

Enkapsulasi bakteri asam laktat dari tempoyak asal Jambi: Pengaruh konsentrasi alginat

[*Encapsulation of lactic acid bacteria isolated from fermented durian (tempoyak) in Jambi: Influence of alginate concentration*]

Addion Nizori¹, Nanda Prayogi¹, Ika Gusriani^{1*}, Lavlinesia¹ dan Arzita¹

¹ Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jambi, Kampus Pondok Meja KM 11, Mestong. Jambi. 36122

* Email korespondensi : addion_nizori@unja.ac.id

Diterima : 30 April 2020, Disetujui : 7 Maret 2021, DOI: 10.23960/jtihp.v26i1.56-64

ABSTRACT

This study aimed to investigate the characteristics and the viability of encapsulated lactic acid bacteria (LAB) from fermented durian from Jambi using alginate concentration as wall material. The encapsulation method used the emulsification technique where LAB in alginate capsules was formed by the formation of water in oil emulsion. This study used a completely randomized design with various alginate concentrations as the treatments with concentrations: 1%, 3%, 5%, 7%, and 9%, respectively. The result showed that alginate concentration on LAB microcapsules was very significant in yield, pH, and heat resistance. All treatment concentrations provided high LAB viability, so alginate is effective for wall material LAB encapsulation with emulsification techniques. The best LAB microcapsule was 7% of alginate concentration with value of yield 5,60 %, viability of LAB log 12,43 CFU/g, pH 5,22, heat resistant on 50°C (log 12,46 CFU/g), 60°C (log 12,45 CFU/g), 70°C (log 12,35 CFU/g).

Keywords: Emulsification, alginate, encapsulation, lactic acid bacteria, tempoyak

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakteristik dan viabilitas enkapsulasi bakteri asam laktat (BAL) dari fermentasi durian (tempoyak) asal Jambi dengan penambahan berbagai konsentrasi alginat. Teknik enkapsulasi yang digunakan adalah teknik emulsifikasi (kapsul alginat dibuat dengan umulsifikasi air dalam emulsi minyak). Penelitian menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi alginat yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu: 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan konsentrasi alginat pada enkapsul BAL memberikan pengaruh nyata terhadap rendemen, pH, ketahanan terhadap panas, bentuk dan ukuran kapsul BAL tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL. Semua perlakuan memberikan viabilitas BAL yang tinggi, sehingga alginat sangat efektif digunakan sebagai bahan penyalut BAL dengan teknik emulsifikasi. Secara keseluruhan, konsentrasi alginat 7% merupakan perlakuan terbaik pada enkapsul BAL yang menghasilkan rendemen (5.60), viabilitas (12.43), pH (5.22), ketahanan terhadap panas suhu 50°C (12.46 log CFU/g), suhu 60°C (12.45 log CFU/g) dan suhu 70°C (12.35 log CFU/g).

Kata kunci: Sodium alginat, bakteri asam laktat, enkapsulasi, tempoyak.

Pendahuluan

Tempoyak merupakan makanan tradisional fermentasi populer yang banyak dijumpai di Negara ASEAN dan diminati karena cita rasa gurih dan aromanya yang khas. Pembuatan tempoyak secara tradisional adalah dengan menambahkan garam secukupnya (1-1,5%) dari berat daging buah durian yang telah siapkan dalam wadah tertutup sebelumnya, dilanjutkan dengan proses pemeraman (fermentasi) selama 3-4 hari (Wasnin et al., 2014). Selama pemeraman tempoyak akan tumbuh bakteri asam laktat (BAL) alami yang ada pada daging durian tersebut. Bakteri asam laktat adalah mikroflora yang dominan ada pada makanan fermentasi tradisional dan perannya telah dikenal sejak lama untuk meningkatkan imunitas kesehatan, menurunkan kolesterol, anti kanker, mencegah diare dan meningkatkan fungsi otak (Marco et al., 2017; Ruiz Rodríguez et al., 2021; Zhu & Liu, 2017).

Pada penelitian (Nizori et al., 2019; 2018) telah berhasil dilakukan identifikasi dan isolasi BAL yang ada pada tempoyak asal Jambi, kemudian didapat isolat murni BAL yang potensial sebagai probiotik. Namun masalah utamanya adalah bakteri probiotik ini sangat sensitif dan mudah mati selama proses pengolahan dan penyimpanan. Teknologi enkapsulasi dapat digunakan untuk memperpanjang umur bakteri probiotik. Pada prinsipnya mikroenkapsulasi diartikan sebagai suatu proses dimana komponen yang sangat sensitif dilapisi oleh membran atau matriks semi permeabel (Wandrey et al., 2010). Proses enkapsulasi bertujuan untuk melindungi bakteri dari kondisi lingkungan (oksigen, air, asam dan interaksi dengan bahan-bahan lain) selama proses pengolahan. Untuk meningkatkan ketahanan bahan aktif inti (*core materials*), pemilihan bahan penyalut sangat penting untuk diperhatikan (De Cássia Sousa Mendes et al., 2021; Haffner & Pasc, 2018; Nizori et al., 2020; Samborska et al., 2021; Wandrey et al., 2010).

Enkapsulasi BAL dapat dilakukan dengan teknik ekstrusi, koaservasi, freeze drying, spray drying dan emulsifikasi (Lee et al., 2019). Pada teknik emulsifikasi, enkapsulasi dilakukan dengan adanya fase terdispersi dalam fase selanjutnya. Teknik emulsifikasi efektif untuk meningkatkan viabilitas bakteri probiotik (Holkem et al., 2017). Emulsifikasi dapat dilakukan dengan memakai senyawa hidrokoloid diantaranya adalah pektin, alginat, karagenan serta senyawa hidrokoloid lainnya sebagai enkapsulan. Alginat sebagai bahan penyalut popular, banyak dilakukan peneliti untuk meningkatkan viabilitas probiotik (Oguntaye et al., 2021; Rajagukguk & Arnold, 2021; Saputro et al., 2020; Wandrey et al., 2010). Lebih lanjut Wandrey et al. (2010) menyatakan alginat dibuat dari alga laut yang telah dikeringkan dalam bentuk bubuk kering dan untuk skala komersial menggunakan teknik fermentasi dengan bakteri tertentu. Sifat alginat yang disukai adalah kemampuan larut dalam air yang cepat dan membentuk gel dan film. Penggunaan bahan penyalut dan kosentrasi yang digunakan akan mempengaruhi dari bahan aktif (*core materials*) yang akan disalut (Nizori et al., 2018).

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh penambahan konsentrasi alginat terhadap karakteristik enkapsulasi bakteri asam laktat asal tempoyak Jambi yang dihasilkan dengan menggunakan teknik emulsifikasi dan untuk mengetahui viabilitas BAL yang dihasilkan.

Bahan dan metode

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah kultur isolat BAL dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jambi, hasil isolasi dari tempoyak Jambi dari penelitian sebelumnya (Nizori et al., 2019). Bahan lain yang digunakan adalah aquades, alkohol, kristal violet, lugol, safranin dan medium agar (MRS-Agar dari Merck), MRS-Borth (Merck), alginat (dalam bentuk sodium algina, Sigma-aldrich Pty.Ltd., Singapore), CaCl₂ (Merck, Germany), minyak kedelai (Mazola, Canada) dan tween 80 (Merck).

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain inkubator, jarum ose, vortex, mikroskop optical (Suntech), autoclave, hot plate, magnetic stirrer, dan oven, spektrofotometer UV/Vis Labomed. Inc (UV-2500) dan pH meter digital (Martini Instruments Inc.) Untuk pengamatan mikrokapsul menggunakan Scanning electron microscop (SEM, model JEOL JSM 6510 LA).

Metode penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) non faktorial dengan perlakuan konsentrasi sodium alginat yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu: 1%, 3%, 5% 7% dan 9%. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (ANOVA) pada taraf 5%. Apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji *duncan's new multiple range test* (DNMRT) pada taraf 5%.

Pelaksanaan penelitian

(1) Preparasi suspensi bakteri asam laktat

BAL probiotik pada penelitian ini berasal dari tempoyak yang dibuat di Jambi dan telah diidentifikasi pada penelitian sebelumnya. Preparasi BAL dilakukan dengan persiapan kultur murni dengan cara sebanyak satu ose BAL ditumbuhkan pada media MRSA (Oxoid Ltd., England) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diambil kembali sebanyak 1 ose untuk ditumbuhkan kembali dalam 10 ml MRSB (Oxoid Ltd., England) simpan selama 24 - 48 jam yang akan digunakan untuk produksi biomassa. Selanjutnya stock atau biomassa yang telah diperolah dapat dibiakan kembali dengan mengambil 1 ml biomassa (stock) ditambahkan dalam 99 ml MRS Broth dan disimpan selama 24 - 48 jam pada suhu 37°C (Oxoid, 1998).

(2) Persiapan sel dan pembuatan mikrokapsul BAL

Sebanyak 4 ml suspensi biomassa sel BAL ditambahkan ke dalam 20 ml larutan sodium alginat (1,3,5,7 dan 9%) lalu dihomogenkan dengan *magnetic stirer*. Minyak kedelai 100 ml yang mengandung 0.2% tween 80 (emulsifier), dimasukkan ke dalam gelas piala dan campuran agitat-sel BAL dengan cara diteteskan sambil diputar dengan pengaduk magnet. Sekitar 5 menit, ketika telah nampak emulsi yang terbentuk ditambahkan CaCl₂ 0.1 M (100 ml) secara cepat untuk mengeraskan kapsul dan memecah emulsi. Kapsul-kapsul yang telah terbentuk kemudian dipisahkan dari minyak menggunakan alat sentrifugasi pada kecepatan 2800 rpm selama 5-10 menit dan dicuci dua kali dengan akuades. Manik-manik disaring, ditransfer ke cawan petri steril dan disimpan dalam refrigerator (Mandal et al., 2006).

Parameter penelitian

Morfologi dan ukuran bubuk tempoyak

Bubuk tempoyak diambil image menggunakan *scanning electron microscope* (SEM), bubuk tempoyak sebagai sampel tersebut sebelumnya telah didispersi menggunakan alkohol dan pengamatan sampel dengan menggunakan perbesaran 250x dan 400x. Pengukuran granula bubuk tempoyak menggunakan aplikasi image J versi 1.5.2 dengan mengukur sisi panjang pada granula bubuk tempoyak.

Rendemen mikrokapsul

Setelah diperoleh enkapsul BAL, dilakukan pengujian persentase rendemen hasil enkapsul yang diperoleh, dengan menimbang berat bahan sebelum dan setelah terenkapsulasi (Usfah et al., 2015). Perhitungan rendemen enkapsulasi (%): (berat akhir/berat awal) x 100%

Jumlah sel bakteri probiotik dalam enkapsul (Viabilitas)

Penghitungan sel hidup bakteri probiotik (viabilitas) dilakukan dengan didisintegrasikan sel probiotik dari kapsulnya yakni dengan menambahkan sebanyak 1 gram mikrokapsul ke dalam 9 ml (b/v) larutan sodium sitrat 2 % steril (pH 7,0) kemudian dihomogenisasi selama 5 menit. Setelah didisintegrasikan, kemudian dilakukan penghitungan dengan membuat serial larutan dari sodium klorida (0,85% b/v), dilakukan penuangan agar (MRSA) ke cawan petri dan dilakukan proses inkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam (Gebara et al., 2013).

pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter digital. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7 (Sudarmadji et al., 1997). Setelah itu baru dilakukan pengukuran sampel dengan melarutkan mikrokapsul dengan 100 mL aquadest.

Uji ketahanan terhadap panas

Sebanyak 1 gram enkapsul atau 1 ml suspense sel bakteri asam laktat dimasukan dalam 9 ml akuades dan dipanaskan dalam suhu 50, 60 dan 70°C selama 20 menit. Selanjutnya campuran didinginkan pada suhu ruang dan sel hidup dihitung setelah ditumbuhkan pada MRSA selama 48 jam pada suhu 37°C, jika sel bakteri yang tumbuh terlalu banyak maka dilakukan pengenceran pada 10², 10³ dan 10⁴ (Mandal et al., 2006).

Hasil dan pembahasan

Rendemen (Yield)

Rendemen enkapsulasi dihitung berdasarkan jumlah enkapsulasi akhir setelah proses enkapsulasi dibagi dengan jumlah seluruh bahan yang ditambahkan pada campuran biopolimer selama proses enkapsulasi. Nilai rata-rata rendemen bakteri asam laktat dari tempoyak yang dienkapsulasi dengan sodium alginat dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Nilai Rendemen, viabilitas dan pH mikrokapsul BAL pada berbagai konsentrasi sodium alginate

Konsentrasi Sodium alginate (%)	Rendemen (%)	Viabilitas ($\log 10 \text{ cfug}^{-1}$)	pH
1	$0,52 \pm 0,06^{\text{a}}$	$12,25 \pm 0,53^{\text{a}}$	$5,70 \pm 0,16^{\text{a}}$
3	$3,01 \pm 0,20^{\text{b}}$	$12,30 \pm 0,15^{\text{a}}$	$5,53 \pm 0,14^{\text{ab}}$
5	$4,80 \pm 0,65^{\text{c}}$	$12,32 \pm 0,7^{\text{a}}$	$5,49 \pm 0,28^{\text{abc}}$
7	$5,60 \pm 0,16^{\text{c}}$	$12,43 \pm 0,3^{\text{a}}$	$5,22 \pm 0,14^{\text{bc}}$
9	$7,58 \pm 1,67^{\text{d}}$	$12,34 \pm 0,44^{\text{a}}$	$5,15 \pm 0,18^{\text{c}}$

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DNMRT

Hasil uji DNMRT terhadap rendemen enkapsul BAL menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sodium alginat 1% sangat berbeda nyata dengan perlakuan 3%, 5%, 7% dan 9%. Rendemen enkapsul tertinggi dihasilkan pada perlakuan 9% dengan rendemen sebesar 7.58%, dan rendemen enkapsul terendah dihasilkan dari konsentrasi sodium alginat 1% yaitu sebesar 0.52%. Semakin tinggi konsentrasi sodium alginat yang digunakan enkapsul yang terbentuk semakin banyak begitu juga sebaliknya. Hal ini sejalan dengan penelitian Muchsri et al. (2015) yang menggunakan bahan penyalut sodium alginat pada konsentrasi 1-3%, enkapsul tertinggi pada konsentrasi sodium alginat 3% dengan jumlah 3,75 g enkapsul dan enkapsul terendah pada konsentrasi sodium alginat 1% dengan jumlah 3,61 g enkapsul.

Viabilitas

Tabel 1 menunjukkan bahwa vabilitas tertinggi dihasilkan pada perlakuan sodium alginat 7% yaitu 12.43 log cfu/g yang mengalami penurunan sebesar 13.20% dari awal sebelum enkapsulasi. Larutan sodium alginat 7% memberikan tingkat gel yang optimum untuk penetrasi dan reaksi permukaan gel sodium alginat dengan larutan kalsium klorida pada proses pembentukan enkapsul kalsium alginat dibanding dengan perlakuan 9% yang lebih solid sehingga lebih sulit larut saat pengenceran atau dibandingkan perlakuan 1% yang lebih cair. Pada penelitian Muchsri et al. (2015) konsentrasi larutan sodium alginat 3% memberikan massa enkapsul probiotik BAL yang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 2% dan 1%. Viabilitas tertinggi diperoleh dari *L. bulgaricus* dalam enkapsulasi dengan konsentrasi sodium alginat 3%, yang menghasilkan enkapsul kalsium alginat dengan dinding lebih kokoh dan lebih rigid dibanding lainnya sehingga mampu memberikan perlindungan lebih optimal.

Penelitian sebelumnya, Chen et al. (2014) mendapatkan viabilitas *Lactobacillus bulgaricus* yang dienkapsulasi dengan alginat diatas kisaran 10⁸ CFU/gram bahkan sampai dengan lama penyimpanan 4

minggu. Salsac et al. (2009) mengemukakan bahwa konsentrasi mempengaruhi densitas kapsul yang dihasilkan dalam enkapsulasi berbahan alginat. Enkapsulasi pada *L. acidophilus* dan *L. rhamnosus* menggunakan metode emulsi dapat menghasilkan kapsul dengan populasi sekitar 10^8 - 10^9 cfu/g jus apel serta dapat memperbaiki viabilitas probiotik hingga 6 minggu (Ding & Shah, 2008).

pH

Hasil uji DNMRT terhadap pH enkapsul BAL pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sodium alginat 1% berbeda nyata dengan perlakuan 3% dan 5%, tetapi sangat berbeda nyata dengan perlakuan 7% dan 9%. Pada perlakuan konsentrasi sodium alginat 7% berbeda nyata dengan perlakuan 9%. Nilai pH enkapsul menurun sejalan dengan meningkatnya konsentrasi sodium alginat dengan nilai 5,70-5,15. Nilai pH terendah dihasilkan pada perlakuan sodium alginat 9% yaitu 5,15. BAL merupakan kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora dan tumbuh pada suhu optimum 10 - 45°C dengan pH berkisar 5,5 – 5,8 (Khalid, 2011), bersifat anaerob dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Jadi semakin tinggi konsentrasi sodium alginat maka pH dari enkapsulan semakin rendah.

Ketahanan terhadap panas

Nilai rata-rata ketahanan terhadap panas pada suhu 50, 60 dan 70°C bakteri asam laktat dari tempoyak yang dienkapsulasi dengan sodium alginat dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Viabilitas BAL (\log cfu/g) terhadap Ketahanan Terhadap Panas Pada Berbagai Suhu

Konsentrasi Sodium Alginat (%)	Suhu 50°C (\log cfu/g)	Suhu 60°C (\log cfu/g)	Suhu 70°C (\log cfu/g)
1	12,16±0,21 ^a	11,93±0,11 ^a	11,74±0,07 ^a
3	12,26±0,10 ^a	12,16 ±,12 ^a	12,08±0,10 ^a
5	12,37±0,06 ^a	12,26 ±0,10 ^a	12,28±0,26 ^a
7	12,46±0,10 ^a	12,45±0,10 ^a	12,35±0,25 ^a
9	12,43±0,06 ^a	12,33±0,21 ^a	12,14±0,12 ^a

Keterangan: angka-angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji DNMRT.

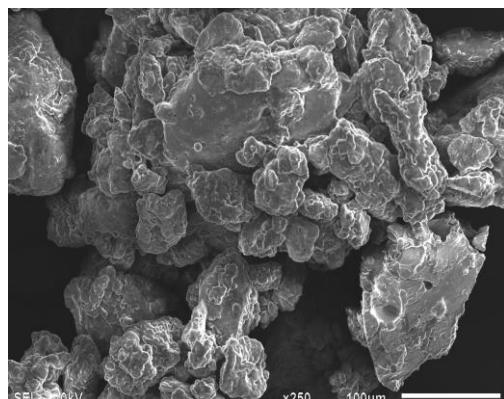
Tabel 2 menunjukkan bahwa jumlah mikrokapsul BAL mengalami penurunan sejalan dengan meningkatnya suhu pemanasan. Penurunan jumlah sel probiotik yang hidup pada perlakuan ini dapat dipengaruhi oleh suhu pemanasan dan strain probiotik. Menurut Kim et al. (2008), yang melakukan penelitian probiotik, bahwa strain probiotik *L. acidophilus* ATCC 43121 yang dienkapsulasi dengan sodium alginat dengan ekstrusi dapat meningkatkan ketahanan panas bakteri yang dienkapsulasi. Dari perhitungan yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa pada suhu 50,60 dan 70°C semakin tinggi konsentrasi sodium alginat maka jumlah bakteri yang hidup semakin tinggi masing-masing sebesar 12,16-1,46 (\log cfu/g) pada suhu 50°C, 11,93-12,45 (\log cfu/g) pada suhu 60°C dan 11,74 -11,35 (\log cfu/g) pada suhu 70°C . Hal ini dikarenakan bahwa ketika semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin kuat enkapsul yang dihasilkan dan kemampuan melindungi bakteri semakin tinggi, hal ini sejalan juga dengan penelitian (De Cássia Sousa Mendes et al., 2021) yang menggunakan enkapsulat alginat dan kalsium klorida dalam mikroenkapsulasi ekstrak buah jabotikaba (*Myrciaria cauli ora*), tanaman khas dari Brazil.

Bentuk marfologi dan ukuran mikrokapsul BAL

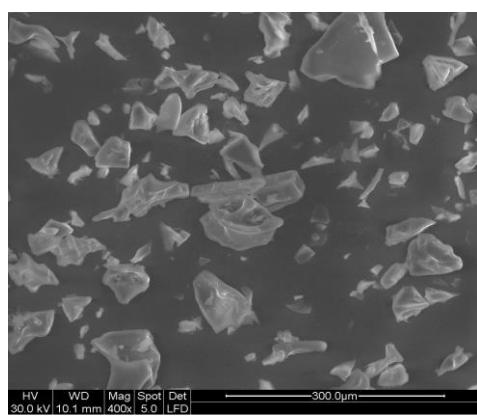
Bentuk mikrokapsul BAL yang di enkapsulasi dengan penyalut alginat menggunakan teknik emulsifikasi dapat dilihat di Gambar 1 dan 2 yang merupakan perlakuan terbaik dari penelitian ini, sedangkan bentuk dari zat penyalut (wall materials) sodium alginat terlihat di Gambar 3.



Gambar 1. Mikrokapsul BAL dengan alginat dengan mikroskop Optik.



Gambar 2. Mikrokapsul BAL dengan scanning electron microscope, perbesaran 250x.



Gambar 3. Sodium alginat murni dengan scanning electron microscope, perbesaran 400x.

Penelitian ini menghasilkan kapsul dengan ukuran 0,18 mm – 1,11 mm dan bentuk yang beragam yang tidak simetris (*non sphericals*), heterogen dan keriput (*wrinkled*), sesuai dengan penelitian (De Cássia Sousa Mendes et al., 2021) kapsul yang dihasilkan menggunakan alginat dan kalsium klorida yang memiliki diameter kecil dan ukuran serta bentuk enkapsul yang dihasilkan beragam, heterogen dan keriput. Variasi dari ukuran yang dihasilkan dipengaruhi oleh kecepatan agitasi dan perbandingan air dan minyak yang digunakan (Hansen et al., 2002).

Beberapa hasil penelitian mikroenkapsulasi sebelumnya menunjukkan variasi ukuran diameter mikrokapsul yang dihasilkan. Hansen et al. (2002) melaporkan bahwa enkapsul yang dihasilkan dengan metode emulsi menggunakan campuran probiotik dan sodium alginat serta minyak sayur lalu ditambah CaCl₂ sebagai pengeras kapsul, memiliki ukuran diameter berkisar 20-70 µm. Penelitian serupa melaporkan bahwa metode emulsi dapat menghasilkan enkapsul dalam jumlah yang cukup banyak dengan ukuran diameter enkapsul 25 µm-2mm (Krasaekoott et al., 2003), Pada penelitian mikroenkapsulasi BAL tempoyak Jambi ini ukuran diameter enkapsul berkisar antara 0,18 mm – 1,11 mm.

Kesimpulan

Konsentrasi sodium alginat pada mikrokapsul BAL memberikan pengaruh sangat nyata terhadap rendemen, pH, ketahanan terhadap panas, bentuk dan ukuran tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas BAL. Konsentrasi sodium alginat pada mikrokapsul BAL yang terbaik adalah konsentrasi 7% yang menghasilkan rendemen (5,60), viabilitas (12,43 log cfu/), pH (5,22), ketahanan terhadap panas suhu 50°C (12,46 log cfu/g) , suhu 60°C (1,45 log cfu/g) dan suhu70 °C (12,35 log cfu/g). Semua konsentrasi alginat dengan teknik emulsifikasi memberikan viabilitas yang tinggi pada BAL, sehingga sangat efektif digunakan sebagai bahan penyalut BAL.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih kepada LP2M Universitas Jambi atas bantuan dana Penelitian Hibah dosen Senior tahun 2017 dan 2018.

Daftar pustaka

- Chen, M.Y., W. Zheng., Q.Y. Dong, Z.H., Li, L.E., Shi, and Z.X. Tang. (2014). Activity of Encapsulated *Lactobacillus bulgaricus* in Alginatwhey Protein Microspheres. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 57(5): 736-741.
- De Cássia Sousa Mendes, D., Asquieri, E. R., Batista, R. D., de Morais, C. C., Ramirez Ascheri, D. P., de Macêdo, I. Y. L., & de Souza Gil, E. (2021). Microencapsulation of jabuticaba extracts (*Myrciaria cauliflora*): Evaluation of their bioactive and thermal properties in cassava starch biscuits. *LWT*, 137, 110460. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110460>
- Ding, W. K., & Shah, N. P. (2008). Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. *International Food Research Journal*, 15(2), 219–232.
- Gebara, C., Chaves, K. S., Ribeiro, M. C. E., Souza, F. N., Grosso, C. R. F., & Gigante, M. L. (2013). Viability of *Lactobacillus acidophilus* La5 in pectin-whey protein microparticles during exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 51(2), 872–878. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.008>
- Haffner, F. B., & Pasc, A. (2018). Freeze-dried alginate-silica microparticles as carriers of probiotic bacteria in apple juice and beer. *LWT*, 91, 175–179. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.050>
- Hansen, L. T., Allan-Wojtas, P. M., Jin, Y.-L., & Paulson, A. T. (2002). Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19(1), 35–45. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fmic.2001.0452>
- Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Barin, J. S., Moraes Flores, É. M., Muller, E. I., Codevilla, C. F., Jacob-Lopes, E., Ferreira Grosso, C. R., & de Menezes, C. R. (2017). Production of microcapsules containing *Bifidobacterium BB-12* by emulsification/internal gelation. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 216–221. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.013>
- Khalid, K., 2011. An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*. 1 (3); 1-13.
- Kim, S. J., S. Y. Cho., S. H. Kim., O. J. Song., I.S. Shin., D.S. Cha and H. J. Park. (2008). Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121.

LWT-Food Sci and Technol. 41: 493-500.

- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13(1), 3–13. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00155-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00155-3)
- Lee, Y., Y.R. Ji., S. Lee., M.J. Choi and Y. Cho. (2019). Microencapsulation of probiotic Lactobacillus acidophilus kbl409 by extrusion technology to enhance survival under simulated intestinal and freeze-drying conditions. *Journal of Microbiol. Biotechnology* 29, 721–730.
- Mandal, S., Puniya, A. K., & Singh, K. (2006). Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated Lactobacillus casei NCDC-298. *International Dairy Journal*, 16(10), 1190–1195. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.10.005>
- Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A., Smid, E. J., & Hutkins, R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 94–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010>
- Muchsiri, M., Basuni, H., Agus, W dan Pambayun, R. (2015). Pengaruh kosentrasi natrium alginate dan jenis BAL terhadap viabilitas sel enkapsulasi probiotik BAL. *Jurnal Agrin* Vol 19 (2).<http://dx.doi.org/10.20884/1.agrin.2015.19.2.243>
- Nizori, A., Sukendra, A., & Mursyid, S. (2019). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from fermented durian flesh (tempoyak) against pathogenic and spoilage bacteria during storage. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 347(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/347/1/012053>
- Nizori, A., Bui, L. T. T., Jie, F., & Small, D. M. (2018). Impact of varying hydrocolloid proportions on encapsulation of ascorbic acid by spray drying. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(6). <https://doi.org/10.1111/ijfs.13699>
- Nizori, A., Bui, L. T. T., Jie, F., & Small, D. M. (2020). Spray-drying microencapsulation of ascorbic acid: impact of varying loading content on physicochemical properties of microencapsulated powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(11), 4165–4171.
- Nizori, A. (2018). The Properties of Jambi tempoyak; The effects of salts concentration. *Indonesian Food Science & Technology Journal*, 1(1), 27–30. <https://doi.org/10.22437/ifstj.v1i1.5007>
- Oguntoye, M. A., Ezekiel, O. O., & Oridupa, O. A. (2021). Viability of Lactobacillus rhamnosus GG in provitamin A cassava hydrolysate during fermentation, storage, in vitro and in vivo gastrointestinal conditions. *Food Bioscience*, 40, 100845. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100845>
- Oxoid (1998). *The Oxoid Manual*. 8th ed. Complied by E.Y Bridson (Former Technical director of Oxoid).
- Rajagukguk, Y. V., & Arnold, M. (2021). Tempoyak: Fermented durian paste of Malay ethnic and its functional properties. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 23, 100297. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100297>
- Ruiz Rodríguez, L. G., Zamora Gasga, V. M., Pescuma, M., Van Nieuwenhove, C., Mozzi, F., & Sánchez Burgos, J. A. (2021). Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. *Food Research International*, 140, 109854. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109854>
- Samborska, K., Boostani, S., Geranpour, M., Hosseini, H., Dima, C., Khoshnoudi-Nia, S., Rostamabadi, H., Falsafi, S. R., Shaddel, R., Akbari-Alavijeh, S., & Jafari, S. M. (2021). Green biopolymers from by-products as wall materials for spray drying microencapsulation of phytochemicals. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 297–325.
- Saputro, A. D., Van de Walle, D., & Dewettinck, K. (2020). Physicochemical properties of coarse palm sap sugars as natural alternative sweetener. *Food Bioscience*, 38, 100780.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100780>

Sudarmadji, S., H. Bambang dan Suhardi. (1997). *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Angkasa. Bandung.

Salsac, A. V. L., Zhang, and J. M. Gherbezz. (2009). Measurement of mechanical properties of alginate gels using ultrasound. 19. Eme congrès franc, ais de M'ecanique Marseille. 9(2): 24-28.

Usfah A. P. J. (2015). Enkapsulasi *Lactobacillus* dengan Metode Emulsi dan Aplikasinya Pada Dodol Sirsak. (Thesis). Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/76716>.

Wandrey, C., Bartkowiak, A., & Harding, S. E. (2010). *Materials for Encapsulation BT - Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* (N. J. Zuidam & V. Nedovic (eds.); pp. 31–100). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1008-0_3

Wasnin, R. M., Karim, M. S. A., & Ghazali, H. M. (2014). Effect of temperature-controlled fermentation on physico-chemical properties and lactic acid bacterial count of durian (*Durio zibethinus* Murr.) pulp. *Journal of Food Science and Technology*, 51(11), 2977–2989. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0869-7>

Zhu, X. Y., & Liu, F. (2017). Probiotics as an adjuvant treatment in *Helicobacter pylori* eradication therapy. *Journal of Digestive Diseases*, 18(4), 195–202. [https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1751-2980.12466](https://doi.org/10.1111/1751-2980.12466)

