

Studi Literatur Mikroenkapsulasi Bakteri Asam Laktat sebagai Bahan Aktif Sediaan Cokelat untuk Anti-Diare pada Anak

Adelya Pratiwi*, Dina Mulyanti

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*adelyapратиwi04@gmail.com, dina.sukma83@gmail.com

Abstract. *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* are included in lactic acid bacteria (BAL) which are probiotic bacteria that have health benefits in humans. The viability of both BAL can be decreased during the product manufacturing process, storage, and when passing through the gastrointestinal tract. Microencapsulation can be used to solve the problem. This literature study aims to study methods and coating materials that are more suitable for microencapsulation of *L. plantarum* and *L. acidophilus* therefore can made as an active ingredient in chocolate. This literature study used data sources research from indexed national and international journals as the method. The results of this study showed that the use of freeze drying method resulted in a smaller decrease in BAL viability than spray drying. The use of maltodextrin and skimmed milk can reduce the viability of both BAL. The combination of the both coating materials can increase the thermoprotective effect, therefore BAL will be heat resistant.

Keywords: *Microencapsulation, L. plantarum, L. acidophilus, Spray Drying, Freeze Drying, Maltodextrin, Skim Milk.*

Abstrak. *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus* termasuk ke dalam bakteri asam laktat (BAL) yang merupakan bakteri probiotik yang memiliki manfaat kesehatan pada manusia. Viabilitas dari kedua BAL tersebut dapat mengalami penurunan selama proses pembuatan produk, penyimpanan, dan saat melewati saluran cerna. Pembuatan mikroenkapsulasi dapat digunakan untuk mengatasi masalah tersebut. Studi literatur ini bertujuan untuk mengkaji metode dan bahan penyalut yang lebih sesuai untuk mikroenkapsulasi *L. plantarum* dan *L. acidophilus* agar dapat menjadi bahan aktif pada sediaan cokelat. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu studi literatur dengan menelaah sumber dari berbagai jurnal internasional maupun jurnal nasional yang terindeks. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan metode freeze drying menghasilkan penurunan viabilitas BAL yang lebih kecil daripada spray drying. Penggunaan bahan penyalut maltodekstrin dan susu skim dapat memperkecil penurunan viabilitas kedua BAL. Penggabungan kedua bahan penyalut tersebut dapat meningkatkan efek termoprotektif, sehingga BAL akan lebih tahan panas.

Kata Kunci: *Mikroenkapsulasi, L. plantarum, L. acidophilus, Spray Drying, Freeze Drying, Maltodekstrin, Susu Skim.*

A. Pendahuluan

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan mikroflora normal yang terdapat di dalam saluran pencernaan manusia dan juga merupakan probiotik terpenting yang diketahui memiliki efek menguntungkan pada saluran pencernaan manusia (Burgain *et al.*, 2011). Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang dapat memberikan manfaat kesehatan pada inangnya apabila diberikan dalam jumlah yang memadai (Hill *et al.*, 2014). BAL yang umumnya digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* spp. (Giraffa, 2012). Selain itu, bakteri probiotik juga merupakan alternatif yang potensial dalam pencegahan dan pengendalian infeksi yang ditularkan melalui makanan, karena diketahui efektif dalam menghambat patogenisitas patogen penyebab infeksi (Campana, Van Hemert and Baffone, 2017).

Efek menguntungkan BAL pada saluran pencernaan manusia diantaranya adalah dapat mengatasi dan mencegah diare, mengatasi intoleransi laktosa, mencegah terjadinya tukak lambung, dan mengatasi maag (Masood *et al.*, 2011). Sejumlah penelitian yang telah dilakukan terhadap anak-anak, BAL menunjukkan manfaat pada infeksi saluran cerna akut dan *antibiotic associated diarrhea* (AAD) (Agustina, 2012).

Penyakit diare akut masih menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada anak usia di bawah 5 tahun di Indonesia, dengan angka kematian 2,3 per 1000 anak (Indriyani, Juffrie and Setyati, 2012). BAL yang umum digunakan sebagai probiotik untuk mengobati diare diantaranya adalah *Lactobacillus plantarum* (Yan and Goldman, 2020) dan *Lactobacillus acidophilus* (El-Soud *et al.*, 2015).

BAL biasanya ditambahkan ke dalam berbagai produk makanan dan minuman agar dapat dikonsumsi dengan mudah (Wong, Odamaki and Xiao, 2019), salah satunya yaitu coklat (Mirković *et al.*, 2018). Diketahui bahwa viabilitas BAL dalam sediaan pangan dapat mengalami penurunan selama proses pembuatan produk, penyimpanan (Pradipta, 2017), dan saat dikonsumsi (berada dalam sistem pencernaan) (Adib *et al.*, 2013). Oleh karena itu, upaya peningkatan viabilitas BAL harus dilakukan, salah satu caranya adalah dengan teknik mikroenkapsulasi (Solanki *et al.*, 2013).

Teknik mikroenkapsulasi dapat dilakukan dengan penambahan bahan penyalut yang umumnya digunakan untuk menyalut probiotik, yaitu susu skim dan maltodekstrin (Nocianitri, Sujaya and Ramona, 2019). Susu skim digunakan sebagai salah satu bahan penyalut karena mengandung kasein yang memiliki efek melindungi bahan inti. Kasein sangat stabil dengan adanya suhu tinggi dan tidak menyebabkan koagulasi akibat dari pemanasan pada suhu 100 °C selama 24 jam atau pemanasan pada suhu 140 °C selama 20 menit (Yudiasuti *et al.*, 2019). Sedangkan maltodekstrin dianggap bahan penyalut yang baik karena memiliki viskositas yang rendah, kelarutan yang tinggi, dan daya ikat yang tinggi dalam membentuk mikrokapsul (Balasubramani *et al.*, 2015), harganya relatif murah, lebih komersil, dan mudah didapat (Nocianitri, Sujaya and Ramona, 2019).

Metode mikroenkapsulasi yang umumnya digunakan untuk mengenkapsulasi probiotik yaitu ekstrusi, *spray drying* (Solanki *et al.*, 2013), dan *freeze drying* (de Vos *et al.*, 2010). Teknik *spray drying* merupakan proses pendispersian bahan inti di dalam bahan penyalut, yang diikuti dengan atomisasi dan penyemprotan campuran tersebut ke dalam chamber pengering dengan udara panas. Sedangkan teknik *freeze drying* merupakan proses penjerapan yang terjadi berdasarkan proses liofilisasi pada larutan emulsi yang mengandung bahan inti dan bahan penyalut (Suganya and Anuradha, 2017).

Berdasarkan uraian di atas, maka rumusan masalah dari studi literatur ini adalah menganalisa metode serta bahan penyalut yang paling sesuai untuk enkapsulasi BAL jenis *L. plantarum* dan *L. acidophilus* agar memiliki viabilitas yang baik di

dalam sediaan coklat. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode dan bahan penyalut yang lebih sesuai untuk enkapsulasi *L. plantarum* dan *L. acidophilus* agar dapat menjadi bahan aktif pada sediaan coklat. Studi literatur ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait mikroenkapsulasi *L. plantarum* dan *L. acidophilus* yang ditambahkan ke dalam formula coklat.

B. Metodologi Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan studi literatur dengan mencari berbagai sumber berupa jurnal internasional, jurnal nasional dan buku yang didapat secara daring. Pencarian sumber tersebut dilakukan melalui Garuda, *Google Scholar*, *PubMed*, *ScienceDirect*, *Springer*, *Taylor & Francis*, dan *Wiley* dengan kata kunci “*Lactic acid bacteria*”, “*Encapsulation*”, *Microencapsulation of lactic acid bacteria*”.

Kemudian dilakukan pemilihan jurnal berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi. Berikut kriteria inklusi:

1. Jurnal yang terbit 10 tahun terakhir (2011-2021)
2. Jurnal yang berbentuk penelitian.
3. Jurnal tentang enkapsulasi *L. plantarum* dengan bahan penyalut maltodekstrin dan/atau susu skim menggunakan metode *spray drying* dan/atau *freeze drying*.
4. Jurnal tentang enkapsulasi *L. acidophilus* dengan bahan penyalut maltodekstrin dan/atau susu skim menggunakan metode *spray drying* dan/atau *freeze drying*.

Dan berikut kriteria eksklusi:

1. Jurnal yang terbit lebih dari 10 tahun terakhir (sebelum 2011)
2. Jurnal yang berbentuk *review*
3. Jurnal tentang enkapsulasi tetapi bukan bakteri *L. plantarum* dan *L. acidophilus*
4. Jurnal tentang enkapsulasi *L. plantarum* dan *L. acidophilus* tetapi bukan dengan bahan penyalut maltodekstrin dan/atau susu skim serta bukan menggunakan metode *spray drying* dan/atau *freeze drying*.

Selanjutnya dilakukan ekstraksi data dan kemudian data tersebut dianalisis hingga didapat data yang sesuai untuk menjawab rumusan masalah dan tujuan penelitian yang telah ditentukan.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Viabilitas BAL setelah Proses Mikroenkapsulasi

Viabilitas *L. plantarum* dan *L. acidophilus* dalam bentuk sel bebas (tanpa bahan penyalut) mengalami penurunan yang lebih besar dibandingkan sel bakteri dengan bahan penyalut setelah dilakukan proses mikroenkapsulasi dengan metode *spray drying* dan *freeze drying*. Hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Penurunan viabilitas kedua BAL tersebut dapat terjadi karena adanya pengeringan yang menggunakan suhu tinggi pada proses *spray drying* dan adanya pembekuan yang menggunakan suhu rendah pada proses *freeze drying* (Lapsiri, Bhandari and Wanchaitanawong, 2013; Sohail *et al.*, 2013; Maciel *et al.*, 2014; Soukoulis *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016, 2019; Reyes *et al.*, 2018; Tang *et al.*, 2020). Diketahui bahwa kedua BAL tersebut memiliki kemampuan tumbuh maksimal pada suhu 45 °C dan minimal pada suhu 15 °C (Todorov and de Melo Franco, 2010; Bull *et al.*, 2013), sehingga pada saat proses enkapsulasi *L. acidophilus* dan *L. plantarum* menjadi tidak stabil. Maka dari itu, untuk menjaga agar bakteri tetap stabil dapat dilakukan dengan penambahan matriks atau bahan penyalut (Poddar *et al.*, 2014).

Tabel 1. Penurunan Viabilitas *L. plantarum* dan *L. acidophilus*

Bahan Penyalut	Metode	Penurunan Viabilitas	Pustaka
<i>Lactobacillus plantarum</i>			
1. MD 2. P 3. T 4. F 5. GA	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 120 °C dan suhu outlet 60 °C	Tidak disebutkan penurunan viabilitasnya	(Lapsiri, Bhandari and Wanchaitanawong, 2013)
1. MD 2. GA	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 140 °C	1. Setelah <i>spray drying</i> MD: 1,16 log CFU/g GA: 0,17 log CFU/g 2. Pada suhu 4 °C selama 60 hari a. Vakum 97%: MD: 0,24 log CFU/g GA: 0,95 log CFU/g b. Vakum 10%: MD: 0,75 log CFU/g GA: 1,04 log CFU/g	(Reyes et al., 2018)
1. NA 2. SM 3. I	<i>Freeze drying</i> dengan suhu -70 °C selama 24 jam	Sel bebas setelah <i>freeze drying</i> : 1,47 log CFU/mL	(Wang et al., 2016)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>			
1. SM 2. SW	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 180 °C dan suhu outlet 85-95 °C	Tidak disebutkan penurunan viabilitasnya	(Maciel et al., 2014)
1. NA 2. MD	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 120 °C dan suhu outlet 60 °C dan <i>freeze drying</i> dengan suhu -80 °C selama 48 jam	1. Setelah <i>spray drying</i> MD: 1,87 log CFU/g MD+NA: 2,25 log CFU/g 2. Setelah <i>freeze drying</i> MD: 1,59 log CFU/g MD+NA: 1,89 log CFU/g	(Sohail et al., 2013)
1. SM 2. S 3. MD 4. PJ	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 130 °C dan suhu outlet 70 °C dan <i>freeze drying</i> dengan suhu -51 °C selama 24 jam	Sel bebas setelah: 1. <i>Spray drying</i> : 9,71 log CFU/ mL 2. <i>Freeze drying</i> : 4,12 log CFU/ mL	(Tang et al., 2020)
1. MD 2. SM 3. PW 4. NK 5. G 6. T	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 134 ± 1 °C dan suhu outlet 76 ± 1 °C	Tidak disebutkan penurunan viabilitasnya	(Soukoulis et al., 2014)
1. MD 2. GA	<i>Spray drying</i> dengan suhu inlet 150 °C dan suhu outlet 55 ± 2 °C	Tidak disebutkan penurunan viabilitasnya	(Arepally, Reddy and Goswami, 2020)
1. MD 2. PW 3. PWP	<i>Freeze drying</i> dengan suhu -18 °C	Tidak disebutkan penurunan viabilitasnya	(Wang et al., 2019)

Pengaruh Metode Mikroenkapsulasi terhadap BAL

Spray drying dan *freeze drying* dapat mempengaruhi viabilitas dan stabilitas probiotik BAL (Sohail et al., 2013). Pada proses *spray drying*, inaktivasi sel diakibatkan oleh adanya suhu tinggi yang dapat mempengaruhi membran sitoplasma, dinding sel, DNA dan RNA bakteri, sehingga aktivitas metabolisme bakteri akan berkurang. Selain itu, dapat menyebabkan

peningkatan permeabilitas sel yang akan mengakibatkan hilangnya komponen intraseluler dari dalam sel menuju ke luar sel (lingkungan ekstraseluler) (Poddar *et al.*, 2014; Tripathi and Giri, 2014).

Pada metode *freeze drying*, terdapat proses pembekuan dan pengeringan yang dapat menyebabkan inaktivasi sel bakteri. Sebagian besar, inaktivasi seluler terjadi pada proses pembekuan dengan terbentuknya kristal es ekstraseluler, sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel dan juga memberikan kondisi stres dengan osmolaritas yang tinggi (Tripathi and Giri, 2014; Iaconelli *et al.*, 2015). Selain itu, pada proses pengeringan dapat terjadi kerusakan pada protein permukaan, dinding sel, dan membran sel akibat dari dehidrasi sel bakteri, serta dimungkinkan terjadi peroksidasi lipid (Tripathi and Giri, 2014).

Bahan Penyalut yang Sesuai untuk BAL

Maltodekstrin dan susu skim adalah bahan penyalut yang biasa digunakan untuk menyalut probiotik (Nocianitri, Sujaya and Ramona, 2019) yang diketahui dapat menghambat penurunan viabilitas BAL. Viabilitas BAL dengan bahan penyalut maltodekstrin menurun sebesar 1,87 log CFU/g setelah *spray drying* dan 1,59 log CFU/g setelah *freeze drying* (Sohail *et al.*, 2013), sedangkan viabilitas BAL dengan bahan penyalut susu skim rata-rata menurun sebesar 3,72 log CFU/mL setelah *spray drying* dan 2,74 log CFU/mL setelah *freeze drying* (Tang *et al.*, 2020).

Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa selama penyimpanan 30 hari pada suhu 40 °C, viabilitas BAL yang dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin atau susu skim mengalami penurunan viabilitas yang lebih besar dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu 4 dan 25 °C, baik itu mikroenkapsulasi BAL hasil *spray drying* maupun *freeze drying* (Tang *et al.*, 2020). Hal tersebut dapat terjadi karena suhu penyimpanan yang rendah dapat memperlambat terjadinya reaksi merugikan dari mikroorganisme, seperti menghambat oksidasi lipid membran plasma yang dibentuk oleh fosfolipid tak jenuh, sedangkan suhu penyimpanan yang tinggi menyebabkan laju degradasi yang lebih tinggi (Wang *et al.*, 2019).

Tabel 2. Penurunan Viabilitas BAL yang dienkapsulasi dengan Maltodekstrin selama penyimpanan 30 hari

Metode	Bahan Penyalut	Penurunan Viabilitas		
		Suhu 4 °C	Suhu 25 °C	Suhu 40 °C
<i>Spray drying</i>	Maltodekstrin	4,01 log CFU/mL	4,37 log CFU/mL	5,33 log CFU/mL
<i>Freeze drying</i>		3,48 log CFU/mL	3,93 log CFU/mL	4,46 log CFU/mL

Maltodekstrin adalah bahan penyalut karbohidrat yang paling umum untuk enkapsulasi probiotik (Sanchez *et al.*, 2013), yang dapat bermanfaat untuk menggantikan air dengan ikatan hidrogen pada gugus fosfolipid membran sel bakteri, dapat membentuk amorf selama pengeringan dan memberikan viskositas yang tinggi, sehingga dapat membatasi pertukaran air dan oksigen (Poddar *et al.*, 2014). Selain itu, maltodekstrin merupakan polisakarida dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan oleh pati yang umum digunakan untuk menjaga stabilitas mikrokapsul dan melindunginya terhadap perubahan fisik yang tidak diinginkan seperti lengket dan hancur, melindungi dari perubahan kimia seperti mencegah oksidasi bahan yang dienkapsulasi, dan selama pengeringan maltodekstrin (Sanchez *et al.*, 2013; Reyes *et al.*, 2018).

Susu skim adalah bahan penyalut protein yang umum digunakan dan mengandung dua jenis protein, yaitu kasein dan protein *whey*. Susu skim memiliki manfaat dalam mencegah kerusakan sel dengan menstabilkan membran sitoplasma, memfasilitasi rehidrasi sediaan kering, dapat membentuk lapisan pelindung pada dinding sel untuk melindungi sel BAL (Halim *et al.*, 2017). Kasein yang terkandung dalam susu skim yang tercerna di lambung dapat melepaskan peptida dan asam amino yang dapat mendukung pertumbuhan probiotik, serta protein *whey* dalam susu skim tidak terhidrolisis oleh cairan lambung sehingga dapat memberikan perlindungan (Maciel *et al.*, 2014). Sedangkan protein *whey* dapat melepaskan asam amino yang mengandung belerang ketika adanya suhu panas, dimana belerang tersebut

dapat mengikat oksigen sehingga menghambat oksidasi lipid (Soukoulis *et al.*, 2014).

Kombinasi antara susu skim dan maltodekstrin dapat memberikan viabilitas yang lebih tinggi setelah proses enkapsulasi (Tang *et al.*, 2020), karena penambahan maltodekstrin dapat meningkatkan efek termoprotektif dari susu skim, serta telah terbukti penggunaan maltodekstrin dan susu skim menjadi strategi yang baik untuk produksi enkapsulasi probiotik (Soukoulis *et al.*, 2014). Selain dapat dikombinasi dengan maltodekstrin, susu skim juga dapat dikombinasikan dengan karbohidrat lain yaitu pektin. Menurut penelitian Yasmin *et al.*, (2019), penggunaan pektin bersama dengan protein *whey* dapat meningkatkan efisiensi dan kebulatan bubuk hasil enkapsulasi, selain itu pektin dapat membentuk struktur seperti film yang berkontribusi terhadap peningkatan viabilitas sel dalam kondisi asam dan garam empedu. Telah diketahui bahwa susu skim sendiri mengandung protein *whey* (Lin *et al.*, 2021).

Selain itu, pektin biasa digunakan sebagai bahan penyalut pada mikroenkapsulasi karena sifatnya yang resisten terhadap enzim pencernaan seperti amilase dan protease, serta tetap dalam bentuk agregat makromolekul saat dalam media asam (Meneguín *et al.*, 2017) sehingga dapat memberikan perlindungan pada BAL saat melewati saluran cerna. Pektin merupakan serat makanan sehingga dapat berperan sebagai prebiotik (Ginting, Antara and Wijaya, 2020) yang bermanfaat dalam menstimulasi satu atau lebih kelompok mikroba yang bermanfaat dalam usus, sehingga memiliki efek positif pada kesehatan manusia (Sarao and Arora, 2017).

Salah satu tanaman yang mengandung pektin sebagai kandungan utamanya yaitu cincau hijau (Ginting, Antara and Wijaya, 2020). Karena kandungan pektinnya cincau hijau juga telah digunakan sebagai bahan baku pembuatan *edible coating* (Hendrawan, Sumarlan and Ilham, 2017). Penelitian Winarsih (2018), menyatakan bahwa *edible coating* dengan bahan dasar cincau dapat memperpanjang masa simpan stroberi hingga 14 hari pada penyimpanan 5 °C.

BAL Terenkapsulasi dalam Sediaan Cokelat

Cokelat merupakan pembawa yang lebih baik daripada susu untuk penghantaran oral probiotik (Posseimers, 2010), karena pembawa susu memiliki kerugian untuk orang yang memiliki alergi protein susu dan intoleransi laktosa, serta memerlukan pendinginan dan memiliki umur simpan yang relatif lebih singkat (Nambiar, Sellamuthu and Perumal, 2018). Selain itu, cokelat diketahui mengandung padatan kakao yang tinggi dikenal sebagai sumber polifenol, seperti katekin, proisianidin, proantosianin, dan flavonol glikosida. Adanya kandungan polifenol yang berperan sebagai antioksidan membuat cokelat bermanfaat menjadi pembawa untuk probiotik (Laličić-Petronijević *et al.*, 2017). Cokelat juga merupakan makanan yang disukai oleh anak-anak, sehingga cokelat berpotensi sebagai pembawa BAL yang dienkapsulasi (Mirković *et al.*, 2018; Nambiar, Sellamuthu and Perumal, 2018) untuk tujuan mengatasi masalah diare pada anak.

Berikut formula cokelat yang dapat digunakan sebagai pembawa BAL terenkapsulasi C (Nambiar, Sellamuthu and Perumal, 2018):

1. Padatan kakao 28%
2. Sukrosa 4%
3. Susu skim 16%
4. Mentega kakao 15%
5. Lesitin kedelai 0,3%

BAL yang dienkapsulasi menggunakan maltodekstrin berhasil ditambahkan ke dalam formula cokelat tersebut dengan menghasilkan viabilitas BAL lebih besar dari 8 log CFU/g selama 180 hari pada suhu 25 °C (Nambiar, Sellamuthu and Perumal, 2018).

D. Kesimpulan

Berdasarkan pembahasan dalam penelitian ini, peneliti menyimpulkan beberapa hasil penelitian sebagai berikut:

1. Metode mikroenkapsulasi yang lebih sesuai untuk *L. plantarum* dan *L. acidophilus* agar dapat ditambahkan pada formula cokelat yaitu *freeze drying*.
2. Bahan penyalut yang lebih sesuai untuk mengenkapsulasi *L. plantarum* dan *L.*

acidophilus agar dapat ditambahkan ke dalam formula cokelat yaitu kombinasi antara maltodekstrin dan susu skim, dimana maltodekstrin dapat meningkatkan efek termoprotektid dari susu skim.

Acknowledge

Penulis sangat berterimakasih kepada semua orang yang telah memberi dukungan selama penulis menempuh pendidikan Farmasi di Universitas Islam Bandung, terutama kepada orang tua penulis yang tiada henti mendo'akan untuk kelancaran penulis. Selain itu, penulis berterimakasih kepada dosen pembimbing yaitu Ibu Dr. apt. Dina Mulyanti, M.Si. dan Ibu apt. Bertha Rusdi, M.Si., P.hD. yang telah memberi bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan tepat waktu.

Daftar Pustaka

- [1] Adib, A. *et al.* (2013) 'Lactobacillus Plantarum Pada Feses Individu Dewasa Sehat Yang Mengonsumsi Lactobacillus Plantarum Is-10506 Dari Dadih', *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), pp. 154–161. doi: 10.6066/jtip.2013.24.2.154.
- [2] Agustina, R. (2012) *Effect of milk calcium with or without probiotics on growth, iron and zinc status of Indonesian children, Probiotics, calcium and acute diarrhea*. Netherlands: Wageningen University. Available at: <http://library.wur.nl/WebQuery/edepot/231281#page=64>.
- [3] Bull, M. *et al.* (2013) 'The life history of Lactobacillus acidophilus as a probiotic: A tale of revisionary taxonomy, misidentification and commercial success', *FEMS Microbiology Letters*, 349(2), pp. 77–87. doi: 10.1111/1574-6968.12293.
- [4] Burgain, J. *et al.* (2011) 'Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications', *Journal of Food Engineering*, 104(4), pp. 467–483. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031.
- [5] El-Soud, N. H. A. *et al.* (2015) 'Bifidobacterium lactis in treatment of children with acute diarrhea. A randomized double blind controlled trial', *Macedonian Journal of Medical Sciences*, 3(3), pp. 403–407. doi: 10.3889/oamjms.2015.088.
- [6] Ginting, F. E., Antara, N. S. and Wijaya, I. M. M. (2020) 'Potensi Ekstrak Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr.) dalam Menstimulasi Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Saluran Pencernaan', *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 8(3), p. 319. doi: 10.24843/jrma.2020.v08.i03.p01.
- [7] Giraffa, G. (2012) 'Selection and design of lactic acid bacteria probiotic cultures', *Engineering in Life Sciences*, 12(4), pp. 391–398. doi: 10.1002/elsc.201100118.
- [8] Halim, M. *et al.* (2017) 'Effect of encapsulant and cryoprotectant on the viability of probiotic *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 during freeze-drying and exposure to high acidity, bile salts and heat', *LWT - Food Science and Technology*, 81, pp. 210–216. doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.009.
- [9] Hendrawan, Y., Sumarlan, S. H. and Ilham, N. A.-Z. (2017) 'Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* L.) Sebagai Edible Coating dan Lama Pencelupan terhadap Kualitas Stroberi (*Fragaria* Sp.)', *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 5(1), pp. 35–48.
- [10] Hill, C. *et al.* (2014) 'Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic', *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), pp. 506–514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66.
- [11] Iaconelli, C. *et al.* (2015) 'Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities', *Journal of Biotechnology*, 214, pp. 17–26. doi: 10.1016/j.jbiotec.2015.08.022.
- [12] Indriyani, A., Juffrie, M. and Setyati, A. (2012) 'Effect of Live versus Heat-Killed Probiotics Diarrhea in Young Children', 52(5), pp. 249–254. doi: 10.14238/pi.

- [13] Laličić-Petronijević, J. *et al.* (2017) ‘Synergistic effect of three encapsulated strains of probiotic bacteria on quality parameters of chocolates with different composition’, *Journal of Functional Foods*, 38, pp. 329–337. doi: 10.1016/j.jff.2017.09.041.
- [14] Lapsiri, W., Bhandari, B. and Wanchaitanawong, P. (2013) ‘Stability and Probiotic Properties of *Lactobacillus plantarum* Spray-Dried with Protein and Other Protectants’, *Drying Technology*, 31(13–14), pp. 1723–1733. doi: 10.1080/07373937.2013.775658.
- [15] Lin, L. *et al.* (2021) ‘The effects of casein and whey proteins on the rheological properties of calcium-induced skim milk gels’, *International Dairy Journal*, 113. doi: 10.1016/j.idairyj.2020.104893.
- [16] Maciel, G. M. *et al.* (2014) ‘Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials’, *Journal of Dairy Science*, 97(4), pp. 1991–1998. doi: 10.3168/jds.2013-7463.
- [17] Masood, M. I. *et al.* (2011) ‘Beneficial effects of lactic acid bacteria on human beings’, *Critical Reviews in Microbiology*, 37(1), pp. 91–98. doi: 10.3109/1040841X.2010.536522.
- [18] Meneguín, A. B. *et al.* (2017) *Resistant starch/pectin free-standing films reinforced with nanocellulose intended for colonic methotrexate release*, *Carbohydrate Polymers*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.10.062.
- [19] Mirković, M. *et al.* (2018) ‘The sensory quality and volatile profile of dark chocolate enriched with encapsulated probiotic *Lactobacillus plantarum* bacteria’, *Sensors (Switzerland)*, 18(8). doi: 10.3390/s18082570.
- [20] Nambiar, R. B., Sellamuthu, P. S. and Perumal, A. B. (2018) ‘Development of milk chocolate supplemented with microencapsulated *Lactobacillus plantarum* HM47 and to determine the safety in a Swiss albino mice model’, *Food Control*, 94, pp. 300–306. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.07.024.
- [21] Nocianitri, K. A., Sujaya, I. N. and Ramona, Y. (2019) ‘Mikroenkapsulasi Probiotik *Lactobacillus Rhamnosus* Fbb81 Dan Viabilitasnya Selama Penyimpanan’, 6(1), pp. 76–82.
- [22] Poddar, D. *et al.* (2014) ‘Stability of probiotic *Lactobacillus paracasei* during storage as affected by the drying method’, *International Dairy Journal*, 39(1), pp. 1–7. doi: 10.1016/j.idairyj.2014.04.007.
- [23] Pradipta, M. S. I. (2017) ‘Pengaruh Mikroenkapsulasi Probiotik Bakteri Asam Laktat Indigenous Unggas Menggunakan Bahan Penyalut Maltodekstrin Terhadap Viabilitas Selama Penyimpanan’, *Journal of Livestock Science and Production*, 1(1), pp. 37–43. doi: 10.31002/jalspro.v1i1.452.
- [24] Reyes, V. *et al.* (2018) ‘Influence of wall material on production of spray dried *Lactobacillus plantarum* nrrl b-4496 and its viability at different storage conditions’, *Drying Technology*, 36(14), pp. 1738–1748. doi: 10.1080/07373937.2017.1423324.
- [25] Sanchez, V. *et al.* (2013) ‘Freeze-Drying Encapsulation of Red Wine Polyphenols in an Amorphous Matrix of Maltodextrin’, *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), pp. 1350–1354. doi: 10.1007/s11947-011-0654-z.
- [26] Sarao, L. K. and Arora, M. (2017) ‘Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), pp. 344–371. doi: 10.1080/10408398.2014.887055.
- [27] Sohail, A. *et al.* (2013) ‘The Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM Following Double Encapsulation in Alginate and Maltodextrin’, *Food and Bioprocess Technology*, 6(10), pp. 2763–2769. doi: 10.1007/s11947-012-0938-y.
- [28] Solanki, H. K. *et al.* (2013) ‘Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent’, *BioMed Research International*, 2013. doi: 10.1155/2013/620719.
- [29] Soukoulis, C. *et al.* (2014) ‘Impact of Milk Protein Type on the Viability and Storage Stability of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 Using Spray

- Drying', *Food and Bioprocess Technology*, 7(5), pp. 1255–1268. doi: 10.1007/s11947-013-1120-x.
- [30] Tang, H. W. *et al.* (2020) 'Influence of freeze-drying and spray-drying preservation methods on survivability rate of different types of protectants encapsulated *Lactobacillus acidophilus* FTDC 3081', *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 84(9), pp. 1913–1920. doi: 10.1080/09168451.2020.1770572.
- [31] Todorov, S. D. and de Melo Franco, B. D. G. (2010) 'Lactobacillus plantarum: Characterization of the species and application in food production', *Food Reviews International*, 26(3), pp. 205–229. doi: 10.1080/87559129.2010.484113.
- [32] Tripathi, M. K. and Giri, S. K. (2014) 'Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage', *Journal of Functional Foods*, 9(1), pp. 225–241. doi: 10.1016/j.jff.2014.04.030.
- [33] de Vos, P. *et al.* (2010) 'Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components', *International Dairy Journal*, 20(4), pp. 292–302. doi: 10.1016/j.idairyj.2009.11.008.
- [34] Wang, C. *et al.* (2019) 'Effects of polymerized whey protein on survivability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 during freeze-drying', *Food Science and Nutrition*, 7(8), pp. 2708–2715. doi: 10.1002/fsn3.1130.
- [35] Wang, L. *et al.* (2016) 'Effect of skim milk coated inulin-alginate encapsulation beads on viability and gene expression of *Lactobacillus plantarum* during freeze-drying', *LWT - Food Science and Technology*, 68, pp. 8–13. doi: 10.1016/j.lwt.2015.12.001.
- [36] Winarsih, S. (2018) 'Pengawetan Strawberry (*Fragaria Ananassa*) Menggunakan Edible Coating Berbasis Pektin Dari Cincau Hijau (*Cylea barbata*)', *Agrika*, 12(2). doi: 10.31328/ja.v12i2.762.
- [37] Wong, C. B., Odamaki, T. and Xiao, J. zhong (2019) 'Beneficial effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 on human health: Modulation of gut microbiome as the principal action', *Journal of Functional Foods*, 54(February), pp. 506–519. doi: 10.1016/j.jff.2019.02.002.
- [38] Yan, T. and Goldman, R. D. (2020) 'Probiotics for antibiotic-associated diarrhea in children', *Canadian Family Physician*, 66(1), pp. 37–39.
- [39] Yasmin, I. *et al.* (2019) 'Development of Whey Protein Concentrate-Pectin-Alginate Based Delivery System to Improve Survival of *B. longum* BL-05 in Simulated Gastrointestinal Conditions', *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11(2), pp. 413–426. doi: 10.1007/s12602-018-9407-x.