienkapsulasi tetap hidup. Namun, hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan adanya penurunan jumlah *Lb. casei* selama proses pengeringan berlangsung. Penurunan jumlah sel kemungkinan diakibatkan karena hilangnya air yang merupakan komponen utama sel yang sangat dibutuhkan pada proses metabolisme. Selain itu, penurunan jumlah sel juga mungkin karena sel terpapar oksigen dari udara di dalam oven. Menurut Talwakar dan Kailasapathy (2004), oksigen merupakan racun bagi bakteri asam laktat karena akan membentuk H₂O₂ atau *hydroxyl radical*. Senyawa ini mampu berdifusi melintasi membran sel dan menyebabkan kerusakan oksidatif pada membran lipid, enzim dan DNA. Untuk meningkatkan ketahanan probiotik terhadap oksigen dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya adalah dengan penambahan *oxygen scavengers* seperti asam askorbat (*L-ascorbic acid*) atau *L-cysteine hydrochloride* (Talwakar dan Kailasapathy 2004). Penelitian yang dilakukan Hodayouni *et al.* (2008b) menunjukkan penggunaan 0,05% *L-cysteine hydrochloride* menghasilkan produksi biomassa *Lb. casei* yang lebih banyak dibandingkan *L-*

ascorbic acid. Agar viabilitas bakteri tetap tinggi selama pengeringan dapat ditambahkan *L-cysteine hydrochloride* sebanyak 0,05 gram/100 gram bahan pengkapsul.

Penurunan jumlah sel pada enkapsulasi alginat 4% (tanpa bahan pengisi) (>5,76 siklus log) lebih besar dibandingkan dengan enkapsulasi alginat-skim (2:1) (2,36 siklus log). Hal ini mengindikasikan bahwa enkapsulasi dengan penambahan bahan pengisi berupa skim memiliki ketahanan yang lebih tinggi dibandingkan enkapsulasi tanpa bahan pengisi selama proses pengeringan. Bahan berbasis protein sering digunakan sebagai pelindung sel dari panas (*thermoprotectant*) selama proses enkapsulasi dengan teknik *spray dryer*, diantaranya whey (Picot dan Lacroix 2004) dan skim (Lian *et al.* 2003, Triana *et al.* 2006). Hasil penelitian Triana *et al.* (2006) menunjukkan bahwa enkapsulasi *Lb. casei* sp. Mar 8 dengan teknik *spray dryer* menggunakan skim 10% memberikan perlindungan terhadap panas yang lebih baik dibandingkan penggunaan skim 5%. Selain itu, skim kemungkinan mengisi ruang (pori-pori) yang terbentuk pada matriks kalsium alginat, sehingga mengurangi kontak langsung antara sel dengan udara (oksigen) selama pengeringan.

Selain komposisi bahan pengkapsul, karakteristik kapsul, dan kondisi proses enkapsulasi, faktor yang juga berpengaruh terhadap efektivitas enkapsulasi probiotik adalah konsentrasi sel awal sebelum dienkapsulasi (*initial cell concentration*). Peningkatan konsentrasi sel di dalam suspensi bahan pengkapsul akan meningkatkan jumlah sel di dalam *beads* sehingga akan meningkatkan efisiensi enkapsulasi (Mortazavian *et al.* 2007). Populasi awal *Lb. casei* di dalam suspensi alginat-skim (2:1) adalah $9,9 \times 10^7$ cfu/gram dan populasi *Lb. casei* di dalam *beads* kering alginat-skim (2:1) adalah $2,1 \times 10^5$ cfu/ml. Dengan meningkatkan populasi awal, maka populasi *Lb. casei* di dalam *beads* kering juga akan meningkat. Untuk meningkatkan populasi awal dapat dilakukan dengan cara meningkatkan volume inokulum (MRS broth) yang ditambahkan dan atau meningkatkan konsentrasi sel di dalam inokulum. Namun, peningkatan populasi awal dalam jumlah besar hanya dapat dicapai dengan cara meningkatkan konsentrasi sel inokulum. Untuk mendapatkan konsentrat sel, sebelum dienkapsulasi sel ditumbuhkan terlebih dahulu pada kondisi optimum, kemudian suspensi sel disentrifugasi (Rokka dan Rantamäki 2010). Sentrifugasi merupakan cara yang umum dipakai pada skala industri untuk mendapatkan konsentrat sel pada proses produksi *starter* susu fermentasi (Makinen dan Bigret 2004).

4.3 APLIKASI *Lb. casei* TERENKAPSULASI KERING SEBAGAI *STARTER* DADIH SUSU SAPI

Lactobacillus casei terenkapsulasi kering yang diaplikasikan sebagai *starter* kering dadih susu sapi adalah *Lb. casei* terenkapsulasi kering alginat-skim (2:1). Hal ini dikarenakan perlakuan tersebut memiliki populasi dan ketahanan sel yang lebih tinggi dibandingkan alginat 4%. Aplikasi *Lb. casei* terenkapsulasi kering untuk pembuatan dadih susu sapi dilakukan dengan dua cara, yaitu aplikasi secara langsung dan aplikasi dengan membuat kultur kerja terlebih dahulu menggunakan *Lb. casei* terenkapsulasi kering.

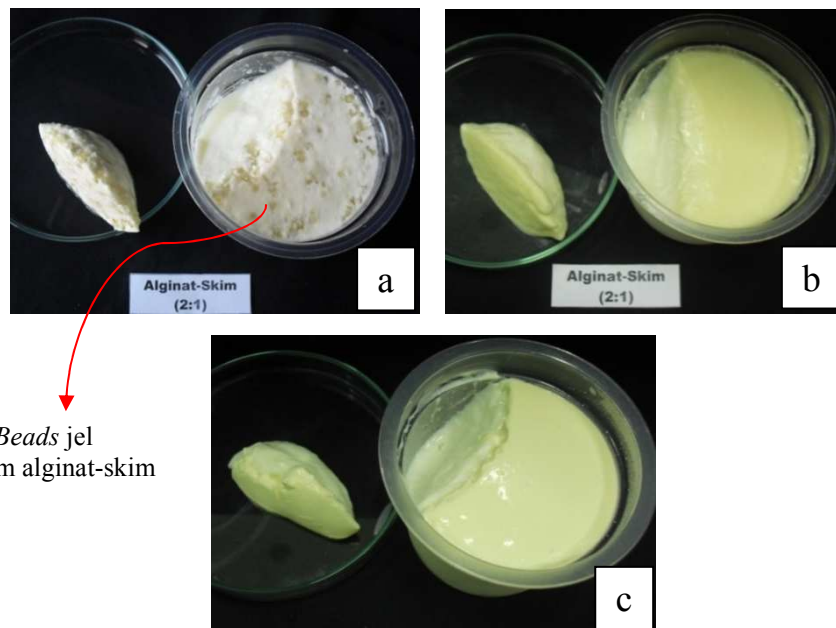
Susu sapi yang digunakan untuk pembuatan dadih adalah susu sapi yang telah ditambahkan skim bubuk sebanyak 3% lalu dievaporasi sebanyak 50% volume awal. Penampakan fisik dadih yang telah jadi dapat dilihat pada Gambar 14, sedangkan karakteristik bahan baku dan dadih yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 9.

Waktu inkubasi dadih dinyatakan selesai bila tekstur dadih telah kompak (Gambar 14). Pada pengamatan fisik dadih susu sapi yang dihasilkan, penggunaan *Lb. casei* terenkapsulasi kering secara langsung menyebabkan dadih yang dihasilkan mengandung *beads* jel kalsium alginat pada permukaannya (Gambar 14.a). Proses pertama yang terjadi pada aplikasi *beads*

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

kering secara langsung adalah difusi air ke dalam *beads*. Air yang berdifusi ke dalam *beads* menyebabkan *swelling* pada *beads* sehingga terbentuk kembali jel kalsium alginat. *Beads* memiliki massa jenis yang lebih rendah dibandingkan susu sapi yang telah dievaporasi 50%, sehingga *beads* mengapung pada permukaan dadih. Oleh karena itu, pada Gambar 14.a terlihat *beads* mengumpul pada permukaan dadih yang dihasilkan dengan penggunaan *starter* kering alginat-skim (2:1) secara langsung. Penggunaan *starter* kering melalui pembuatan kultur kerja (*starter* cair) terlebih dahulu, menghasilkan dadih dengan penampakan fisik yang lebih baik (Gambar 14.b) dibandingkan dengan penggunaan *starter* kering secara langsung. Dadih susu sapi yang dihasilkan dengan penggunaan kultur kerja dari *starter* kering memiliki penampakan fisik menyerupai dadih susu sapi yang dibuat menggunakan kultur kerja dari sel bebas (Gambar 14.c).



Gambar 14. Penampakan dadih, a. Dadih dengan aplikasi starter kering secara langsung, b. Dadih dengan aplikasi kultur kerja dari starter kering, c. Dadih dengan aplikasi kultur kerja dari sel bebas

Tabel 9. Karakteristik dadih susu sapi

Parameter	Awal (susu sapi + 3% skim dievaporasi 50%)	Aplikasi kultur kering		Dadih dengan kultur kerja dari sel bebas
		secara langsung	Melalui kultur kerja	
Populasi <i>Lb. casei</i> dalam kultur kerja (cfu/ml)	-----	-----	$7,7 \times 10^6$	$7,4 \times 10^6$
Waktu inkubasi (jam)	-----	48	48	24
Viskositas (cP)	28	2147 ± 136^b	2563 ± 213^a	2301 ± 193^{ab}
pH	6,63	$5,75 \pm 0,06^a$	$5,55 \pm 0,09^b$	$5,69 \pm 0,10^{ab}$
Total asam tertitrasi (%)	0,36	$0,67 \pm 0,04^a$	$0,64 \pm 0,02^{ab}$	$0,60 \pm 0,01^b$
Populasi <i>Lb. casei</i> dalam dadih (log cfu/gram)	-----	$8,16 \pm 0,07^c$	$8,43 \pm 0,10^b$	$9,09 \pm 0,08^a$

* Nilai dalam tabel adalah rata-rata \pm standar deviasi dengan $n=3$. Rata-rata dengan huruf (a-c) yang sama pada baris yang sama adalah tidak berbeda nyata ($p>0,05$) berdasarkan uji lanjut Duncan.

Berdasarkan Tabel 9, terjadi peningkatan viskositas, total asam tertitrasi, dan populasi *Lb. casei* serta penurunan nilai pH pada dadih dengan aplikasi *starter* kering (langsung maupun

melalui pembuatan kultur kerja terlebih dahulu) dan aplikasi dadih dengan kultur kerja dari sel bebas dibandingkan dengan bahan awal (susu sapi yang telah dievaporasi 50%). Hal ini mengindikasikan *Lb. casei* di dalam matriks alginat-skim setelah pengeringan masih aktif untuk melakukan aktivitas metabolisme seperti sel bebas.

Waktu fermentasi (inkubasi) yang dibutuhkan untuk pembuatan dadih menggunakan *starter* kering (langsung maupun dengan kultur kerja) lebih lama dibandingkan dengan penggunaan sel bebas. Penggunaan *starter* kering secara langsung dan melalui kultur kerja membutuhkan waktu 48 jam untuk mencapai tekstur dadih yang kompak, sedangkan yang dibuat dengan menggunakan kultur sel bebas hanya membutuhkan waktu 24 jam. Pada dadih yang dibuat dalam bambu tanpa penambahan *starter* (fermentasi spontan), waktu yang dibutuhkan untuk inkubasi adalah 48 jam (Sirait 1993). Pada penelitian yang dilakukan Taufik (2004), penggunaan *starter* dalam pembuatan dadih hanya membutuhkan waktu fermentasi 24 jam. Waktu fermentasi yang lebih lama pada penggunaan *starter* kering disebabkan karena lambatnya difusi *nutrient*, metabolit dan sel keluar dari dalam *beads*. Selain itu, proses enkapsulasi kemungkinan menyebabkan sel menjadi inaktif sehingga diperlukan waktu yang cukup lama bagi sel *Lb. casei* untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan (media fermentasi).

Viskositas dadih susu sapi yang dibuat dengan aplikasi *starter* kering melalui kultur kerja lebih tinggi (2563 cP) dibandingkan dadih yang dibuat dengan menginokulasikan *starter* kering secara langsung (2147 cP). Namun, berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 14) keduanya tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan dadih yang dibuat melalui kultur kerja dari sel bebas (2301 cP). Peningkatan viskositas pada susu fermentasi disebabkan karena terjadinya koagulasi protein (Tamime dan Robinson 1989) dan atau terbentuknya eksopolisakarida yang dihasilkan kultur *starter* selama proses fermentasi (Tamime *et al.* 2006).

Pengukuran nilai pH dadih menunjukkan bahwa aplikasi *starter* kering melalui kultur kerja memiliki nilai pH yang paling rendah (5,55) dan berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 14) tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan pH dadih dari kultur kerja sel bebas (5,69). Nilai pH dadih susu sapi menggunakan *starter* kering melalui kultur kerja berbeda nyata ($p<0,05$) dengan aplikasi *starter* kering secara langsung.

Dadiah susu sapi dengan aplikasi *starter* kering secara langsung memiliki total asam tertitrasi tertinggi (0,67%). Namun, berdasarkan uji lanjut Duncan (Lampiran 14), total asam tertitrasi dadiah aplikasi *starter* kering secara langsung tidak berbeda nyata ($p>0,05$) dengan dadiah yang dibuat dari *starter* kering melalui kultur kerja (0,64%). Berdasarkan SNI 2981:2009, syarat total asam tertitrasi pada susu fermentasi (*yoghurt*) berkisar 0,5 – 2,0%. Dadiah susu sapi yang dihasilkan dengan penggunaan *starter* kering (langsung maupun melalui kultur kerja) telah memiliki nilai total asam tertitrasi yang memenuhi syarat kualitas susu fermentasi.

Pengukuran total *Lb. casei* pada dadiah susu sapi menunjukkan bahwa aplikasi *starter* kering melalui kultur kerja memiliki populasi *Lb. casei* lebih tinggi (8,43 log cfu/gram) dibandingkan aplikasi *starter* kering secara langsung (8,16 log cfu/gram), namun lebih rendah dari dadiah dengan aplikasi kultur kerja dari sel bebas (9,09 log cfu/gram). Penggunaan *starter* kering menghasilkan populasi sel hidup lebih dari 6,00 log cfu/gram produk yang merupakan syarat minimal populasi bakteri probiotik di dalam produk probiotik (Shah 2007), sehingga dadiah yang dihasilkan dengan penggunaan *starter* kering dapat dikatakan sebagai produk probiotik.

Dadiah yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki karakteristik fisikokimia yang relatif sama dengan dadiah yang dihasilkan pada penelitian Lestari (2010) yang mengkombinasikan *starter* cair *Lb. casei* sebanyak 3% dengan rennin, papain, dan ekstrak enzim kasar dari kapang *Mucor* sp. yang menghasilkan dadiah susu sapi dengan viskositas 2278 –

3222 cP, pH 5,19 – 5,71, dan total asam tertitrasi 0,56 – 1,01% dengan lama fermentasi 19 jam. Namun, dadih susu sapi yang dihasilkan pada penelitian ini masih memiliki nilai pH yang tinggi dan total asam tertitrasi yang cukup rendah serta lama fermentasi yang lebih lama (48 jam). Hal ini dikarenakan populasi *Lb. casei* di dalam *stater* kering yang dihasilkan masih rendah, yaitu $2,1 \times 10^5$ cfu/gram. Menurut Tamime *et al.* (2006), populasi sel yang dibutuhkan untuk *starter* susu fermentasi berkisar 1×10^9 cfu/ml. Taufik (2004) dalam penelitiannya menggunakan kultur cair (*bulk starter*) tunggal dan campuran dengan populasi $5,9 - 6,9 \times 10^8$ cfu/ml menghasilkan dadih dengan nilai pH 3,69 – 4,13 dan total asam tertitrasi 2,21 – 3,45 dengan waktu inkubasi selama 24 jam.

Berdasarkan parameter yang diamati, dadih yang dihasilkan dari aplikasi *starter* kering melalui kultur kerja memiliki kualitas yang lebih baik dibandingkan aplikasi *starter* kering yang diinokulasikan secara langsung, karena memiliki viskositas yang lebih tinggi serta penampakan fisik dadih yang lebih baik. Oleh karena itu, penggunaan *Lb. casei* terenkapsulasi kering sebagai *starter* dadih susu sapi sebaiknya terlebih dahulu dibuat kultur kerja menggunakan *Lb. casei* terenkapsulasi kering.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.