

Pengaruh Karaginan dari Campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* Konsentrasi 6% Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH Simulasi Saluran Pencernaan

LAPORAN SKRIPSI

TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

Oleh:

IKA TRESNAWATI

0710830004



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2012

Pengaruh Karaginan dari Campuran *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum* Konsentrasi 6% Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH Simulasi Saluran Pencernaan

Laporan Skripsi sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Peikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Oleh:

IKA TRESNAWATI

0710830004

Menyetujui,

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Kartini Zaelani, MP
NIP. 19550503 198503 2 001
Tanggal :

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS
NIP. 19640726 198903 1 004
Tanggal :

Dosen Pembimbing I,

Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes
NIP. 19611022 198802 2 001
Tanggal :

Dosen Pembimbing II,

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP,

Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19600322 198601 1 001
Tanggal :

RINGKASAN

IKA TRESNAWATI (071083004). Skripsi tentang Pengaruh Karaginan dari Campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* Konsentrasi 6% Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH Simulasi Saluran Pencernaan (Dibawah bimbingan Ir. Dwi Setijawati, M. Kes dan Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)

Karaginan merupakan salah satu jenis polisakarida yang dapat digunakan sebagai bahan pengkapsul probiotik. *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu jenis probiotik yang memberikan manfaat dalam mempertahankan keseimbangan mikroflora dalam saluran pencernaan. Jumlah minimum probiotik yang disarankan yaitu 10^6 - 10^7 CFU/mL. *Lactobacillus acidophilus* memiliki sifat resisten terhadap pH tinggi sehingga untuk melindungi viabilitas dalam pH simulasi saluran pencernaan dienkapsul menggunakan *refine carrageenan*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sebagai pengkapsul terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH simulasi pencernaan manusia.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Pengolahan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pada bulan Juli-November 2011.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Penelitian ini menggunakan variabel bebas penelitian pendahuluan, yaitu campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%, variabel bebas penelitian utama adalah simulasi pH saluran pencernaan manusia, dan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* sebagai variabel terikat. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat kali ulangan.

Penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui perlakuan terbaik viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dari tiga campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6% yang berbeda yaitu campuran karaginan dalam perbandingan 25 *Eucheuma cottonii*:75 *Eucheuma spinosum*, 50 *Eucheuma cottonii*:50 *Eucheuma spinosum*, dan 75 *Eucheuma cottonii*:25 *Eucheuma spinosum*. Pada penelitian pendahuluan didapatkan hasil yang terbaik pada perlakuan 75 *Eucheuma cottonii*:25 *Eucheuma spinosum*.

Hasil perlakuan terbaik pada penelitian pendahuluan dilanjutkan dengan penelitian utama yaitu, perlakuan simulasi pH saluran pencernaan dan dilakukan uji viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Perlakuan simulasi pH saluran pencernaan dengan tiga perlakuan yaitu, perlakuan tanpa pH, perlakuan pH 2 simulasi lambung, dan perlakuan pH 7 simulasi usus kecil. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang didapat dari tiga perlakuan tersebut secara berturut-turut $1,16 \times 10^6$, $8,83 \times 10^7$ CFU/mL, $5,84 \times 10^8$ CFU/mL.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah Perlakuan proporsi karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sebagai bahan penyalut berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Perlakuan tertinggi pada campuran karaginan 75 *Eucheuma cottonii* : 25 *Eucheuma spinosum* yang berpengaruh nyata terhadap perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia dengan hasil $1,16 \times 10^6$ hingga $5,84 \times 10^8$ CFU/mL.

Hasil penelitian ini telah mencapai jumlah minimum syarat probiotik dalam produk pangan. Saran untuk mendapatkan viabilitas yang tinggi dapat menggunakan bahan penyalut dengan campuran *Eucheuma cottonii* dan konsentrasi 6%.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan skripsi ini. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Laporan skripsi ini terbentuk dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Sujud terima kasihku kepada Ibu Ayah tercinta atas limpahan kasih sayang, do'a, segala dukungan dalam bentuk apapun yang diberikan, sebagai persembahan dari proses studi penulis mempersembahkan karya sederhana nan semoga bermanfaat.
2. Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing pertama dan Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah memberikan pelajaran dalam kehidupan, kebebasan berkarya, arahan serta kesabaran untuk membimbing penulis sejak penyusunan judul hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Dr. Ir. Kartini Zaelani, MP dan Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS selaku Dosen Penguji yang memberikan masukan untuk kesempurnaan skripsi ini
4. Adik-adikku Ina dan Yasin, Abang, Fedodink, lfa, Cicik, dan sahabat-sahabat tercinta, terima kasih atas dukungan dan telah menghibur penulis saat penat dalam menjalankan tugas-tugas studi.
5. Teman-teman THP'07 dan semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan penyusunan skripsi

Penulis menyadari laporan ini masih jauh dari kesempurnaan. Karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari pembaca. Akhir kata penulis berharap semoga laporan ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak

Malang, 14 Agustus 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Hala man
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesa.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Eucheuma cottonii</i>	5
2.2 <i>Eucheuma spinosum</i>	7
2.3 Karaginan.....	9



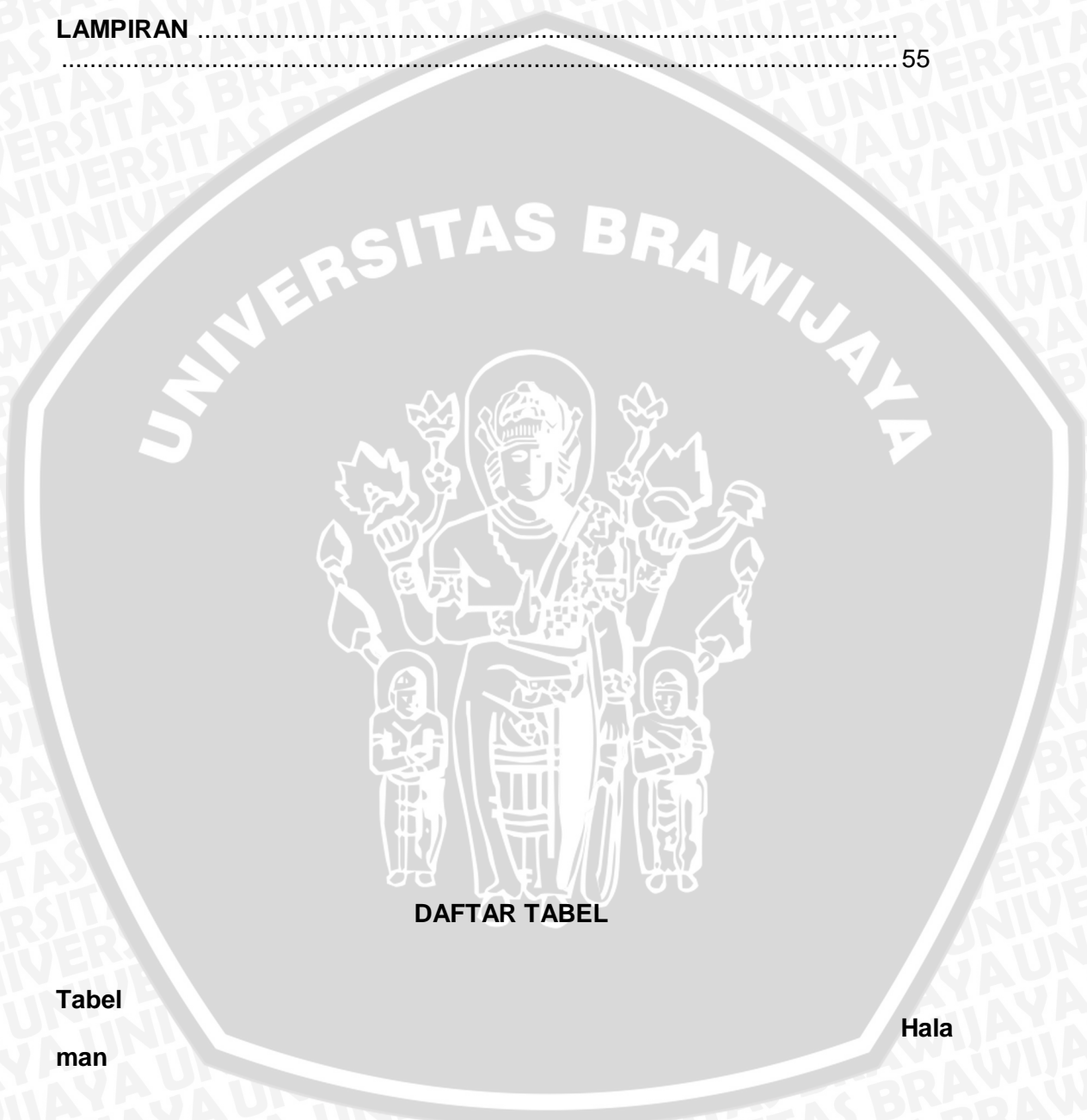
2.3.1 Mekanisme Gelasi	15
2.4 Probiotik.....	17
2.4.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	19
2.5 Mikroenkapsulasi	20
2.5.1 Enkapsulat	22
2.5.2 Teknik Mikroenkapsulasi Emulsi	24
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	27
3.1.1 Bahan-bahan Penelitian	27
3.1.2 Alat-alat Penelitian	27
3.2 Metode Penelitian	28
3.2.1 Metode	28
3.2.2 Variabel Penelitian	29
3.2.3 Rancangan Percobaan	29
3.3 Pelaksanaan Penelitian	31
3.4 Prosedur Penelitian.....	33
4. Hasil dan Pembahasan	
4.1 Penggunaan Campuran Karaginan Terbaik dari <i>Eucheuma cottonii</i> dan <i>Eucheuma Spinosum</i> terhadap Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i>	38
4.2 Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> pada pH Simulasi Saluran Pencernaan Manusia	40
5. KESIMPULAN DAN SARAN	

5.1 Kesimpulan 45

5.2 Saran 45

DAFTAR PUSTAKA 46

LAMPIRAN 55

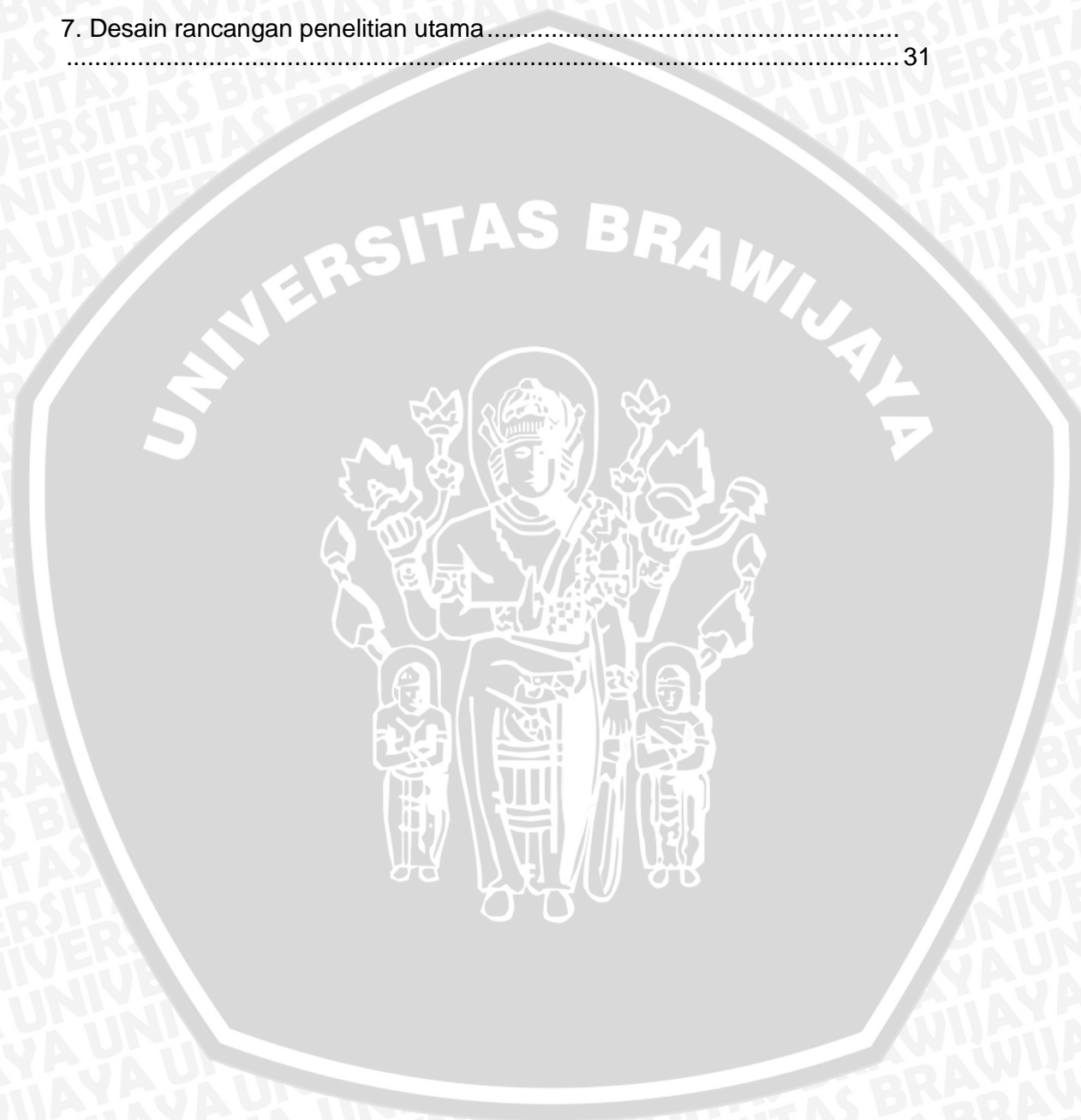


DAFTAR TABEL

Tabel	Hala
man	
1. Komposisi kimia rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i>	6
2. Komposisi kimia rumput laut <i>Eucheuma spinosum</i>	8
3. Daya kelarutan dan stabilitas kappa karaginan	11



4. Daya kelarutan dan stabilitas iota karaginan	13
5. Daya kelarutan dan stabilitas lambda karaginan	14
6. Desain rancangan penelitian pendahuluan	30
7. Desain rancangan penelitian utama	31



DAFTAR GAMBAR

Gambar

Hala

man

1. Morfologi <i>Eucheuma cottonii</i>	5
2. Morfologi <i>Eucheuma spinosum</i>	7
3. Struktur kappa karaginan.....	10
4. Struktur iota karaginan.....	12
5. Struktur lambda karaginan.....	14
6. Mekanisme gelasi karaginan.....	17
7. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	19
8. Morfologi mikrokapsul.....	21
9. Proses mikroenkapsulasi dengan metode emulsi.....	25
10. Proses pembuatan <i>refine carragenan</i> (RC) <i>Eucheuma cottonii</i>	33
11. Proses pembuatan <i>refine carragenan</i> (RC) <i>Eucheuma spinosumi</i>	34
12. Teknik mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	35
13. Pembuatan larutan simulasi lambung.....	36
14. Pembuatan larutan simulasi usus kecil.....	36
15. Prosedur uji viabilitas dan perhitungan kolonisasi <i>Lactobacillus acidophilus</i>	37
16. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan pengenkapsulast campuran <i>Eucheuma cottonii</i> dan <i>Eucheuma spinosum</i>	38
17. Diameter mikrokapsul pada perlakuan <i>viabilitas Lactobacillus acidophilus</i>	39
18. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> pada simulasi pH saluran pencernaan manusia dengan penyalut campuran karaginan dari <i>Eucheuma cottonii</i> dan <i>Eucheuma spinosum</i> berkadar 6%.....	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran man	Hala
1. Perhitungan konsentrasi 6%	55
.....	55
2. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan bahan pengenkapsulat campuran karaginan dari <i>Eucheuma cottonii</i> dan <i>Eucheuma spinosum</i>	56
.....	56
3. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> pada perlakuan pH simulasi saluran pencernaan dari campuran karaginan dari <i>Eucheuma cottonii</i> dan <i>Eucheuma spinosum</i>	61
.....	61

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rumput laut dari kelas Rhodophyceae merupakan *carragenophyte* yaitu rumput laut penghasil karaginan (Hudaya2008). Karaginan adalah getah rumput laut merah yang diekstraksi dengan air atau larutan alkali. Karaginan merupakan polisakarida linear dengan molekul besar dari molekul galaktan dengan unit-unit utamanya adalah galaktosa (Chapman dan Chapman 1980).

Jenis rumput laut merah yang cukup komersial, yaitu *Eucheuma cottoni* sebagai penghasil kappa karaginan dan *Eucheuma spinosum* merupakan penghasil iota karaginan (Winarno 1996). Yeast (2012) memaparkan kappa karaginan memiliki sifat gel yang kuat dan sensitif terhadap ion kalium sehingga membentuk gel kuat dengan penambahan ion kalium, namun lebih rapuh. Iota karaginan memiliki sifat gel elastis dan membentuk gel dengan penambahan ion kalsium. Adhikari *et al.* (2000) memanfaatkan kappa karaginan konsentrasi 2% sebagai bahan penyalut probiotik untuk melindungi dari pengaruh kondisi luar.

Lactobacillus acidophilus merupakan salah satu jenis bakteri probiotik yang memiliki manfaat mempertahankan keseimbangan dalam saluran pencernaan. *Lactobacillus acidophilus* hanya dapat bertahan pada pH rendah dan memiliki kemampuan hidup yang rendah dalam saluran pencernaan. Soma *et al.* (2009) menjelaskan bahwa probiotik harus mencapai usus besar dengan viabilitas yang tinggi agar dapat memberikan manfaat kesehatan. FAO/WHO menjelaskan bahwa produk makanan yang ditambahkan probiotik harus mengandung minimal $10^6 - 10^7$ CFU/mL. Permasalahan viabilitas dan stabilitas fungsi probiotik selama proses pencernaan sulit dipertahankan pada pH basa. Oleh sebab itu perlu digunakan metode yang tepat untuk melindungi probiotik

dari pengaruh lingkungan luar untuk menstabilkan dan menjaga viabilitas probiotik (Efiwati 2009).

Mikroenkapsulasi merupakan proses pembentukan lapisan berbentuk matriks dimana materi dienkapsulasi secara keseluruhan berada di dalam dinding kapsul (King 1995). Boh (2007) menambahkan bahan inti dapat berupa padatan, cairan, maupun gas sehingga dapat menstabilkan sel dan menjaga viabilitas dan stabilitas sel tetap tinggi (Kim *et al.* 1996).

Salah satu jenis teknik mikroenkapsulasi adalah teknik emulsi. Teknik emulsi merupakan teknik yang dianggap sesuai dalam mengenkapsulatkan *Lactobacillus acidophilus* (Lakis 2007). Teknik emulsi digunakan untuk mengenkapsulatkan sel-sel yang baik di dalam *micro* (0,1-1mm) dan *macrospheres* (1,3 mm) dari polimer alam seperti agar-agar, agarosa, dan karaginan (Barrow dan Shahidi 2008). Talwakar dan Kaliasapathy (2003) menambahkan bahwa diameter kapsul yang kecil akan menghasilkan penyebaran sel yang lebih merata.

Karaginan sebagai mikrokapsulatkan telah diteliti oleh Kantiniwangi (2010) dan Baihaqi (2010) menggunakan *refine carrageenan* dengan jenis berbeda. Masing-masing menggunakan *Eucheuma cottonii* konsentrasi 3% dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 4,5% sebagai bahan pengenkapsulatkan menghasilkan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dibawah 10^6 CFU/mL. Hasil viabilitas *Lactobacillus acidophilus* tersebut masih dibawah 10^6 CFU/mL, sehingga Azmi (2011) menggunakan proporsi *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dengan konsentrasi 3% mencapai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* 10^8 CFU/mL.

Hasil penelitian Azmi (2011) memenuhi standar minimal viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yaitu 10^6 - 10^7 CFU/mL (FAO/WHO, 2001). Namun penelitian tersebut tidak menggunakan perlakuan pH simulasi saluran

pencernaan terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian perbaikan terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* menggunakan campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dengan peningkatan konsentrasi pada konsentrasi 6% sebagai bahan pengenkapsulat pada pH simulasi saluran pencernaan pada pH 2 dan pH 7.

1.2 Identifikasi Masalah

Probiotik harus tetap dalam keadaan hidup ketika melalui saluran pencernaan sehingga memberikan efek yang menguntungkan, sehingga berkaitan dengan kemampuan stabilitas dan viabilitas probiotik. Ray (2005) menjelaskan bahwa standar minimal viabilitas probiotik 10^6 - 10^7 CFU/mL. Salah satu cara untuk mempertahankan kondisi tersebut dengan menggunakan mikroenkapsulasi. Teknik emulsi dapat digunakan untuk mengenkapsulat sel-sel yang baik di dalam *micro* (0,1-1mm) dan *macrospheres* (1,3 mm) dari polimer alam seperti karaginan (Barrow dan Shahidi, 2008).

Azmi (2011) melaporkan campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dengan konsentrasi 3% sebagai pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus* mencapai viabilitas 10^8 CFU/mL. Leo dan Heo (2000) menyatakan bahwa angka kematian bakteri dalam enkapsulat menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi enkapsulat. Berdasarkan informasi tersebut, perlu dilakukan penelitian perbaikan terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* menggunakan karaginan *Euchema cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dalam bentuk campuran dengan konsentrasi 6% sebagai bahan pengenkapsulat pada pH simulasi saluran pencernaan pada pH 2 dan pH 7.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6% terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH simulasi saluran pencernaan manusia.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai mikroenkapsulasi dengan teknik emulsi menggunakan campuran karaginan dari jenis *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* untuk mengenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* pada pH simulasi saluran pencernaan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah diduga campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6% berpengaruh terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH simulasi saluran pencernaan

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Laboratorium Pengolahan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Pada bulan Juli-November 2011.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Euceuma cottonii*

Rumput laut (seaweed) adalah ganggang berukuran besar (*macroalgae*) yang merupakan tanaman tingkat rendah yang bercirikan tidak mempunyai susunan kerangka seperti akar, batang, dan daun (Alam 2011). Rumput laut hanya memiliki *thallus* yaitu batang yang bercabang-cabang (Nindiyaning2007). *Euceuma cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) yang menghasilkan (Doty1986).

Morfologi *Euceuma cottonii* dapat dilihat pada Gambar 1. Doty (1985) mengklasifikasi *Euceuma cottonii* sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieracea
Genus	: <i>Euceuma</i>
Spesies	: <i>Euceuma cottonii</i>



Gambar 1. Morfologi *Euceuma cottonii*

Gambar 1 merupakan morfologi *Euceuma cottonii*. *Euceuma cottonii* mempunyai thallus dan cabang-cabangnya berbentuk silindris atau pipih, percabangannya tidak teratur dan kasar. Ujungnya runcing atau tumpul berwarna coklat ungu atau hijau kuning. Permukaan licin dan penampakan thallus bervariasi dari bentuk sederhana sampai kompleks (Neish 2005). Duri-duri

thallus agak jarang-jarang dantidak tersusun melingkari thallus. Percabangan ke berbagai arah dengan batang utama keluaryang saling berdekatan ke daerah pangkal (Wulandari 2010).

Eucheuma cottonii tumbuh melekat ke substrat dengan alat perekam berupa cakram. Cabang pertama dan kedua tumbuh membentuk rumput yang rimbun dan mengarah kearah sinar matahari (Atmadja *et al.* 1996). *Eucheuma cottonii* hidup pada lapisan fotik, yaitu kedalaman sejauh sinar matahari mampu mencapainya. Lapisan fotik dapat memberikan sinar cahaya matahari yang diperlukan *Eucheuma cottonii* untuk proses fotosintesis(Anggadiredja *et al.*2006).

Tabel 1. Komposisi kimia rumput laut *Eucheuma cottonii*

Komposisi	Nilai
Air (%)	12,90
Protein (%)	5,12
Lemak (%)	0,13
Karbohidrat (%)	13,38
Serat kasar (%)	1,39
Abu (%)	14,21
Mineral Ca (ppm)	52,82
Mineral Fe (ppm)	0,11
Riboflavin (mg/100gr)	2,26
Vitamin C (mg/100gr)	4,00
Karaginan (mg/100gr)	65,75

Sumber : Markati (2007).

Tabel 1 memperlihatkan *Eucheuma cottonii* banyak mengandung mineral. Mineral terbesar yang terkandung dalam *Eucheuma cottoni* adalah kalsium sebanyak 52,82 ppm. *Eucheuma cottonii* juga mengandung yodium yang dapat digunakan untuk mencegah kanker, batu empedu, dan gangguan menstruasi (Aldon 1998).

Eucheuma cottonii juga merupakan penghasil karaginan sebanyak 65,75 mg/100gr. Kandungan utama rumput laur segar adalah air yang mencapai 80%-90%, sedangkan kadar protein dan lemaknya sangat kecil (Winarno 1990).

Eucheuma cottonii memiliki beberapa manfaat dibidang pangan, kesehatan dan industri. Manfaat *Eucheuma cottoni*idi bidang pangan adalah

sebagai penstabil, bahan tambahan makanan, dan pengemulsi. Di bidang kesehatan adalah sebagaibahan dalam pembuatan tablet dan kapsul (Nindiyaning 2010). Sedangkan dalam bidang industri adalah sebagai bahan tambahan untuk kertas, keramik, fotografi, dan kosmetika (Seaweed 2008).

2.2 *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum adalah rumput laut dari kelompok Rhodophyceae (alga merah). Dalam dunia perdagangan rumput laut ini dikenal dengan istilah *spinosum* yang berarti duri yang tajam (Alam 2011). *Eucheuma spinosum* memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Rhodophyta
Kelas : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Famili : Solieracea
Genus : *Eucheuma*
Spesies : *Eucheuma spinosum*



Gambar 2. Morfologi rumput laut kering *Eucheuma spinosum*.

Gambar 2 merupakan morfologi *Eucheuma spinosum*. *Eucheuma spinosum* mempunyai thallus silindris, kenyal, berdaging dan kuat dengan bintil-bintil atau duri-duri yang mencuat ke samping pada beberapa jenis yang berthallus licin (Romimohtarto dan Juwana 2005). Ciri-ciri *Eucheuma spinosum* memiliki percabangan thallus yang ditumbuhi nodulus (tonjolan-

tonjolan) berupa duri lunak yang tersusun berputar teratur mengelilingi cabang (Anggadireja *et al.* 2006).

Eucheuma spinosum tumbuh melekat pada rata-rata terumbu karang, batu karang, batuan, benda keras, dan cangkang kerang. *Eucheuma spinosum* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis sehingga hanya hidup pada lapisan fotik. Habitat khas dari *Eucheuma spinosum* adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap dan substrat batu karang mati (Aslan 1998).

Tabel 2. Komposisi Kimia *Eucheum spinosum*

Komponen	Jumlah
Kadar air (%)	12,90
Karbohidrat (%)	5,12
Protein (%)	0,13
Lemak (%)	13,38
Serat kasar (%)	1,39
Abu (%)	14,21
Mineral Ca (ppm)	52,820
Mineral Fe (ppm)	0,0108
Mineral Cu (ppm)	0,768
Mineral Pb (ppm)	-
Vitamin B ₁ (Thiamin)(mg/100gr)	0,21
Vitamin B ₂ (Riboflavin)(mg/100gr)	2,26
Vitamin C (mg/100gr)	43,00
Karaginan (%)	65,75

Sumber : Mubarak (1982).

Tabel 2 memperlihatkan *Eucheuma spinosum* banyak mengandung mineral yang berguna untuk kesehatan. Mineral terbesar yang terkandung dalam *Eucheuma spinosum* adalah kalsium, yaitu sebanyak 52,82 ppm. *Eucheuma spinosum* juga merupakan penghasil karaginan, yaitu sebanyak 65,75 mg/100gr (Winarno 1990). *Eucheuma spinosum* tidak mengandung mineral timbal yang berbahaya bagi kesehatan manusia (Mubarak 1982).

Eucheuma spinosum berfungsi sebagai pengikat, melindungi koloid, penghambat sineresis, dan dapat meningkatkan sifat-sifat tekstur dan kestabilan suatu cairan produk pangan (Distantiana *et al.* 2009). *Eucheuma spinosum* dapat

juga dimanfaatkan sebagai penghasil karaginan. Pada produk makanan, karaginan berfungsi sebagai stabilisator (pengatur keseimbangan), *thickener* (bahan pengental), pembentuk gel, dan pengemulsi (Yasita dan Rachmawati 2010).

Beberapa jenis rumput laut secara ekonomi menjadi penting karena mengandung senyawa polisakarida. Secara keseluruhan, polisakarida yang diproduksi oleh rumput laut merah dapat membentuk sistem koloidal yang larut dalam air. Polisakarida yang penting dari golongan rumput laut merah adalah agar dan karaginan (Susanto 2002).

2.3 Karaginan

Karaginan terdapat dalam dinding sel rumput laut atau matriks intraselulernya (Hellebust dan Cragie 1978). Karaginan merupakan getah rumput laut yang diekstrak dengan air atau larutan alkali dari spesies tertentu dari kelas Rhodophyceae (alga merah) (Alam 2011). Karaginan diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan air panas (*hot water*) atau larutan alkali pada temperatur tinggi (Glicksman 1983).

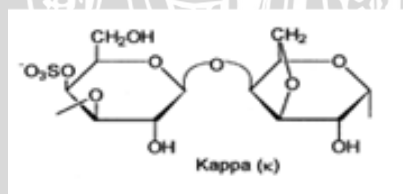
Karaginan adalah suatu bentuk polisakarida linear dengan berat molekul di atas 100 kDa (WHO 1999). Jumlah dan posisi sulfat yang membedakan polisakarida dari kelas *Rhodophyceae*. deMan (1989) menyatakan polisakarida harus mengandung 20% sulfat berdasarkan berat kering untuk diklasifikasikan sebagai karaginan.

Karaginan adalah senyawa hidrokoloid yang terdiri dari ester kalium, natrium, magnesium, dan kalium sulfat dengan galaktosa 3,6-anhidro-galaktosa kopolimer (Winano 1996). Karaginan tersusun dari perulangan unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidro-galaktosa. Unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidro-galaktosa yang berikatan dengan sulfat atau tidak berikatan dihubungkan dengan ikatan

glikosidik α -1,3 dan β -1,4 secara bergantian (FMC Corp. 1977). Berdasarkan struktur pengulangan unit polisakarida, karaginan dapat dibagi menjadi tiga fraksi utama yaitu κ -(Kappa), λ -(Lambda), dan i -(Iota) karaginan (Anggraini 2004).

Kappa karaginan merupakan hasil ekstraksi dari rumput laut *Eucheuma cottonii* Winarno (1996). Kappa karaginan sensitif pada ion kalium dan membentuk gel kuat pada larutan yang mengandung garam kalium (Yeast 2012). Wikipedia (2012) menambahkan kappa yang membentuk gel akan resisten terhadap degradasi.

Kappa karaginan adalah salah satu jenis polisakarida yang tersusun atas α -D-galaktosa-4-sulfat dan β -3,6-anhidro-galaktosa (Stanley 1990). Rantai polisakarida tersebut terdiri dari ikatan berulang antara gugus galaktosa dengan 3,6-anhidro-galaktosa yang dihubungkan dengan ikatan glikosidik α -1,3 dan β -1,4 (Imeson 2000). Adanya gugusan 6-sulfat, dapat menurunkan daya gelasi karaginan, tetapi dengan pemberian alkali mampu menyebabkan terjadinya transemilasi gugusan 6-sulfat, yang menghasilkan 3,6-anhidro-D-galaktosa (Falshaw *et al.* 2001). Berikut adalah gambar struktur kappa karaginan menurut Falshaw *et al.* (2001) :



Gambar 3. Struktur Kappa Karaginan

Sifat kappa karaginan adalah kurang hidrofilik karena memiliki banyak gugus 3,6 anhidro-galaktosa (cPkelco ApS. 2004). Kappa karaginan memiliki sifat stabil terhadap perubahan pH, terhidrolisis pada larutan yang memiliki pH netral dan alkali apabila dipanaskan serta stabil dalam keadaan gel. Kappa karaginan membentuk gel kuat dan tidak jernih namun gel tersebut akan jernih

dengan penambahan gula Kappa karaginan larut pada air diatas 60° C dan larutan gula pekat yang panas, tapi tidak larut pada garam pekat (Winarno 1996).

Tabel 3. Daya Kelarutan dan Stabilitas Kappa Karaginan.

Sifat-sifat	Kappa Karaginan
Daya Kelarutan pada Media Pelarut :	
Air panas	Larut suhu > 60° C
Air dingin	Larut Na saja
Susu panas	Larut
Susu dingin	Kental
Larutan gula	Larut (dengan suhu panas)
Larutan garam	Tidak larut
Larutan organik	Tidak larut
Stabilitas pada Media Pelarut :	
pH netral dan alkali	Stabil
pH asam	Terhidrolisis jika dipanaskan dan stabil dalam bentuk gel

Sumber : Glicksman (1983).

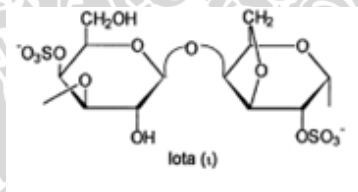
Tabel 3 merupakan daya kelarutan dan stabilitas kappa karaginan. Sifat-sifat dari kappa karaginan adalah memiliki karakteristik daya larut yang dipengaruhi oleh bentuk garam dari gugus esternya. Kappa karaginan memiliki efek kation yang kuat dengan ion potassium. Kappa karaginan juga memiliki efek sinegis dengan *locus gum* yang tinggi, tetapi kappa karaginan tidak stabil pada kondisi *freezing thawing*.

Jenis sodium umumnya lebih mudah larut, sementara jenis potassium lebih sukar larut. Hal ini menyebabkan kappa karaginan dalam bentuk garam potassium lebih sukar larut dalam air dingin dan diperlukan air panas untuk mengubahnya menjadi larutan, sedangkan dalam bentuk garam sodium lebih mudah larut (Tridiyani 2011).

Kappa karaginan mengandung 25% ester sulfat dan 34% 3,6-anhidrogalaktosa yang terkandung dalam kappa karaginan adalah yang terbesar diantara dua jenis karaginan lainnya. Iota karaginan mengandung 32% ester sulfat dan 30% 3,6-anhidrogalaktosa (Imeson 2000).

lota karaginan merupakan hasil ekstraksi dari rumput laut *Eucheuma spinosum* Winarno (1996). Iota karaginan akan membentuk gel elastis pada larutan yang mengandung garam kalsium (Yeast 2012). Anggadiredja *et al.* (2006) menambahkan iota karaginan memiliki sifat gel yang halus dan mudah dibentuk.

Iota karaginan ditandai dengan adanya 4-sulfat ester pada setiap residu D-glukosa dan gugusan 2-ester pada setiap gugusan 3,6 anhidro-galaktosa. Gugusan 2-sulfat ester tidak dapat dihilangkan oleh proses pemberian alkali seperti kappa karaginan. Iota karaginan mengandung beberapa gugusan 6-sulfat ester yang menyebabkankurangnya keseragaman molekul yang dapat dihilangkan dengan pemberian alkali (Winarno 1996). Berikut adalah gambar struktur iota karaginan menurut Falshaw *et al.* (2001) :



Gambar 4. Struktur Iota Karaginan

Karaginan jenis iota bersifat lebih hidrofilik karena adanya gugus 2-sulfat yang dapat menetralkan 3,6 anhidro-D-galaktosa yang bersifat hidrofobik (cPkelco ApS. 2004). Iota karaginan membentuk gel elastis dan jernih. Peningkatan gugus 2-sulfat mengakibatkan penurunan kekuatan gel yang terbentuk karena ikatan ionik dengan ion potassium mengalami penurunan.

Tabel 4. Daya Kelarutan dan Stabilitas Iota Karaginan.

Sifat-sifat	Iota Karaginan
Air panas	Larut suhu > 60° C
Air dingin	Larut Na saja sedangkan garam K dan Ca member disperse thixotropic
Susu panas	Larut
Susu dingin	Tidak larut
Larutan gula pekat	Sukar larut
Larutan garam dingin	Pada suhu panas akan larut
Stabilitas pada Media Pelarut :	
pH netral dan alkali	Stabil
pH asam	Terhidrolisis dalam dan stabil dalam bentuk gel

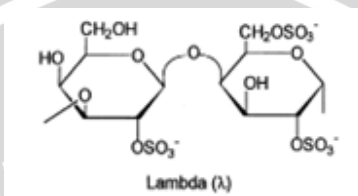
Sumber : Moraino (1977).

Tabel 4 merupakan sifat iota karaginan berdasarkan daya kelarutan dan stabilitas pH dalam berbagai media pelarut. Iota karaginan larut dalam air pada temperatur 60° C keatas, dapat larut dalam larutan garam (20-25% NaCl) (Glicksman 1983). Iota karaginan larut dalam suhu panas dan tidak larut dalam suhu dingin, iota karaginan dapat membentuk gel dengan ion Kalsium, stabil pada pH netral dan alkalis tetapi pada pH asam akan terhidrolisa (Istini *et al.* 2008). Penurunan pH menyebabkan terjadinya hidrolisis dari ikatan glikosidik yang menyebabkan kehilangan viskositas. Hidrolisis dipengaruhi oleh pH, temperatur, dan waktu. Hidrolisis dipercepat oleh panas pada pH rendah (Moirano 1977).

Viskositas larutan karaginan terutama disebabkan oleh sifat iota karaginan yang sangat hidrofilik dan umumnya karaginan sebagai polielektrolit. Gaya tolakan antar muatan-muatan negatif sepanjang rantai polimer yaitu gugus sulfat, mengakibatkan rantai molekul menegang. Polimer tersebut dikelilingi oleh molekul-molekul air yang terimobilisasi, sehingga menyebabkan larutan iota karaginan bersifat lebih kental dibanding kappa karaginan (Guiseley *et al.* 1980).

Lambda karaginan berbeda dengan kappa dan iota karaginan, karena memiliki sebuah residu *dusulphated* α 1,4 D galaktosa. Tidak seperti halnya pada

kappa dan iota karaginan yang memiliki gugus 4-phosphat ester. Posisi dari sulfat yang terkait dapat dengan mudah ditentukan dengan *infrared spectrophotometer* (Winarno 1990). Identifikasi jenis karaginan dilakukan dengan sinar infra merah untuk mengetahui gugus fungsional (Zabik dan Aldrich 1968). Bentuk adalah gambar struktur lambda karaginan menurut Falshaw *et al.* (2001) :



Gambar 5. Struktur Lamda Karaginan

Gambar 5 merupakan struktur kimia dari lambda karaginan. Guiseley *et al.* (1980) membedakan struktur kappa karaginan dan lambda karaginan berdasarkan kandungan 3,6 anhidro-galaktosa dan kandungan sulfat. Lambda tersusun atas α -1,3-D-galaktosa-2-sulfat dan β -1,4-D-galaktosa-2,6-sulfat. Lambda karaginan mengandung 35% ester sulfat mengandung sedikit 3,6 anhidro-galaktosa (Imeson 2000). Smith (1995) menyatakan lambda karaginan tidak mempunyai gugus 3,6 anhidro-galaktosa.

Tabel 5. Daya Kelarutan dan Stabilitas Lambda Karaginan.

Sifat-sifat	Lamda karaginan
Daya Kelarutan pada Media Pelarut :	
Air panas	Larut 40 ⁰ - 60 ⁰ C
Air dingin	Larut garam
Susu panas	Larut
Susu dingin	Lebih kental
Larutan gula	Larut (dengan suhu panas)
Larutan garam	Larut (dengan suhu panas)
Larutan organik	Tidak larut
Stabilitas pada Media Pelarut :	
pH netral dan alkali	Stabil
pH asam	Terhidrolisis

Sumber : cP Kelco ApS (2004).

Daya kelarutan dan stabilitas lambda karaginan dalam berbagai media pelarut dapat dilihat Tabel 5. Lambda karaginan larut dalam susu dingin dan

akan membentuk dispersi. Lambda karaginan larut dalam air panas pada suhu $40^{\circ} - 60^{\circ} \text{C}$. Pada air dingin seluruh garam dapat larut dalam lambda karaginan (Alam 2011). Lambda karaginan cukup stabil pada kisaran pH diatas 7 dan memiliki stabilitas maksimum pada pH 9. Stabilitas lambda karaginan akan mengalami penurunan pH dibawah 7 terutama jika terjadi kenaikan temperatur (Glicksman 1969). Larutan lambda karaginan akan mengalami penurunan viskositas dan kekuatan gel (*gel strength*) pada pH 4, karena terputusnya ikatan glikosidik yang mengakibatkan terjadinya hidrolisa. Laju hidrolisis akan meningkat dengan adanya peningkatan suhu (Imeson 2000). Lambda karaginan tidak mampu membentuk gel karena tidak mengandung 3,6-anhidrogalaktosa. Proses pembentukan gel karaginan terjadi ketika larutan panas karaginan dibiarkan dingin. Gel yang dihasilkan bersifat *thermoreversible* yaitu gel akan mencair jika dipanaskan dan akan membentuk gel kembali bila didinginkan (Glicksman 1983).

Karaginan mempunyai kemampuan yang unik, yaitu dapat membentuk berbagai variasi gel pada temperatur ruang. Larutan karaginan dapat mengentalkan dan menstabilkan partikel-partikel sebaik pendispersi koloid dan emulsi air atau minyak (Nopianto 2009).

2.3.1 Mekanisme Gelasi

Mekanisme gelasi adalah suatu pengikatan silang rantai-rantai polimer yang membentuk suatu jala tiga dimensi bersambungan. Selanjutnya jala ini menangkap air di dalam bahan hidrokoloid, membentuk struktur kuat dan kaku. Sifat pembentukan gel ini beragam dari satu jenis hidrokoloid ke jenis lain, tergantung pada jenisnya. Gel mempunyai sifat seperti padatan, khususnya sifat elastis dan kekakuan (Fardiaz 1989).

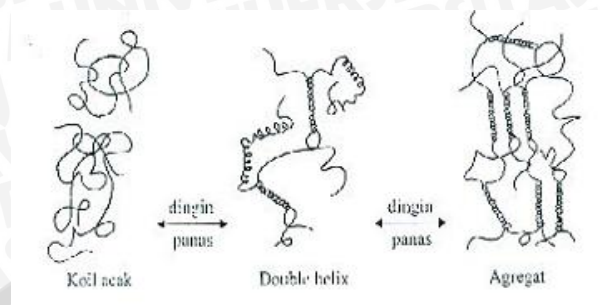
Proses pembentukan gelasi terjadi karena adanya ikatan polimer sehingga membentuk struktur tiga dimensi mengandung pelarut pada celah-celahnya (Sulastri 2010). Pembentukan kerangka tiga dimensi oleh *double heliks* ini akan mempengaruhi pembentukan gelasi. Kerangka tiga dimensi dapat mengembang karena menyerap air secara osmosis sehingga berubah menjadi zat padat, karena dapat mempertahankan bentuknya dan memiliki respon yang elastis bila diberi tekanan (Suryaningrum *et al.* 1991).

Kappa-karaginan dan iota-karaginan merupakan fraksi yang mampu membentuk gel dalam air dan bersifat *reversible* yaitu meleleh jika dipanaskan dan membentuk gel kembali jikadidinginkan, karena mengandung gugus 3,6-anhidrogalaktosa. Adanya perbedaan jumlah, tipe dan posisi gugus sulfat mempengaruhi proses pembentukan gel. Kappa karaginan dan iota karaginan akan membentuk gel hanya dengan adanya kation-kation tertentu seperti K^+ , Rb^+ , dan Ca^+ .

Kappa karaginan sensitif terhadap ion kalium dan membentuk gel kuat dengan adanya garam kalium, sedangkan iota karaginan akan membentuk gel yang kuat dan stabil bila ada ion Ca^{2+} (Glicksman 1983). Potensi membentuk gel dan viskositas larutan karaginan akan menurun dengan menurunnya pH, karena ion H^+ membantu proses hidrolisis ikatan glikosidik pada molekul karaginan (Angka dan Suhartono2000). Konsistensi gel dipengaruhi beberapa faktor antara lain: jenis dan tipe karaginan, konsistensi, adanya ion-ion serta pelarut yang menghambat pembentukan hidrokoloid (Towle 1973).

Variasi penambahan bahan pengikat atau pengaturan reaksi kimia pada saat ekstraksi kappa dan iota karaginan akan berpengaruh terhadap struktur tiga dimensi dari kappa dan iota karaginan. Garam KCl merupakan garam yang tidak beracun dan banyak digunakan untuk membatu proses pembentukan gel

karaginan. Penambahan garam KCl sampai batas tertentu dapat meningkatkan kekuatan gel dari kappa dan iota karaginan (Sulastri 2010).



Gambar 6. Mekanisme gelasi karaginan (Thomas 1992).

Gambar 6 menunjukkan proses terjadinya gel karaginan. Proses ini diawali dengan perubahan polimer karaginan menjadi bentuk gulungan acak (*random coil*). Perubahan ini disebabkan proses pemansan tinggi dari suhu pembentukan gel karaginan. Ketika suhu diturunkan, maka polimer karaginan akan membentuk struktur *double helix* (pilihan ganda) dan menghasilkan titik-titik pertemuan (*junction points*) dari rantai polimer.

Polimer-polimer ini akan terikat silang secara kua dengan penurunan suhu yang berkelanjutan. Dengan makin bertambahnya bentuk *heliks* akan terbentuk agregat dengan gelasi yang kuat (Glicksman 1969). Semakin bertambahnya bentuk *heliks* proses pembentukan agregat terus terjadi dan gelasi akan mengerut sambil melepaskan air yang disebut sineresis (Fardiaz 1989).

2.4 Probiotik

Probiotik berarti 'for life' (untuk kehidupan) yang dapat disebut juga bakteri baik, bakteri menguntungkan, dan bakteri sehat (Anonymous 2012). Havenaar *et al.* (1992) menyatakan bahwa probiotik adalah kultur tunggal atau campuran mikroba hidup yang dapat memperbaiki saluran pencernaan makhluk hidup. Sementara itu, Salminen *et al.* (1998) menyatakan probiotik menguntungkan bagi kesehatan manusia yang dapat ditambahkan dalam bahan

makanan karena menekan bakteri patogen atau bakteri jahat. Sehingga probiotik dapat berkontribusi pada keseimbangan mikroba dalam sistem pencernaan. Probiotik juga dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan hewan (Araya *et al.* 2002).

Havenaar *et al.* (1992) menyatakan probiotik merupakan bakteri baik yang ditambahkan dalam bahan pangan. Probiotik dapat dijadikan sebagai suplemen makanan dalam bentuk mikroba hidup. Probiotik bermanfaat bagi ternak inang (host) dengan meningkatkan keseimbangan mikroba dalam sistem pencernaan (Fuller, 1989). Tujuan penggunaan bakteri probiotik dalam makanan adalah untuk meningkatkan kesehatan. Fungsi bakteri probiotik adalah mengurangi bakteri patogen dalam usus, menstimulasi respons, dan kekebalan tubuh (Kompas 2004). Keuntungan lain meliputi pengendalian infeksi pencernaan, pengendalian tingkat kolesterol, dan memiliki aktivitas antikanker (Krasaekoopt *et al.* 2003).

Probiotik dapat menyeimbangkan mikroflora usus, mencegah kolonisasi bakteri patogen, dan mematikan bakteri patogen melalui dinding usus atau organ lain. Mekanisme kerja bakteri probiotik melekat atau menempel dan berkolonisasi pada saluran pencernaan, berkompetisi terhadap makanan dan memproduksi zat anti mikrobial serta meningkatkan sistem kekebalan sel inang (Tanod 2011).

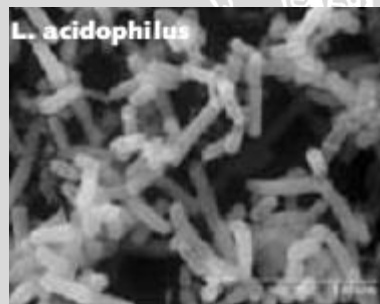
Kelayakan probiotik adalah resistensi bakteri asam laktat pada pH rendah (asam). Fetlinski dan Stepaniak (1994) menyebutkan bahwa bakteri sebagai probiotik tergantung ketahanannya terhadap pH rendah, garam empedu (basa), dan kemampuan untuk hidup dalam sistem pencernaan (David dan Gasson 1981). Probiotik dapat memberikan efek menguntungkan pada inang, tidak merugikan dan beracun, mengandung sejumlah besar sel hidup, mampu bertahan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus, mempunyai sifat sensori yang baik dan diisolasi dari inang (Fuller 1991).

2.4.1 *Lactobacillus acidophilus*

Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif, berbentuk batang atau bulat, tidak membentuk spora, dan mampu menfermentasi gula seperti glukosa atau laktosa menjadi asam laktat. Salah satu bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*. Bakteri ini tergolong homofermentatif dan dapat tumbuh pada suhu 40° C (Shah 2000).

Lactobacillus acidophilus berasal dari bahasa latin lacto yang berarti susu dan *bacillus* yang berarti bentuk batang, sedangkan *acidophilus* berarti suka asam. Morfologi dari *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 7 dan klasifikasi *Lactobacillus acidophilus* menurut Wikipedia (2012) adalah:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>



Gambar 7. *Lactobacillus acidophilus* (Zhang 2011).

Lactobacillus acidophilus adalah satu dari beberapa bakteri probiotik dari genus *Lactobacillus*. Gambar 7 memperlihatkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* mempunyai panjang antara 0,6–0,9 µm dan tidak berflagela. Bakteri ini mampu tumbuh pada lingkungan yang lebih asam daripada bakteri lainnya (pH 4-5 atau kurang) dan suhu optimal untuk hidup adalah 45°C (Jones 1999). Seperti kebanyakan (tetapi tidak semuanya) bakteri asam laktat lainnya, *Lactobacillus acidophilus* mampu mengubah laktosa menjadi asam laktat.

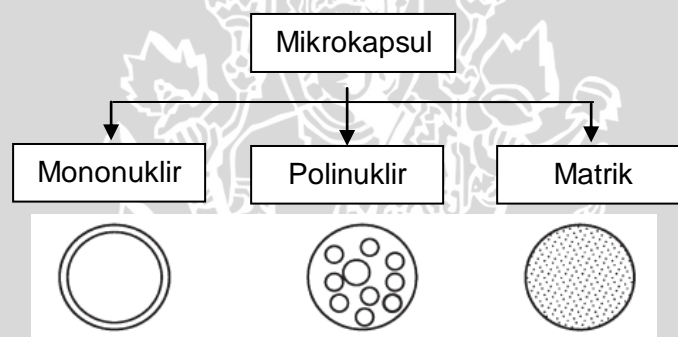
Mosilhey (2003) mengemukakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh pada suhu tinggi dan pada pH rendah. Suhu untuk pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dapat mencapai 45^o C, tetapi suhu optimum pertumbuhannya adalah 35^o-40^oC. *Lactobacillus acidophilus* dapat tahan terhadap kondisi asam dan mampu memproduksi asam laktat 0,3-0,19 %, serta pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 5,5-6,0.

Manfaat *Lactobacillus acidophilus* di bidang kesehatan yaitu :dapat mengurangi jumlah kolesterol dalam tubuh (Anderson dan Gilliland 1999).*Lactobacillus acidophilus* adalah mencegah infeksi pada saluran pencernaan, menurunkan resiko alergi akibat polusi, dan membantu mengobati atau mencegah diare akibat produk antibiotik (Medical Center Maryland 2009). Tennyeny menambahkan (1996) menambahkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* memproduksi asam asetat yang dapat menurunkan ph usus untuk menghambat bakteri merugikan. *Lactobacillus acidophilus* dapat bekerja optimal dalam saluran pencernaan dengan jumlah yang optimal. Jumlah optimal viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang harus terserap dalam usus adalah 10⁶-10⁷ CFU/gram (Kebary *et al.* 1996).

2.5 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan salah satu upaya yang dapat digunakan untuk mengendalikan pelepasan obat (Sutriyo *et al.* 2004). Mikroenkapsulasi juga dapat digambarkan sebagai suatu teknologi tentang pengemasan bahan padatan, cairan, atau berupa gas dalam ukuran kecil (Anal dan Singh 2007). Mikroenkapsulasi adalah teknologi melapisi suatu zat inti dengan lapisan dinding polimer sehingga menjadi partikel-partikel kecil berukuran mikro (seperseribu milimeter)(Mardliyati 2008).

Mikrokapsul terdiri dari bahan inti dan suatu pelapis (dinding atau kulit). Bentuk inti bisa merupakan suatu partikel unsur tidak beraturan atau berbentuk bola (Bain 1998). Menurut Balasa dan Fanger (1971), ukuran mikrokapsul dapat berkisar dari 0,2-5000 μm dan memiliki beragam bentuk. Sedangkan King (1995) menyatakan bahwa apabila ukuran partikel $>5000 \mu\text{m}$ disebut makrokapsul, ukuran partikel antara 0,2-5000 μm disebut mikrokapsul, dan ukuran partikelnya $<0,2 \mu\text{m}$ disebut nanokapsul. Struktur dan ukuran mikrokapsul yang dihasilkan tergantung dari teknik pembuatannya, jenis bahan inti dan polimer (bahan penyalut) yang digunakan (Jackson dan Lee 1991). Karakteristik mikrokapsul yang baik memiliki ukuran $<200\mu\text{m}$ agar proses penguraian polimer bahan penyalut optimal (Venkatesan *et al.* 2009).



Gambar 8. Morfologi Mikrokapsul (Ghosh 2006).

Gambar 8 merupakan morfologi mikrokapsul. Morfologi mikrokapsul bergantung pada bahan inti dan proses pengendapan bahan penyalut. Mikrokapsul memiliki bentuk yang beraturan ataupun tidak beraturan. Berdasarkan morfologinya bisa diklasifikasikan menjadi : mononuklir (berbahan aktif tunggal), polinuklir (berbahan aktif banyak), dan tipe matrik. Mononuklir (berinti tunggal) adalah posisi kulit disekitar inti, polinuklir (berinti banyak) merupakan ada banyak inti di dalam kulit, dan tipe matrik adalah bahan inti disalurkan secara homogen di dalam inti (Ghosh 2006).

Mikroenkapsulasi memiliki banyak keunggulan dan kekurangan. Keunggulan dari mikroenkapsulasi adalah semipermeabel, berbentuk bola, tipis, dan memiliki dinding membran yang kuat. Oleh sebab itu, sel bakteri dapat bertahan lebih lama. Keunggulan lainnya adalah pengebakan matrik mikroenkapsulasi tidak berbentuk padat (lebih ke arah gel) dan memiliki diameter kecil, sehingga dapat mengatasi keterbatasan reaksi. (Kalisapathy 2002). Sedangkan kekurangan mikroenkapsulasi merupakan teknologi mahal apabila dilakukan dalam skala industri karena jumlah produksi rendah (Desmond *et al.* 2001).

2.5.1 Enkapsulat

Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan suatu bahan. Bahan penyalut disebut enkapsulat sedangkan yang disalut atau dilindungi disebut *core* (Triana *et al.* 2006). Teknik ini banyak diaplikasikan pada bidang industri bahan pangan karena mengawetkan makanan lebih lama sehingga teknik enkapsulasi dapat mengurangi resiko kebusukan bahan makanan oleh mikroba (Victor dan Heldman 2001).

Mikrokapsul biasa dibagi menjadi dua bagian utama yaitu inti dan kulit. Terdapat pula komponen pelarut. Bahan inti adalah bahan spesifik yang akan dienkapsulasi, dapat berupa zat padat, cair, ataupun gas. Komposisi material inti dapat bervariasi, yakni pada bahan inti cair yang terdiri dari bahan terlarut. Bahan padat dapat berupa zat tunggal atau campuran zat aktif dengan bahan pembawa lain seperti stabilisator, pengencer, pengisi, penghambat, atau pemacu pelepasan bahan aktif (Istiyani *et al.* 2008). Bahan inti yang baik tidak larut atau tidak bereaksi dengan bahan penyalut (Leon *et al.* 1990).

Bahan penyalut adalah bahan-bahan yang berfungsi sebagai bahan pelapis dalam proses enkapsulasi (Masters 1979). Bahan penyalut yang

digunakan harus memiliki kelarutan yang tinggi dan kemampuan mengemulsi, dapat membentuk lapisan film, dan menghasilkan larutan berkonsentrasi tinggi dengan viskositas rendah (Young *et al.*1993). Bahan penyalut harus dapat memberikan suatu lapisan tipis kohesif dengan inti, tercampur secara kimia, tidak bereaksi dengan inti, dan mempunyai sifat sesuai tujuan penyalutan yaitu kuat, mudah dilenturkan, tidak dapat ditembus, stabil, dan bersifat optis (Kumar *et al.* 2011). Bahan penyalut harus dapat melindungi bahan aktif dari oksidasi panas, cahaya, dan kelembaban, serta mencegah penguapan dari komponen volatil (King *et al.* 1976).

Pelarut adalah bahan yang digunakan untuk melarutkan bahan penyalut dan mendispersikan bahan inti. Pemilihan pelarut berdasarkan sifat kelarutan dari bahan inti atau zat aktif dan bahan penyalut, dimana pelarut yang digunakan tersebut tidak atau hanya sedikit melarutkan bahan inti tetapi dapat melarutkan bahan penyalut. Pelarut polar akan melarutkan senyawa yang bersifat polar, dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa yang bersifat nonpolar.

Pelapis atau bahan penyalut dapat rusak secara mekanik akibat dikuyah, meleleh ketika terekspos dengan panas, terlarut dalam pelarut. Perubahan pH dapat mengubah kemampuan proses penembusan bahan aktif sehingga mengendalikan pelepasan. Pelapis dari lemak (lipid) dapat terdegradasi akibat enzim lipase dan bahan aktif berdifusi ke lingkungan. Sifat fisik dan kimia dari bahan aktif (seperti kelarutan, difusifitas, tekanan uap, dan koefisien partisi) dan pelapis (seperti ketebalan, porositas, dan kemampuan bereaksi) juga mempengaruhi pelepasan bahan aktif (Gouin 2004).

Proses mikroenkapsulasi terdiri dari dua tahap, yaitu pencampuran bahan inti dengan larutan pembentuk materi yang membentuk dinding dan pengeringan emulsi yang terbentuk (Afriani *et al.* 2011). Prinsip proses mikroenkapsulasi adalah perdispersian bahan inti ke dalam media mikroenkapsulasi, pencampuran

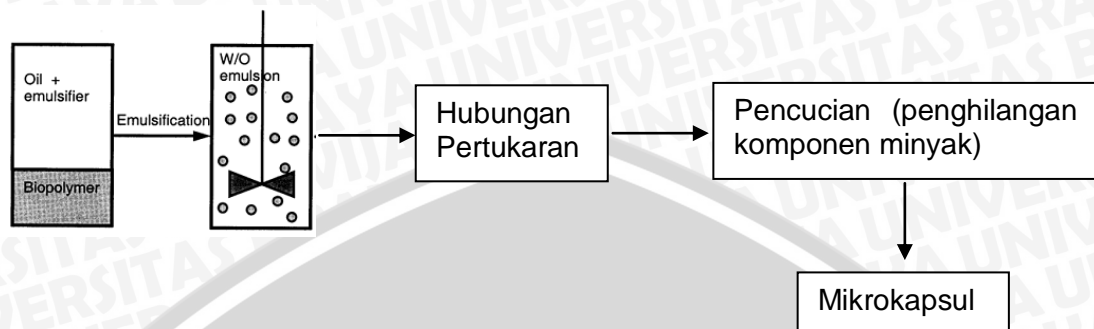
bahan penyalut dengan dispersi bahan intidan proses penggabungan, penyimpanan dan penyalutan bahan penyalut pada bahan inti, serta penstabilan mekanis dengan perlakuan kimia dan fisik (Kondo 1979). Mikroenkapsulasi membantumemisahkan inti sel bakteri dari material sampai proses pelepasan, sehingga dapat melindungi pengaruh tidak stabil dari keadaan sekelilingnya. Dengan cara ini maka inti sel bakteri lebih terjaga sampai proses pelepasan (Gambar. 10). Bentuk dari mikroenkapsulasi sebagai perantara antara inti sel bakteri dengan dinding. Ukuran dari bentuk dinding tersebut didesain melindungi inti sel bakteri sampai proses pelepasan sehingga kondisi dimana molekul kecil bergerak keluar membran dapat terkontrol (Gibbs *et al.*1999).

Mikroenkapsulasi berfungsi menstabilkan sel, berpotensi menjaga viabilitas dan stabilitas sel(Kim *etal*, 1996). Mikroenkapsulasi dengan menambahkan substansi prebiotik dalam produk probiotik merupakan salah satu faktor yang dapat digunakan untuk meningkatkan viabilitas organisme probiotik (Lourens *et al.*2001). Godward (2000) melaporkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* sebagai probiotik dapat tetap hidup selama penyimpanan 6 bulan pada suhu 20⁰ C. Jumlah koloni antara probiotik yang dienkapsulasi dengan jumlah koloni bakteri sebelum dienkapsulasi adalah sama. Pada penelitian Khalida *et al* (2000),*Lactobacillus acidophilus*yang dienkapsulat dengan bahan penyalut *Calsium Alginat*memiliki kualitas yang sama sebelum dan sesudah selama penyimpanan 8 minggu dengan suhu 4⁰ C.

2.5.2 Teknik Mikroenkapsulasi Emulsi

Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa sistem emulsi banyak digunakan untuk enkapsulasi probiotik (Kaliasapathy 2002). Kapsul terbentuk dari dua tahap yaitu penyebaran dan pengerasan. Sel bakteri dan suspensi polimer diekstruksi melalui pipa semprot yang menghasilkan droplet berbentuk

bola. Prinsip Mikroenkapsulasi dengan teknik emulsi ini didasarkan pada hubungan antara fase terputus dan fase kontinu (Krasaekoopt *et al.* 2003).



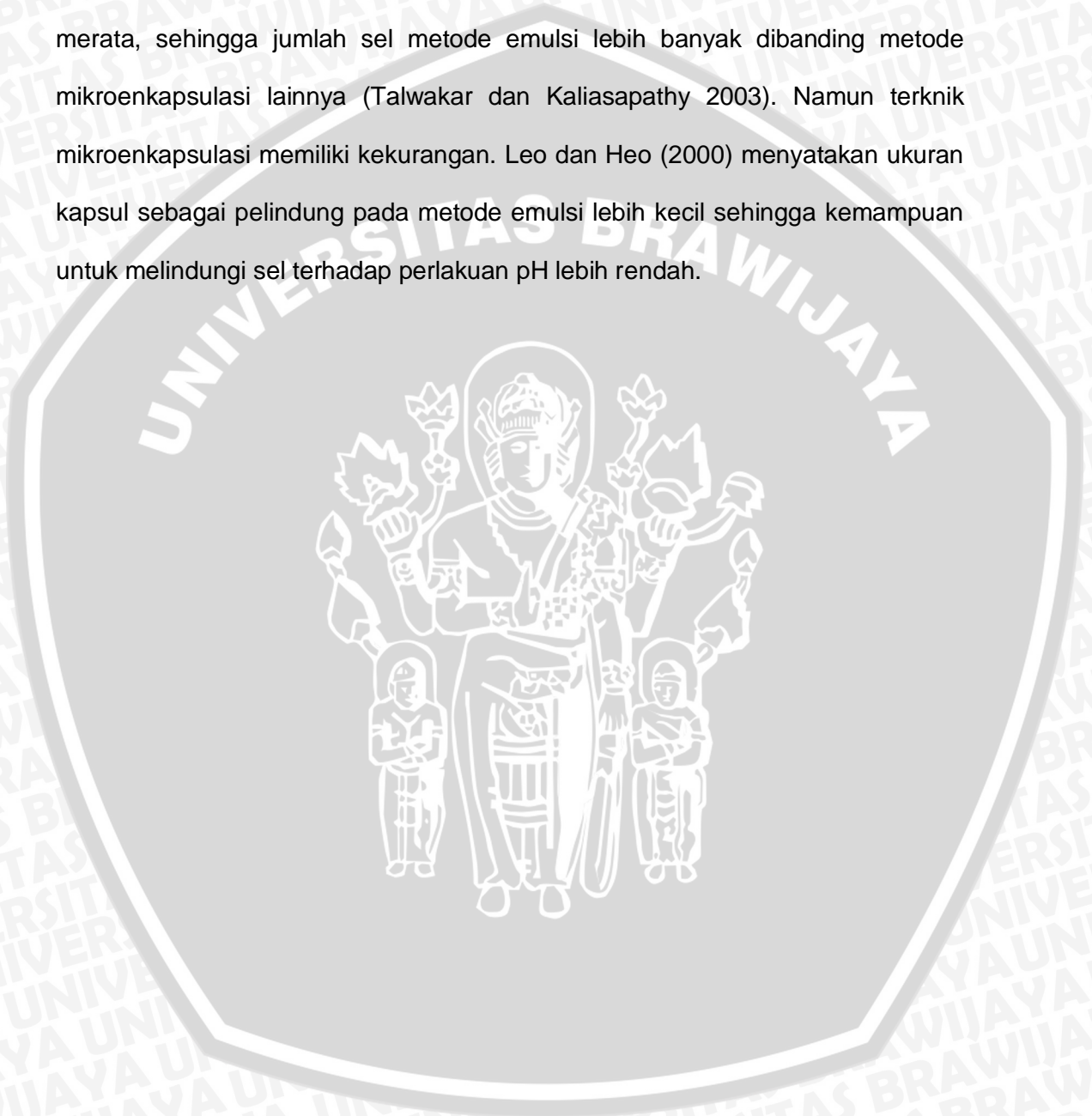
Gambar 9. Proses Mikroenkapsulasi dengan Metode Emulsi (Petrovic *et al.* 2007)

Gambar 9 menunjukkan proses emulsi. Volume kecil sel polimer suspensi (fase yang terputus) ditambahkan ke volume besar minyak nabati (fase kontinu). Fase terputus dan fase kontinu dicampurkan untuk membentuk larutan dalam emulsi minyak. Setelah cairan-dalam-minyak (W/O) emulsi terbentuk, larutan polimer dalam air tidak dapat terlarut untuk membentuk gel partikel dalam fase minyak. Metode kelarutan tergantung pada jenis bahan penyalut yang digunakan. Butiran-butiran yang dipanen kemudian di filtrasi untuk dienkapsulasi dalam emulsi, dalam hal ini diperlukan *emulsifier*. *Emulsifier* seperti *Tween 80* dapat memecah air dan minyak emulsi (Petrovic *et al.* 2007). *Tween 80* dapat menurunkan tegangan permukaan antara bahan inti dan bahan penyalut sekaligus membentuk droplet yang akan terbawa oleh bahan penyalut yang larut dalam bahan inti (Martin *et al.* 1993).

Proses stabilisasi adalah proses hubungan pertukaran (*Crosslink*) yang terjadi saat kandungan bahan terbentuk menjadi droplet dengan ukuran yang sesuai bahan enkapsulat yang digunakan. Setelah proses *crosslink* dilakukan pencucian untuk menghilangkan komponen minyak agar mendapatkan droplet kapsul yang murni.

Proses Mikroenkapsulasi emulsi pada *Lactobacillus acidophilus* menggunakan karaginan yang dapat disimpan pada suhu 4,4⁰ C. Bahan penyalut *Lactobacillus acidophilus* dapat menggunakan karaginan (Adhikari *et al.* 2003).

Diameter kapsul yang kecil akan menghasilkan penyebaran sel yang lebih merata, sehingga jumlah sel metode emulsi lebih banyak dibanding metode mikroenkapsulasi lainnya (Talwakar dan Kaliasapathy 2003). Namun teknik mikroenkapsulasi memiliki kekurangan. Leo dan Heo (2000) menyatakan ukuran kapsul sebagai pelindung pada metode emulsi lebih kecil sehingga kemampuan untuk melindungi sel terhadap perlakuan pH lebih rendah.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan *refine carrageenan (RC)* adalah air, akuades, Kalium hidroksida (KOH), Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), HCl 0,2 N, Kalium klorida (KCl), dan kertas lakmus. Bahan-bahan yang digunakan selama proses pembuatan mikroenkapsulasi probiotik adalah sol karaginan, *Lactobacillus acidophilus*, minyak sayur, tween 80, KCl 4 M, dan akuades. Bahan-bahan yang digunakan sebagai pH simulasi saluran pencernaan diantaranya pada simulasi lambung berupa larutan NaCl 0,5% steril, pepsin, dan HCl 1 M, sedangkan bahan-bahan pembuatan simulasi usus kecil adalah NaCl 0,5% steril, *pancreatin*, garam empedu, dan akuades. Bahan-bahan yang digunakan untuk pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* berupa media MRS agar, NaCl 0,9% steril, akuades, alkohol, dan spirtus.

3.1.2 Alat-alat Penelitian

Alat-alat penelitian yang digunakan untuk proses pembuatan karaginan adalah baskom plastik, *waterbath*, gelas kaca 1000 mL dan 500 mL, erlenmeyer 1000 mL dan 500 mL, gelas ukur 100 mL, termometer, spatula kaca, jam, kain saring, blender, loyang, nampan, oven, penggiling tepung, ayakan, dan timbangan analitik. Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan mikroenkapsulasi probiotik adalah erlenmeyer 1000 mL, 500 mL, dan 250 mL, gelas kaca 500 mL, 250 mL, dan 100 mL, termometer, gelas ukur 100 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pengaduk kaca, *hot plate*, *magnetic stirrer*, timbangan analitik,

sentrifugasi, pipet volume 25 ml, bola hisap, pipet tetes, dan *freezer*. Alat-alat yang digunakan pada simulasi pH saluran pencernaan adalah erlenmeyer 500 mL dan 250 mL, gelas kaca 250 mL, gelas ukur 100 mL, autoklaf, kompor, pipet tetes, timbangan analitik, jam, pengaduk kaca, dan pH meter. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* adalah erlenmeyer 500 mL, gelas kaca 500 mL, gelas ukur 10 dan 100 mL, autoklaf, cawan petri, pipet volume 10 mL, pipet serologis 1 mL, bunsen, *sprayer*, *vortex mixer*, inkubator, *colony counter*, dan kompor.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah suatu metode untuk mencari hubungan sebab-akibat antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengeliminasi atau mengurangi faktor lain yang biasa mengganggu.

Ada empat alasan di dalam melaksanakan eksperimen yaitu untuk menentukan antara dua variabel atau lebih, memperluas lingkup studi dari variabel, meningkatkan realibilitas terhadap penemuan yang telah diperoleh dan untuk menguji teori. Studi eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesis tentang adanya hubungan antara keseragaman dan sebab akibat. Persoalan dirumuskan dengan jelas dalam bentuk hipotesis dan percobaan dilakukan dengan menguji hipotesis tersebut (Marzuki 1997). Suryabrata (1983) menjelaskan bahwa tujuan penelitian eksperimen untuk menyelidiki kemungkinan saling berhubungan sebab-akibat dengan cara menggunakan satu atau lebih perlakuan dan membandingkan dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan.

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang akan menjadi obyek pengamatan peneliti atau sebagai faktor-faktor yang berperan dalam peristiwa atau segala yang akan diteliti (Suryabarata 1998). Sudjana (2010) menyatakan keragaman dalam penelitian dibedakan menjadi dua macam, yakni keragaman bebas dan keragaman terikat. Variabel bebas adalah keragaman perlakuan yang berpengaruh terhadap keragaman terikat, sedangkan keragaman terikat adalah variabel yang timbul akibat keragaman bebas. Oleh sebab itu, keragaman terikat menjadi indikator keberhasilan variabel bebas. Variabel bebas dan terikat dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas penelitian pendahuluan : Campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%
- Variabel bebas penelitian utama : Simulasi pH saluran pencernaan manusia
- Variabel terikat : Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

3.2.3 Rancangan Percobaan

Perlakuan dalam penelitian ini untuk mengetahui viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada kondisi sebelum dan sesudah perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia dengan campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* berkonsentrasi 6%. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian pendahuluan menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 3 campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* berkonsentrasi 6% yang berbeda (25:75, 50:50, dan 75:25) dengan 4 kali ulangan. Pada penelitian utama Rancangan Acak Lengkap terdiri dari 3 perlakuan pH simulasi saluran pencernaan (kontrol, pH 2, dan pH 7) dan 4 kali ulangan. Metode analisis data

yang digunakan adalah analisa keragaman (ANOVA=Analysis of Variance) dengan model matematika sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = rata-rata umum

T_i = pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j,

i = ulangan

j = perlakuan

Desain rancangan penelitian pendahuluan dan penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Desain rancangan penelitian pendahuluan

Perlakuan	Ulangan			
	I	II	III	IV
A	A1	A2	A3	A4
B	B1	B2	B3	B4
C	C1	C2	C3	C4

Keterangan kode:

Keterangan kode :

A = Campuran RC 25% *Eucheuma cottonii*:75% *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

B = Campuran RC 50% *Eucheuma cottonii*:50% *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

C = Campuran RC 75% *Eucheuma cottonii*:25% *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan perlakuan terbaik pada campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%. Hasil analisa data pada penelitian pendahuluan dengan viabilitas tertinggi diuji lebih lanjut dalam perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia. Perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia menggunakan simulasi lambung dengan pH 2 dan simulasi usus kecil dengan pH 7 sedangkan perlakuan terbaik pada penelitian pendahuluan akan dijadikan kontrol. Perhitungan konsentrasi 6% dapat dilihat pada Lampiran 1

Tabel 7. Desain rancangan penelitian utama

Perlakuan	Ulangan			
	I	II	III	IV
K	K1	K2	K3	K4
L	L1	L2	L3	L4
M	M1	M2	M3	M4

Keterangan kode:

K = kontrol

L = kondisi simulasi pH 2

M = kondisi simulasi pH 7

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur, dilakukan analisis keragaman (ANOVA) dengan uji F hitung pada taraf 5% dan 1% dan jika terdapat hasil yang berbeda nyata maka dilakukan uji BNT pada taraf 5 % untuk mengetahui perlakuan terbaik.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dibagi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengetahui campuran karaginan terbaik dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6% sebagai bahan pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini dimulai dengan pembuatan karaginan dari jenis *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*. Metode mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* yang digunakan adalah teknik emulsi yang telah dimodifikasi dari Adhikari *et al.* 2003. Prinsip kerja teknik emulsi didasarkan pada hubungan antara fase diskontinu dan fase kontinu. volume kecil sel polimer suspensi (fase yang terputus) ditambahkan ke volume besar minyak nabati (fase kontinu). Fase terputus dan fase kontinu dicampurkan untuk membentuk larutan dalam emulsi minyak. Setelah cairan-dalam-minyak (W/O) emulsi terbentuk, larutan polimer dalam air tidak dapat terlarut untuk membentuk gel partikel dalam fase minyak. Metode kelarutan tergantung pada jenis bahan penyalut yang digunakan. Butiran-butiran yang

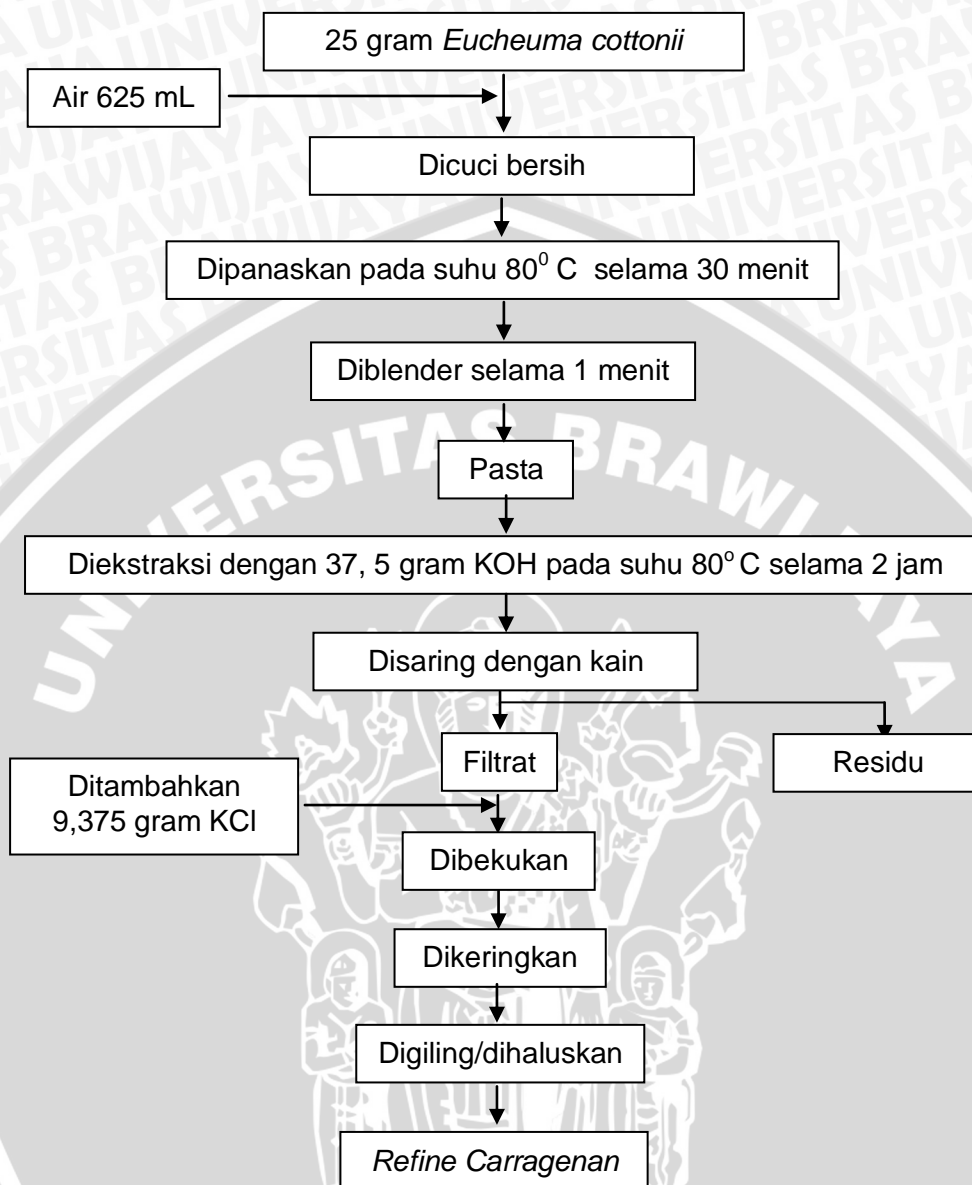
dipanen kemudian di filtrasi untuk dienkapsulasi dalam emulsi, dalam hal ini diperlukan *emulsifier*. *Emulsifier* seperti *Tween 80* dapat memecah air dan minyak emulsi (Petrovic *et al.* 2007). *Tween 80* dapat menurunkan tegangan permukaan antara bahan inti dan bahan penyalut sekaligus membentuk droplet yang akan terbawa oleh bahan penyalut yang larut dalam bahan inti (Martin *et al.* 1993).

2. Penelitian Utama

Perlakuan terbaik pada penelitian pendahuluan dijadikan standar dasar terhadap perlakuan simulasi pH saluran pencernaan manusia. Perlakuan simulasi pencernaan ini dibagi menjadi tiga bagian yaitu perlakuan tanpa pH simulasi saluran pencernaan, perlakuan simulasi lambung, dan perlakuan simulasi usus kecil.

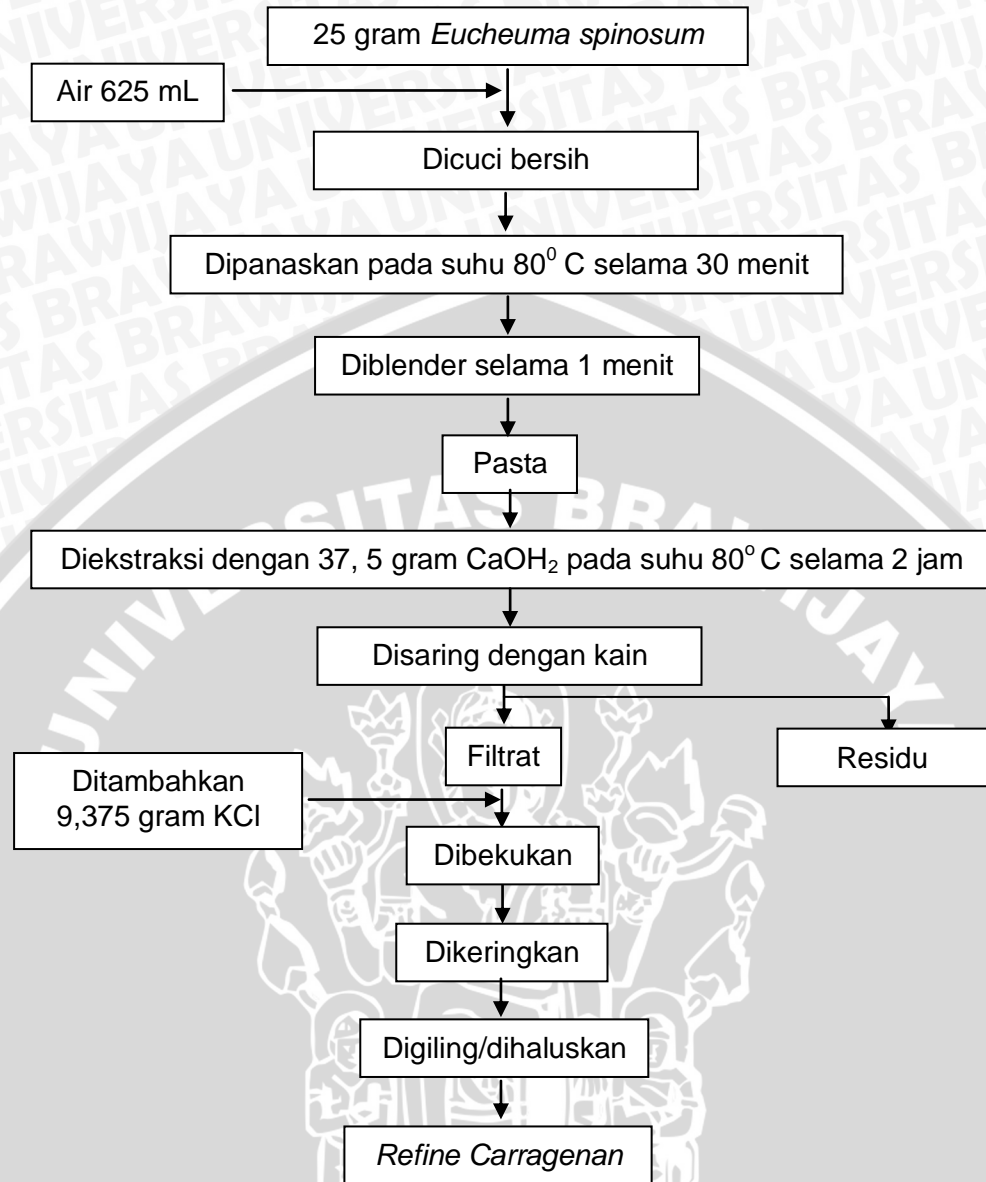
Pada perlakuan tanpa pH simulasi saluran pencernaan, mikroenkapsulasi yang telah dipanen langsung dilakukan pengujian viabilitas. Perlakuan pH simulasi lambung dilakukan dengan pemberian larutan simulasi lambung dan didiamkan selama 2 jam. Pembuatan larutan simulasi lambung yaitu dengan penggunaan NaCl steril yang ditambahkan pepsin dan dikondisikan menjadi pH 2 dengan penambahan HCl. Perlakuan pH simulasi usus kecil dilakukan dengan pemberian larutan usus kecil dan didiamkan selama 4 jam. Pembuatan larutan simulasi usus kecil dengan penggunaan NaCl steril yang ditambahkan pankreatin dan garam empedu lalu dikondisikan dalam pH 7 dengan HCl. Setelah pemberian perlakuan pH simulasi saluran pencernaan. Larutan simulasi diambil dan dilakukan pengujian viabilitas.

3.4 Prosedur Kerja



Gambar 10. Proses Pembuatan Refine Carragenan (RC) *Eucheuma cottonii*

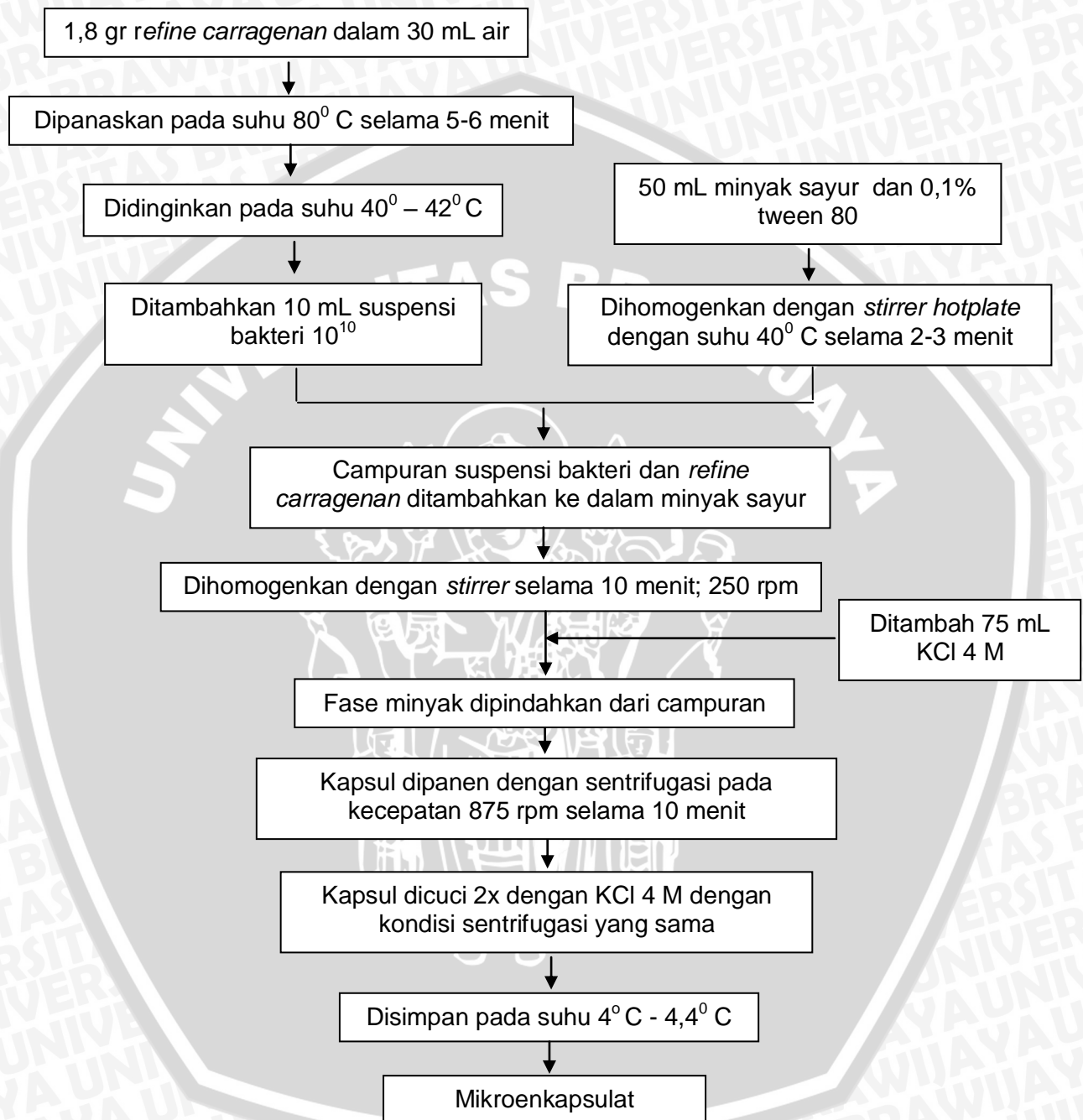
Sumber : Kurniasari (2006).



Gambar 11. Proses Pembuatan Refine Carragenan (RC) *Eucheuma spinosum*

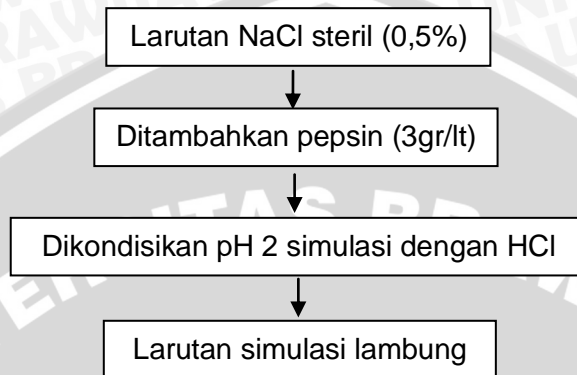
Sumber : Kurniasari (2006).S

Diagram alir mikroenkapsulasi dengan teknik emulsi dapat dilihat pada Gambar 12 dibawah ini :

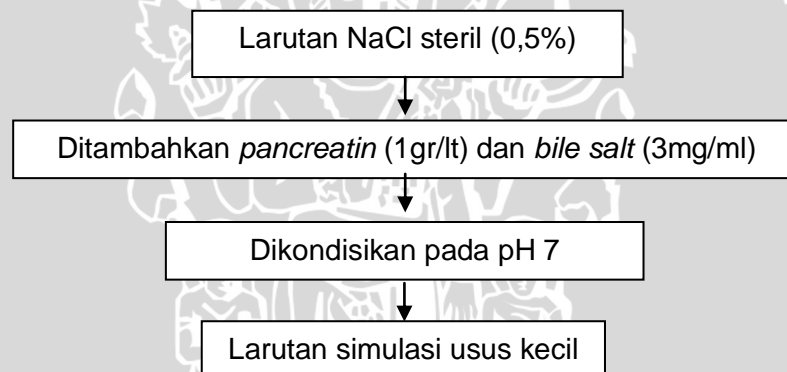


Gambar 12. Teknik Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*
Sumber : Adhikari *et al.* (2003).

Prosedur pembuatan larutan simulasi lambung dan simulasi usus kecil yang digunakan dalam simulasi saluran pencernaan terhadap enkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* pada penelitian ini dapat dilihat dalam Gambar.13 dan 14.



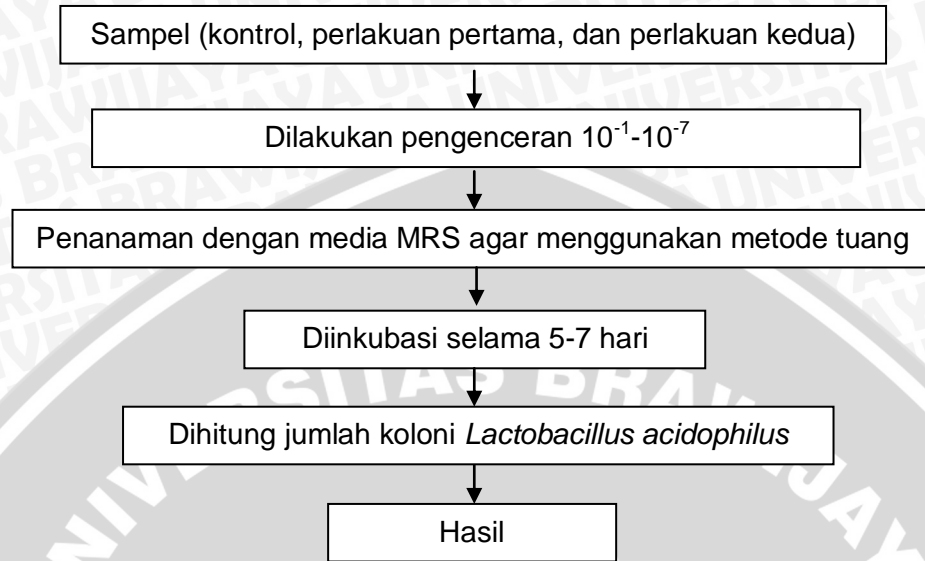
Gambar 13. Pembuatan Larutan Simulasi Lambung (Kos et al. 2000).



Gambar 14. Pembuatan Larutan Simulasi Usus Kecil (Kos et al. 2000).

Prosedur simulasi saluran pencernaan terhadap enkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* pada penelitian ini dibagi menjadi kontrol dan dua perlakuan. Pada sampel kontrol tidak diberikan perlakuan pH simulasi saluran pencernaan. Perlakuan pertama adalah enkapsulat *refine carrageenan* disimulasikan pada pH larutan simulasi lambung selama 2 jam. Perlakuan kedua adalah enkapsulat *refine carrageenan* disimulasikan pada pH larutan simulasi usus kecil selama 4 jam. Kontrol dan kedua perlakuan dilakukan uji viabilitas

untuk mengetahui viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Prosedur uji viabilitas dan perhitungan kolonisasi *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 15.



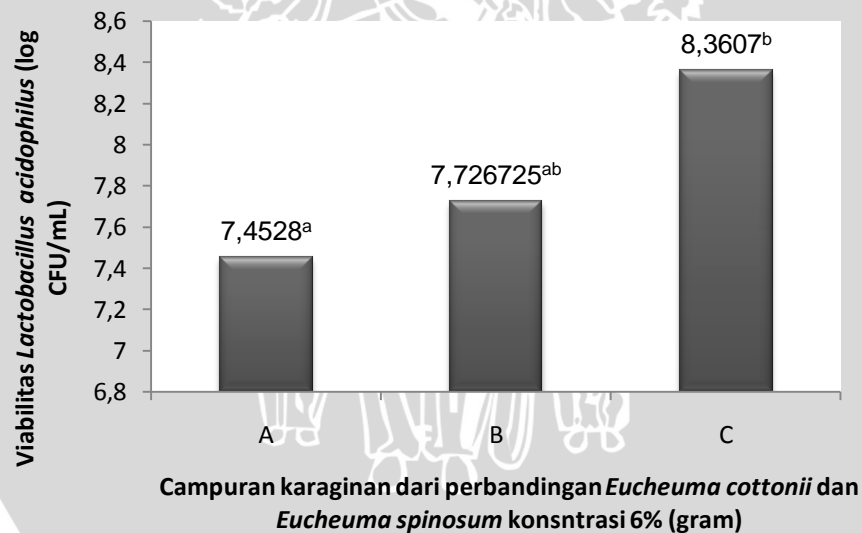
Gambar 15. Prosedur Uji Viabilitas dan Perhitungan Kolonisasi *Lactobacillus acidophilus*



4. HASIL dan PEMBAHASAN

4.1 Penggunaan Campuran Karaginan Terbaik dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Data pengamatan campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sebagai pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil analisis data viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan bahan pengenkapsulat campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* menunjukkan perbedaan secara nyata ($P \leq 0,05$). Peningkatan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan bahan pengenkapsulat campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan pengenkapsulat campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*

Keterangan kode :

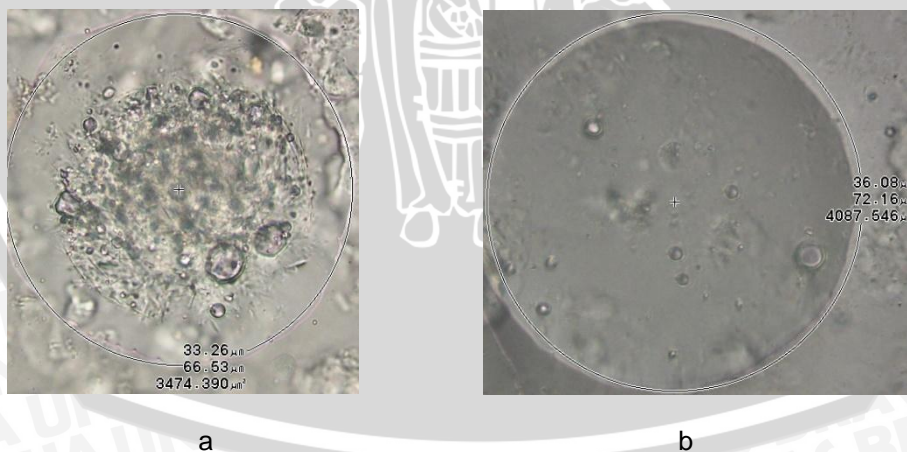
A = Campuran RC 25% *Eucheuma cottonii* :75%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

B = Campuran RC 50% *Eucheuma cottonii* :50%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

C = Campuran RC 75% *Eucheuma cottonii* :25%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

Gambar 16 memperlihatkan bahwa viabilitas *Lactobacillus acidophilus* tertinggi pada perlakuan C. Campuran karaginan Azmi (2011) melaporkan

semakin tinggi *refine carrageenan* dalam campuran *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 3% akan menghasilkan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan karena *Eucheuma cottonii* menghasilkan kappa karaginan lebih tinggi. Sifat gel kappa karaginan diduga dapat membentuk gel struktur dinding mikroenkapsulasi lebih kuat sehingga mampu melindungi viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan baik. Guiseley *et al.* (1980) memaparkan bahwa kappa karaginan memiliki sifat pembentuk gel yang keras namun mudah retak sehingga dengan campuran *Eucheuma spinosum* yang menghasilkan iota karaginan dapat membentuk dinding yang baik. Iota karaginan membentuk gel yang elastis. Sifat inilah yang menjadikan campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sebagai bahan penyalut yang baik untuk melindungi *Lactobacillus acidophilus* dari kondisi luar yang merugikan (Setijawati *et al.* 2011). Hal tersebut didukung oleh Gambar 17 yang memperlihatkan bahwa semakin besar ukuran diameter mikrokapsul semakin banyak *Lactobacillus acidophilus* yang terkapsul.

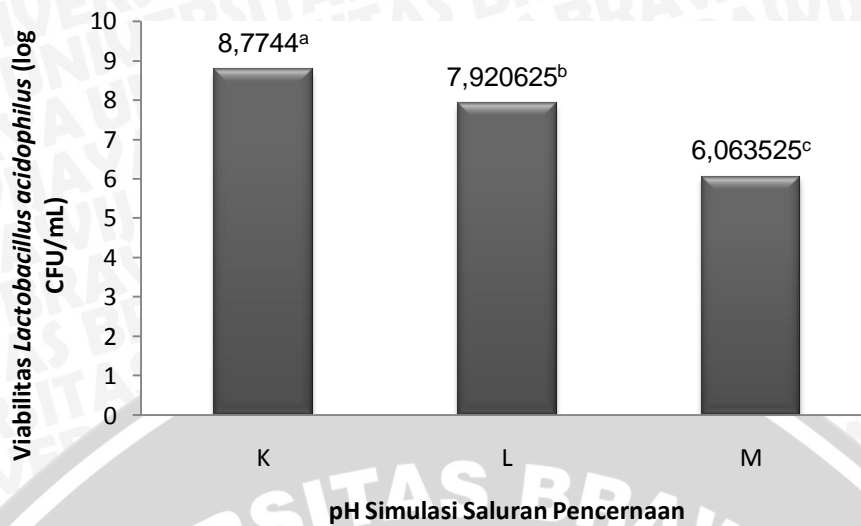


Gambar 17. Diameter mikrokapsul pada perlakuan viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. (a) Karaginan *Eucheuma cottonii* konsentrasi 6%. (b) Karaginan perbandingan 75% *Eucheuma cottonii* : 25% *Eucheuma spinosum* pada konsentrasi 6%.

Gambar 17 memperlihatkan diameter mikrokapsul dari campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*. Gambar 17a memperlihatkan diameter yang lebih rendah dari pada Gambar 17b. Hal ini dipengaruhi oleh bahan pengenkapsulat yang berbeda. Pada Gambar 17a hanya menggunakan karaginan *Eucheuma cottonii* 6%, sedangkan pada Gambar 17b menggunakan bahan penyalut campuran karaginan perbandingan 75% *Eucheuma cottonii* : 25% *Eucheuma spinosum*. Perbedaan diameter dengan menggunakan campuran karaginan dan tidak menggunakan campuran karaginan mengakibatkan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang terperangkap juga berbeda. Hal ini dimungkinkan karena sifat fisik *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dalam membentuk struktur gel yang baik. Ress *et al.* (1982) memaparkan mekanisme gel dari campuran iota karaginan dan kappa karaginan akan membentuk polimer random acak menjadi pilinan ganda yang baik sehingga mengakibatkan gel yang terbentuk kuat dan baik.

4.2 Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada pH Simulasi Saluran Pencernaan Manusia

Campuran karaginan terbaik terdapat pada perbandingan 75% *Eucheuma cottonii* dan 25% *Eucheuma spinosum* menghasilkan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* sebesar 8,3607 log CFU/mL. Data pengamatan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan penyalut campuran karaginan *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* terbaik pada pH simulasi saluran pencernaan dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis data tersebut menunjukkan perbedaan nyata ($P \leq 0,05$) dengan penurunan jumlah viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Penurunan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* menggunakan pH simulasi saluran pencernaan manusia dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada simulasi pH saluran pencernaan manusia dengan penyalut campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

Keterangan kode:

K = Kontrol (tanpa perlakuan pH)

L = Perlakuan pH 2

M = Perlakuan pH 7

Gambar 18 memperlihatkan bahwa viabilitas *Lactobacillus acidophilus* tanpa perlakuan pH lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* mengalami penurunan viabilitas jika diberi perlakuan pH simulasi lambung dan usus kecil. Hal serupa dilaporkan oleh Kos *et al.* (2000) bahwa viabilitas *Lactobacillus acidophilus* akan menurun hingga 49% pada simulasi lambung dengan pH 2 dan 57% simulasi usus kecil dengan pH 8. Kondisi pH pada usus kecil memberikan dampak lebih besar terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* karena adanya sekresi getah pankreas dan garam empedu. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* tanpa perlakuan pH merupakan viabilitas tertinggi. Hal ini dimungkinkan karena *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang mampu bertahan hidup pada kondisi asam < pH 3,5 sehingga memungkinkan bertahan hidup pada kondisi asam di lambung. Sebaliknya pada kondisi basa di usus kecil

resistensinya akan menurun. Conway *et al.* (1987) mengatakan *Lactobacillus acidophilus* mempunyai toleransi yang tinggi terhadap toleransi yang tinggi terhadap asam lambung.

Pada kondisi pH 2 dalam simulasi lambung, viabilitas *Lactobacillus acidophilus* mengalami penurunan. Kantiniwangi (2010) menyatakan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* mengalami penurunan pada pH 2 dengan bahan penyalut dari karaginan *Eucheuma cottonii* konsentrasi 3% secara *in vitro*. Hal ini dimungkinkan oleh kemampuan karaginan yang menyalut *Lactobacillus acidophilus* menurun sehingga pH rendah dapat mempengaruhi ketahanan *Lactobacillus acidophilus*. Karaginan dalam bentuk larutan akan kehilangan viskositas dan kekuatan gel akan menurun. Hal ini terjadi karena pH yang rendah. Efek tersebut disebabkan oleh autohidrolisis yang terjadi pada pH rendah. Pada pH rendah terjadi pelepasan ikatan molekul (Hoffman *et al.* 1996). Penggunaan pH dibawah 3 dan suhu 40° C akan mengurangi kekuatan gel sebesar 25% (Setijawati *et al.* 2011).

Penurunan viabilitas pada pH 2 karena *Lactobacillus acidophilus* merupakan strain bakteri yang sengaja ditambahkan dalam saluran pencernaan secara *in vitro*. Sehingga *Lactobacillus acidophilus* mengalami berbagai rintangan yang dihadapi dalam saluran pencernaan mulai dari mulut sampai anus. Hambatan yang sangat berarti adalah asam lambung dan garam empedu. Browne dan Levine (1981) dalam penelitiannya mengatakan bahwa *Lactobacillus sp* tidak dapat hidup pada usus halus akibat pH rendah pada lambung. Tannock *et al.* (1982) mengindikasikan bahwa strain bakteri yang ditambahkan tidak tahan terhadap pH rendah yang mengakibatkan penurunan viabilitas. Hal ini dimungkinkan karaginan sebagai bahan penyalut tidak cukup mampu mempertahankan viabilitas dari perlakuan kontrol hingga perlakuan pH 2

karena terjadi kerusakan dinding mikrokapsul yang melindungi *Lactobacillus acidophilus*.

Surono (2003) menyatakan bahwa keasaman lambung merupakan faktor utama yang mempengaruhi kelangsungan hidup probiotik dalam saluran pencernaan. Sehingga penurunan viabilitas pada pH 2 dikarenakan *Lactobacillus acidophilus* tidak mampu bertahan saat melewati simulasi pH asam lambung yang mengakibatkan *Lactobacillus acidophilus* tidak dapat mempertahankan hidupnya dalam saluran cerna. Selain itu, hidrolisis pada gel karaginan dapat menyebabkan putusnya ikatan glikosidik antara gugus galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa. Putusnya ikatan tersebut dapat menyebabkan perubahan kekuatan gel pada gel yang terbentuk. Kekuatan gel mengalami penurunan jika diaplikasikan pada pH rendah selama rentang waktu tertentu (Laustsen2006).

Penurunan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada perlakuan pH 7 disebabkan dengan sifat *Lactobacillus acidophilus* yang hanya tahan pada pH rendah. Hal serupa dilaporkan oleh Kos *et al.* (2000) yaitu penambahan garam empedu dalam larutan simulasi pancreas mengakibatkan penurunan jumlah viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Ketidakmampuan *Lactobacillus acidophilus* mempertahankan viabilitasnya setelah pH 7 dimungkinkan kerapatan agregat mikroenkapsulasi pada larutan simulasi usus dengan kondisi pH 7 mengalami pengenduran ikatan ionik pada bahan penyalut karena adanya ion OH^- sehingga terjadi gaya tolak-menolak dengan gugus ester sulfat OSO_3^- . Guiseley *et al.* (1980) menyatakan dalam kondisi pH basa gugus ester sulfat dikelilingi OH^- yang mengakibatkan terjadinya daya tolak menolak dari gugus sulfat yang bermuatan negatif disepanjang rantai polimernya, sehingga menyebabkan rantai polimer kaku dan tertarik kuat. Sehingga meningkatkan viskositas karaginan. Peningkatan viskositas akan mengakibatkan kekuatan gel menurun (Moirano 1977).

Penurunan kekuatan gel akan mengakibatkan pemecahan ukuran mikroenkapsulasi.

Fungsi utama mikroenkapsulasi adalah untuk memberikan perlindungan terhadap tinggi keasaman cairan lambung dan pH basa pada usus oleh garam empedu. Mikrokapsul yang mengandung probiotik tidak boleh mengalami keretakan sebelum sampai pada kolon. Mikrokapsul digunakan sebagai lapisan yang tahan pada pH rendah dan dapat melepaskan inti pada pH tinggi atau pada pH basa yang menyerupai dengan pH kolon (Gibson2005).

Hasil penelitian ini memenuhi standar minimal viabilitas probiotik pada produk makanan. FAO/WHO menyatakan produk makanan yang ditambahkan probiotik harus mengandung minimal 10^6 - 10^7 CFU/mL. Hal ini diduga karena konsentrasi dalam proporsi karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* yang digunakan mampu memberikan perlindungan terhadap *Lactobacillus acidophilus*. Salah satu yang mempengaruhi pembentukan mikrokapsul dan viabilitas bahan inti adalah konsentrasi bahan penyalut. Semakin tinggi konsentrasi bahan, semakin besar jumlah viabilitasnya (Audet *et al.*1991). Ding dan Shah (2008) menyatakan probiotik yang disalut dengan karaginan mempunyai kemampuan melindungi viabilitas probiotik yang tinggi.

Campuran antara *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* karaginan dalam perbandingan 75%*Eucheuma cottonii* dan 25%*Eucheuma spinosum* akan menghasilkan gel dengan kekuatan gel yang lebih baik sehingga mampu melindungi bahan inti dari pengaruh luar, mikroenkapsulasi probiotik mampu untuk mempertahankan dan meningkatkan viabilitas dalam saluran pencernaan dengan melindungi sel di dalam gel dari kondisi yang merugikan (Lo 2007).

5. KESIMPULAN dan SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

Campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* sebagai bahan penyalut berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Perlakuan tertinggi pada campuran karaginan 75%*Eucheuma cottonii* : 25%*Eucheuma spinosum* yang berpengaruh nyata terhadap perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia dengan hasil $1,16 \times 10^6$ hingga $5,84 \times 10^8$ CFU/mL.

5.2 Saran

Hasil penelitian ini telah mencapai jumlah minimum syarat probiotik dalam produk pangan. Sehingga perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengaplikasikan secara nyata terhadap produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abun. 2008. Hubungan Mikroflora dengan Metabolisme dalam Saluran Pencernaan Unggas dan Monogastrik. Universitas Padjajaran. Jatinangor. Hal 10-18.
- Adhikari, K., A. Mustapha and I. U. Grün. 2000. Viability of Microencapsulated Bifidobacteria in Set Yogurt During Refrigerated Storage. *Journal of Dairy Science* 83: 1946–1951.
- Adhikari, K., A. Mustapha and I. U. Grün. 2003. Survival and Metabolic Activity of Microencapsulated *Bifidobacterium* in Stirred Yogurt. *Journal of Food Science* 68(1): 275–280.
- Afriani, I. Khoirun, N. dan Dedi, A. 2011. Pembuatan Minuman Instant kaya β -karoten dari Minyak Sawit Merah dengan Metode *Spray Drying*. Artikel. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Jatinangor. Bogor.
- Alam, A. A. 2011. Kualitas karaginan Rumput Laut jenis *Euclima spinosum* di Perairan Desa Punaga Kabupaten Takalar. Skripsi. Konsentrasi Eksplorasi Sumberdaya Hayati Laut. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanudin. Hal 5-9.
- Aldon, E. T. 1998. Seaweeds: Utilization and Product Applications. SEAFDEC Asian Culture.
- Anal, A.K and H. Singh. 2007. Recent Advances in Microencapsulation of Probiotics for Industrial Applications and Targeted Delivery. *Trends in Food Science and Technology* 18 (2007). Page 240-251.
- Anderson, J.W. and Gilliland, S.E. 1999. Effect of Fermented Milk (Yogurt) Containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on Serum Cholesterol in Hypercholesterolemia humans. *J. Amer. Coll. Nutr.* 18: 43–50.
- Anggadiredja, J. T., A., Zatinika, H., Purwoto, dan S., Istini. 2006. Rumput Laut. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 7-10.
- Anggraini. 2004. Karagenan, Apaan Sich?. Diakses dari www.jlcome.blogspot.com. Diakses tanggal 10 Maret 2012 pukul 13.00 WIB.
- Angka SL, Suhartono MT. 2000. Bioteknologi Hasil Laut. Bogor: Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor.
- Aslan, M. 1998. Budidaya Rumput Laut. Kanisus. Yogyakarta. Hal 65-69.
- Audet P, Paquin C, Lacroix C. 1991. Effect of Medium and Temperature of Storage on Viability of LAB Immobilized in *k-carrageenan* - locust bean gum gel beads. *Biotech Tech* 5:307–312.

- Azmi. U. 2011. Pengaruh Proporsi Karaginan dari *Kappaphycus alvarezii* dan *Eucheuma spinosum* berkonsentrasi 3% terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan Metode Mikroenkapsulasi. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Baihaqi, M. F. 2010. Pengaruh pH Simulasi Saluran Pencernaan terhadap Struktur Mikro kapsul dan Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang dienkapsulasi *Refine Carragenann Eucheuma spinosum*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Bain, R. 1998. Microenkapsulation of Prawn Feed Using Chitin. Department of Chemical Engineering University of Queensland. Page 3.
- Balasa, L. L., dan Fanger, G.O. 1971. Microencapsulation in Food Industry. CRC Critical Reviews in Food Technology. 2 : 245-265.
- Barrow, C and F. Shahidi. 2008. Marine Nutraceuticals and Fuctional Foods. CRC Press. Boca Raton. Page 117-119.
- Belitz, H. D dan W. Grosch. 1999. Food Chemistry. Springer, Berlin.
- Boh B (2007) Developements et Applications Industrielles des Microcapsules. In:Vandamme, Thierry F. (ed.). Microencapsulation:Des Sciences Aux Technologies. Lavoisier. Paris. Page 9–22
- Browne, R. R.M. and M. Levine. 1981. The Fase of ingested *Lactobacilli* in the proximal small intestine. American Journals of Clinical Nutrition 34: 514-519.
- Bubnis, W. A. 2000. Carrageenan. Diakses dari <http://www.fmcbiopolymer.com/>. Diakses pada 12 Maret 2012.
- Chapman, V.J. dan Chapman, D.J. 1980. Seaweeds and Their Uses 3rd ed. Chapman and Hall. New York.
- Conway, P.L., S.L. Gorbach, and B.R. Goldin. 1987. Survival of Lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to internal cell. Journal of Diary Science 70:1-12
- cP Kelco ApS. 2004. Carraegeenan. Denmark. <http://www.cPKelcoApS.com>. Diakses pada tanggal 10 Maret 2012 pukul 13.00 WIB.
- David, F.L. and Gasson. 1981. Reviews of the Progress of Dairy Science: Genetics of Lactic acid Bacteria. Journal of Diary Review 48. Page 363-376.
- deMan, J.M. 1989. Kimia Pangan. Padmawinata K, penerjemah. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Terjemahan dari : Principles of Food Chermistry. The AVI Publishing Company Inc. Westport, Conncticut. Page 190-212.

- Desmond, C., Stanton, C., Gitzgerald, G.F., Collins, K. and Ross, R.P. 2001 Environmental Adaptation of Probiotic Lactobacilli towards improvement of performance during spray drying. *International Dairy Journal* 11. Hal 801–808.
- Ding, W.K., and Shah N.P. 2008. Effect of Various Encapsulating Materials on the Stability of Probiotic Bacteria. *Journal Of Food Science*. 74: 100-107.
- Doty, M.S. 1985. *Eucheuma alvarezii* sp.nov (Gigartinales, Rhodophyta) from Malaysia. Di dalam: Abbot IA, Norris JN. *Taxonomy of Economic Seaweeds*. California Sea Grant College Program. Page 37-45.
- . 1986. Biotechnological and Economic Approaches to Industrial Development Based on Marine Algae in Indonesia. Workshop on Marine Algae Biotechnology. Summary Report. Washington DC: National Academic Press. Page 31-34.
- Falshaw, R. Bixer. H. J. dan Johndro. K. 2001. Structure and Performance of Commercial Kappa-2 Carrageenan Extracts I. structure Analysis. *Journal Food Hydrocolloids* 15 (2001) 441-452.
- Fardiaz D. 1989. *Hidrokoloid*. Buku dan Monograf. Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Hal 13-175.
- Fetlinski, A. and L. Stepaniak. 1994. *Biolactal-exel* sarl. Warszawska 111, Olsztin, Poland.
- FMC Corp. 1977. *Carrageenan*. Marine Colloid Monograph Number One. Marine Colloids Division FMC Corporation. Springfield, New Jersey. USA. Page 23-29.
- Franjione J, Vasishtha N. 1995. *The Art and Science of Microencapsulation . Technology Today*. Texas.
- Fuller, R. 1989. *Probiotic Bacteria*. Dairy Science and Food Technology. New York.
- _____. 1991. Probiotics in Human Medicine. *Gut*, 32, 439-442.
- Ghosh, F.K. 2006. *Functional Coating and Microencapsulation: A General Perspective*. Wiley VCH. Weinheim. Page 12-24.
- Gibbs, B. F, Kermasha S, Ali I, Mulligan CH. 1999. Encapsulation in the Food Industry: A review. *J Food Sci Nutr* 50. Page 213–224.
- Gibson, G. R, Rouzaud, G, Brostoff, J, and Rayment, N. 2005. An Evaluation of Probiotic Effects in the Human Gut: Microbial Aspects, Final Technical Report for FSA project refG0:1022.
- Glicksman M. 1969. *Gum Technology in the Food Industry*. New York: Academic Press. Page 214-224.

- , 1983. Food Hydrocolloids. Volume I. Florida: CRC Press Boca Raton. Page 200-207.
- Gunawan dan M.M.S Sundari. 2003. Pengaruh Penggunaan Probiotik Dalam Ransum Terhadap Produktivitas Ayam. Wartazoa Vol. 13.
- Goward GN. 2000. Studies on enhancing the viability and survival of probiotic bacteria in dairy foods through strain selection and micro encapsulation [thesis] University of Western. Sydney.
- Gouin, S. 2004. Microencapsulation: Industrial Appraisal of Existing technologies and Trends in Food Science & Technology, 15. Page 330-347.
- Guiseley, K. B, Stanley, N. F, Whitehouse, P. A. 1980. Carrageenan. Di dalam: Davids RL (editor). Hand Book of Water Soluble Gums and Resins. New York, Toronto, London: Mc Graw Hill Book Company. Hal 125-142.
- Halalguide. 2012. Sejarah Probiotik. Diakses dari <http://blogspot.Sejarah%20probiotik%20Anakku.Net.htm>. Diakses pada tanggal 15 Maret 2012 pukul 13.00 WIB.
- Havenaar, R. and J. H. H. Huis in't Veld. 1992. Probiotics: A General View. New York: Chapman and Hall. Hal 209-224.
- Hellebust, J. A dan Cragie, J. S. 1978. Handbook of Phycological Methods. Cambridge University Press. London. Page 54-66.
- Hermiati, E. 1993. Ekstraksi dan Penentuan sifat Karaginan yang Dihasilkan dari Beberapa KaraginoFit yang Berasal dari Kepulauan Kei, Maluku Utara Tenggara. P3O Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta. Hal 55-64.
- Hoffman, R.A., Russel A.I., Gidley, M.J. 1996. Gums and stabilizer for the food Industry 8,137 ff., (eds) G.O, Phillips, P.A Williams and D.J Wedlock, Oxford university Press, Oxford.
- Hudaya, R. N. Pengaruh Penambahan Tepung Rumpul Laut (*Kappaphycus alvarezii*) untuk Peningkatan kadar Iodium dan Serat Pangan pada Tahu Sumendang. Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Imerson. 2000. Carrageenan. Di dalam : Philips GO, Williams PA Handbook of Hydrocolloids. Wppd Head Publishing. Cambrige England. Page 87-102.
- Istini S, Zatznika A, dan Suhaimi. 2008. Manfaat dan Pengolahan Rumpul Laut. <http://www.kompas.com/kompascetak/>. Diakses pada tanggal 15 Maret 2012 pukul 13.00 WIB.
- Jackson, L.S, dan Lee, K. 1991. Microencapsulation and the Food Industry. Lebensm-Wiss-Technol. 24 : 289-297.
- Kaliasapathy, K. 2002. Microencapsulation of probiotic Bacteria. Technology and Potential Applications. Curr. Issues Intenst. Microbial 3. Page 39-48.

- Kantiniwangi, D. A. 2010. Pengaruh pH Simulasi Saluran Pencernaan terhadap Struktur Mikrokapsulat dan Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang Dienkapsulasi dengan *Refine Carrageenan* (RC) dari *Kappaphycus alvarezii*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawihaya. Malang. Hal 40-45.
- Kebary, K.M.K. 1996. Viability of Bifidobacterium and its effect on quality of frozen zabady. Food Res. Intl. 29. Hal 431-437.
- Khalida S, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P. 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastro-intestinal conditions and in yoghurt. Int Food Microbiol 62. Page 47-55.
- Kim KI, Baek YJ, Yoon YH. 1996. Effects of Rehydration Media and Immobilisation in calcium-alginate on the Survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. J Dairy Sci 18. Page 193-198.
- King, A. H. 1995. Encapsulation in Food Ingredients: A Review of Available Technology, Focusing on Hydrocolloids. Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients. S. J Risch and G.A. Reineccius. Washington, DC, ACS Symposium Series 590. Page 26-41.
- Kondo A. 1979. Microcapsule Processing and Technology. Marcel Dekker. New York.
- Kos, B., J. Suskovic, J. Goreta, dan S. Matosic. 2000. Effect of Protectors on the Viability of *Lactobacillus acidophilus* M92 in Simulated Gastrointestinal Conditions. Journal Food Technology Biotechnology 38. Hal 121-127.
- Koswara. 2008. Teknologi Enkapsulasi Flavor Rempah-rempah. Diakses dari www.ebookpangan.com. Diakses pada tanggal 10 Maret 2012 pukul 15.00 WIB.
- Krasaekoopt, W., B. Bhandari dan H. Deeth. 2003. Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics for Yoghurt. Internassional Dairy Journal 13. Page 3-13.
- Kurniasari, S. 2006. Pengaruh Konsentrasi KCl terhadap Mutu dan Rendemen Karaginan dari *Eucheuma cottonii*. Skripsi. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Lakis. J. 2007. Encapsulation and Controlled Release Technologies in Food Systems. Blackweel. Iowa. Page 83-89.
- Laustsen, K. 2006. Getting Closer to Gelatine. Diakses dari <http://www.hamisch.com>. Diakses tanggal 15 Juni 2012 pukul 13.00 WIB.
- Lee, J. S., Lou Y.L., dan Chye F. Y. 2008. Effect of K^+ , Ca^{2+} , and Na^+ on gelling Properties of *Eucheuma cottonii*. Sains Malaysiana 37(1)(2008). Page 71-77.

- Lee Ki-Yong dan Tae-Ryeon Heo. 2000. Survival of Bifidobacterium longum Immobilized in Calcium Alginate Bead in Simulated Gastric Juices and Bile Salt Solution. Applied and Environmental Microbiology. Feb . 869 – 873.
- Leon L, Herbert A L, Joseph L K. 1990. The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. Varghese Publishing House. Page 412- 428.
- Lo, Y. M. 2007. Microencapsulation of Probiotic Bacteria in Xanthan-Chitosan Polyelectrolyte Complex Gels. Department of Nutrition and Food Science. University of Maryland. Page 1-3.
- Lourenshattingh A. Viljoen BC.2001. Review: Yoghurt as probiotic carrier in food. Int J Dairy 11. Page 1–17.
- Markati, A. 2007. Pembuatan Manisan Kering dari Rumpul Laut. Universitas Semarang. Semarang. Hal 10-11.
- Mardyati, E. 2008. [Fortifikasi Garam dengan Zat Besi, Strategi Praktis dan Efektif Menanggulangi Anemia Gizi Besi](#). Diakses dari www.berit@iptek.com. Diakses tanggal 15 Maret 2012 pukul 13.00 WIB.
- Masters, K. 1979. Spray Drying Handbook , 3rd ed., George Godwinn, London.
- Martin, A., Bustamante, P., dan Chun, A.H.C. 1993. Physical Pharmacy, 4th Ed. Lea anFebiger. Philadelphia, London. Hal 324-361.
- Marzuki. 1986. Metodologi Riset. Fakultas Ekonomi Universitas Islam Indonesia. Jakarta.
- Medical Center Maryland University. 2009. *Lactobacillus acidophilus*. Diakses dari www.umm.edu.
- Moirano AL. 1977. Sulphated Seaweed Polysaccharides In Food Colloids. Graham MD (editor). The AVI Publishing Company Inc. Westpoint Connecticut. Page 347-381.
- Mosilhey, S.H. 2003. Influence of Different Capsules Materials on the Physiological Properties of Microencapsulated Lactobacillus acidophilus. Dissertation. Hohen Landwirtschaftlichen Fakultaty. Rheinischen Friedrich-Wilhelms University. Bon. Page 1-13.
- Mubarak, H dan Wahyuni I. S. 1981. Percobaan Budidaya Rumpul Laut *E. spinosum* di Perairan Pacitan dan Kemungkinan Pengembangannya. Bul. Penelitian Perikanan Vol. 1, No. 2. Badan Litbang Pertanian. Puslitbangkan. Jakarta. Hal 15-20.
- Nack, H. 1970. Microencapsulation Techniques, Applications, and Problems. J. Soc. Cosmetic Chemists. Page 85-96.
- Nehen, I. K. 1987. Study Kelayakan Usaha Budidaya Rumpul laut di daerah Bali. Universitas Udayana. Denpasar

- Neish, I.C, 2005. The *Eucheuma* Seaplant Handbook. Vol I : Agronomics, Biology and Crop System. Seaplanet. Technical Monograph No. 0505-10A. Makasar.
- Nindyaning, R. 2007. Potensi Rumput Laut. Dikases dari www.rumputlaut.org. Diakses tanggal 15 Maret 2012 pukul 17.00 WIB.
- Nopianto, E. 2009. Budidaya dan Pemanfaatan Rumpul Laut. Diakses dari <http://ekckonopianto.blogspot.com/2009/05/normal-0-false-false-en-us-x-none.html>. diakses tanggal 15 Maret 2012 pukul 17.00 WIB.
- Parker, H. S. 1974. The culture of red algae genus *Eucheuma* in the Phillipines. *Aquaculture* 3. Hal 425-439.
- Rachmaniar, R., R. Satari., dan T. Muniasih. 1998. Analisa Polisakarida Algae Karagenan dengan Menggunakan GPC Kromatografi. Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia l'98. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Jakarta. Hal 189-195.
- Rees, D. A. 1970. Structure Confirmation and Mechanism in The Formation of Polysaccharide Gels and Networks. In *Advance Carbohydrat Chemistry. Biochemistry. Edinberg Scotland* 24. Page 279-282.
- Romimohtarto, K dan S, Juwana. 2005. Biologi Laut-Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut. Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI. Jakarta.
- Salminen, S. and von Wright, A. 1998. Current probiotics-safety assured? *Microbial Ecol. Health Dis* 10. Hal 68-77.
- Satari. 1996. Karakteristik Polisakarida Karagenan Asal *Eucheuma sp* dan *Hypnea sp*. Puslitbang Oceanology LIPI. Seminar Industri rumput Laut. Jakarta Utara.
- Schrezenmeir, J. and M. de Vrese. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (suppl): 361S-364S
- Seaweed. 2008. Artikel Seaweed. Diakses dari www.rumputlaut.org. Diakses pada tanggal 10 Maret 2012 pukul 14.00 WIB.
- Setijawati, D. Susinggih, W. Aulanium, I. dan Imam, S. 2011. Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karagenan Semi Murni jenis *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Teknologi Pangan* Vol. 2 No. 1. Hal 50-67.
- Shah, N. P . 2000. Probiotic Bacteria. Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J Dairy Sci* 83(4). Page 894-907.
- Soma, P. K., P. D. Williams dan Y.M. Lo. 2009. Advancements In Non-Starch Polysaccharides Research for Frezen and Microencapsulation of Probiotics. Higher Education Press and Springer-Verlag. Page 1-14.

- Subijanto, M. S dan Reza R. 2005. Probiotik pada Anak-anak Sehat dan Sakit. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 3-5.
- Sudjana. 2010. Metode Penelitian Kualitatif dan Kuantitatif. Dian rakyat. Jakarta.
- Sulastri, S. 2010. Karaginan. Diakses dari <http://suhanasulastri.blogspot.com/2011/03/karaginan.html>. Diakses pada tanggal 15 Maret 2012 pukul 14.00 WIB.
- Surono, I. S. 2003. In Vitro Probiotic Properties of Indigenous Dadih Lactid acid Bacteria. Asian Australian Journal of Animal Sciences 16 (5):726-731.
- Suryabrata, S. 1983. Metodologi Penelitian. Rajawali. Jakarta. Hal 32-33.
- Suryaningrum, T. D, Soekarto S.T, Manulang.M. 1991. Identifikasi dan sifat fisika kimia karagenan. Kajian Mutu Komoditas Rumput Laut Budidaya Jenis *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum*. Jurnal Penelitian Pasca Panen Perikanan. No. 69. Hal 35 – 46.
- Susanto, A. B. 2002. Apa yang Terdapat dalam Rumput Laut. Diakses dari <http://www.oseonologi.lipi.go.id/lab.produkalam.htm>. Hal 1-3.
- Sutriyo, J Djajadisastra dan A Novitasari. 2004. Mikroenkapsulasi propanolol Hidroklorida dengan Penyalut Etil Selulosa Menggunakan Metoda Penguapan pelarut. Departemen Farmasi, FMIPA Universitas Indonesia. ISSN : 1693-9883.
- Stanley, N.E. 1990. Carrageenans. In *Food Gels*, Harris, P., ed. pp.79-119. New York : Elsevier Applied Science.
- Talwakar, A. dan Kailasapathy, K. 2003. effect of microencapsulation on oxygen toxicity in probiotic bacteria. The Australian Journal of Dairy Technology. 58 (1), 36 – 39.

- Tanod, D. V. 2011. Rotavirus Diarheae (Mekanisme Terjadinya Diare yang Disebabkan Rotavirus). Diakses dari [Rotavirus%20Diarheae%20\(Mekanisme%20Terjadinya%20Diare%20yang%20Disebabkan%20Rotavirus\).html](http://www.ub.ac.id/rotavirus%20Diarheae%20(Mekanisme%20Terjadinya%20Diare%20yang%20Disebabkan%20Rotavirus).html). Diakses pada 10 Maret 2012 pukul 14.00 WIB.
- Tannock, G.W., O. Szlyit, and P. Raibaud. 1982. Colonization of tissue surfaces in the gastrointestinal tract of gnotobiotic animal by *Lactobacillus strains*. Canadian Journal of Microbiology 28:1196-1198.
- Thomas, W. R. 1992. Carrageenan. Di dalam: Imeson A (editor). Thickening and Gelling Agents for Food. London: Blackie Academic and Profesional. Hal 132-149.
- Triana, E. Eko, Y. Novik, H. 2006. Uji Viabilitas *Lactobacillus sp* Mar 8 Terenkapsulasi. Biodiversitas Volume 7, Nomor 2. Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor 16002. ISSN: 1412-03. Hal 114-117.
- Tridayani, A. 2011. Lukisan 7 Warna Hidupku : Kappa dan Iota Karaginan. Diakses dari <http://kappa-dan-iota-karaginan.html>. Diakses pada tanggal 15 Maret 2012 pukul 15 WIB.
- Towle, G. A. 1973. Carrageenan. Di dalam: Whistler RL. Industrial Gums. Second Edition. New York: Academic Press. Page 83-114.
- Vandegaer, J.E. 1973. Microencapsulation, Process and Application. Plenum press, New York.
- Victor, R.P. and D.R. Heldman. 2001. Introduction to Food Engineering. 3rd ed. London: Academic Press.
- Wikipedia. 2012. *Lactobacillus acidophilus*. Diakses dari http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus. Diakses pada tanggal 10 Maret 2012 pukul 14.00 WIB.
- Winarno, F. G. 1990. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- _____. 1996. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wulandari. 2010. Pembuatan Karaginan dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dengan Dua Metode. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. Hal 4-14.
- Yasita, D. dan I. D. Rachamwati. 2010. Optimasi Proses Ekstraksi pada Pembuatan Karaginan dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii* untuk

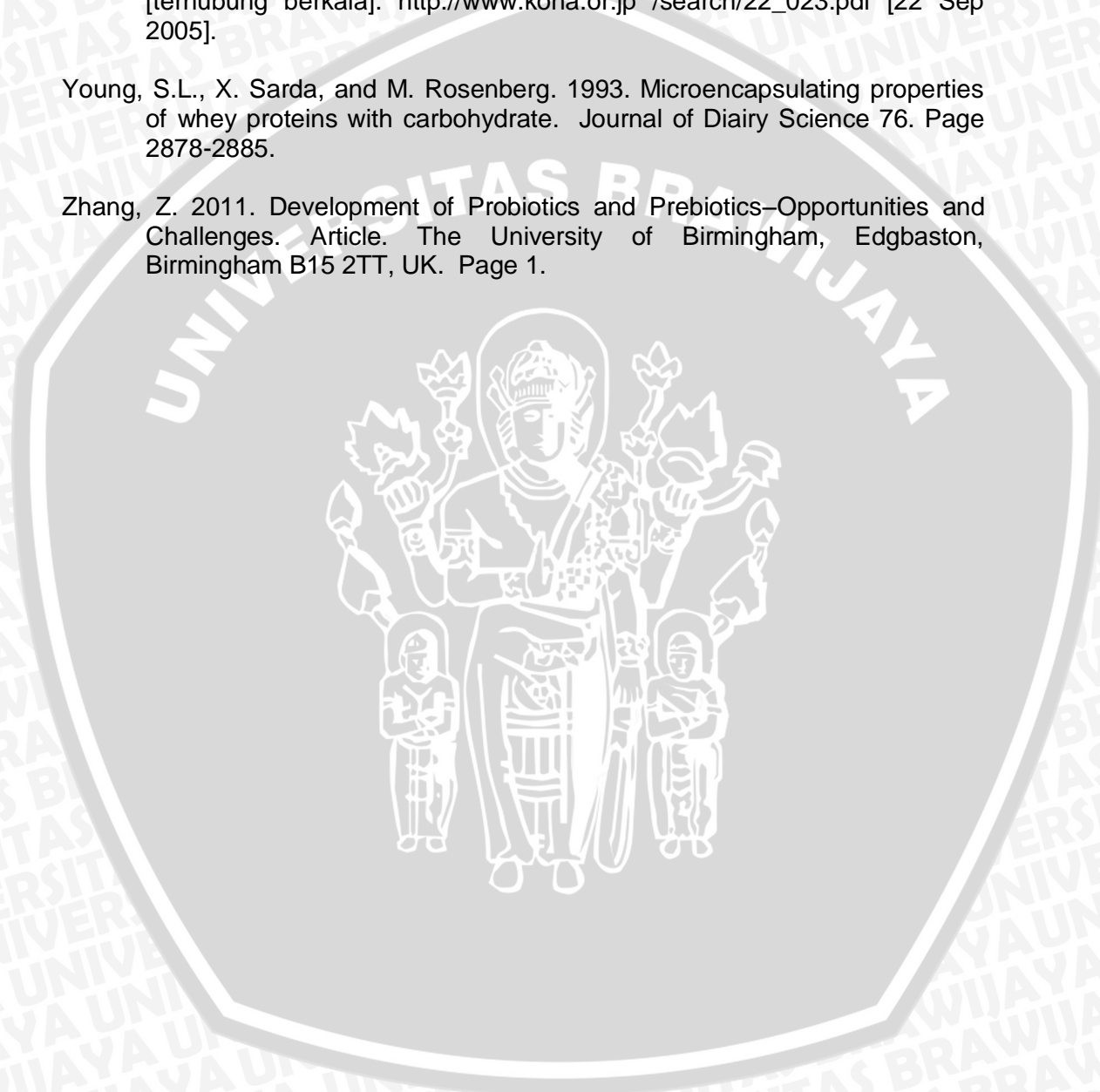
Mencapai Foodgrade. Juursan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Semarang.

Yeast. 2012. Review Karaginan dan Sifat-sifatnya. Diakses dari <http://marinamoy.blogspot.com/2012/03/struktur-dan-sifat-karaginan.html>. Diakses pada tanggal 18 Juli 2012 pukul 01.00 WIB.

Yoshizawa H. 2004. Trend in microencapsulation research. KONA 20. [terhubung berkala]. http://www.kona.or.jp/search/22_023.pdf [22 Sep 2005].

Young, S.L., X. Sarda, and M. Rosenberg. 1993. Microencapsulating properties of whey proteins with carbohydrate. *Journal of Dairy Science* 76. Page 2878-2885.

Zhang, Z. 2011. Development of Probiotics and Prebiotics—Opportunities and Challenges. Article. The University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham B15 2TT, UK. Page 1.



LAMPIRAN

Lampiran 1

1. Perhitungan Konsentrasi 6%

$$6\% = 6/100 \text{ gram} \times 30 \text{ mL} = 0,9 \text{ gram}/30 \text{ mL}$$

Dalam penggunaan campuran karaginan jumlah 0,9 gram *Eucheuma cottonii* 6% ditambahkan dengan 0,9 gram *Eucheuma spinosum* 6% sehingga didapatkan hasil 1,8 gram campuran karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* dalam 30 mL aquadest.

2. Perhitungan Campuran *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* Konsentrasi 6%

- Pada campuran 25 *Eucheuma cottonii* : 75 *Eucheuma spinosum*
 - o $25/100 \times 1,8 \text{ gram} = 0,45 \text{ gram}$
 - o $75/100 \times 1,8 \text{ gram} = 1,35 \text{ gram}$
- Pada Campuran 50 *Eucheuma cottonii* : 50 *Eucheuma spinosum*
 - o $50/100 \times 1,8 \text{ gram} = 0,9 \text{ gram}$
 - o $50/100 \times 1,8 \text{ gram} = 0,9 \text{ gram}$
- Pada Campuran 75 *Eucheuma cottonii* : 25 *Eucheuma spinosum*
 - o $75/100 \times 1,8 \text{ gram} = 1,35 \text{ gram}$
 - o $25/100 \times 1,8 \text{ gram} = 0,45 \text{ gram}$

Lampiran 2

**Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Pengekapsulat
Campuran Karaginan dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum***

Perlakuan	Ulangan (log CFU/gr)				Total (CFU/gr)	Rata-rata (CFU/gr)	St dev
	1	2	3	4			
A	7.0271	7.3364	7.6589	7.7888	29.8112	7.4528	0.341664
B	7.1023	7.8369	8.0718	7.8959	30.9069	7.7267	0.428074
C	7.8932	8.1335	8.5843	8.8318	33.4428	8.3607	0.425091

Keterangan kode:

Keterangan kode :

A = Campuran RC 25% *Eucheuma cottonii* :75%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

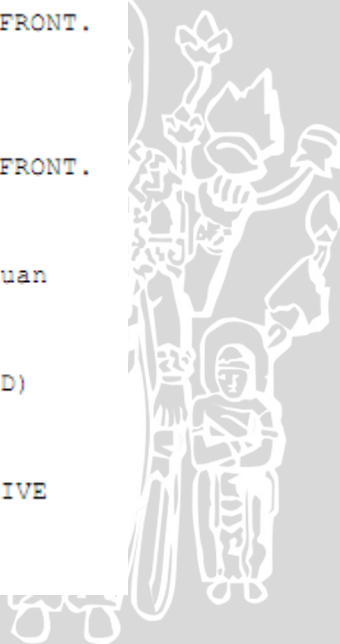
B = Campuran RC 50% *Eucheuma cottonii* :50%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

C = Campuran RC 75% *Eucheuma cottonii* :25%*Eucheuma spinosum* konsentrasi 6%

```

NEW FILE.
DATASET NAME DataSet1 WINDOW=FRONT.
DATASET ACTIVATE DataSet0.
DATASET CLOSE DataSet1.
NEW FILE.
DATASET NAME DataSet2 WINDOW=FRONT.
DATASET ACTIVATE DataSet2.
DATASET CLOSE DataSet0.
UNIANOVA viabilitas BY perlakuan
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /POSTHOC=perlakuan(TUKEY LSD)
  /PLOT=PROFILE(perlakuan)
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /PRINT=HOMOGENEITY DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=perlakuan.

```



Univariate Analysis of Variance

Notes

Output Created	11-Sep-2012 12:34:30	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet2
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	12
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.

Notes

Syntax	UNIANOVA viabilitas BY perlakuan /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=perlakuan(TUKEY LSD) /PLOT=PROFILE(perlakuan) /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /PRINT=HOMOGENEITY DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=perlakuan.	
Resources	Processor Time	00:00:01.638
	Elapsed Time	00:00:02.356

[DataSet2]

Between-Subjects Factors

		N
perlakuan	A	4
	B	4
	C	4

Descriptive Statistics

Dependent Variable: viabilitas

pe...	Mean	Std. Deviation	N
A	7.4528E0	.3416346	4
B	7.7267E0	.4280740	4
C	8.3604E0	.4254215	4
Total	7.8466E0	.5374095	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:viabilitas

F	df1	df2	Sig.
.191	2	9	.829

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + perlakuan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:viabilitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.734 ^a	2	.867	5.408	.029

a. R Squared = .546 (Adjusted R Squared = .445)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:viabilitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	738.842	1	738.842	4.609E3	.000
perlakuan	1.734	2	.867	5.408	.029
Error	1.443	9	.160		
Total	742.019	12			
Corrected Total	3.177	11			

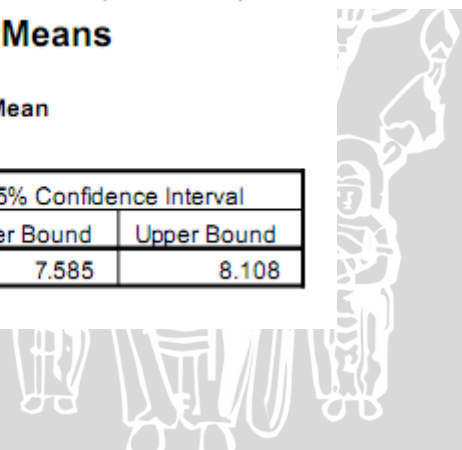
a. R Squared = .546 (Adjusted R Squared = .445)

Estimated Marginal Means

Grand Mean

Dependent Variable:viabilitas

Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
7.847	.116	7.585	8.108



Post Hoc Tests

perlakuan

Multiple Comparisons

Dependent Variable:viabilitas

	(I) perla kuan	(J) perla kuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	A	B	-.273925	.2831210	.614	-1.064400	.516550
		C	-.907675 *	.2831210	.026	-1.698150	-.117200
	B	A	.273925	.2831210	.614	-.516550	1.064400
		C	-.633750	.2831210	.118	-1.424225	.156725
	C	A	.907675 *	.2831210	.026	.117200	1.698150
		B	.633750	.2831210	.118	-.156725	1.424225
LSD	A	B	-.273925	.2831210	.359	-.914389	.366539

Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,160.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Multiple Comparisons

Dependent Variable:viabilitas

	(I) perla kuan	(J) perla kuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	A	C	-.907675 *	.2831210	.011	-1.548139	-.267211
		B	.273925	.2831210	.359	-.366539	.914389
	C	A	-.633750	.2831210	.052	-1.274214	.006714
		B	.633750	.2831210	.052	-.006714	1.274214

Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,160.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogeneous Subsets

viabilitas

	perla kuan	N	Subset	
			1	2
Tukey HSD ^a	A	4	7.4528E0	
	B	4	7.7267E0	7.7267E0
	C	4		8.3604E0
	Sig.		.614	.118

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = ,160.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.



Lampiran 3

Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* pada perlakuan pH simulasi saluran pencernaan manusia dari campuran karaginan terbaik dari *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum*

Perlakuan	Ulangan (log CFU/gr)				Total (CFU/gr)	Rata-rata (CFU/gr)	St dev
	1	2	3	4			
K	8.6964	8.8401	8.7084	8.8527	35.0976	8.7744	0.083441
L	7.9425	7.74	8	8	31.6825	7.9206	0.123443
M	5.6561	5.928	6.18	6.49	24.2541	6.6064	0.355813

Keterangan kode:

K = Kontrol (tanpa perlakuan pH)

L = Perlakuan pH 2

M = Perlakuan pH 7

```

UNIANOVA viabilitas BY perlakuan
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/POSTHOC=perlakuan(TUKEY LSD T2)
/PRINT=HOMOGENEITY DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=perlakuan.
    
```

Univariate Analysis of Variance

Notes

Output Created	11-Sep-2012 13:17:12	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	12
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.



Notes

Syntax	UNIANOVA viabilitas BY perlakuan /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /POSTHOC=perlakuan(TUKEY LSD T2) /PRINT=HOMOGENEITY DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=perlakuan.		
Resources	Processor Time		00:00:00.188
	Elapsed Time		00:00:00.079

[DataSet0]

Between-Subjects Factors

		N
perlakuan	K	4
	L	4
	M	4

Descriptive Statistics

Dependent Variable: viabilitas

pe...	Mean	Std. Deviation	N
K	8.7744	.08344	4
L	7.9206	.12343	4
M	6.0635	.35581	4
Total	7.5862	1.19906	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: viabilitas

F	df1	df2	Sig.
4.455	2	9	.045

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + perlakuan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: viabilitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	15.369 ^a	2	7.684	154.927	.000
Intercept	690.602	1	690.602	1.392E4	.000
perlakuan	15.369	2	7.684	154.927	.000
Error	.446	9	.050		
Total	706.417	12			
Corrected Total	15.815	11			

a. R Squared = .972 (Adjusted R Squared = .966)



Post Hoc Tests

perlakuan

Multiple Comparisons

Dependent Variable: viabilitas

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	K	L	.8538*	.15748	.001	.4141	1.2935
		M	2.7109*	.15748	.000	2.2712	3.1506
	L	K	-.8538*	.15748	.001	-1.2935	-.4141
		M	1.8571*	.15748	.000	1.4174	2.2968
	M	K	-2.7109*	.15748	.000	-3.1506	-2.2712
		L	-1.8571*	.15748	.000	-2.2968	-1.4174
LSD	K	L	.8538*	.15748	.000	.4975	1.2100
		M	2.7109*	.15748	.000	2.3546	3.0671
	L	K	-.8538*	.15748	.000	-1.2100	-.4975
		M	1.8571*	.15748	.000	1.5009	2.2133
	M	K	-2.7109*	.15748	.000	-3.0671	-2.3546
		L	-1.8571*	.15748	.000	-2.2133	-1.5009
Tamhane	K	L	.8538*	.07449	.000	.5975	1.1101
		M	2.7109*	.18273	.001	1.8985	3.5233
	L	K	-.8538*	.07449	.000	-1.1101	-.5975
		M	1.8571*	.18831	.003	1.0803	2.6339
	M	K	-2.7109*	.18273	.001	-3.5233	-1.8985
		L	-1.8571*	.18831	.003	-2.6339	-1.0803

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,050.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogeneous Subsets

viabilitas

	perlakuan	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	M	4	6.0635		
	L	4		7.9206	
	K	4			8.7744
	Sig.			1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,050.

