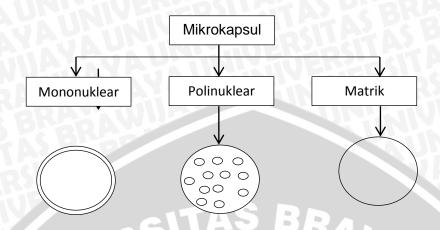
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi adalah teknologi untuk menyalut atau melapisi suatu zat inti dengan suatu lapisan dinding polimer, sehingga menjadi partikel-partikel kecil berukuran mikro. Dengan adnya lapisan dinding polimer ini, zat inti akan terlindungi dari pengaruh lingkungan luar. Bahan inti dapat berupa padatan, cairan atau gas. Mikrokapsul yang terbentuk dapat berupa partikel padatan, cairan atau gas dan biasanya memiliki rentang ukuran partikel antara 0.3 – 3.0 mikrometer.

Menurut Istiyani (2008) keuntungan metode mikrokapsul adalah dengan adanya lapisan dinding polimer, zat inti akan terlindungi dari pengaruh luar; mikroenkapsulasi dapat mencegah perubahan warna dan bau serta dapat menjaga stabilitas zat inti yang dipertahankan dalam jangka yang lama, dan dapat dicampur dengan komponen lain yang dapat berinteraksi dengan bahan inti.

Morfologi mikrokapsul tergantung dari bahan inti dan proses deposisi bahan pelapis. Mikrokapsul dapat berbentuk mononukulear, polinekuler dan tipe matriks. Mikrokapsul mononekuler (inti-kulit) pelapis berada disekitar inti, sementara polinekuler ada banyak inti dalam satu pelapis. Pada tipe matriks, bahan ini distribusikan secara homogen kedalam bahan pelapis. Selain tiga morfologi tadi mikrokapsul dapat berbentuk mononekuler dengan beberapa pelapis lain dan dapat membentuk kelompok mikrokapsul (Ghosh, 2006). Gambar morfologi mikrokapsul dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Morfologi Mikrokapsul (Ghosh, 2008)

2.2 Metode Pembuatan Mikrokapsul

Metode pembuatan mikrokpsul cukup beragam, diantaranya adalah koaservasi pemisahan fase, semprot kering, semprot beku, penguapan pelarut, suspensi udara, proses multi lubang sentrifugal, penyalutan di dalam panci, polimerisasi, dan lain-lain. Proses mikroenkapsulasi dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu metode kimia, metode fisiko-kimia dan mekanik. Metode kimia meliputi polimerasi antar permukaan, polimerasi insitu, dan insolubilisasi. Metode fisiko-kimia meliputi pemisahan fase dari larutan air, pemisahan fase dari pelarut organik, kompleks emulsi dan *powder bed*, sedangkan yang termasuk dalam metode mekanik adalah penyalutan suspensi udara atau metode wuster, penyemprotan kering, penyalut hampa udara dan aerosol elektrostatik. (Yogaswara, 2008; Ghosh, 2008). Beberapa proses penting yang digunakan pada proses enkapsulasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Teknik Enkapsulasi (Ghosh, 2008))		
Proses Secara Kimia	Proses Secara Fisika	
	Fisik-Kimia	Fisika-Mekanis
Suspensi, disperse, emulsi polimerisasiPolikondensasi	 Coaservation Enkapsulasi Sol-gel Perakitan lapis demi lapis (L-B-L) assembly Enkapsulasi dengan bantuan superkritikal 	 Spray drying Multiple nozzle spraying Fluid bed-coating Teknik sentrifugal Enkapsulasi vakum Enkapsulasi
SAIT APLICATION	CO_2	elektrostatis

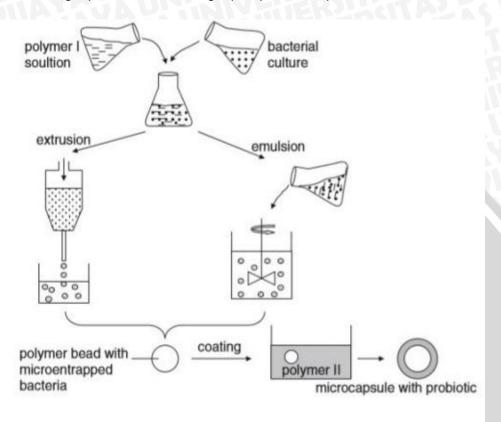
Tabel 1, Teknik Enkapsulasi (Ghosh, 2008)

Metode Gel Partikel

Proses enkapsulasi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode pengeringan semprot, *fluid bed coating*, *spray chilling*, *melt injection*, *melt extrusion*, *emulsification*, pengeringan beku atau vakum, dan metode pembentukan manik-manik (Zuaidam dan Shimoni, 2010). Metode yang dipilih tergantung dari komponen pangan yang dienkaspulasi, bahan enkapsulan, dan biaya. Metode pengeringan beku dan vakum tergolong dalam metode yang memerlukan biaya tinggi. Teknik enkapsulasi untuk bakteri asam laktat dapat dilakukan dengan mudah, murah, dan tidak toksik, yaitu menggunakan enkapsulan karaginan. Proses enkapsulasi probiotik menggunakan karaginan dapat dilakukan dengan teknik ekstruksi atau dengan teknik emulsi yang akan membentuk gel hidrokoloid yang berbentuk manik-manik. Diantara kedua teknik tersebut, ekstruksi merupakan teknik yang lebih sederhana dan membutuhkan biaya yang lebih rendah (Karasekoopt *et al.*, 2003).

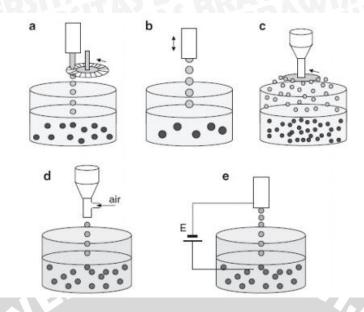
Menurut Manojlovic *et al.*,(2010) metode yang sering digunakan dalam pembuatan mikrokapsul bakteri probiotik disebut dengan metode gel partikel yaitu gabungan antara metode ekstruksi dengan metode emulsifikasi. Dalam metode gel partikel ini, kultur murni dari bakteri probiotik akan dicampur dengan larutan polimer kemudian disemprotkan dengan menggunakan jarum-jarum dengan diameter lubang 0,3 –3 mm ke dalam larutan penjedal (pembentuk gel)

sehingga akan menghasilkan butiran-butiran mikrokapsul dengan diameter sesuai dengan ukuran lubang jarum yang digunakan. Proses mikroenkapsulasi dengan metode gel partikel secara lengkap dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Mikroenkapsulasi metode gel partikel (Manojlovic et al.,2010)

Teknik ekstruksi (dropping method) ini dilakukan dengan prinsip melewatkan larutan enkpsulan (yang didalamnya sudah terdapat komponen yang dienkapsulasi) melewati suatu lubang kecil sehingga membentuk tetesan. Tetesan yang terbentuk dijatuhkan ke dalam larutan KCI steri 3,9 M. Teknik ekstruksi pembuatan mikrokapsul.



Gambar 3. Cara pembentukan tetesan (a) dengan pipet atau vibrating nozzle,(b) tetesan dijatuhkan kedalam larutan KCl 3,9 M, (c) dengan atomizing disk, (d) aliran udara coaxial, dan (e) elektrostatik potential (Zuidam dan Shimoni (2010)

2.3 Foam-mat drying

Pengeringan busa (foam-mat drying) merupakan cara pengeringan bahan berbentuk cair yang sebelumnya dijadikan busa terlebih dahulu dengan menambahkan zat pembusa atau pembuih. Foam-mat drying berguna untuk memproduksi produk-produk kering dari bahan cair yang peka terhadap panas atau mengandung kadar gula tinggi yang menyebabkan lengket bila dikeringkan dengan cara pengeringan semprot.

Menurut Koswara (2009) Busa merupakan disperse koloid dari fase gas dalam fase cair, yang dapat terbentuk pada saat telur dikocok. Mekanisme terbentuknya busa putih telur adalah terbukanya ikatan-ikatan dalam molekul protein sehingga rantai protein menjadi lebih panjang. Kemudian udara masuk diantara molekul-molekul yang terbuka rantainya dan tertahan sehingga terjadi pengembangan volume.

Pengeringan busa memberikan keuntungan pada pengeringan udara, biayanya murah dan mudah dikerjakan. Susunan busa memberikan keuntungan

yang khas dalam penyebaran, pengeringan, penghilangan permukaan, penghancuran dan penguapan produk. Busa adalah jalan keluar dari pilihan pengendali ketebalan. Lapisan pada pengeringan busa lebih cepat daripada cairan bukan busa pada kondisi luar yang sama. Ini karena cairan bergerak lebih mudah melalui struktur busa daripada melalui padatan lapisan pada bahan yang sama (Van Arsdel *et al.,* 1973)

2.4 Bahan Mikroenkapsul

Penambahan material penyalut diperlukan dalam mikroenkapsulasi untuk menahan dan melindungi komponen-komponen volatile dari kehilangan atau kerusakan kimia selama pengolahan, penyimpanan, dan penanganan serta harus bias melepaskan inti yang diselaputinya sewaktu dikonsumsi.

Dalam proses mikroenkapsulasi hal yang perlu diperhatikan adalah jenis penyalut yang digunakan. Pemilihan bahan penyalut sangat penting karena mempengaruhi stabilitas emulsi sebelum pengeringan dan daya alir, stabilitas fisik, dan daya dimpan setelah pengeringan (Gardjito, 2006) Salah satu bahan yang serng digunakan adalah karaginan Setijawati *et al.*,(2011) melaporkan bahwa *E. cottoni* dapat digunakan sebagai bahan penyalut dalam bentuk *semi refained carraggenan* (SRC) karena sifat karaginan sebagai penggel, karakteristik gel yang keras dan kokoh tetapi mudah pecah.

Karaginan

Karaginan merupakan polisakarida linear dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari unit 3,6-galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa yang berulang baik mengandung gugus sulfat maupun tanpa gugus sulfat (Tiwi, 2008). Karaginan diperoleh dari rumput laut yang melalui ekstraksi panas dalam suasana alkali Santoso (2008) melaporkan bahwa rumput laut yang diekstraksi pada pH 9 memilliki kandungan karaginan sebesar 50-53%.

Karaginan biasanya digunakan di bidang industri makanan, farmasi dan kosmetik. Karginan bisanya diproduksi dalam bentuk garam Na, K, Ca yang dibedakan dua macam yaitu kappa karaginan dan iota karaginan, kappa karaginan berasal dari *E. cottoni* sedangkan iota karaginan berasal dari *E. spinosum*.

Gambar 4. Struktur Karagenan (Winarno, 1992)

Didasarkan pada struktur molekulnya dan posisi ion sulfatnya, karaginan dibedakan menjadi tiga macam, yaitu iota-karaginan, kappa-karaginan, dan lamda karaginan. Ketiganya berbeda dalam sifat gel dan reaksinya terhadap protein. Kappa-karaginan menghasilkan gel yang kuat (rigid), sedangkan iota karaginan membentuk gel yang halus (flaccid) dan mudah dibentuk (Anggadiredja, 2009).

Selain itu masing-masing karaginan juga dihasilkan oleh spesies rumput laut yang berbeda. Spesies *E. cottoni* menghasilkan kappa-karaginan, sedangkan spesies *E. spinosum* menghasilkan iota-karaginan. Kesetabilan karaginan sebagai senyawa biasanya akan mengalami depolimerisasi secara perlahan dalam penyimpanan. Tetapi kappa dan iota karaginan biasanya memiliki daya kekuatan gel serta kekuatan reaksi terhadap protein dan tidak terpengaruhi oleh proses depolimerisasi. Penyimpanan dalam suhu kamar

selama 1 tahun, penurunan kekuatan gelnya tidak dapat dideteksi karena terlalu kecil (Winarno, 1992)

Kemampuan pembentukan gel pada kappa dan iota karaginan terjadi pada saat larutan panas yang dibiarkan menjadi dingin karena mengandung gugus 3,6-anhidrogalaktosa. Adanya perbedaan jumlah, tipe dan posisi gugus sulfat akan mempengaruhi proses pembentukan gel. Kappa karaginan dan iota karaginan akan membentuk gel hanya dengan adanya kation-kation tertentu seperti K⁺, Rb⁺ dan Cs⁺. Kappa karaginan sensitif terhadap ion kalium dan membentuk gel kuat dengan adanya garam kalium, sedangkan iota karaginan akan membentuk gel yang kuat dan stabil bila ada ion Ca₂⁺, akan tetapi lamda karaginan tidak dapat membentuk gel (Glicksman, 1983).

2.5 Mikroenkapsulasi Probiotik

Enkapsulasi merupakan suatu teknologi pengemasan zat padat, cair, atau gas dalam kapsul yang berukuran kecil yang dapat melepaskan isinya dalam lingkungan tertentu (Mosihey, 2003). Dalam proses enkapsulasi suatu bahan inti dibungkus dengan kapsul (biopolymer) atau membran yang bersifat semipermeabel sehingga inti dapat keluar (release) pada kondisi tanpa enkapsulasi.

Lactobacillus tidak dapat menyesuaikan diri dengan asam lambung dan garam empedu. Semakin tinggi kosentrasi garam empedu, maka jumlah sel Lactobacillus yang mati juga meningkat. Hal ini disebabkan karena peningkatan aktivitas enzim β-galaktosidase terhadap garam empedu, sehingga premebilitas sel meningkat. Sel dengan premebilitas yang tinggi akan menyebabkan pecah sehingga materi intraseluler akan keluar dan sel bakteri akan lisis. Oleh karena itu, probiotik perlu dienkapsulasi untuk mengurangi kematian probiotik di dalam lambung. Vidhylaksmi *et al.*, (2009) melaporkan bahwa bakteri probiotik yang

dienkapssulasi dengan alginat, gum xanthan, dan karagenan dapat bertahan lebih baik daripada probiotik bebas dalam kondisi asam.

2.6 Probiotik

Probiotik adalah makanan suplemen berupa mikroba hidup yang memberi keuntungan pada manusia khususnya dalam keseimbangan mikroflora usus (Shott 1999). Definisi probiotik digunakan pada pemberian pakan ternak yang disuplementasi dengan mikroba untuk membantu hewan ternak khususnya dalam saluran pencernaannya. Dalam perkembangannya, banyak dilakukan penelitian mengenai mekanisme probiotik yang menggunakan hewan percobaan untuk diekstrapolasikan pada manusia (Fuller, 1999).

Tidak semua jenis bakteri bisa digunakan sebagai probiotik. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, diantaranya punya aktivitas antimikroba antikarsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran dan pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. Beberapa jenis probiotik yang sering digunakan adalah B. brevis, B. infantis, B. longum, L. acidophlus, L. bulgaricus, L. plantarum, L. rhamnosus, casei. dan Streptococcus thermophilus. Di pasaran probiotik ini dijual dalam bentuk susu dan food supplement (O'Grady dan Gibson, 2005).

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non pathogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya kesehatan inangnya (Triana et al., 2006). Bakteri asam laktat yang bersifat sebagai probiotik pada pencernaan manusia merupakan mikroflora normal usus, yang terdiri dari *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*. (Gomes dan Malcta, 1999)

Probiotik memberikan efek fisiologis seperti antikolesterol, antihipertensi,

intoleran laktosa, anti karsinogenik, gangguan saluran pencernaan serta alergi. Dengan memperhatikan kesehatan inangnya penambahan probiotik harus memperhatikan konsentrasi antara 10⁷– 10¹¹ CFU/g per hari untuk manusia dan 10⁷-10⁹/g per hari untuk binatang, sehingga dapat berperan untuk menurunkan kadar kolesterol (Ooi dan Min-Tze, 2010). Mikroba probiotik harus memenuhi kriteria sebagai berikut (Reid, 1999)

- Stabil terhadap asam (Terutama asam lambung), sehingga mampu bertahan dan hidup selama melalui lambung dan usus.
- 2. Stabil terhadap garam empedu dan mampu bertahan hidup selama berada pada bagian atas usus kecil.
- 3. Memproduksi senyawa antimikrobia seperti asam, hydrogen peroksida dan bakteriosin.
- Mampu menempel dan mengkolonisasi sel usus manusia. Hal ini akan meningkatkan kompetisi dengan mikroba pathogen dan penyebab karsinogen.
- 5. Tumbuh baik dan berkembang dalam saluran pencernaan.
- 6. Aman digunakan oleh manusia.
- 7. Tahan terhadap mikrobisida dan spermisida vaginal. Sifat ini diperlukan untuk probiotik yang ditunjukan untuk mengobati infeksi saluran urinovaginal.
- 8. Koagregasi membentuk lingkungan mikroflora yang normal dan seimbang.

2.6.1 Lactobacillus acidophilus

Karakteristik *L.acidophilus* adalah tidak tumbuh pada suhu 15°C dan tidak memfermentasi ribosa; optimum pertumbuhan pada suhu 35-38°C dan pH optimum 5,5-6,0; pada susu sapi memproduksi 0,30%-1,90% DL asam laktat; dapat menggunakan komponen nutrisi, yaitu asetat (asam movalonat), riboflavin, asam pantothenat, nisin dan asam folat; memproduksi threonine aldose dan

alkohol dehydrogenase yang mempengaruhi aroma (Nakazawa dan Hosono, 1992).

L. acidophillus merupakan bakteri asam laktat yang termasuk dalam filum firmicutes dan famili lactobacillales yang mempunyai morfologi berbentuk batang (basil). Menurut Garrity et al. (2004), klasifikasi bakteri ini adalah:

BRAWINAL

Domain : Bacteria

Kingdom : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Order : Lactobacillales

Family : Lactobacillaceae

Genus : Lactobacillus

Specific descriptor : acidophilus

Scientific name : Lactobacillus acidophilus

L. acidophilus mempunyai ketahanan terhadap asam lambung buatan dengan pH 2,5 selama 3 jam dan bakteriosin yang dihasilkan tetap aktif pada pH 3 sampai pH 10 (Oh dan Worobo, 2000). Secara fisiologis L.acidophilus adalah meningkatkan mikroflora usus karena L.acidophilus dapat hidup di usus. Efek pertumbuhan yang ditunjukan adalah membantu menfaatkan nutrisi secara efisien terutama dari kalsium, protein, besi dan fosfor pada proses fermentasi yang menghasilkan asam laktat. Kerja intensif pada aktifitas β-galaktosidase lebih baik dalam hal menekan bakteri penghasil gas dalam saluran pencernaan. L. acidophilus diduga menurunkan kadar kolesterol, mengkontrol pertumbuhan kanker melalui aktivitas enzimnya yang mampu menurunkan produksi karsinogeni dan mencegah pengembangan kanker di dalam pencernaan (Nakazawa dan Hosono, 1992).

2.6.2 Bifidobacterium Bifidum

Menurut Buchanan dan Gibbson (1975), *B. bifidum* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Prokariota

Divisi : Bacteria

Kelas : Actinobacteria

Ordo : Bifidobacteriales

Famili : Bifidobacteriaceae

Genus ; Bifidobacterium.

Beberapa peneliti menganggap *Bifidobacterium* masuk dalam kelompok bakteri asam laktat, meskipun secara philogenik berbeda.Beberapa kesamaan diantara mereka adalah produksi asam laktat, ekologi tempat hidup dan fungsinya, serta pemanfaatannya sebagai probiotik. *Bifidobacterium* ditemukan pertama kali pada tahun 1899 oleh Tissier. Tissier pertama kali menyatakan bahwa *Bifidobacterium* adalah bakteri berbentuk batang pendek dan menamakannya *Bacillus bifidus*. Sejak tahun 1965, *Bifidobacterium* diklasifikasikan sebagai genus *Bifidobacterium* dalam famili bakteri asam laktat.

SBRAM

Karakteristik umum dari *Bifidobacterium* antara lain bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, non motil, katalase negatif dananaerobik, mempunyai pertumbuhan 36-38 μm, tempratur optimum pertumbuhanya 36-38 °C, pH optimum pertumbuhan sebesar 6,5, bersifat heterofermentatif, memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam laktat dan asam asetat dengan rasio 2:3 tanpa menghasilkan CO₂.

2.7 Keamanan bakteri probiotik dalam bahan pangan

Bakteri asam laktat termasuk mikroorganisme yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan

toksik, maka disebut *food grade microorganism* atau dikenal sebagai mikroorganisme yang *Generally Recognized As Safe* (GRAS) yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis 7 bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL bermanfaat untuk peningkatan kualitas higiene dan keamanan pangan melalui penghambatan secara alami terhadap flora berbahaya yang bersifat patogen. (O'Grady dan Gibson, 2005).

Senyawa yang dihasilkan oleh BAL adalah asam organik, suatu peptida yang bersifat antimikroba, berbagai jenis vitamin, asam folat serta senyawa flavor. BAL juga menurunkan pH lingkungannya dan mengeksresikan senyawa yang mampu menghambat mikroorganisme patogen seperti H₂O₂, diasetil, CO₂, asetaldehid, d-isomer, asam asam amino dan bakteriosin (Surono, 2004).

Jumlah bakteri juga sangat penting diperhatikan karena berhubungan dengan kemanjuran produk probiotik bersangkutan dan juga untuk mencegah agar tidak terjadi "over dosis" meskipun belum ada laporan mengenai efek samping negatif probiotik dalam konsentrasi tinggi. Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^6 cfu/g atau jumlah strain probiotik yang harus dikonsumsi setiap hari sekitar 10^8 cfu/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan (Shah, 2007).

2.8 Metode perhitungan koloni bakteri

Banyak cara yang dapat dilakukan untuk melakukan perhitungan koloni bakteri secara langsung, salah satunya adalah metode perhitungan cawanlangsung (total plate count) dengan menggunakan pengenceran bertingkat dan metode agar tuang (pour plate) serta metode tebar (spread plate). Pada

metode agar tuang, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan bakteri diinokulasikan kedalam cawan petri kosong, kemudian ditambahkan media agar cair lalu diratakan dengan cara cawan petri digerakkan secara zig-zag sampai larutan bakteri menjadi tercampur dengan agar cair dan dibiarkan sampai agar membeku baru kemudian di inkubasi untuk menumbuhkan bakteri inokulan. Koloni bakteri yang bersifat aerob akan berada di atas permukaan agar, sedangkan koloni bakteri yang bersifat anaerob akan tumbuh pada dasar media agar. Koloni bakteri yang tumbuh dinyatakan dalam satuan CFU (colony forming units) dengan syarat perhitungan koloni antara 25 – 300 koloni (U.S FDA), akan tetapi para ahli biologi banyak yang menggunakan syarat perhitungan koloni antara 30 – 300 koloni bakteri (Tortora et al., 2014).

Metode agar tuang digunakan secara luas untuk pengkulturan bakteri dan fungi. Sampel diencerkan secara bertingkat untuk mengurangi kepadatan populasi agar mendapatkan koloni terpisah pada saat ditanam. Sejumlah volume larutan bakteri dicampur dengan media agar cair dengan suhu sekitar 45°C, lalu dituangkan kedalam cawan petri steril dengan cepat. Cawan yang memiliki jumlah koloni antara 30 – 300 akan dihitung (Prescott *et al.*, 2002). Metode perhitungan agar tuang memiliki kelemahan yaitu sensitifitasnya rendah dikarenakan koloni bakteri yang terdapat dalam agar tidak dapat diamati tanpa menggunakan perbesaran pada saat perhitungan koloni dilakukan (Adams dan Moss, 2000).

2.9 Masa Simpan Enkapsulat Probiotik

Masa simpan secara umum mengandung pengertian rentang waktu antara saat produk mulai dikemas atau diproduksi dengan saaat mulai digunakan dengan mutu produk masih memenuhi syarat dikonsumsi. Nisa' (2013)

menyatakan bahwa umur simpan adalah waktu yang diperlukan oleh produk pangan, dalam suatu kondisi penyimpanan, untuk sampai pada suatu level atau tingkatan degradasi mutu tertentu.

Sartini et al., (2010) Faktor penyimpanan mempengaruhi viabilitas bakteri asaam laktat karena menyebabkan kematian sel yang akan bertambah dengan semakin lamanya waktu penyimpanan. Lamanya waktu penyimpanan susu L. acidophilus akan menyebabkan sel-sel yang sudah stress menjadi sublethal dan lethal karena semakin sensitifnya membrane dinding sel, suhu penyimpanan 3°C - 4°C dapat mengontrol terjadinya *over acidity* oleh bakteri asam laktat dan suhu yang lebih rendah dapat merusak sel.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ariyani (2013) bahwah teknik enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas probiotik selama penyimpanan 8 minggu. L. acidophilus yang di enkapsulasi dengan sagu aren di simpan selama 8 minggu tidak mengalami penurunan. Sedangkan pada B. bifidum yang di enkapsulasi dg sagu arent mengalami penurunan sebesar 2 log selama penyimpanan.