

# Uji stabilitas probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 terenkapsulasi dalam sediaan oralit dengan analisis viabilitas

## Stability test of probiotic *Lactobacillus plantarum* Mar8 encapsulated in oralit using viability analyses

EVI TRIANA<sup>♥</sup>, TITIN YULINERY

Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jl Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong Bogor 16911, Jawa Barat. Tel.: +62-21-8765066, Fax. +62-21-8765062, ♥email: evitriana03@yahoo.com

Manuskrip diterima: 4 Desember 2014. Revisi disetujui: 2 Februari 2015.

**Abstrak.** Triana E, Yulinery T. 2015. Uji stabilitas probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 terenkapsulasi dalam sediaan oralit dengan analisis viabilitas. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (2): 278-282*. Bila tidak ditangani dengan cepat, baik, dan tepat, diare dapat mengakibatkan dehidrasi. Dehidrasi sangat berbahaya karena penderita diare dapat mengalami shock hipovolemik, bahkan kematian. Jika terjadi dehidrasi, tindakan yang harus segera diambil adalah menggantikan cairan dan garam-garam yang hilang dari tubuh dengan cairan yang mengandung elektrolit, misalnya oralit. Selain itu, mengkonsumsi probiotik sangat penting karena probiotik berdaya memperbaiki dan mempercepat pemulihan keseimbangan jumlah bakteri baik dan bakteri patogen dalam usus yang terganggu akibat diare. Namun kendala yang dihadapi saat ini adalah belum ada produk oralit yang sekaligus mengandung probiotik dalam satu kemasan. Kedua suplemen tersebut umumnya tersedia secara terpisah. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengembangkan produk oralit yang memiliki nilai lebih, dengan menambahkan probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 ke dalam sediaan oralit. Selain itu dilakukan uji kestabilan probiotik tersebut pada berbagai suhu penyimpanan untuk menjamin efektivitasnya, menggunakan analisis viabilitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bahwa *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit tetap dapat memenuhi standar jumlah minimal probiotik dengan durasi waktu simpan berbeda-beda pada berbagai suhu penyimpanan. Pada suhu 4°C, viabilitasnya sebesar 4,8 x 10<sup>6</sup> CFU/g dengan waktu simpan 17,77 hari, pada suhu 25°C, sebesar 1,25 x 10<sup>6</sup> CFU/g dengan waktu simpan 14,42 hari, pada suhu 37°C, sebesar 8,5 x 10<sup>6</sup> CFU/g dengan waktu simpan 9,85 hari, sedangkan pada suhu 42°C, sebesar 2,5 x 10<sup>7</sup> CFU/g dengan waktu simpan 12,14 hari. Berdasarkan data-data tersebut, disimpulkan bahwa probiotik *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit paling stabil bila disimpan pada suhu 4°C dengan waktu simpan paling lama yaitu 17,77 hari.

**Kata kunci:** Diare, dehidrasi, *Lactobacillus plantarum* Mar8, oralit, probiotik, viabilitas

**Abstract.** Triana E, Yulinery T. 2015. Stability test of probiotic *Lactobacillus plantarum* Mar8 encapsulated in oralit using viability analyses. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (2): 278-282*. Diarrhea should be quickly and appropriately treated. Otherwise, excessive loss of fluids and minerals from the body can cause dehydration. Dehydration is a very critical condition, because it may lead to hypovolemic shock, even death. When dehydrated, the loss of fluids and electrolytes should be replaced immediately by oral rehydration solution (ORS) that contains electrolytes, such as oralit. In addition, probiotics consumption is very important because probiotics could recover the balance of 'good' microbes and 'bad' microbes in the digestive system that is once disturbed by diarrhea. However, nowadays, oralit products which contain probiotics in one package are commercially unavailable. Both supplements are usually available separately. Therefore, this research was aimed to develop an oralit product which contains probiotic *Lactobacillus plantarum* Mar8 as its added value. Stability test of this probiotics in various temperature was done using viability analyses. The results showed that *L. plantarum* Mar8 in oralit could meet the standard of minimum probiotic amounts, in various storage temperature after various time periods. Its viability was 4.8 x 10<sup>6</sup> CFU/g in 4oC, 1.25 x 10<sup>6</sup> CFU/g in 25°C, 8.5 x 10<sup>6</sup> CFU/g in 37°C, and 2.5 x 10<sup>7</sup> CFU/g in 42°C. *Lactobacillus plantarum* Mar8 survived in various time duration and in various storage temperature. It may last for up to 17.77 days, 14.42 days, 9.85 days, and 12.14 days in 4°C, 25oC, 37oC and 42°C, respectively. Based on these data, the most stable of probiotic *L. plantarum* Mar8 in oralit would be in 4°C-storage, lasting for 17.77 days.

**Keywords:** Diarrhea, dehydration, *Lactobacillus plantarum* Mar8, oralit, probiotic, viability

## PENDAHULUAN

Dewasa ini dengan tingkat mobilitas dan teknologi yang tinggi, pola hidup yang dijalani oleh masyarakat menjadi tidak sehat. Hal ini terlihat dari pola makan yang tidak teratur, ditambah dengan sering mengkonsumsi makanan

cepat saji yang kurang menyehatkan, mengakibatkan kondisi kesehatan seseorang menurun dan menimbulkan berbagai penyakit serta menurunnya kekebalan tubuh atau imunitas. Usus merupakan organ imun terbesar dalam tubuh dan sangat penting bagi ketahanan tubuh. Untuk itu keseimbangan mikroflora usus memegang peranan penting.

Flora usus yang hidup terutama pada mucus usus dapat digolongkan dalam mikroba ‘baik’ yang tidak merugikan tuan rumah dan mikroba ‘buruk’ yang potensial bersifat patogen yang saling berkompetisi. Salah satu mikroba baik adalah *Lactobacillus*. Bakteri ini berperan mempertahankan pH asam yang menjadi pembatas bagi sebagian besar bakteri patogen. Selain itu, *Lactobacillus* menghasilkan hidrogen peroksida dan bakteriosin yang bersifat antibakteri, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan (James et al 1992; Patterson 2008; Soccol et al 2010). Pada tubuh yang sehat, terdapat keseimbangan antara kedua kelompok mikroba ini. Bila mikroba ‘baik’ tersingkir maka kuman atau fungsi patogen menjadi dominan, yang dapat menimbulkan penyakit, misalnya diare.

Diare umumnya bersifat *self limiting*. Namun jika tidak ditangani dengan baik, dapat mengakibatkan komplikasi. Pada diare hebat yang disertai muntah-muntah, tubuh akan kehilangan banyak air beserta garam-garamnya, terutama natrium dan kalium, sehingga menyebabkan dehidrasi. Jika berlanjut, dapat menyebabkan hipokalemia, renjatan (*shock*) hipo-volemik, asidosis metabolik, bahkan kematian. Bahaya ini sangat besar khususnya untuk bayi dan anak-anak, karena memiliki cadangan cairan intra sel yang kecil dan cairan ekstra selnya lebih mudah dilepas dibandingkan orang dewasa. Gejala pertama dari dehidrasi adalah perasaan haus, mulut dan bibir kering, kulit menjadi keriput, berkurangnya air seni, dan menurunnya berat badan serta keadaan gelisah (Zein et al 2004; Tjaj dan Rahardja 2002).

Jika mengalami dehidrasi, tindakan yang harus diambil sebagai pertolongan pertama adalah mengganti cairan dan garam-garam elektrolit yang hilang dari tubuh, misalnya dengan pemberian oralit. Kombinasi garam dan gula dalam oralit dapat diserap baik oleh usus penderita diare. Garam mampu meningkatkan pengangkutan dan absorpsi gula melalui membran sel. Sebaliknya, glukosa menstimulasi transport aktif Na dan air melalui dinding usus. Dengan demikian resorpsi air dalam usus halus meningkat 25 kali (Tjaj dan Rahardja 2002).

Selain oralit, penderita diare disarankan mengkonsumsi probiotik untuk memperbaiki dan memulihkan keseimbangan mikroflora normal yang terganggu akibat diare. Cara ini lebih baik daripada menggunakan obat-obatan kimia, karena merupakan pendekatan alami dan aman yang memiliki kelebihan, yaitu tidak mengganggu mikroflora normal/baik lainnya. Probiotik didefinisikan sebagai suplemen mikroba hidup yang memberikan efek positif manusia dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora usus. Mekanismenya adalah kompetisi dan inhibisi mikroba patogen (Zein et al 2004; Patterson 2008; Reksohadwinoto, 2014). Oleh karena itu, kondisi mikroflora saluran cerna yang didominasi oleh mikroba patogen penyebab diare dapat dipulihkan keseimbangannya.

Kendala yang dihadapi saat ini adalah belum ada produk oralit yang sekaligus mengandung probiotik dalam satu kemasan. Kedua suplemen tersebut umumnya tersedia secara terpisah. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengembangkan produk oralit yang memiliki nilai lebih, dengan cara menambahkan probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 terenkapsulasi ke dalam sediaan oralit.

Untuk menjamin efektivitas probiotik tersebut, dilakukan uji stabilitas pada berbagai kondisi penyimpanan dengan analisis viabilitas.

## BAHAN DAN METODE

### Material isolat

Isolat *Lactobacillus plantarum* Mar8 diperoleh dari koleksi Bidang Mikrobiologi Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Bogor.

### Preparasi sampel dan enkapsulasi *Lactobacillus plantarum* Mar8

Sebanyak 3000 mL media GYP *broth* diinokulasi dengan 600 mL *L. plantarum* Mar8 dari kultur induk, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, kultur disentrifugasi 10.000 rpm selama 5 menit. Pelet yang terbentuk ditambahkan ke dalam 1500 mL dekstrin steril dengan konsentrasi 10%. Sebanyak 1 mL sampel disimpan dalam eppendorf untuk uji viabilitas Tahap 1. Sisa sampel dimasukkan ke dalam *spray dryer* pada suhu 125°C sampai diperoleh massa berbentuk serbuk. Serbuk hasil *spray drying* tersebut digunakan untuk uji viabilitas Tahap 2 dan 3.

### Identifikasi *L. plantarum* Mar8 berdasarkan Zona Bening

Media GYP agar yang disuplementasi CaCO<sub>3</sub> 0,5% disterilisasi dengan otoklaf selama 20 menit. Setelah steril, media dituang ke dalam cawan petri steril lalu diamkan hingga padat. *Lactobacillus plantarum* Mar8 sebanyak 100 µL sebelum enkapsulasi dan 0,1 gram *L. plantarum* Mar8 setelah dienkapsulasi, dimasukkan ke dalam wadah berbeda lalu diencerkan dengan NaCl fisiologis (0,85%) dan dihomogenkan untuk memperoleh pengenceran pertama. Pengenceran berseri dilakukan hingga pengenceran ke-9. Sebanyak 100 µL dari setiap pengenceran ke-5 sampai ke-9 ditanam ke dalam media GYP padat dengan cara *pour plate*. Kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. *Lactobacillus plantarum* Mar8 akan membentuk zona bening di sekitar koloni.

### Uji viabilitas *L. plantarum* Mar8

Uji viabilitas dilakukan dalam beberapa tahap: (i) Tahap 1 dilakukan sebelum *spray drying*, (ii) Tahap 2 dilakukan segera setelah *spray drying*; Sediaan uji: 0,36 g sampel ditambah 5,64 g oralit, Kontrol: 0,36 g sampel tanpa oralit. (iii) Tahap 3 dilakukan setelah *spray drying*. Pengujian sampel dan pengamatan dilakukan setiap minggu. Sediaan uji dan kontrol ditempatkan pada empat wadah yang berbeda untuk disimpan pada suhu 4°C, 25°C, 37°C dan 42°C.

Sebanyak 100 µL sampel uji viabilitas Tahap 1 dan 0,1 g dari masing-masing sediaan uji dan kontrol utk uji viabilitas Tahap 2 dan 3 diencerkan dengan 900 µL NaCl fisiologis (0,85%) untuk memperoleh pengenceran pertama (10<sup>-1</sup>). Selanjutnya dilakukan pengenceran berseri hingga pengenceran ke-7. Sebanyak 100 µL dari hasil pengenceran

ke-5 sampai ke-7 ditanam dengan cara *pour plate* pada media GYP padat + CaCO<sub>3</sub>. Kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Koloni yang terbentuk dihitung, kemudian dilakukan penghitungan viabilitasnya.

#### Analisis data

Viabilitas *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit (*Colony Forming Unit*) per gram (mL) dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\Sigma \text{ koloni} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}} \times \frac{1}{\text{volume penanaman}}$$

keterangan :

$\Sigma$  bakteri (CFU)/gram = jumlah bakteri dalam 1 gram

$\Sigma$  koloni = koloni yang terbentuk pada proses penanaman

Faktor pengenceran = banyaknya pengenceran yang dipakai pada saat penanaman

Volume penanaman = jumlah volume sampel yang dipipet pada saat penanaman

Nilai log rata-rata viabilitas *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan uji dan kontrol digunakan untuk menghitung waktu simpan (stabilitas), dengan rumus:

$$\text{Log } c_0 - \text{Log } c = kt/2,303$$

keterangan:

$c_0$  = konsentrasi awal

$c$  = konsentrasi sisa pada waktu tertentu

$t$  = waktu (jam)

$k$  = konstanta

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Statistical Package for The Social Science (SPSS) for Window* untuk mengetahui adanya perbedaan dari tiap perlakuan penyimpanan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis viabilitas *L. plantarum* Mar8

Hasil penghitungan koloni *L. plantarum* Mar8 pada sediaan uji maupun kontrol setelah enkapsulasi (*spray drying*) menunjukkan adanya penurunan dibandingkan sebelum enkapsulasi (Tabel 1).

Tabel 2. Jumlah koloni *L. plantarum* Mar8 (CFU/g) pada berbagai suhu penyimpanan

Perlakuan	Minggu 1		Minggu 2		Minggu 3	
	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol
Suhu 4°C	7,5 x 10 <sup>7</sup>	9,55 x 10 <sup>7</sup>	4,8 x 10 <sup>6</sup>	6,3 x 10 <sup>6</sup>	4,4 x 10 <sup>5</sup>	5,8 x 10 <sup>5</sup>
Suhu 25°C	3,5 x 10 <sup>6</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>	1,25 x 10 <sup>6</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>	5 x 10 <sup>1</sup>	1 x 10 <sup>2</sup>
Suhu 37°C	8,5 x 10 <sup>6</sup>	12 x 10 <sup>6</sup>	7 x 10 <sup>5</sup>	10,25 x 10 <sup>5</sup>	0	0
Suhu 42°C	2,5 x 10 <sup>7</sup>	6,5 x 10 <sup>6</sup>	6,7 x 10 <sup>3</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	0	0

Tabel 3. Log rata-rata viabilitas *L. plantarum* Mar8 selama penyimpanan

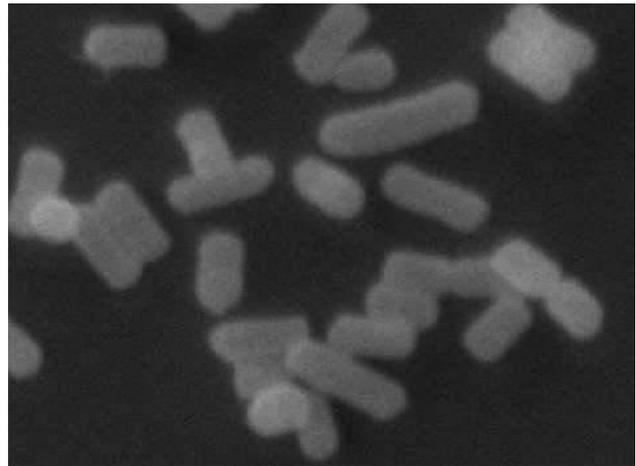
Perlakuan	Waktu penyimpanan							
	Minggu 0		Minggu 1		Minggu 2		Minggu 3	
	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol	Uji	Kontrol
Suhu 4°C	9,074	9,163	7,861	7,974	6,65	6,792	5,641	5,758
Suhu 25°C	9,074	9,163	6,499	6	6,088	6	1	2
Suhu 37°C	9,074	9,163	6,888	7,065	5,826	6,007	0	0
Suhu 42°C	9,074	9,163	7,301	6,738	3,811	2,238	0	0

Analisis viabilitas pada sediaan oralit yang mengandung *L. plantarum* Mar8 menunjukkan data yang bervariasi pada tiap kelompok perlakuan (Tabel 2).

### Uji Stabilitas *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit pada berbagai suhu penyimpanan

Hasil perhitungan log rata-rata viabilitas *L. plantarum* Mar8 selama masa penyimpanan disajikan pada Tabel 3.

Hasil perhitungan waktu penyimpanan menunjukkan bahwa *L. plantarum* Mar8 menunjukkan stabilitas yang berbeda-beda pada tiap perlakuan (Tabel 4).



Gambar 1. Sel *Lactobacillus plantarum* Mar 8

Tabel 1. Jumlah koloni *L. plantarum* Mar8 (CFU/g) sebelum dan sesudah enkapsulasi

Perlakuan	Rata-rata sebelum enkapsulasi	Rata-rata setelah enkapsulasi
Kontrol	1,765 x 10 <sup>12</sup>	1,456 x 10 <sup>9</sup>
Sediaan uji	1,765 x 10 <sup>12</sup>	1,205 x 10 <sup>9</sup>

Tabel 4. Waktu simpan *L. plantarum* Mar8

Perlakuan (°C)	Sediaan uji (Hari)	Kontrol (Hari)
Suhu 4	17,77	18,67
Suhu 25	14,42	14,01
Suhu 37	9,85	14,03
Suhu 42	12,14	9,13

## Pembahasan

*Lactobacillus plantarum* Mar8 merupakan bakteri unggulan yang diperoleh dari hasil penelitian pada Kelompok Penelitian Genetika Mikroba, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Bakteri ini memiliki kriteria dan potensi sebagai probiotik saluran pencernaan, antara lain: kemampuan hidup pada pH rendah, toleransi terhadap garam empedu, menghasilkan antibiotik, dan asam-asam organik (Napitupulu et al 2003). Kriteria ini memenuhi syarat-syarat mikroba sebagai probiotik (Hood dan Zottola 1998).

Selain itu, *L. plantarum* Mar8 juga memiliki viabilitas yang tinggi dalam kondisi terenkapsulasi (Triana 2006). Syarat probiotik lain yang akan dikembangkan dalam industri adalah mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya (Shortt 1999; Lisal 2005).

## Enkapsulasi *L. plantarum* Mar8

Pengeringan merupakan salah satu alternatif untuk melindungi zat inti, termasuk mikroba. Dengan pengeringan, umur simpan kultur menjadi lebih panjang. Enkapsulasi merupakan salah satu metode pengeringan sekaligus penyalutan bahan atau mikroba, antara lain dengan cara *spray-drying* (kering semprot). *Spray drying* sering digunakan untuk bahan cair dengan viskositas rendah dan sensitif terhadap panas. Enkapsulasi memberikan sarana untuk mengubah komponen dalam bentuk cairan atau gas menjadi partikel padat dan melindungi materi dari pengaruh lingkungan yang merugikan dan mempertahankan keunggulannya (Tamime dan Robinson 1989; Risch 1995).

Konfirmasi *L. plantarum* Mar8 pada media GYP yang disuplementasi  $\text{CaCO}_3$  sebelum dan setelah enkapsulasi ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni. Hal tersebut disebabkan *L. plantarum* Mar8 menghasilkan asam yang dapat melarutkan  $\text{CaCO}_3$ . Selain itu, hasil konfirmasi ini menunjukkan tidak terjadi kontaminasi sebelum dan selama proses enkapsulasi berlangsung.

*Lactobacillus plantarum* Mar8 terenkapsulasi akan bertahan (*survive*) lebih lama dalam penyimpanan karena terlindungi oleh bahan penyalut. Ketika *L. plantarum* Mar8 yang telah dienkapsulasi ditambahkan ke dalam sediaan oralit, diharapkan *L. plantarum* Mar8 tersebut juga akan tetap stabil selama penyimpanan. Untuk sediaan uji, sebanyak 0,36 g serbuk enkapsulasi *L. plantarum* Mar8 dicampurkan ke dalam sediaan oralit 5,64 g, sehingga konsentrasi *L. plantarum* Mar8 dalam oralit adalah 6%. Tujuannya agar konsentrasi probiotik cukup banyak, sehingga setelah melewati proses enkapsulasi masih tetap dapat memenuhi syarat minimum probiotik, yaitu  $10^{-6}$  CFU/g (Svensson 1999).

Pada Tabel 1, terlihat bahwa jumlah koloni *L. plantarum* Mar8 setelah enkapsulasi mengalami penurunan, dari  $1,765 \times 10^{12}$  sebelum enkapsulasi menjadi  $1,465 \times 10^9$  setelah enkapsulasi. Penurunan jumlah probiotik ini disebabkan proses enkapsulasi menggunakan suhu  $125^\circ\text{C}$  menyebabkan sebagian bakteri *L. plantarum* Mar8 mati karena *L. plantarum* Mar8 termasuk mesofil, yang dapat bertahan hidup sampai suhu  $45^\circ\text{C}$ . Sebagian *L. plantarum*

Mar8 dapat hidup karena adanya dekstrin sebagai penyalut sehingga melindungi *L. plantarum* Mar8 dari suhu tinggi selama proses enkapsulasi. *Lactobacillus plantarum* Mar8 terenkapsulasi pada sediaan uji dan kontrol memiliki jumlah tidak jauh berbeda, dan masih memenuhi syarat minimum probiotik, yaitu  $10^{-6}$  CFU/g, sehingga dapat dikatakan bahwa penambahan *L. plantarum* Mar8 ke dalam oralit dapat dilakukan tanpa mengurangi efektivitasnya sebagai probiotik.

## Analisis viabilitas *L. plantarum* Mar8

Analisis viabilitas dilakukan untuk mengetahui jumlah sel yang dapat bertahan hidup (*survive*) pada kondisi tertentu, biasanya diperkirakan sebagai ukuran konsentrasi sel (Brooks 2001). Ketahanan hidup bakteri antara lain dipengaruhi oleh: air, mineral, sumber nitrogen, dan temperatur/suhu. Tiap bakteri mempunyai suhu optimum, dimana bakteri tersebut tumbuh sebaik-baiknya. Suhu optimum biasanya merupakan refleksi dari lingkungan normal organisme tersebut. Oleh karena itu, Suhu penyimpanan dapat mempengaruhi ketahanan hidup bakteri terenkapsulasi.

Hasil uji viabilitas *L. plantarum* Mar8 terenkapsulasi pada berbagai suhu penyimpanan (Tabel 2), menunjukkan bahwa probiotik yang disimpan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  mempunyai viabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan yang disimpan pada suhu yang lebih tinggi. Pada suhu  $4^\circ\text{C}$  sediaan uji masih memenuhi standar jumlah minimum probiotik ( $10^6$  CFU/g) dengan waktu simpan hingga minggu ke-2 yaitu  $4,8 \times 10^6$  CFU/g, sedangkan kontrol  $6,3 \times 10^6$  CFU/g. Pada suhu  $25^\circ\text{C}$  probiotik pada sediaan uji bertahan hingga minggu ke-2 dengan jumlah  $1,25 \times 10^6$  CFU/g, dan pada kontrol  $10^6$  CFU/g. Hal ini mendukung hasil penelitian Zamora et al (2006) bahwa kultur kering bakteri asam laktat yang disimpan pada suhu dingin ( $4^\circ\text{C}$ ) mempunyai viabilitas yang lebih tinggi dibandingkan yang disimpan pada suhu kamar. Pada suhu  $37^\circ\text{C}$  probiotik pada sediaan uji hanya dapat bertahan sampai satu minggu dengan jumlah  $8,5 \times 10^6$  CFU/g, dan pada kontrol sebanyak  $12 \times 10^6$  CFU/g. Begitu pula pada suhu  $42^\circ\text{C}$  probiotik pada sediaan uji hanya bertahan sampai satu minggu dengan jumlah  $2,5 \times 10^7$  CFU/g, dan pada kontrol  $6,5 \times 10^6$  CFU/g. Probiotik *L. plantarum* tetap dapat bertahan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  maupun  $42^\circ\text{C}$  karena *L. plantarum* Mar8 termasuk ke dalam bakteri mesofil, yaitu bakteri yang dapat hidup sampai suhu  $45^\circ\text{C}$ .

Untuk mengetahui perbedaan nilai viabilitas tiap perlakuan, maka dilakukan analisis statistik SPSS dengan taraf kepercayaan ( $\alpha$ ) = 0,05. Hasil analisis menunjukkan bahwa: (i) Pada suhu  $4^\circ\text{C}$  sediaan uji (*L. plantarum* Mar8 + dekstrin 10% + oralit) memberikan hasil analisis yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol (*L. plantarum* Mar8 + dekstrin 10%). (ii) Pada suhu  $25^\circ\text{C}$  sediaan uji memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol. (iii) Pada suhu  $37^\circ\text{C}$  sediaan uji memberikan hasil yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. (iv) Pada suhu  $42^\circ\text{C}$  sediaan uji memberikan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol. Data tersebut menunjukkan bahwa efektivitas probiotik di dalam oralit tidak berbeda nyata dengan probiotik tanpa oralit.

### Uji stabilitas *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit pada berbagai suhu penyimpanan

Uji stabilitas dimaksudkan untuk menjamin kualitas produk yang telah lulus uji dan beredar di pasaran. Dengan uji stabilitas dapat diketahui pengaruh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembaban terhadap parameter-parameter stabilitas produk seperti kadar zat aktif, pH, berat jenis, dan volume sehingga dapat ditetapkan tanggal kadaluarsa yang sebenarnya (Sarmoko 2009).

*Lactobacillus plantarum* Mar8 merupakan produk biologi yang memiliki karakter dan kepekaan yang khas terhadap faktor lingkungan seperti suhu, oksidasi, cahaya, muatan ion, dan sebagainya. Sebagai suatu produk biologi yang akan disimpan dalam jangka waktu tertentu, akan terjadi perubahan konsentrasi karena ketidakstabilan komponen yang terkandung di dalamnya. Karena itu diperlukan uji stabilitas, untuk mengetahui batas waktu maksimum penyimpanan, dan kondisi penyimpanan yang optimal, yang akan menentukan waktu penyimpanan maksimum sehingga produk masih memberikan efek yang diharapkan.

Stabilitas dapat ditentukan berdasarkan log rata-rata viabilitas sediaan uji dan kontrol yang mengandung probiotik *L. plantarum* Mar8 sebagaimana yg tercantum pada Tabel 3. Hasil perhitungan waktu simpannya dapat dilihat pada Tabel 4.

Probiotik *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan uji pada suhu 4°C masih memenuhi standar minimum dengan waktu simpan paling lama yaitu 17,77 hari. Begitu pula pada kontrol selama 18,67 hari. Hal ini disebabkan suhu 4°C merupakan suhu terbaik untuk penyimpanan dalam bentuk kering. Penyimpanan pada suhu 4°C menyebabkan pertumbuhan *L. plantarum* Mar8 lebih lambat sehingga nutrisi tersedia untuk pertumbuhan dalam waktu yang lebih panjang. Karena itu *L. plantarum* Mar8 dapat bertahan hidup lebih lama. Pada suhu 37°C sediaan uji memiliki waktu simpan paling rendah, yaitu selama 9,85 hari. Hal ini terjadi karena suhu 37°C merupakan suhu optimum pertumbuhan *L. plantarum* Mar8, sehingga pertumbuhan *L. plantarum* Mar8 pada suhu tersebut lebih cepat dibandingkan pada suhu penyimpanan lain. Pertumbuhan yang lebih cepat menyebabkan nutrisi yang tersedia menjadi lebih cepat habis dan dekstrin yang digunakan sebagai penyalut tidak cukup melindungi *L. plantarum* Mar8, sehingga banyak *L. plantarum* Mar8 yang mati.

Jika sediaan uji disimpan melebihi batas waktu penyimpanannya, maka *L. plantarum* Mar8 dalam sediaan uji tersebut tidak akan memberikan efek probiotik karena viabilitasnya rendah. Jumlah probiotik dalam sediaan tersebut jauh menurun, sehingga kurang dari jumlah minimum (standar) bakteri probiotik yang dikonsumsi. Karena itu, tidak memiliki efek yang diharapkan.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, disimpulkan bahwa *Lactobacillus plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit,

menunjukkan kestabilan dengan tetap memenuhi standar jumlah minimal probiotik ( $10^6$  CFU/g), pada durasi waktu penyimpanan yang berbeda-beda pada berbagai suhu penyimpanan. Pada suhu 4°C, viabilitasnya sebesar  $4,8 \times 10^6$  CFU/g dengan waktu penyimpanan 17,77 hari. Pada suhu 25°C, viabilitasnya sebesar  $1,25 \times 10^6$  CFU/g dengan waktu penyimpanan 14,42 hari. Pada suhu 37°C, viabilitasnya sebesar  $8,5 \times 10^6$  CFU/g dengan waktu penyimpanan 9,85 hari. Sedangkan pada suhu 42°C, viabilitasnya  $2,5 \times 10^7$  CFU/g dengan waktu penyimpanan 12,14 hari. Dengan demikian dapat ditetapkan bahwa probiotik *Lactobacillus plantarum* Mar8 dalam sediaan oralit paling stabil bila disimpan pada suhu 4°C dengan waktu simpan paling lama yaitu 17,77 hari.

### DAFTAR PUSTAKA

- Brooks GF, Buteel JF, Morsedan AS. 2001. Mikrobiologi Kedokteran Edisi Pertama (Terj). Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga (Eds). Salemba Media, Jakarta.
- Hood SK, Zottola EA. 1998. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survey and adherence to human intestinal cells. *J Food Sci* 53: 1514-1516.
- James R, Lazdunski C, Pattus F. 1992. Bacteriocins, Microcins, and Lantibiotics. Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg.
- Lisal JS. 2005. Konsep probiotik dan prebiotik untuk modulasi mikrobiota usus besar. *J Med Nus* 26(4): 259-262.
- Napitupulu RNR, Yulinery T, Hardiningsih R, Kasim E, Nurhidayat N. 2003. Daya ikat kolesterol dan produksi asam organik isolat *Lactobacillus* terseleksi untuk penurunan kolesterol. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bandung, 29-30 Agustus 2003.
- Patterson CA. 2008. Benefits beyond basic nutrition probiotics. *Agriculture and Agrifood*. Ottawa.
- Reksohadwinoto. 2014. Performance know antibiotics: products, applications, and working mechanism. BPPT Biotech Center. <http://biotek.bppt.go.id/index.php/artikel-sains/134-mengenal-kinerja-probiotik-produk-aplikasi-mekanisme-kerja> Diakses 15/12/14.
- Risch SJ. 1995. Encapsulation: Overview of uses and technique. In: Risch SJ, Reineccius GA (eds) *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. American Chemical Society, Washington DC.
- Sarmoko. 2009. <http://moko31.wordpress.com/2009/11/22/uji-stabilitas/>
- Shortt C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Rev Trend Food Sci and Technol* 10: 411-417.
- Soccol CR, de Sousa Vandenberghe LP, Spier MR, Medeiros APB, Yamaguishi CT, De Dea Lindner L, Pandey A, Thomaz-Soccol V. 2010. The potential of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol* 48(4): 413-434.
- Svensson U. 1999. Industrial Perspective. In: GW. Tannock (Ed). *Probiotics, a Critical Review*. Horizon Scientific Publisher, England.
- Tamime AY, Robinson NK. 1989. *Yoghurt Science and Technology*. Pergamon Press, Oxford.
- Tjay TH, Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi kelima. PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Triana E, Yulianto E, Nurhidayat N. 2006. Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar8 terenkapsulasi. *Biodiversitas* 7(2): 114-117.
- Zamora LM, Carretero C, Pares D. 2006. Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray drying and freeze drying. *Food Sci Technol Int* 12(1), 77-84.
- Zein U, Sagala KH, Ginting J. 2004. Diare Akut Disebabkan Bakteri. E-USU Repository. Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan.