

VIABILITAS SEL DAN AKTIVITAS ANTIMIKROBA BIO-KAPSUL PROBIOTIK *Lb paracasei ssp paracasei M13* HASIL EKSTRUSI KARAGENAN-SKIM

Mutia Elida¹, Gusmalini², dan Iza Ayu Saufani³

^{1,2)} Program Studi Teknologi Pangan, Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh, Payakumbuh, Sumatera Barat, 26271, Indonesia

³⁾ Program Studi Teknologi Pangan dan Gizi, Universitas M. Natsir Bukittinggi, Bukittinggi, Sumatera Barat, 26218, Indonesia

E-mail: elida_mutia@yahoo.com

Abstract

*Bio-capsule probiotics *Lb paracasei ssp paracasei M13* made using the coating material in the form of polysaccharides and proteins that carrageenan-skim as physical protective material and a stabilizer of cell viability during processing. Cell viability was calculated to look at the ability of the cells after the extrusion process is carried out either in the form of a bio-capsule of wet and dry, and the antimicrobial activity against pathogenic *E. coli* is used method of contact for 3 hours. The best treatment will be used as a starter in the manufacture of probiotic products to prevent diarrheal diseases in the community. This research was conducted with three treatments of carrageenan-skim coating 1: 1 comparison; 2: 1; and 3: 1, each treatment was repeated 3 times.*

*The results showed the highest wet bio-capsule cell viability at 2: 1 treatment was 1.97×10^9 CFU / g, and the highest viability of dry bio-capsule cells was 10^8 CFU / g for all treatments. The ability to reduce the number of pathogens of *E. coli* bio-capsules wet after 3 hours contact time was highest at a ratio of 2: 1 ie 2.21 Log / CFU with the amount of *E. coli* 5.7160 log CFU / g. In dry bio-capsules the best results were 2: 1 treatment with a decrease in *E. coli* of 2.15 Log / CFU and the amount of *E. coli* after contact time 5.6812 log CFU / g.*

Keywords: antimicrobial, bio-capsule, carrageenan, probiotics, viability

Abstrak

Pembuatan Bio-kapsul probiotik *Lb. paracasei ssp paracasei M13*, menggunakan bahan penyalut polisakarida dan protein yaitu karagenan-skim sebagai bahan pelindung fisik dan penstabil viabilitas sel selama proses pengolahan. Viabilitas sel dihitung untuk melihat kemampuan sel setelah dilakukan proses ekstrusi baik dalam bentuk bio-kapsul basah dan bio-kapsul kering, dan aktivitas antimikroba terhadap patogen *E.coli* menggunakan metoda kontak selama 3 jam. Perlakuan terbaik akan digunakan sebagai starter dalam pembuatan produk probiotik untuk mencegah penyakit diare pada masyarakat. Penelitian ini dilakukan dengan tiga perlakuan perbandingan penyalut karagenan-skim 1:1; 2:1; dan 3:1, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian menunjukkan viabilitas sel bio-kapsul basah tertinggi pada perlakuan 2:1 sebesar 1.97×10^9 CFU/g, dan viabilitas tertinggi sel bio-kapsul kering adalah 10^8 CFU/g untuk ke semua perlakuan. Kemampuan menurunkan jumlah patogen *E. coli* bio-kapsul basah setelah waktu kontak 3 jam tertinggi pada perbandingan 2:1 yaitu 2.21 Log/CFU dengan jumlah *E.coli* 5.7160 log CFU/g. Pada bio-kapsul kering hasil terbaik perlakuan 2:1 dengan penurunan *E. coli* sebesar 2,15 Log/CFU dan jumlah *E. coli* setelah waktu kontak 5.6812 log CFU/g.

Kata Kunci: antimikroba, bio-kapsul, karagenan, probiotik, viabilitas

PENDAHULUAN

Saat ini masyarakat lebih memilih makanan yang memiliki dampak yang baik dan dapat meningkatkan kesehatan atau disebut golongan pangan fungsional (*functional food*). Selain nilai gizi yang terkandung di dalam makanan, pangan fungsional juga dapat memberikan efek kesehatan bagi pengkonsumsinya. Pangan fungsional dapat diperoleh secara alami dari bahan pangan, atau melalui fortifikasi, pengkayaan atau peningkatan komponen gizi. Salah satu contoh pangan fungsional yang paling banyak digemari yaitu produk probiotik (Begum, Madhavi, Rajagopal, Viswanath, A.Razak, & Venkataratnamma, 2017).

Dalam beberapa tahun, strain Bakteri Asam Laktat (BAL) tertentu telah terbukti berkontribusi untuk kesehatan manusia, beberapa di antaranya mengembangkan senyawa antimikroba yang berperan dalam saluran cerna untuk sistem pertahanan, dan juga sebagai imonomodulator. Bakteri probiotik harus mampu bertahan hidup sampai pada usus manusia dan tersedia dalam jumlah yang cukup saat akan dikonsumsi. Jumlah probiotik di dalam makanan berkisar antara 10^6 - 10^9 cfu/ml (Sarkar, Sur, Sarkar, Majhi, Basu, Chatterjee, & Sikder, 2016). Salah satu produk probiotik yang berasal Sumatera Barat adalah dadih, dimana dari dadih telah diisolasi dan diskriming beberapa bakteri probiotik lokal salah satunya *Lb. paracasei* spp. *paracasei* ML3. Isolat ini mampu memproduksi asam laktat sekitar 1.2% dan mempunyai daya hambat terhadap pathogen *E.coli*, *S. aureus*, *B. cereus*, dan *L monocytogenes* (Elida, M., Gusmalini, Rahzarni, dan Ramaiyulis, 2013). Isolat ini juga mampu menurunkan kadar kolesterol pada hewan coba mencit (Elida, M., dan Ermianti, 2016).

Bakteri probiotik telah banyak ditemukan membantu dalam pengawetan makanan dan mencegah serta mengobati beberapa jenis diare yang diinduksi bakteri ini, karena kemampuannya untuk mengubah aktivitas mikroflora usus dan bersaing dengan potensi pathogen (Doleyres, Fliss, & Lacroix, 2004). Viabilitas probiotik di dalam pangan sangat sensitif pada proses pengolahan dan penyimpanan, pemaparan bakteri terhadap oksigen, suhu tinggi, kondisi lingkungan yang asam ataupun cahaya yang dapat beresiko terhadap penurunan viabilitas sel hidup probiotik. Metoda untuk mengatasi resiko ini adalah dengan cara enkapsulasi. Teknik ini dapat meningkatkan viabilitas dan sintasan sel hidup probiotik. Bahan penyalut yang dapat digunakan untuk

enkapsulasi diantaranya alginat, karagenan, xantan, pektin atau khitosan (Kwiecien, & Kwiecien, M, 2018).

Hidrogel κ -carrageenan dapat dimanfaatkan sebagai komponen aktif pembentuk bio-kapsul bagi pelindung probiotik (Kwiecien, & Kwiecien, M, 2018). Bahan penyalut yang digunakan untuk metoda enkapsulasi dapat menggunakan kombinasi karagenan dan susu skim. Kombinasi bahan penyalut susu skim dengan maltodextrin terbukti meningkatkan performa minuman probiotik (Moody, Hanidah, Kayaputri, Rialita, Sukarminah, & Zakaria, 2019). Sel probiotik yang dienkapsulasi dengan susu skim dan alginate, memiliki nilai sintasan lebih tinggi dibandingkan menggunakan bahan penyalut dari alginate saja (Dumitriu, 2004).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan perbandingan bahan penyalut karagenan-susu skim dengan metoda ekstrusi terhadap viabilitas bio kapsul basah dan kering, serta aktivitas antimikroba terhadap patogen *E.coli*.

METODA PENELITIAN

Pengumpulan data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perbandingan bahan penyalut karagenan-skim 1:1; 2:1; dan 3:1, setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Variabel yang diamati adalah viabilitas bio-kapsul setelah ekstrusi dan setelah pengeringan, dan aktivitas antimikroba terhadap pathogen *E.coli* bio-kapsul basah dan kering.

Konsep teori

Persiapan Biomassa probiotik dimodifikasi (Harmayani, Ngatirah, Rahayu, Utami, 2001).

Kultur bakteri *Lb paracasei ssp paracasei* M13 disegarkan dan diinkubasi pada suhu 37⁰C, selanjutnya ditumbuhkan dalam bentuk kultur kerja sebanyak 10%. Biomassa kemudian dipanen dengan cara disentrifus dengan kecepatan 4500 rpm selama 15 menit. Selanjutnya dicuci dengan air steril sebanyak dua kali dan disentrifus kembali kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

Pembuatan Bio-kapsul

Pembuatan bio-kapsul mengacu pada metode Le-Tien, Millette, Lacrox, & Mateescu (2004), dan Rokka, S., & Rantamaki (2010) yang dimodifikasi, biomassa yang dihasilkan dibuat menjadi suspensi hingga konsentrasi 10%. Selanjutnya disiapkan karagenan 3% steril, dan larutan skim pasteurisasi. Ke dalam suspensi ditambahkan larutan biomassa bakteri dan campuran dimasukkan ke dalam syringe diteteskan ke dalam larutan KCL 3% steril dan disimpan pada suhu 10⁰C selama 2 jam (Tsen, Lin, & AN-Erl King, 2003). Biokapsul yang terbentuk dibilas menggunakan larutan garam fisiologis dan disaring.

Analisis Viabilitas bio-kapsul

Perhitungan jumlah sel dalam bio-kapsul dihitung mengacu pada metode Le-Tien, Millette, Lacrox, & Mateescu (2004), dan Ivanovska, Petrusevska-Tozi, Kostoska, Geskovski, Grozdanov, Stain, Stafilov, & Mladenovska (2012) yang dimodifikasi. Bio-kapsul diambil sebanyak 0,1 gr dan ditambahkan 9,9 ml larutan pengencer steril sampai pengenceran 10⁻⁷, hitung jumlah bakteri dengan metoda TPC (Aneja, 2009).

Analisis Antimikroba

Pengujian menggunakan metoda kontak Nuraida, Hana, Hartanti, dan Prangdimurti, (2012), terhadap pathogen *E. coli*, dengan terlebih dahulu melepaskan bio-kapsul terenkapsulasi dari enkapsulannya dengan natrium sitrat 2% . Sebanyak 0.2 ml *E.coli* (10⁵ CU /ml) dan 0,2 ml sel probiotik (10⁸CFU/ml) diinokulasikan ke dalam 20 ml susu skim steril (Sunlact, Malay), homogenisasi dan diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37⁰C. Jumlah sel *E.coli* setelah waktu kontak dilakukan plating pada media EMBA.

5. Pengeringan bio-kapsul

Bio-kapsul basah hasil pembilasan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 35- 40⁰C, setelah pengeringan dilakukan pengujian kadar air dan uji viabilitas bio-kapsul serta aktivitas antimikroba setelah pengeringan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Viabilitas bio-kapsul

Hasil analisa viabilitas sel *Lactobacillus paracasei ssp paracasi* M13 pada bio-kapsul basah dan kering dengan berbagai perbandingan bahan penyalut karagenan-skim dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1.
Viabilitas sel bebas dan sel (CFU/g) dalam bio-kapsul basah karagenan-skim pada berbagai perbandingan.

Perbandingan Penyalut karagenan-skim	Viabilitas Sel bebas <i>Lb paracasei ssp paracasei</i> MI3 (CFU/g)	Viabilitas <i>Lb paracasei ssp paracasei</i> MI3 dalam bio-kapsul (CFU/g)	Penurunan viabilitas sel karena ekstrusi (log CFU/g)
1:1	6.30×10^9	1.50×10^9	0.50 ^a
2:1	1.03×10^{10}	1.97×10^9	0.72 ^a
3:1	1.80×10^{10}	7.50×10^8	1.38 ^b

Keterangan: rata-rata perlakuan yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata pada tingkat kepercayaan 5%

Dari Tabel 1 terlihat tidak terjadi penurunan jumlah viabilitas sel bio-kapsul basah sebelum dan sesudah enkapsulasi pada perbandingan 1:1, tetapi penurunan viabilitas terjadi pada perbandingan penyalut 2:1 dan 3:1. Penurunan viabilitas tertinggi terjadi pada perbandingan penyalut 3:1 yaitu sebesar 1.38 Log CFU/g.

Jumlah bakteri dari sel bebas yang digunakan pada proses enkapsulasi akan mempengaruhi jumlah sel yang terperap dalam polimer bio-kapsul, semakin tinggi jumlah sel maka semakin banyak jumlah sel yang terperap. Hal ini terkait juga terkait dengan diameter Bio-kapsul yang dihasilkan dimana diameter bio-kapsul pada perbandingan 1:1 lebih besar sehingga menyebabkan jumlah sel yang terperap dalam kapsul menjadi lebih banyak sehingga penurunan viabilitas sel rendah dibandingkan dengan bio-kapsul perbandingan 3;1. Bio-kapsul dengan ukuran diameter yang lebih besar dapat menyebabkan struktur menjadi lembek karena banyaknya air yang terperap dalam sel, tetapi akan mampu menjerap sel mikroba dalam jumlah lebih banyak (Mortazavian, Razavi, Ehsani, & Sohrabvandi, 2007).

Tabel 2.
Viabilitas sel bebas dan sel (CFU/g) dalam bio-kapsul kering karagenan-skim pada berbagai perbandingan.

Perbandingan Penyalut karagenan-skim	Viabilitas Sel bebas <i>Lb paracasei ssp paracasei</i> MI3 (CFU/g)	Viabilitas <i>Lb paracasei ssp paracasei</i> MI3 dalam bio-kapsul (CFU/g)	Penurunan viabilitas sel karena ekstrusi (log CFU/g)
1:1	6.3×10^9	1.1×10^8	1.75 ^a
2:1	1.03×10^{10}	5.0×10^8	1.31 ^b
3:1	1.8×10^{10}	1.1×10^8	1.1 ^b

Viabilitas bio-kapsul kering untuk ke tiga perlakuan perbandingan bahan penyalut, penurunan viabilitas terendah adalah pada perlakuan 3:1 yaitu 1.1 log CFU/g tidak berbeda nyata dengan perlakuan 2:1. Viabilitas bio-kapsul setelah pengeringan

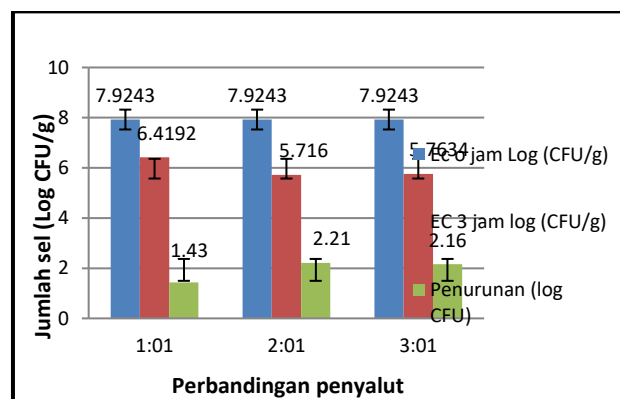
pada suhu 40°C, dan jumlah sel yang mampu hidup masih memenuhi kriteria jumlah sel sebagai persyaratan untuk konsumsi probiotik yang ditetapkan oleh WHO yaitu 10⁶ - 10⁷ CFU/g atau 7 CFU/g (log).

Menurut Doleyres, Fliss, & Lacroix (2004), karagenan memiliki sifat gelasi sehingga dapat digunakan sebagai agen pembawa enkapsulasi. Ditambahkan oleh Krasaekoopt, Bhandari, & Deeth (2003), bahan enkapsulasi merupakan bahan pelindung yang berfungsi melindungi sel bakteri dari pengaruh eksternal sehingga proses pemerangkapan berlangsung sempurna, sedangkan Ding, & Shah (2009), berpendapat karagenan merupakan bahan enkapsulan yang dapat melindungi bakteri probiotik secara efektif dari pengaruh tekanan dan kondisi lingkungan.

Kekuatan gel karagenan dapat ditingkatkan menggunakan protein susu sebagai lapisan dalam untuk model enkapsulasi, dan karagenan digunakan sebagai lapisan luar untuk melapisi mikrosfer susu. Akibatnya terdapat lapisan ganda yang dapat melindungi sel bakteri selama proses produksi (Lu-E. Shi., Li, Zhang, Zhang, Yu, Zhou, & Tang, 2013).

Aktivitas antimikroba bio-kapsul basah terenkapsulasi

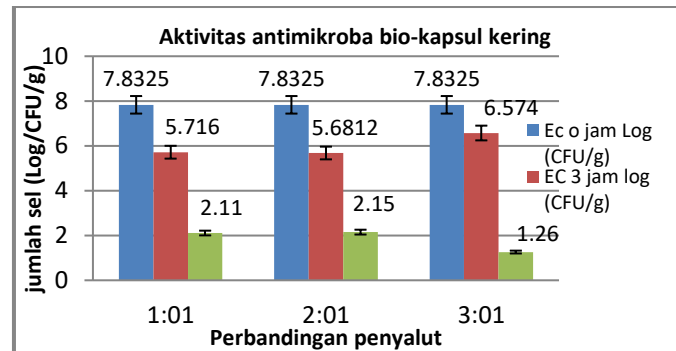
Pengujian penghambatan dilakukan pada bakteri *E.coli* penyebab diare menggunakan bio-kapsul basah dan kering terenkapsulasi karagenan-skim pada tiga perlakuan. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Aktivitas antimikroba bio-kapsul basah terenkapsulasi terhadap patogen *E.coli*

Gambar 1 menunjukkan bahwa penurunan jumlah patogen *E.coli* oleh bio-kapsul probiotik basah setelah waktu kontak 3 jam tertinggi pada perlakuan perbandingan 2:1 yaitu sebesar 2.21 log CFU. Penurunan jumlah patogen *E.coli*

tertinggi pada bio-kapsul probiotik kering juga terjadi pada perbandingan penyalut karagenan-skim 2:1 yaitu sebesar 2.15 log CFU (Gambar 2).



Gambar 2. Aktivitas antimikroba bio-kapsul kering terenkapsulasi terhadap patogen *E.coli*

Antimikroba bahan yang diproduksi oleh BAL termasuk asam organik (asam laktat, asam asetat, asam format), katabolit gula lainnya (seperti etanol, diasetil, karbon dioksida), hidrogen peroksida, bakteriosin, zat seperti antibiotic (reuterin dan reutericyclin), peptide inhibitor dan lain-lain. Menurut De Vuyst L, Avonts L, Makras L. (2002), prinsip penghambatan pertumbuhan bakteri utama yang dihasilkan oleh BAL adalah asam organik yang aktif pada pH rendah, untuk menyebabkan kematian mikroba. BAL juga menghasilkan senyawa bakteriosin, dimana bakteriocins adalah polipeptida antibakteri yang menargetkan aktivitasnya terhadap bakteri yang berkerabat erat. Ditambahkan oleh Luders, T., Birkemo, G.A., Fimland, G., Nissen-Meyer, J., & Nes, I.F, (2003), bakteriosin berperan dalam gastrointestinal atau saluran pencernaan untuk menghambat pathogen *E.coli*.

SIMPULAN

1. Viabilitas bio-kapsul basah terbaik adalah pada perbandingan penyalut karagenan skim 2:1 sebesar 1.97×10^9 CFU/g dengan penurunan 0.72 Log CFU/g.
2. Viabilitas bio-kapsul kering terbaik adalah pada perlakuan perbandingan penyalut 2:1 sebesar 5.0×10^8 CFU/g atau penurunan sekitar 1.31 log CFU/g.
3. Aktivitas antimikroba bio-kapsul basah aktivitas tertinggi setelah waktu kontak 3 jam pada perlakuan perbandingan penyalut karagenan-skim 2:1 yaitu sebesar 5.716 log CFU/g atau membunuh sebesar 2.21 log CFU

4. Aktivitas antimikroba bio-kapsul kering aktivitas tertinggi setelah waktu kontak 3 jam pada perlakuan perbandingan penyalut karagenan-skim 2:1 yaitu sebesar 5.6812 log CFU/g atau membunuh sebesar 2.15 log CFU

DAFTAR PUSTAKA

- Aneja, K.R. (2009). *Experimen in Microbiology, Plant Phatology and Biotechnology*. India : New Age International Publisher.
- Begum, P.S., Madhavi,G., Rajagopal, S., Viswanath,B., A.Razak,M., & Venkataratnamma, V. (2017). Probiotics as Functional Foods: Potential Effects on Human Health and its Impact on Neurological Diseases,” *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, Vol. 7, 2. 23-33. DOI: 10.4103/ijnpnd.ijnpnd_90_16
- De Vuyst L, Avonts L, Makras L. (2002). Probiotics, prebiotics and gut health: . Functional Foods, Ageing and Degenerative Disease. In Remacle C, Reusens B (Ed), Cambridge, Woodhead Publishing.
- Ding, W.K., & Shah, N.P. (2009). An improvedm of microencapsulation of probiotic bacteria for their stability in acidic and bile conditions during storage. *Journal of Food Science*, vol. 74, 2.M 53-61. Doi: 10.1111/j. 1750-3841.2008. 01030.x
- Doleyres, Y., Fliss, I., & Lacroix, C. (2004). Continuous production of mixed lactic starters containing probiotics using immobilized cell technology. *Biotechnol Prog*, 20,145-150. Doi:10.1021/bp020096w
- Dumitriu, S. (2004). Polysaccharides Structural Divesity and Functional Versality, 2nd ed, New York, CRC Press.
- Elida, M., Gusmalini, Rahzarani, dan Ramaiyulis. 2013. Pathogenicity Test of Isolate Mokal Dadih Origin at Gastrointestinal Pathogens. ”. *Seminar Nasional Ketahanan Pangan. Prosiding*. Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh. ISBN 978-979-9869-2-8.
- Elida, M., dan Ermiami. “Karakterisasi Isolat Probiotik Dadih Yang Di Enkapsulasi Untuk Pembuatan Minuman Fungsional Instan Berbasis Ubi Ungu”. *Laporan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi*. Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh. 2016
- Harmayani, E., Ngatirah. Rahayau E,S, Utami. (2001). Ketahanan dan viabilitas probiotik asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan pengeringan semprot. *J. Teknol Industri Pangan*. 12:126-132. .
- Krasaekoopt,W.,Bhandari, B & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt”. *International Dairy Journal*, vol.13, 3-13. [https://doi.org/ 10.1016/50958-6946\(02\)00155-3](https://doi.org/10.1016/50958-6946(02)00155-3)
- Kwiecien, I. & Kwiecien, M. (2018). Application of Polysaccharide-Based Hydrogels as Probiotic Delivery Systems. *Gels Journal*, 4 (2), 47. <https://doi.org/10.3390/gels4020047>.
- Ivanovska, T. P., Petrusavska-Tozi, L., Kostoska, M. D., Geskovski, N., Grozdanov, A., Stain, C., Stafilov, T., & Mladenovska, K. (2012). Microencapsulation of Lactobacillus casei in chitosan-Ca-alginate microparticles usng spray-drying method”. *Maced J Chemistry and Chemical Eng* . 31: 1115-123. .
- Le-Tien, C., Millette,M., Lacroix, M., & Mateescu, M.A. 2004. Modified Alginate matrices for the immobilization of bioactive agents”. *Biotechnol Appl Biochem*. 39 (pt2): 189-98. <https://doi.org/10.1042/BA200330054>

- Lu-E. Shi., Li, Z.H., Zhang, Z. L., Zhang, T.T., Yu, W.M., Zhou, M.L., & Tang, Z.X. (2013). Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure". *LWT - Food Science and Technology*. 54. 147-151. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.027>
- Luders, T., Birkemo, G.A., Fimland, G., Nissen-Meyer, J., & Nes, I.F. (2003). Strong synergy between a eukaryotic antimicrobial peptide and bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl and Environ Microbiol* . 69 (3) : 1797-1799
- Moody, D.S., Hanidah, I.I., Kayaputri, I.L., Rialita, T., Sukarminah, E., & Zakaria, R.A.P. (2019). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with freeze drying method and application to synbiotic beverage of banana corn stone. *International Journal Advanced Science Engineering Information Technology*, (IJASAIT) . vol. 9, 2.532-537
- Mortazavian, A., Razavi, S.H., Ehsani, M.R., & Sohrabvandi, S. (2007). Principles and methods of microencapsulation of probiotic microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology*. Vol. 5, 1.1 - 18
- Nuraida L., Hana, Hartanti AW., dan Prangdimurti, E. (2012). Potensi lactobacillus yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare. *J. Teknol Industri Pangan*. 22:158-164. DI: 10.6066/jtlp. 2012.23.2.158.
- Rokka, S., & Rantamaki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol* . DOI: 10.007/s00217-010-1246-2.
- Sarkar, S., Sur, A., Sarkar, K., Majhi, R., Basu, S., Chatterjee, K., & Sikder, B (2016) "Probiotics: A Way of value addition in functional food," *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*,. Vol. 5, 4. DOI: 10- 19070/2326-3350-1600052.
- Tsen, J.H., Lin, Y.P., & AN-Erl King, V. (2003). Fermentation of banana media by using K-carrageenan immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *Int Journal of Food Microbiology*..91. 215-20. www.elsevier.com/locate/ijfoodmicro. DOI: 10.1016/S0168-1605(03)00376-3
- Wood, B.J.B., & Holzapel W.H. N. (1995). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Volume 2. Tokyo. London : *Blackie Academic and Professional*.