

Uji Viabilitas *Lactobacillus* sp. Mar 8 Terenkapsulasi

Viability of encapsulated *Lactobacillus* sp. Mar 8

EVI TRIANA^{*,1}, EKO YULIANTO, NOVIK NURHIDAYAT

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16002.

Diterima: 16 Nopember 2005. Disetujui: 23 Januari 2006.

ABSTRACT

Lactobacillus sp. Mar 8 had advantages as probiotic digestive system cholesterol lowering *Lactobacillus*. Applying in industry, particular processing technique is necessary for gaining product that ready for marketing and consuming. Spray drying is common technique using in various food processing. High processing temperature, 100-200°C, for 3-10 second become the barrier because cells were under extreme temperature stress. Therefore, encapsulate was needed to protect the cells from those extreme conditions. Viability and survival rate of encapsulated *Lactobacillus* sp. Mar 8 have been investigated. The result showed that *Lactobacillus* sp. Mar 8 that was encapsulated by 10% skim milk has higher viability than those by 5% skim milk, namely 72.37% and 51.69% respectively. Survival rate of encapsulated *Lactobacillus* cells will come to zero in 41.28 years. Therefore, encapsulated *Lactobacillus* sp. Mar 8 may use as probiotic agent.

© 2006 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: *Lactobacillus* sp. Mar 8, viability, spray drying, encapsulation, survival rate.

PENDAHULUAN

Pola makan yang cenderung bergeser menjadi diet yang rendah serat dan kaya lemak dapat menyebabkan kadar kolesterol darah sangat tinggi (hiperkolesterolemia) yang pada gilirannya menyebabkan aterosklerosis. Kondisi ini menjadi momok yang menakutkan karena dapat menyumbat pembuluh darah yang dapat menyebabkan kematian, antara lain sebagai penyebab stroke dan penyakit jantung koroner. Makanan/suplemen yang mengandung probiotik, terutama anti kolesterol sangat diperlukan untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Anonim, 1999; Siswono, 2002).

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Berbagai senyawa hasil metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, H₂O₂, bakteriosin bersifat antimikroba dan berbagai enzim seperti laktase dapat membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, serta *bile salt hydrolase* dapat menurunkan kolesterol. Selain itu, terdapat pula aktivitas antikarsinogenik dan stimulasi sistem imunitas (Nagao *et al.*, 2000; Schrezenmeir dan de Vrese, 2001). Saat ini, perhatian terhadap penggunaan bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik dalam bidang industri telah mengalami peningkatan. Salah satu bakteri asam laktat yang umum digunakan sebagai probiotik saluran pencernaan adalah *Lactobacillus*. *Lactobacillus* dapat dikonsumsi dalam bentuk cair seperti yogurt, kefir, dan koumiss, serta semi solid sampai solid, seperti keju (Anonim, 2004b). Dalam menurunkan kolesterol, bakteri/

probiotik *Lactobacillus* menghasilkan zat-zat anti kolesterol dan menyerap sejumlah kolesterol ke dalam selnya. Dalam pembuluh darah, asam organik yang dihasilkannya, seperti asam askorbat, asam folat, dan asam kolat dapat menyebabkan terjadinya disosiasi LDL (*low density of lipoprotein*), partikel penyusun kolesterol berbahaya (Girindra, 1993; Surono, 2002).

Lactobacillus sp. Mar 8 merupakan bakteri unggulan yang diperoleh dari hasil penelitian Kelompok Penelitian Biosistemika dan Genetika Mikroba, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, LIPI Bogor. Bakteri ini memiliki kriteria sebagai probiotik saluran pencernaan penurun/anti kolesterol. Isolat tersebut memiliki keunggulan dalam hal kemampuan hidupnya pada pH rendah, toleransi terhadap garam empedu, dan menghasilkan asam-asam organik penurun kolesterol (Napitupulu *et al.*, 2003), sebagaimana disyaratkan Hood dan Zottola (1998). Di samping itu hasil uji *in vivo* juga menunjukkan bahwa pemberian suspensi probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 pada tikus dapat menurunkan kolesterol pada hari ke-28 (Kurniawati, 2003). *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang dicekakkan pada tikus berfungsi menurunkan kadar LDL dan mempertahankan kadar HDL (*high density of lipoprotein*), dalam darah (Yulinery *et al.*, 2004). Syarat probiotik lain adalah mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanan (Shortt, 1999).

Untuk diaplikasikan dalam bidang industri, teknik pemrosesan yang tepat sangat diperlukan untuk menghasilkan produk yang siap dipasarkan dan dikonsumsi. Pada bidang industri pangan, teknik *spray drying* telah banyak diaplikasikan, misalnya produk susu bubuk, serbuk ekstrak sari buah, dan lain-lain. Teknik *spray drying* mengubah bahan makanan yang awalnya berupa bahan cair menjadi materi padat. Makanan mampu bertahan relatif lebih lama karena kandungan air diminimalisasi sehingga mengurangi resiko kerusakan bahan makanan oleh mikroba (Victor dan Heldman 2001).

* Alamat korespondensi:
Jl.Ir. H.Juanda 18 Bogor 16002
Tel. +62-251-324006. Fax.: +62-251-325854
e-mail: evitriana03@yahoo.com

Pada proses *spray drying*, bahan yang akan dikeringkan disemprotkan dalam bentuk kabut. Luas permukaan bahan yang kontak langsung dengan media pengering dapat lebih besar sehingga menyebabkan penguapan berlangsung lebih baik. Faktor yang mempengaruhi *spray drying* adalah bentuk penyemprot, kecepatan alir produk dan sifat produk (Master, 1997). Menurut Spicer dalam Effendi (2000), keuntungan penggunaan *spray drying* adalah produk akan menjadi kering tanpa menyentuh permukaan logam yang panas, temperatur produk akhir rendah walaupun temperatur pengering relatif tinggi, waktu pengeringan singkat dan produk akhir berupa bubuk stabil yang memudahkan penanganan dan transportasi.

Penggunaan *spray drying* tidak terbatas pada bahan makanan saja, tetapi juga pada makhluk hidup bersel tunggal, misalnya bakteri. *Spray drying* merupakan salah satu teknik enkapsulasi. Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan suatu bahan sehingga bahan yang disalut dapat dilindungi dari pengaruh lingkungan. Bahan penyalut disebut enkapsulan sedangkan yang disalut/dilindungi disebut *core*. Enkapsulasi pada bakteri dapat memberikan kondisi yang mampu melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti panas dan bahan kimia. Susu skim adalah salah satu bahan penyalut yang umum digunakan, terutama sebagai penyalut matriks yang diaplikasikan secara oral (Young *et al.*, 1995; Frazier dan Westhoff, 1998; Victor dan Heldman, 2001).

Parameter keberhasilan teknik ini berbeda untuk setiap bahan yang akan dienkapsulasi. Enkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas sel yang relatif tinggi dan sifat-sifat fisiologis yang relatif sama dengan sebelum dienkapsulasi. Kendala dalam enkapsulasi *Lactobacillus* adalah proses *spray drying* yang berlangsung pada suhu relatif tinggi yaitu berkisar 100-200°C selama 3-10 detik (Master, 1997), sehingga sel mengalami tekanan suhu yang sangat tinggi pula. Karena itu perlu diuji viabilitas sel *Lactobacillus* sp. Mar 8 setelah enkapsulasi dan memperkirakan waktu simpannya. Hasil tersebut akan berguna dalam memperkirakan jumlah sel awal *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang akan digunakan dalam proses enkapsulasi untuk menghasilkan sel sejumlah tertentu dalam bentuk serbuk, jumlah penyalut yang dibutuhkan untuk memperoleh tingkat ketahanan hidup yang tinggi dan berapa lama *Lactobacillus* terenkapsulasi dapat disimpan sebelum akhirnya produk tersebut tidak bermanfaat lagi, karena seluruh sel telah mati.

Penelitian ini dilakukan sebagai bagian dari upaya pengungkapan keanekaragaman mikroba dan potensinya sebagai penghasil bahan bioaktif. Dari skrining yang dilakukan terhadap beberapa isolat *Lactobacillus* dari berbagai makanan fermentasi yang diperoleh dari beberapa daerah di Indonesia, *Lactobacillus* sp. Mar 8 merupakan isolat yang terseleksi sebagai probiotik penurun kolesterol. Selanjutnya probiotik ini akan dikembangkan dalam bentuk sediaan padat yang dapat diaplikasikan dalam industri makanan, minuman dan farmasi.

BAHAN DAN METODE

***Lactobacillus* sp. Mar 8.** *Lactobacillus* sp. Mar 8, diisolasi dari markisa yang berasal dari Tanah Karo, Sumatra Utara. Kultur dipelihara secara rutin pada media GYP dengan komposisi sebagai berikut: 10 g glukosa, 10 g yeast ekstrak, 5 g pepton, 2 g beef ekstrak, 1,4 g Na-asetat.3H₂O, 5 mL salt solution (0,1 g MgSO₄.7H₂O; 0,1 g MnSO₄.4H₂O; 0,1 g FeSO₄.7H₂O; 0,1 g NaCl; 50 mL

akuades), 0,5 g tween 80, 20 g agar, 1 liter air. Setelah disterilisasi, ditambahkan 0,075 mg CaCO₃/mL media.

Pertumbuhan isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8. Satu ose isolat diinokulasi pada 10 mL media GYP steril. Setelah diinkubasi selama 24 jam, kultur sebanyak masing-masing 0,5 mL diinokulasi pada 50 mL susu skim 5%, 10% dan media GYP cair. Setelah kultur diinkubasi selama 24 jam, populasi dari seluruh media dihitung dengan cara *Total Plate Count* (TPC). Penghitungan populasi dari tiap media dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Inokulasi isolat pada susu krim. Satu ose isolat diinokulasi pada 5 mL susu skim steril dengan konsentrasi 5% dan 10% steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, seluruh kultur diinokulasi pada 45 mL susu skim dengan konsentrasi 5% dan 10% dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Setelah diinkubasi, seluruh kultur tersebut diinokulasi kembali pada 450 mL susu skim dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Seluruh perlakuan dilakukan duplikasi (2 ulangan).

Penghitungan populasi sel *Lactobacillus* sp. Mar 8 sebelum enkapsulasi. Dari media susu skim 500 mL dihitung populasinya dengan cara *Total Plate Count* (TPC) dengan dua ulangan pada pengenceran 10⁻⁴ dan 10⁻⁵. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam inkubasi pada suhu kamar.

Enkapsulasi *Lactobacillus* sp. Mar 8. Setiap konsentrasi susu skim dimasukkan ke dalam mesin mini *spray dryer* Buchii 1940. Hasil enkapsulasi disimpan dalam plastik tahan panas dan dizip dengan *zipper hot* sehingga tetap steril.

Uji viabilitas setelah enkapsulasi. Uji viabilitas dilakukan segera setelah proses enkapsulasi selesai dan setelah disimpan selama dua minggu pada suhu 5°C dan 37°C. Viabilitas sel terenkapsulasi dihitung segera setelah proses enkapsulasi menggunakan TPC pada pengenceran 10⁻⁴ dan 10⁻⁵. Viabilitas setelah disimpan selama dua minggu pada suhu 5°C dan 37°C dihitung menggunakan TPC pada pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴ dan 10⁻⁵. Penghitungan koloni dilakukan setelah 36-48 jam masa inkubasi pada suhu kamar.

Penentuan waktu simpan. Waktu simpan sel terenkapsulasi dapat diperkirakan dengan menggunakan persamaan (Sakane dan Kuroshima 1997):

$$T = 8 \log S_0 / (\log S_0 - \log S_{ac})$$

S₀ adalah *survival rate* segera setelah proses pengeringan dan S_{ac} adalah *survival rate* setelah disimpan selama dua minggu pada suhu optimal pertumbuhan sel yaitu 37°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Susu skim mengandung nutrien yang relatif kaya, terutama kandungan gula. Gula susu, yaitu laktosa, yang terdapat pada susu skim berkisar antara 49,5%-52% (Anonim, 2004a). Keadaan ini baik untuk mendukung pertumbuhan strain *Lactobacillus* yang umumnya memiliki enzim laktase yang mampu mengubah laktosa menjadi glukosa. Strain probiotik yang diinokulasi pada media susu skim diharapkan mampu menunjukkan pertumbuhan yang cepat. Pertumbuhan yang cepat adalah bila mampu tumbuh minimal mencapai 10⁸ dalam waktu 24 jam inkubasi (Guarner dan Scaafsma, 1998).

Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 1, diketahui bahwa strain *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang digunakan dalam penelitian ini memiliki pertumbuhan yang cukup cepat/tinggi, terutama pada media susu skim 10%, yaitu 8,3 x 10⁷ CFU/mL setelah diinkubasi selama 24 jam. Pertumbuhan yang lambat dapat membawa pengaruh

buruk pada kultur, karena resiko kontaminasi semakin meningkat, terutama dalam skala besar. Pertumbuhan *Lactobacillus* sp. Mar 8 pada media susu skim dengan konsentrasi 10% lebih baik daripada konsentrasi 5%. Karena itu konsentrasi susu skim 10% dianggap layak digunakan dalam proses enkapsulasi.

Teknik *spray drying* menghasilkan lapisan enkapsulasi kecil dan seragam yang berisi bakteri probiotik sehat. Enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi. (Chandra-mouli *et al.*, 2003). Namun proses *spray drying* terjadi pada kondisi yang tidak sesuai dengan toleransi hidup strain *Lactobacillus* sp. Mar 8. Proses pengeringan bahan terjadi pada suhu inlet $100^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan suhu outlet $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, sedangkan strain ini memiliki suhu optimal pertumbuhan $15-45^{\circ}\text{C}$ (Melville dan Russel, 1975). Kondisi tersebut dapat membawa sel menuju kematian.

Dari Tabel 2, tingkat survival/viabilitas sel dapat dihitung. Data menunjukkan bahwa setelah dienkapsulasi, jumlah sel mengalami penurunan. Viabilitas sel setelah dienkapsulasi menggunakan susu skim dengan konsentrasi 5% dan 10% secara berturut-turut adalah 51,69% dan 72,37% (Gambar 2.). Penyebab utama kematian sel adalah panas tinggi yang diterima oleh sel pada waktu proses enkapsulasi. *Lactobacillus* bukan bakteri termofilik, melainkan mesofilik. Bakteri tersebut tidak mempunyai

protein yang stabil pada suhu tinggi. Bila sel terpapar panas tinggi akibat enkapsulasi yang tidak sempurna, protein akan mengalami kerusakan sehingga sel mengalami kematian. Sel-sel yang telah terenkapsulasi secara sempurna mampu bertahan selama proses *spray drying*. Sebagai usaha untuk meningkatkan kinerja dan viabilitas bakteri selama proses *spray drying*, *pretreatment* sebagai proses adaptasi mungkin perlu dilakukan.

Viabilitas *Lactobacillus* yang dienkapsulasi dengan menggunakan susu skim dengan konsentrasi 10% lebih tinggi dibandingkan dengan yang menggunakan susu skim dengan konsentrasi 5%. Berdasarkan data tersebut, proporsi jumlah bakteri dan jumlah penyalut yang digunakan dalam enkapsulasi harus dipertimbangkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi susu skim 5% tidak cukup memberikan perlindungan yang optimum untuk tiap sel bakteri. Perbandingan antara jumlah bakteri dan penyalut susu skim dengan konsentrasi 10% terbukti lebih baik dalam memberikan perlindungan bagi sel yang dienkapsulasi. Konsentrasi susu skim 10% mampu memberikan perlindungan yang lebih baik karena lebih optimal dalam melindungi sel dari panas yang berlebihan yang diterima sel selama proses enkapsulasi di dalam inlet dan outlet *spray dryer*. Pada konsentrasi susu skim 10%, sel terenkapsulasi juga memiliki kemampuan melepas panas yang lebih baik dari dalam *core*, ketika suhu dalam *core* lebih panas dibandingkan suhu pada ruang pengeringan.

Keuntungannya adalah panas di dalam *core* dapat dikurangi sehingga kematian sel akibat panas berkurang. Menurut Lian *et al.* (2001) setelah struktur permukaan mikrokapsul diamati dengan menggunakan teknik *Scanning Electron Microscopy* (SEM), terlihat bahwa pada permukaan kapsul terdapat retakan-retakan yang sangat halus. Retakan inilah yang kemudian diduga memfasilitasi agar panas dapat keluar dari dalam *core*, sehingga viabilitas sel selama proses enkapsulasi dapat dipertahankan.

Dengan menggunakan persamaan dari Sakane dan Kuroshima (1997), waktu simpan sel terenkapsulasi dapat diperkirakan. Berdasarkan perhitungan terhadap data pada Tabel 2, waktu yang diperlukan untuk mencapai *survival rate* sama dengan nol adalah 41,28 tahun. Ini berarti bahwa semua bakteri yang terdapat dalam mikrokapsul yang disimpan pada suhu 5°C berangsur-angsur akan mati sampai tidak ada lagi sel yang hidup, dalam waktu sekitar 41,28 tahun. Produk yang masih disimpan melebihi batas waktu tersebut tidak akan memiliki manfaat karena seluruh sel sudah mengalami kematian.

KESIMPULAN

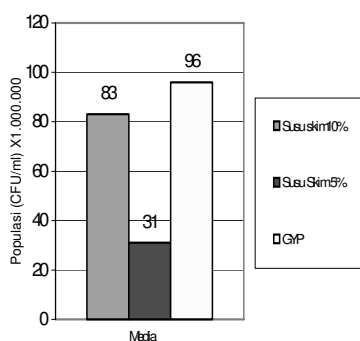
Isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 memiliki viabilitas lebih tinggi jika dienkapsulasi menggunakan susu skim dengan konsentrasi 10% daripada 5%. Sel *Lactobacillus* terenkapsulasi akan

Tabel 1. Pertumbuhan isolat *Lactobacillus* dalam berbagai media.

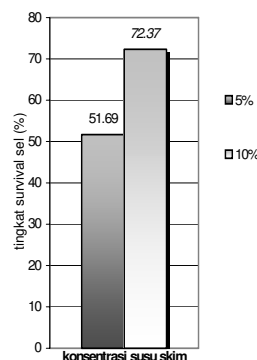
Ulangan	Media		
	Susu skim 10%	Susu skim 5%	GYP
1 (CFU/mL)	$8,6 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$9,1 \times 10^7$
2 (CFU/mL)	$8,8 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$9,4 \times 10^7$
3 (CFU/mL)	$7,5 \times 10^7$	$2,9 \times 10^7$	$10,3 \times 10^7$
Rata-rata (CFU/mL)	$8,3 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$9,6 \times 10^7$

Tabel 2. Jumlah sel *Lactobacillus* sp. Mar 8.

Kondisi	Jumlah sel (CFU/mL)					
	Susu skim 10%			Susu skim 5%		
	A	B	Rerata	A	B	Rerata
Sebelum enkapsulasi	$10,7 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$	$7,6 \times 10^7$	$13,8 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$	$8,9 \times 10^7$
Setelah enkapsulasi	$4,9 \times 10^7$	$6,0 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$4,1 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$
Disimpan 2 minggu						
T = 5°C	$5,7 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$
T = 37°C	$17,9 \times 10^7$	$16,7 \times 10^7$	$17,3 \times 10^7$	$16,8 \times 10^7$	$23,4 \times 10^7$	$20,1 \times 10^7$



Gambar 1. Pertumbuhan isolat *Lactobacillus* sp. Mar 8 dalam berbagai media.



Gambar 2. Viabilitas sel *Lactobacillus* sp. Mar 8.

mencapai *survival rate* sama dengan nol dalam waktu 41,28 tahun. Strain *Lactobacillus* sp. Mar 8 terenkapsulasi dapat digunakan sebagai agensia probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1999. *Penyakit Jantung dan Stroke*. www.sarikata.com/index.php?fuseaction=home.baca.id=810
- Anonim. 2004a. *Dried Skim Milk*. www.iicag.com/product.html.
- Anonim. 2004b. *Fermented Milk*. www.techno_preneur.net
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris, and M. Jones. 2003. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric condition. *Journal of Microbiological Methods* 56: 27-35
- Effendi, E. 2000. *Mikroenkapsulasi Minyak Atsiri Jahe dengan Campuran Gum Arab Maltodekstrin dan Variasi Suhu Inlet Spray-Drier*. [Tesis]. Yogyakarta: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada.
- Frazier, W.C. and D.C. Westhoff. 1998. *Food Microbiology*. 4th ed. New York: Mc Graw Hill Inc.
- Girindra, A. 1993. *Biokimia I*. Jakarta: Gramedia.
- Guarner, F. and G.J. Scaafsma. 1998. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 39: 237-238.
- Hood, S.K. and E.A. Zottola. 1998. Effect of low pH on the ability of *Lactobacillus acidophilus* to survey and adherence to human intestinal cells. *Journal of Food Science* 53: 1514-1516.
- Kurniawati, Y. 2003. *Pengaruh Pemberian Lactobacillus terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih*. Bogor: Jurusan Biokimia FMIPA IPB.
- Lian, W., H. Hsiao, C. Chou. 2001. Survival of bifidobacteria after spray drying. *International Journal of Food Microbiology* 74:79-86.
- Master, K. 1997. Spray drier. In: Baker, C.G.J. *Industrial Drying for Foods*. 1st ed. London: Academic and Profesional.
- Melville, T.H. and C. Russel. 1975. *Microbiology for Dental Students*. 2nd ed. London: Williew Heinmann Medical Books Ltd.
- Nagao, F., M. Nakayama, T. Muto and K. Okumura. 2000. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain shirota on the immune system in healthy human subjects. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 64 (12): 2706-2708.
- Napitupulu, R.N.R., T. Yulinery, R. Hardiningsih, E. Kasim, dan N. Nurhidayat. 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.
- Sakane, T. and K. Kuroshima. 1997. Viability of dried cultures of various bacteria after preservation for over 20 years and their prediction by the accelerated storage test. *Microbiology Culture Collection Journal*. 13:1-7.
- Schrezenmeir, J. and M. de Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (suppl): 361S-364S
- Shortt C. 1999. The probiotic century: historical and current perspectives. *Review on Trend Food Science and Technology* 10: 411-417.
- Siswono. 2002. *Fast Food' Harus Dikonsumsi Terencana*. www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid1036726543,54127,
- Surono, I.S. 2002. Efek Probiotik Minuman Fermentasi Dadih dari Sumatera Barat. *Symposium on Biotechnology of Probiotics for Human Health*. Jakarta: BPPT.
- Victor, R.P. and D.R. Heldman. 2001. *Introduction to Food Engineering*. 3rd ed. London: Academic Press.
- Young, S.L., X. Sarda, and M. Rosenberg. 1995. Microencapsulating properties of whey proteins with carbohydrate. *Journal of Dairy Science* 76: 2878-2885.
- Yulinery, T., R.N.R. Napitupulu, R. Hardiningsih, E. Kasim, E. Triana, dan N. Nurhidayat. 2004. Aktivitas *Lactobacillus* sp. sebagai galur probiotik terhadap kadar HDL dan LDL tikus putih hiperkolesterolemia. *Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Semarang. 27-28 Agustus 2004.