

INTISARI

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan salah satu kelompok bakteri yang bermanfaat baik sebagai kultur fermentasi atau sebagai probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis respons seluler dan molekuler bakteri *Lacticaseibacillus casei* (*L. casei*) AG dan *Pediococcus acidilactici* (*P. acidilactici*) BE yang merupakan strain BAL lokal dan telah teruji memenuhi syarat sebagai bakteri probiotik.

Untuk mendukung pengembangan sediaan probiotik dalam bentuk bubuk komersial, kedua strain diuji ketahanannya terhadap perlakuan panas pada suhu 55, 65, dan 75 °C dengan penambahan berbagai bahan pelindung, yaitu susu skim, maltodekstrin, dan gum arab. Selanjutnya, dilakukan profiling metabolit non-targeted menggunakan *liquid chromatography mass spectrometry* (LC-MS) untuk mengidentifikasi perubahan komposisi metabolit akibat perlakuan suhu. Analisis multivariat, meliputi *Principal Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Squares Discriminant Analysis* (PLS-DA), digunakan untuk memetakan perbedaan profil metabolit antarperlakuan. Analisis gen yang diduga berperan dalam mekanisme ketahanan bakteri terhadap cekaman panas dilakukan setelah profiling metabolit.

Hasil uji viabilitas menunjukkan bahwa penambahan susu skim memberikan perlindungan tertinggi terhadap sel, diikuti oleh maltodekstrin dan gum arab. *P. acidilactici* BE mampu mempertahankan viabilitas sebesar 7,56 log CFU/mL pada suhu 65 °C, secara signifikan lebih tinggi dibanding *L. casei* AG yang hanya mencapai 5,15 log CFU/mL. Analisis *non-targeted metabolomics* menggunakan LC-MS menunjukkan adanya akumulasi metabolit yang signifikan, dengan visualisasi heatmap serta analisis multivariat (PCA dan PLS-DA) yang memperlihatkan pemisahan yang jelas antara kelompok perlakuan pada suhu 37, 55, dan 65 °C. Profil metabolit mengindikasikan bahwa *P. acidilactici* BE yang lebih tahan terhadap panas menghasilkan jumlah metabolit lebih banyak dibanding *L. casei* AG, dengan total 20 senyawa terdeteksi pada *P. acidilactici* BE dan 18 senyawa pada *L. casei* AG. Berdasarkan skor *Variable Importance in Projection* (VIP), terjadi peningkatan akumulasi metabolit pelindung berupa betain pada *P. acidilactici* BE. Analisis ekspresi gen dengan *quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) difokuskan pada *P. acidilactici* BE karena memiliki ketahanan yang lebih tinggi terhadap perlakuan panas dibanding *L. casei* AG dan mengakumulasi betain sebagai molekul pelindung sel dari cekaman panas. Ekspresi gen *OpuA* pada *P. acidilactici* BE menunjukkan tren peningkatan pada suhu 55 dan 65 °C, diduga menandakan mekanisme toleransi termal melalui betain.

Kata kunci: BAL, metabolomik, LC-MS, probiotik bubuk, suhu panas

ABSTRACT

*Lactic Acid Bacteria (LAB) are widely recognized for their functional roles as fermentation starters and probiotics. This study aimed to analyze the cellular and molecular heat-stress response of two local probiotic strains, *Lacticaseibacillus casei* (L. casei) AG and *Pediococcus acidilactici* (P. acidilactici) BE.*

To support the development of stable commercial probiotic powder formulations, both strains were subjected to heat treatments at 55, 65, and 75 °C with the addition of protective agents skim milk, maltodextrin, and gum arabic. Non-targeted metabolite profiling using liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS) was performed to identify changes in metabolite composition following heat exposure. Multivariate analyses, including Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA), were applied to map differences in metabolite patterns among treatments. In addition, gene analysis was conducted to identify heat-stress–related mechanisms.

*Viability tests showed that skim milk provided the highest level of protection, followed by maltodextrin and gum arabic. *P. acidilactici* BE maintained a viability of 7.56 log CFU/mL at 65 °C, significantly higher than *L. casei* AG, which reached only 5.15 log CFU/mL. LC-MS–based non-targeted metabolomics revealed significant metabolite accumulation, with heatmap visualization and multivariate analyses showing clear separation among treatments at 37, 55, and 65 °C. The metabolite profile indicated that the more thermotolerant *P. acidilactici* BE produced a more metabolites (20 compounds) compared with *L. casei* AG (18 compounds). Variable Importance in Projection (VIP) scoring showed increased accumulation of betaine, a known protective osmolyte, in *P. acidilactici* BE. Gene expression analysis using quantitative Reverse Transcription PCR (qRT-PCR) focused on *P. acidilactici* BE due to its higher thermotolerance and elevated betaine levels. Expression of the *opuA* gene increased at 55 and 65 °C, suggesting its involvement in thermal tolerance through betaine uptake.*

Keywords: *heat-stress, LAB, metabolomic, LC-MS, powder probiotic*