

Optimasi *Yeast Extract* pada Media Halal untuk Produksi Bubuk Probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3

Optimization of Yeast Extract in Halal Medium for the Production of Lactiplantibacillus plantarum Kita-3 Probiotic Powder

Grace Priciliadela Saragih¹⁾, Komang Ayu Nocianitri^{1)*}, Luh Putu Trisna Darmayanti¹⁾, Endang Sutriswati Rahayu²⁾, Intan Rahmayanti³⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus Unud, Jimbaran, Kuta Selatan, Badung-Bali

²⁾ Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Teknika Utara Berek, Yogyakarta 55281, Indonesia

³⁾ PT. Royal Medicalink Pharmalab, Jl. Daeng Tata Raya No.37 B-C Ruko Tata Griyatama Makassar, Sulawesi Selatan 90224

*Penulis korepondensi: Komang Ayu Nocianitri, e-mail: nocianitri@unud.ac.id

Diterima: 4 Mei 2024 / Disetujui: 14 juni 2024

Abstract

Before producing probiotic powder through microencapsulation, probiotic bacteria must be grown on growth media that require nitrogen sources such as peptone and yeast extract to meet nutritional needs during growth. Fish waste can potentially be a source of peptone due to its high protein content which is a halal ingredient. Yeast extract contains amino acids, peptides, and vitamins that promote the growth of lactic acid bacteria but can increase production costs due to its high price. This study aims to determine the effect of yeast extract concentration in halal media on the cell count of *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 and to determine the concentrate-on of yeast extract in a halal medium that is most efficient for high cell count of *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3. This study utilized a Randomized Group Design with treatments of yeast extract concentration variance, comprising four levels: yeast extract at 0.5 percent, yeast extract at 1 percent, yeast extract at 1.5 percent, and yeast extract at 2 percent (control). Each treatment was replicated twice, resulting in eight experimental units. Data on pH, growth curve, and final powder weight were analyzed descriptively while total LAB data were analyzed using the Kruskal-Wallis non-parametric statistical test. The results indicated that the yeast extract concentration in halal media did not significantly affect ($p>0.05$) the growth and number of cells of *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3. The most efficient concentration of yeast extract in halal media to produce high growth and cell count was obtained from halal media with a yeast extract concentration of 0.5 percent, resulting in a total LAB value at the beginning of incubation of 6.69 log CFU/mL, which increased to 9.32 log CFU/mL at the end of incubation, and in probiotic powder around 12.13 log CFU/g.

Keywords: *fish waste, halal medium, Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3, *probiotic powder, yeast extract*

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme yang memberikan dampak positif bagi kesehatan inangnya ketika dikonsumsi dalam jumlah yang memadai dan tetap hidup

dalam saluran pencernaan (FAO/WHO, 2001). Salah satu strain probiotik lokal *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3, merupakan bakteri asam laktat yang berasal dari keju Halloumi yang diproduksi oleh

Mazaraat Artisan Cheese, Yogyakarta. Penilaian keamanan sebelumnya A'inurrofiqin *et al.*, (2022), menunjukkan bahwa konsumsi *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 dengan dosis tinggi (10^{11} CFU/mL) pada tikus Sprague Dawley selama 28 hari tidak menunjukkan adanya efek samping. *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 dapat bertahan pada kondisi asam lambung (pH 2,0-2,5) dan garam empedu; memiliki aktivitas antibakteri sedang terhadap *Shigella dysenteriae* dan aktivitas antibakteri tinggi terhadap *Staphylococcus typhi*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* serta sifat permukaan yang hidrofobik (Ratna *et al.*, 2021).

Probiotik yang beredar di pasaran umumnya dalam bentuk cair yang memiliki kekurangan dalam hal stabilitas sedangkan jumlah probiotik diharapkan stabil selama penyimpanan supaya tetap memberikan manfaat bagi kesehatan saat dikonsumsi maka diperlukan upaya untuk menjaga stabilitas bakteri probiotik seperti melalui proses enkapsulasi. Enkapsulasi merupakan suatu metode yang dimanfaatkan untuk melindungi suatu bahan inti, seperti bakteri probiotik dengan menggunakan bahan khusus. Tujuan utamanya adalah mempertahankan agar bakteri probiotik tetap hidup dan tetap aman dari potensi kerusakan yang disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti suhu tinggi, zat kimia, asam lambung, dan garam empedu (Sumanti *et al.*,

2016). Menurut Kamil *et al.*, (2020), metode mikroenkapsulasi menggunakan susu skim dan sukrosa sebagai penyalut dengan teknik *freeze drying* mampu menjaga bakteri probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13 stabil selama penyimpanan dan tidak menghilangkan karakteristik probiotiknya.

Sebelum dilakukan enkapsulasi, bakteri probiotik dibiakkan terlebih dahulu dalam media pertumbuhan. *de Mann Rogosa and Sharpe* (MRS), merupakan salah satu media pertumbuhan yang dikhususkan bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Namun, hingga saat ini, MRS belum memiliki sertifikat halal maka diperlukan media alternatif yang kehalalannya terjamin. Media pertumbuhan memerlukan sumber nitrogen untuk menyediakan nutrisi selama pertumbuhan, yang biasanya berasal pepton, ekstrak daging, dan *yeast extract*. Sumber pepton yang halal dapat diperoleh dari nabati ataupun ekstrak daging hewan yang memenuhi kriteria halal. Penelitian sebelumnya menemukan bahwa ekstrak ampas ikan gabus dapat dimanfaatkan sebagai sumber pepton dalam pembuatan media halal yang digunakan untuk memproduksi bubuk *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13 karena ikan gabus memiliki kandungan protein yang tinggi yaitu sekitar 25,5% dengan kandungan albumin sebesar 6,22% (Supriyatno, 2003; Suryani, 2023). Menurut Listyanto dan Andriyanto (2009), albumin dalam daging

ikan gabus sering dimanfaatkan dalam industri pangan dan farmasi karena albumin dibutuhkan oleh manusia dalam proses penyembuhan luka, maka dengan diambilnya albumin tersebut menyisakan ampas yang kaya akan protein dan berpotensi sebagai sumber pepton.

Sumber nitrogen lainnya yang telah memenuhi kriteria halal dan mampu mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat adalah *yeast extract* karena kandungan asam amino, peptida, dan vitamin yang dimiliki yang bermanfaat bagi pertumbuhan mikroorganisme (Wardani dan Agustini, 2017). Penelitian sebelumnya Wee *et al.*, (2005) menyatakan bahwa, konsentrasi *yeast extract* 2% memberikan kondisi yang optimum bagi *Lactobacillus sp.* RKY2 dalam memproduksi asam laktat dan pertumbuhan sel. Namun, *yeast extract* yang beredar di pasaran memiliki harga yang tinggi sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan *yeast extract* dengan konsentrasi yang lebih rendah dari 2% tetapi dapat memberikan kondisi pertumbuhan yang optimal bagi *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 dalam media halal. Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *yeast extract* dalam media halal terhadap jumlah sel *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 dan untuk mengetahui konsentrasi *yeast extract* dalam media halal yang paling efisien untuk menghasilkan jumlah sel *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 yang tinggi.

METODE

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kultur murni beku *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 (koleksi Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada), buah nanas muda (Pasar Kranggan), air mineral (aqua), bubuk ampas ikan gabus (PT. Royal Pharmalab Medicalink), *yeast extract* (Nucel ® 786 MG), sukrosa (Gulaku), susu skim bubuk (Lactona), MRS *broth* (Merck), Agar Bacteriological No.1 (Oxoid), CaCO₃ (Merck), NaCl (Merck), aquades (CV. Progo Mulyo) dan spiritus (CV. Progo Mulyo).

Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari *juicer* (Cosmos CJ-388), timbangan analitik (Mettler), gelas ukur (pyrex), gelas beker, botol laboratorium 250 mL dan 1000 mL (Schott Duran), tabung *conical* 15 mL dan 50 mL (Biologix), autoklaf (Hirayama), *laminar air flow*, *water bath*, *drying oven*, vorteks (DLAB), inkubator, *freezer*, *refrigated centrifuge*, *freeze dryer*, pH meter (APERA), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), kuvet, mikropipet 1000µL, *blue tip* 1 mL, cawan petri *disposable* (Charuzu), botol jar kaca 100 mL, botol sentrifugasi, pisau, panci, kain saring, kompor, bunsen.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan perlakuan variasi konsentrasi *yeast extract*

yang terdiri dari 4 taraf perlakuan meliputi YE 0,5% (*yeast extract* 0,5%), YE 1% (*yeast extract* 1%), YE 1,5% (*yeast extract* 1,5%), dan YE 2% (*yeast extract* 2% sebagai kontrol). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak dua kali sehingga diperoleh delapan unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Preparasi Pepton Ekstrak Ampas Ikan Gabus

Preparasi pepton ekstrak ampas ikan gabus dilakukan dengan menggunakan enzim bromelin kasar dari buah nanas. Langkah pertama adalah mengupas dan memotong buah nanas menjadi potongan kecil, selanjutnya diekstraksi menggunakan *juicer* untuk mendapatkan cairan buah nanas (*crude enzyme*) yang kemudian diukur volumenya. Proses hidrolisis protein ampas ikan gabus dilakukan dengan mencampur bubuk ampas ikan gabus dan cairan buah nanas dengan perbandingan 1:10, Selanjutnya, ditambahkan air mineral dengan perbandingan 1:4, lalu dihomogenkan dalam *homogenizer* pada suhu 60°C selama 3 jam. Kemudian, enzim dinaktifkan dengan cara dipanaskan pada suhu 90°C selama 20 menit, lalu cairan disaring dengan kain saring dan kapas ke dalam botol jerigen, dan disimpan pada suhu -20°C. Saat akan digunakan, pepton dilakukan *thawing* terlebih dahulu.

Preparasi kultur *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3

Kultur stok *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 beku perlu dilakukan peremajaan sebanyak dua kali sebelum diinokulasi ke media halal. Sebelum dilakukan peremajaan, pepton terlebih dahulu dilakukan *thawing* hingga mencapai suhu ruang. Kemudian, 0,05 mL kultur stok dimasukkan ke dalam 5 mL media pre-starter yang telah disterilisasi dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Setelah itu, dilakukan peremajaan kedua dengan mengambil 1 mL kultur pre-starter dan diinokulasikan pada 100 mL media starter yang telah disterilisasi. Starter kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Media pre-starter dan media starter menggunakan media halal dengan komposisi air 75%, pepton ekstrak ampas ikan gabus 25%, sukrosa 3%, dan *yeast extract* 1,5%.

Preparasi Larutan Krioprotektan

Susu skim 10% dan sukrosa 1% ditambahkan dengan air hingga 1 liter, kemudian dihomogenkan. Larutan tersebut disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit. Setelah itu, larutan krioprotektan dapat disimpan pada suhu ±4°C sebelum digunakan.

Perbanyakan Sel *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada Media Pertumbuhan Halal

Tahapan ini dimulai dengan melakukan *thawing* terlebih dahulu pada pepton ekstrak ampas ikan gabus beku. Kemudian, dilakukan formulasi media halal

pada botol duran 1 liter dengan komposisi air 75%, pepton ekstrak ampas ikan gabus 25%, sukrosa 3%, dan *yeast extract* masing-masing perlakuan (0,5%, 1%, 1,5%, dan 2%). Setelah itu, larutan media halal tersebut dihomogenkan dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Sebanyak 10 mL kultur starter kemudian diinokulasi ke dalam 1 liter media halal tersebut dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 20 jam.

Pembuatan Bubuk Probiotik

Tahapan ini dimulai dengan pemanenan sel dari 1 liter media halal yang sebelumnya telah diperbanyak jumlah selnya dan diinkubasi selama 20 jam. Selanjutnya, sel disentrifugasi dengan menggunakan *refrigerated centrifuge* pada kecepatan 3500 rpm selama 6 menit pada suhu 4°C, kemudian supernatan dibuang. Pelet sel yang diperoleh ditambahkan dengan 50 mL larutan krioprotektan dan dikocok hingga homogen. Setelah itu, suspensi tersebut disimpan pada suhu -20°C selama 24 jam dan dikeringkan menggunakan teknik *freeze drying* pada tekanan 0,1 mTorr selama 72 jam. Setelah suspensi tersebut kering, bubuk probiotik tersebut kemudian dihaluskan.

Variabel yang Diamati

Variabel-variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain adalah pH (AOAC, 1995), kurva pertumbuhan yang diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-

Vis, bobot akhir bubuk, dan total BAL (Fardiaz, 1993).

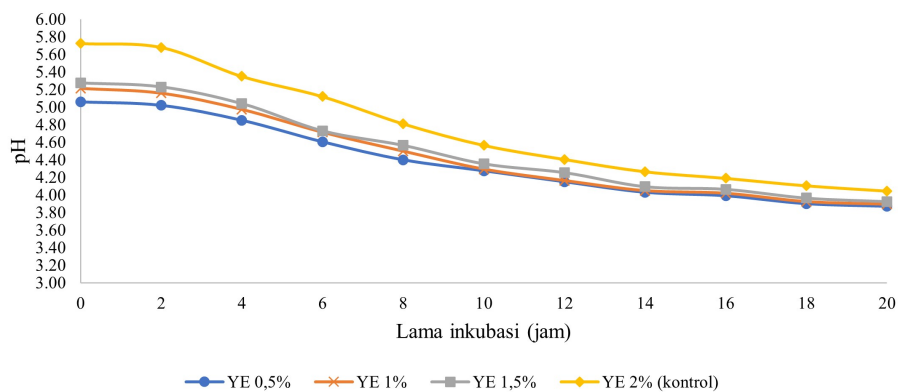
Analisis Data

Data hasil penelitian (pH, kurva pertumbuhan, dan bobot akhir bubuk) dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan gambar dan tabel sedangkan data total BAL dianalisis menggunakan uji statistik non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Jika nilai signifikansi kurang dari 0,5 ($p < 0,05$) maka H_1 diterima. H_1 menunjukkan bahwa konsentrasi *yeast extract* berpengaruh nyata terhadap total BAL, sedangkan jika H_1 ditolak maka konsentrasi *yeast extract* tidak berpengaruh nyata terhadap total BAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH

Nilai rata-rata pH awal dan akhir inkubasi pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus, dengan perlakuan variasi konsentrasi *yeast extract*, dapat dilihat pada Tabel 1. Pada awal inkubasi, nilai pH media halal berkisar antara $5,06 \pm 0,70$ hingga $5,73 \pm 0,09$. *Lactiplantibacillus plantarum* dapat bertumbuh dengan baik pada media pertumbuhan dengan nilai pH sekitar 5.0-7.0 (Palachum *et al.*, 2018). Nilai pH awal pada seluruh perlakuan telah berada pada kisaran yang baik bagi pertumbuhan bagi pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum*.



Gambar 1. Kurva penurunan pH pada media halal dengan variasi konsentrasi yeast extract

Berdasarkan Tabel 1, seluruh perlakuan mengalami penurunan pH karena terjadinya proses fermentasi. Setelah inkubasi selama 20 jam, nilai pH media halal dengan variasi konsentrasi yeast extract mengalami penurunan hingga nilai pH mencapai rentang antara $3,87 \pm 0,00$ hingga $4,05 \pm 0,04$. Nilai pH tertinggi didapatkan pada media petumbuhan halal dengan konsentrasi yeast extract 2% (kontrol), sedangkan nilai pH terendah didapatkan pada media halal dengan konsentrasi yeast extract 0,5%. Kurva penurunan pH pada media halal selama 20 jam inkubasi ditampilkan pada Gambar 1.

Pengamatan pH pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dilakukan setiap 2 jam mulai dari jam ke-0 hingga jam ke-20 inkubasi. pH media halal seluruh perlakuan mulai mengalami penurunan pada jam ke-2 inkubasi dan semakin menurun hingga pada jam ke-20 waktu inkubasi. Penurunan nilai pH terjadi karena aktivitas bakteri asam laktat (BAL) yang memproduksi asam laktat dari hasil

pemecahan karbohidrat. *Lactiplantibacillus plantarum* merupakan BAL yang termasuk dalam kelompok heterofermentatif, di mana glukosa dipecah menjadi gliseraldehid-3-fosfat, asetil fosfat dan karbon dioksida sebagai produk samping. Gliseraldehid-3-fosfat akan diubah menjadi asam laktat, sedangkan asetil fosfat diubah menjadi asam asetat dan/atau etanol (Bangar *et al.*, 2022). Kartikasari dan Nisa (2014) menyatakan bahwa asam laktat yang dihasilkan akan diekskresikan keluar dari sel dan terakumulasi dalam media fermentasi sehingga seiring dengan berlangsungnya proses fermentasi, total asam yang terakumulasi diperkirakan akan meningkat. Akumulasi asam laktat akan menurunkan nilai pH pada awal fermentasi dengan cepat kemudian asam laktat terurai menjadi ion H^+ dan $(CH_3CH(OH)CO_2^-)$. BAL heterofermentatif menghasilkan asam organik lain selain asam laktat produk sampingan, seperti asam asetat, asam propionat, dan asam butirat. Proses pembentukan asam-asam lemah seperti

asam asetat, propionat, dan butirrat pada BAL heterofermentatif disebabkan oleh hidrolisis asam laktat. Asam-asam organik tersebut kemudian terakumulasi dan meningkatkan total asam sehingga terjadi penurunan pH selama proses fermentasi berlangsung.

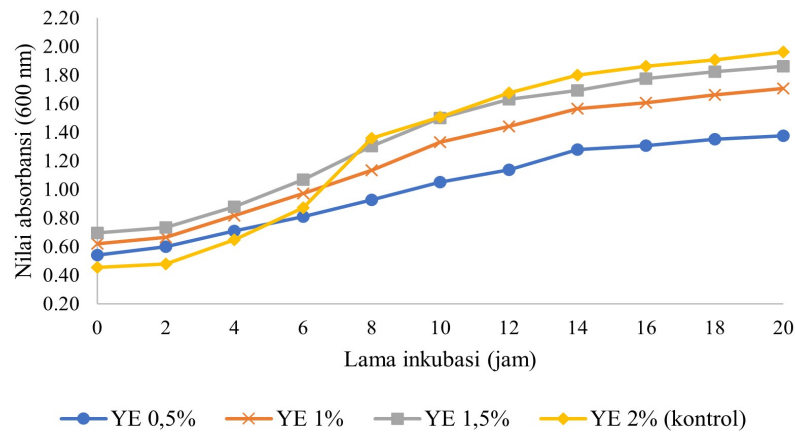
Pada Tabel 1, semakin tinggi konsentrasi *yeast extract* yang digunakan, nilai pH media halal pada akhir inkubasi akan semakin tinggi. *Yeast extract* dikenal memiliki kemampuan sebagai penyangga, yang akan semakin efektif dalam mempertahankan pH seiring dengan peningkatan konsentrasi yang digunakan. Hal ini didukung oleh pernyataan Gaudreau *et al.*, (1997), bahwa *yeast extract* mempunyai kapasitas sebagai penyangga dalam fermentasi asam laktat. Kandungan L-histidin yang terdapat dalam *yeast extract* diketahui berperan sebagai alternatif yang dapat meningkatkan kapasitas penyangga dalam suatu media pertumbuhan (Ayivi *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya Atilola *et al.*, (2015) juga menemukan bahwa *yeast extract* merupakan sumber protein yang memiliki kapasitas sebagai penyangga yang lebih tinggi dibandingkan beberapa sumber protein lainnya seperti pepton, tripton, dan ekstrak daging.

Menurut Mennah-Govela *et al.*, (2019), faktor-faktor utama yang

mempengaruhi kapasitas penyangga adalah protein, kelompok asam basa, dan asam organik. Protein berperan sebagai penyangga yang baik karena memiliki kelompok asam-basa seperti kelompok amino dan karboksil, yang menunjukkan ketahanan terhadap perubahan pH terutama ketika nilai pH mendekati atau sama dengan nilai pKa protein tersebut. Brown dan Grimaud (2023) juga menyatakan bahwa asam amino, penyusun protein, mempunyai kemampuan menerima atau memberikan proton dengan nilai pKa yang berbeda. Media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus tinggi akan kandungan protein yang berasal dari pepton ampas ikan gabus dan *yeast extract* sehingga memberikan kemampuan regulasi pH pada media selama berlangsungnya proses fermentasi.

Kurva pertumbuhan

Kurva pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 diamati melalui turbidimetri pada panjang gelombang 600 nm yang dianggap optimal untuk mengukur kekeruhan larutan dengan rentang warna dari kuning hingga kecoklatan (Rozana *et al.*, 2021). Kurva pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada media halal dengan variasi konsentrasi yeast extract

Berdasarkan Gambar 2, pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dengan variasi konsentrasi yeast extract selama 20 jam waktu inkubasi melewati tiga fase utama yang terdiri dari fase lag, fase log, dan fase stasioner. Konsentrasi yeast extract yang semakin tinggi dalam media ekstrak ampas ikan gabus akan meningkatkan nilai absorbansi, yang menunjukkan bahwa suspensi yang semakin keruh menandakan bahwa semakin banyak jumlah bakteri yang tumbuh (Hidayatulloh *et al.*, 2019). Menurut penelitian Gökmen *et al.*, (2024), penambahan yeast extract dalam media pertumbuhan berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum*, di mana yeast extract berperan sebagai sumber nitrogen yang dapat meningkatkan pertumbuhannya. Hal ini disebabkan oleh sumber nitrogen yang terdapat dalam yeast extract seperti asam amino dan peptida dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri asam

laktat. Selain itu, yeast extract juga kaya akan vitamin yang secara umum diperlukan oleh bakteri asam laktat dalam pertumbuhannya.

Pada Gambar 2, ditunjukkan bahwa *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 mengalami fase lag pada lama inkubasi jam ke-0 hingga jam ke-2. Fase lag (adaptasi) merupakan fase di mana bakteri menggunakan kemampuannya untuk menyesuaikan diri di lingkungannya. Pada penelitian ini, fase lag yang dilalui ini berlangsung singkat karena tumbuh pada jenis media yang sama yang digunakan pada tahap peremajaan sel. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap lamanya fase adaptasi antara mengalami fase lag yang singkat karena tumbuh pada jenis media yang sama yang digunakan pada tahap peremajaan sel. Beberapa faktor yang berpengaruh terhadap lamanya fase adaptasi antara lain kondisi pH, suhu dan sifat fisiologis mikroba pada media sebelumnya (Volk dan Wheeler, 1993). Sel bakteri mengalami peningkatan

biomassa sel, ukuran sel, dan perubahan komposisi kimia selama fase lag (Wulandari *et al.*, 2022).

Setelah fase lag, fase yang selanjutnya dialami pada pertumbuhan oleh *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada media halal adalah fase log (eksponensial). Pada Gambar 2, terlihat bahwa *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada keempat media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dengan konsentrasi *yeast extract* yang berbeda-beda memasuki fase log bersamaan yaitu pada jam ke-2. Fase log merupakan fase di mana jumlah bakteri meningkat secara signifikan karena pertumbuhannya berkembang dengan cepat. Pada fase log, bakteri asam laktat merombak karbohidrat menjadi asam-asam organik seperti asam laktat asam asetat, asam format, asam kaproat, asam propionat, asam butirir, dan asam valerat sehingga menyebabkan penurunan pH (Blajman *et al.*, 2018). Pada keempat media tersebut, *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 berada pada fase log hingga mencapai jam ke-14. Faktor-faktor utama yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri pada fase log terdiri dari faktor biologis (karakteristik dan morfologi mikroba) dan faktor non-biologis (jumlah nutrisi yang terdapat dalam media pertumbuhan, suhu, dan pH media) (Rolfe *et al.*, 2012).

Fase terakhir yang dialami *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 selama 20 jam waktu inkubasi yakni fase stasioner.

Gambar 2 menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 pada keempat media ekstrak ampas ikan gabus dengan variasi konsentrasi *yeast extract* memasuki fase stasioner pada jam yang sama yaitu pada jam ke-14 hingga jam ke-20. Fase stasioner merupakan fase di mana jumlah bakteri yang tumbuh setara dengan jumlah bakteri yang mati. Selain itu, selama fase ini kecepatan pertumbuhan bakteri melambat dikarenakan nutrisi dalam media pertumbuhan yang mulai berkurang dan metabolit atau toksik yang dihasilkan mulai menumpuk (Wulandari *et al.*, 2022).

Total BAL

Nilai rata-rata total BAL pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dengan perlakuan variasi konsentrasi *yeast extract* dan bubuk probiotik dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, rata-rata total BAL yang diperoleh pada saat jam ke-0 waktu inkubasi adalah sekitar $6,55 \pm 0,06$ log CFU/mL hingga $7,23 \pm 0,99$ log CFU/mL. Sementara itu, pada jam ke-20 waktu inkubasi, rata-rata total BAL yang terhitung sekitar $9,32 \pm 0,14$ log CFU/mL hingga $9,74 \pm 0,63$ log CFU/mL. Hal ini menunjukkan bahwa *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 mampu bertumbuh dengan baik pada keempat jenis media halal dengan konsentrasi *yeast extract* yang berbeda-beda yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel sekitar 2-3 log.

Tabel 1. Nilai rata-rata pH dan total BAL pada media halal dengan perlakuan variasi konsentrasi yeast extract

Perlakuan	pH		Total BAL		
	Awal inkubasi	Akhir inkubasi	Awal inkubasi (log CFU/mL)	Akhir inkubasi (log CFU/mL)	Setelah freeze drying (log CFU/g)
YE 0,5%	5,06 ± 0,70	3,87 ± 0,00	6,69 ± 0,59 ^a	9,32 ± 0,14 ^a	12,13 ± 0,36 ^a
YE 1%	5,22 ± 0,61	3,90 ± 0,07	7,03 ± 0,94 ^a	9,35 ± 0,15 ^a	12,23 ± 0,23 ^a
YE 1,5%	5,28 ± 0,50	3,93 ± 0,03	7,23 ± 0,99 ^a	9,74 ± 0,63 ^a	12,35 ± 1,23 ^a
YE 2% (kontrol)	5,73 ± 0,09	4,05 ± 0,04	6,55 ± 0,06 ^a	9,46 ± 0,42 ^a	12,13 ± 0,34 ^a

Keterangan: Nilai rata-rata ± standar deviasi (n=2). Notasi yang sama di belakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan bahwa perlakuan tidak berbeda nyata (p>0,05)

Penelitiannya sebelumnya Mamun *et al.*, (2023), menunjukkan bahwa *yeast extract* merupakan sumber nitrogen yang paling baik bagi pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* TISTR 2083 dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya yaitu (NH₄)₂SO₄, (NH₄)₂HPO₄, dan pepton. Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis, konsentrasi *yeast extract* tidak berpengaruh secara signifikan (p>0,05) terhadap total BAL. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian sebelumnya Lim (2010), *yeast extract* tidak berpengaruh signifikan terhadap jumlah sel *viable Lactobacillus plantarum* KC21. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh konsentrasi *yeast extract* 0,5 persen yang telah mencapai tingkat total BAL yang optimum sehingga perbedaan konsentrasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap total BAL. Menurut Sholeha dan Agustini (2021), konsentrasi substrat berkaitan dengan kecepatan aktivitas maksimum enzim yang mana setelah enzim mencapai aktivitas maksimum, peningkatan lebih lanjut dalam

konsentrasi substrat tidak lagi mempengaruhi aktivitas enzim karena enzim telah mencapai titik kejenuhan dengan substrat. Hal ini menunjukkan bahwa media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus dengan konsentrasi *yeast extract* 0,5% dapat dijadikan sebagai media yang cocok untuk pertumbuhan *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3.

Rata-rata total BAL bubuk probiotik dari masing-masing media halal dengan perlakuan variasi konsentrasi *yeast extract* adalah 12,13 ± 0,36 log CFU/g, 12,23 ± 0,27 log CFU/g, 12,35 ± 1,23 log CFU/g, dan 12,13 ± 0,34 log CFU/g. Berdasarkan Tabel 1, *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 mengalami kenaikan jumlah sel setelah dilakukan proses *freeze drying*. Hal ini disebabkan penambahan larutan krioprotektan, seperti susu skim dan sukrosa, dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik selama proses *freeze drying* dan masa penyimpanan (Kanimozhi dan Sukumar, 2023). Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis, konsentrasi *yeast extract*

pada media halal tidak berpengaruh secara signifikan ($p > 0,05$) terhadap total BAL pada bubuk. Menurut (Wang *et al.*, 2020), faktor utama yang berpengaruh terhadap viabilitas bakteri asam laktat saat proses *freeze drying* terdiri dari faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik yang paling relevan adalah jenis mikroorganisme sedangkan faktor ekstrinsik yang signifikan adalah prosedur pembekuan (kecepatan pembekuan, suhu pencairan, dan jenis serta konsentrasi krioprotektan yang digunakan). Meskipun tidak terdapat perubahan yang signifikan dalam konsentrasi *yeast extract* pada keempat jenis media halal tersebut, namun total BAL yang dihasilkan tetap sesuai dengan standar probiotik. Berdasarkan pernyataan Wang *et al.*, (2009), pada umumnya jumlah minimum bakteri bagi suatu produk probiotik untuk dapat memberikan manfaat bagi inangnya adalah 6-7 log CFU/g atau mL.

Hasil mikroenkapsulasi

Lactiplantibacillus plantarum Kita-3 dilakukan mikroenkapsulasi menggunakan metode pengeringan beku yang mana sel bakteri dibekukan terlebih dahulu sebelum dikeringkan. Setelah sel selesai dipanen dengan cara sentrifugasi pada suhu dingin, selanjutnya dilakukan penambahan larutan krioprotektan untuk membantu melindungi sel bakteri dari kerusakan. Bobot akhir bubuk yang dihasilkan dari proses mikroenkapsulasi *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 dengan metode

pengeringan beku ditampilkan pada Tabel 2. Perlakuan variasi konsentrasi *yeast extract* pada media produksi bubuk probiotik berbasis ampas ikan gabus menghasilkan bobot akhir bubuk yang berbeda. Berdasarkan Tabel 2, ditunjukkan bahwa perlakuan *yeast extract* 2% (kontrol) menghasilkan bobot akhir yang paling tinggi yaitu $13,76 \pm 0,14$ g sedangkan bobot terendah diperoleh dari perlakuan *yeast extract* 0,5% dengan bobot akhir bubuk sebesar $12,03 \pm 0,99$ g. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh media halal dengan konsentrasi *yeast extract* 2% menghasilkan biomassa sel yang paling banyak. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi produksi biomassa sel probiotik adalah substrat (media pertumbuhan), pH, suhu inkubasi, kecepatan agitasi, lama inkubasi, dan sebagainya. *Yeast extract* telah terbukti efektif dalam meningkatkan produksi biomassa beberapa spesies BAL karena kaya akan nitrogen dan vitamin B kompleks. Penelitian sebelumnya Choi *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa *yeast extract* menghasilkan produksi biomassa sel pada *Lactobacillus plantarum* 20065 yang terbaik dibandingkan dengan pepton kedelai, tripton, pepton, ekstrak daging, dan *malt extract*. Peningkatan konsentrasi *yeast extract* pada media halal berbasis ekstrak ampas ikan gabus akan menghasilkan bubuk probiotik dengan bobot akhir yang lebih tinggi karena meningkatnya berat kering sel.

Tabel 2. Bobot akhir bubuk probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3

Perlakuan	Bobot akhir bubuk probiotik (g)
YE 0,5%	12,03 ± 0,99
YE 1%	12,69 ± 0,67
YE 1,5%	13,01 ± 0,90
YE 2% (kontrol)	13,76 ± 0,14

Keterangan: Nilai rata-rata bobot akhir bubuk probiotik ± standar deviasi (n=2)

Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya (Wee *et al.*, 2004), konsentrasi *yeast extract* tertinggi, yaitu 2% dalam media kultur *Enterococcus faecalis* RKY1 menghasilkan berat kering sel yang paling tinggi dibandingkan konsentrasi *yeast extract* yang lebih rendah.

KESIMPULAN

Konsentrasi *yeast extract* pada media halal tidak berpengaruh secara signifikan ($p > 0,05$) terhadap jumlah sel *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3. Semakin meningkat konsentrasi *yeast extract* dalam media halal maka nilai absorbansi (OD), nilai pH dan bobot akhir bubuk probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 meningkat. Konsentrasi *yeast extract* 0,5% pada media halal paling efisien untuk menghasilkan jumlah sel *Lactiplantibacillus plantarum* Kita-3 yang tinggi dengan jumlah sel pada awal inkubasi sebesar 6,69 log CFU/mL yang meningkat menjadi 9,32 log CFU/mL pada akhir inkubasi dan pada bubuk probiotik sekitar 12,13 log CFU/g.

DAFTAR PUSTAKA

- A'inurrofiqin, M., Rahayu, E. S., Suroto, D. A., Utami, T., & Mayangsari, Y. (2022). Safety assessment of the indigenous probiotic strain *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Kita-3 using Sprague–Dawley rats as a model. *AIMS Microbiology*, 8(4), 403–421. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2022028>
- AOAC. (1995). *Official methods of analysis of AOAC international*.
- Atilola, O. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., & Ibrahim, S. A. (2015). Use of phytone peptone to optimize growth and cell density of *Lactobacillus reuteri*. *Foods*, 4(3), 318–327. <https://doi.org/10.3390/foods4030318>
- Ayivi, R. D., Ibrahim, S. A., Krastanov, A., Somani, A., & Siddiqui, S. A. (2022). The impact of alternative nitrogen sources on the growth and viability of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Journal of Dairy Science*, 105(10), 7986–7997. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-21971>
- Bangar, S. P., Suri, S., Trif, M., & Ozogul, F. (2022). Organic acids production from lactic acid bacteria: A preservation approach. *Food Bioscience*, 46(February), 101615. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101615>
- Blajman, J. E., Páez, R. B., Vinderola, C. G., Lingua, M. S., & Signorini, M. L. (2018). A meta-analysis on the effectiveness of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria for corn silage. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/jam.14084>
- Brown, J., & Grimaud, A. (2023). Proton-donating and chemistry-dependent buffering capability of amino acids for the hydrogen evolution reaction. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 25(11),

- 8005–8012.
<https://doi.org/10.1039/D3CP00552F>
- FAO/WHO. (2001). *Health and nutritional properies and guidelines for evaluation. Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria.*
<https://doi.org/10.1201/9781420009613.ch16>
- Fardiaz, S. (1993). *Analisis Mikrobiologi Pangan.* Raja Grafindo Persada.
- Gaudreau, H., Champagne, C. P., Goulet, J., & Conway, J. (1997). Lactic fermentation of media containing high concentrations of yeast extracts. *Journal of Food Science*, 62(5), 1072–1075.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb15040.x>
- Gökmen, G. G., Sariyıldız, S., Cholakov, R., Nalbantsoy, A., Baler, B., Aslan, E., Düzel, A., Sargin, S., Göksungur, Y., & Kışla, D. (2024). A novel *Lactiplantibacillus plantarum* strain: probiotic properties and optimization of the growth conditions by response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(2).
<https://doi.org/10.1007/s11274-023-03862-3>
- Hidayatulloh, A., Gumilar, J., & Harlia, E. (2019). Potensi Senyawa Metabolit yang Dihasilkan *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 Sebagai Bahan Biopreservasi dan Anti Bakteri pada Bahan Pangan Asal Hewan. *JITP*, 7(2).
<https://doi.org/https://doi.org/10.20956/jitp.v7i2.6811>
- Kamil, R. Z., Yanti, R., Murdiati, A., Juffrie, M., & Rahayu, E. S. (2020). Microencapsulation of indigenous probiotic *Lactobacillus plantarum* Dad-13 by spray and freeze-drying: Strain-dependent effect and its antibacterial property. *Food Research*, 4(6), 2181–2189.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).280](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).280)
- Kanimozhi, N. V., & Sukumar, M. (2023). Effect of different cryoprotectants on the stability and survivability of freeze dried probiotics. *Food Chemistry Advances*, 3, 100428.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foc.2023.100428>
- Kartikasari, D. I., & Nisa, F. C. (2014). Pengaruh penambahan sari buah sirsak dan lama fermentasi terhadap karakteristik fisik dan kimia yoghurt. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri Vol.*, 2(4), 239–248.
- Lim, S. M. (2010). Cultural conditions and nutritional components affecting the growth and bacteriocin production of *Lactobacillus plantarum* KC21. *Food Science and Biotechnology*, 19(3), 793–802. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0111-1>.
- Listyanto, N., & Andriyanto, S. (2009). Ikan Gabus (*Channa striata*) Manfaat Pengembangan dan Alternatif Teknik Budidayanya. *Media Akuakultur*, 4(1), 18–24.
- Mamun, A. A., Masniyom, P., & Maneesri, J. (2023). Optimization of sugarcane juice as a culture medium for scale up of *Lactobacillus plantarum* TISTR 2083 production. *Food Research*, 7(4), 272–280.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(4\).874](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(4).874)
- Mennah-Govela, Y. A., Singh, R. P., & Bornhorst, G. M. (2019). Buffering capacity of protein-based model food systems in the context of gastric digestion. *Food and Function*, 10(9), 6074–6087.
<https://doi.org/10.1039/c9fo01160a>
- Palachum, W., Choorit, W., & Chisti, Y. (2018). Accumulation of conjugated linoleic acid in *Lactobacillus plantarum* WU-P19 is enhanced by induction with linoleic acid and chitosan treatment. *Annals of Microbiology*, 68(10), 611–624.
<https://doi.org/10.1007/s13213-018-1368-5>
- Ratna, D. K., Evita, M. M., Rahayu, E. S., Cahyanto, M. N., Wikandari, R., & Utami, T. (2021). Indigenous lactic acid Bacteria from halloumi cheese as a probiotics candidate of Indonesian origin. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 16(1), 39–44.
<https://doi.org/10.37290/ijpp2641-7197.16:39-44>
- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A. D. S., Alston, M., Stringer, M. F., Betts, R. P., Baranyi, J., Peck, M. W., & Hinton, J. C. D. (2012). Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *Journal of Bacteriology*, 194(3), 686–701.
<https://doi.org/10.1128/JB.06112-11>

- Rozana, E., Anwar, S. H., & Sulaiman, M. I. (2021). Potensi Minyak Mikroalga Dan Khamir Sebagai Sumber Asam Lemak Esensial. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 31(3), 332–342. <https://doi.org/10.24961/j.tek.ind.pert.2021.31.3.332>
- Sholeha, R., & Agustini, R. (2021). Lipase Biji-Bijian Dan Karakteristiknya. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 168–183. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p168-183>
- Sumanti, D. M., Lanti, I., Hanidah, I.-I., Sukarminah, E., & Giovanni, A. (2016). Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Maltodekstrin Sebagai Penyalut Terhadap Viabilitas dan Karakteristik Mikroenkapsulasi Suspensi Bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan metode freeze drying. *Jurnal Penelitian Pangan (Indonesian Journal of Food Research)*, 1(1), 7–13. <https://doi.org/10.24198/jp2.2016.vol1.1.02>
- Supriyatno, E. (2003). Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) sebagai Makanan Fungsional Mengatasi Permasalahan Gizi Masa Depan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Suryani, R. (2023). Pemanfaatan Ampas Ikan Gabus Sebagai Sumber Pepton Media Produksi *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* Dad-13. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Volk, W. A., & Wheeler, M. F. (1993). *Mikrobiologi Dasar* (Edisi Kelima). Penerbit Erlangga.
- Wang, G. Q., Pu, J., Yu, X. Q., Xia, Y. J., & Ai, L. Z. (2020). Influence of freezing temperature before freeze-drying on the viability of various *Lactobacillus plantarum* strains. *Journal of Dairy Science*, 103(4), 3066–3075. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17685>
- Wang, J., Guo, Z., Zhang, Q., Yan, L., Chen, W., Liu, X.-M., & Zhang, H.-P. (2009). Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2468–2476. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2008-1849>
- Wardani, R. Y., & Agustini, R. (2017). Pengaruh Konsentrasi Yeast Hydrolysate Enzimatic (YHE) Sebagai Suplemen Media Kultur Untuk Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. *UNESA Journal of Chemistry*, 6(1), 25–31.
- Wee, Y. J., Kim, J. N., Yun, J. S., & Ryu, H. W. (2005). Optimum conditions for the biological production of lactic acid by a newly isolated lactic acid bacterium, *Lactobacillus sp.* RKY2. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10(1), 23–28. <https://doi.org/10.1007/BF02931178>
- Wulandari, E., Putranto, W. S., Gumilar, J., Suryaningsih, L., Pratama, A., & Anggaini, T. K. (2022). Kecepatan Pertumbuhan Spesifik Bakteri Asam Laktat dengan Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai Studi Awal Produksi Flavored Yogurt. *Jurnal Agripet*, 22(1), 72–78. <https://doi.org/10.17969/agripet.v22i1.21129>