

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI KITOSAN SEBAGAI COATING
PADA MIKROENKAPSULASI KAPPA SEMI REFINED CARRAGEENAN (SRC)
DAN MALTODEKSTRIN TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

Oleh:

**PERISTIANTO
NIM. 145080301111012**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



UB BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id



**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI KITOSAN SEBAGAI COATING
PADA MIKROENKAPSULASI KAPPA SEMI REFINED CARRAGEENAN (SRC)
DAN MALTODEKSTRIN TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana
Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh :

**PERISTIANTO
NIM. 145080301111012**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2018

SKRIPSI

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI KITOSAN SEBAGAI COATING
PADA MIKROENKAPSULASI KAPPA SEMI REFINED CARRAGEENAN (SRC)
DAN MALTODEKSTRIN TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

Oleh:
PERISTIANTO
NIM. 145080301111012

telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 31 Agustus 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat



**Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP**

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

Tanggal: 17 SEP 2018



**Menyetujui,
Dosen Pembimbing**

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

Tanggal: 17 SEP 2018



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI KITOSAN SEBAGAI COATING PADA MIKROENKAPSULASI KAPPA SEMI REFINED CARRAGEENAN (SRC) DAN MALTODEKSTRIN TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

Nama Mahasiswa : PERISTIANTO

NIM : 145080301111012

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:

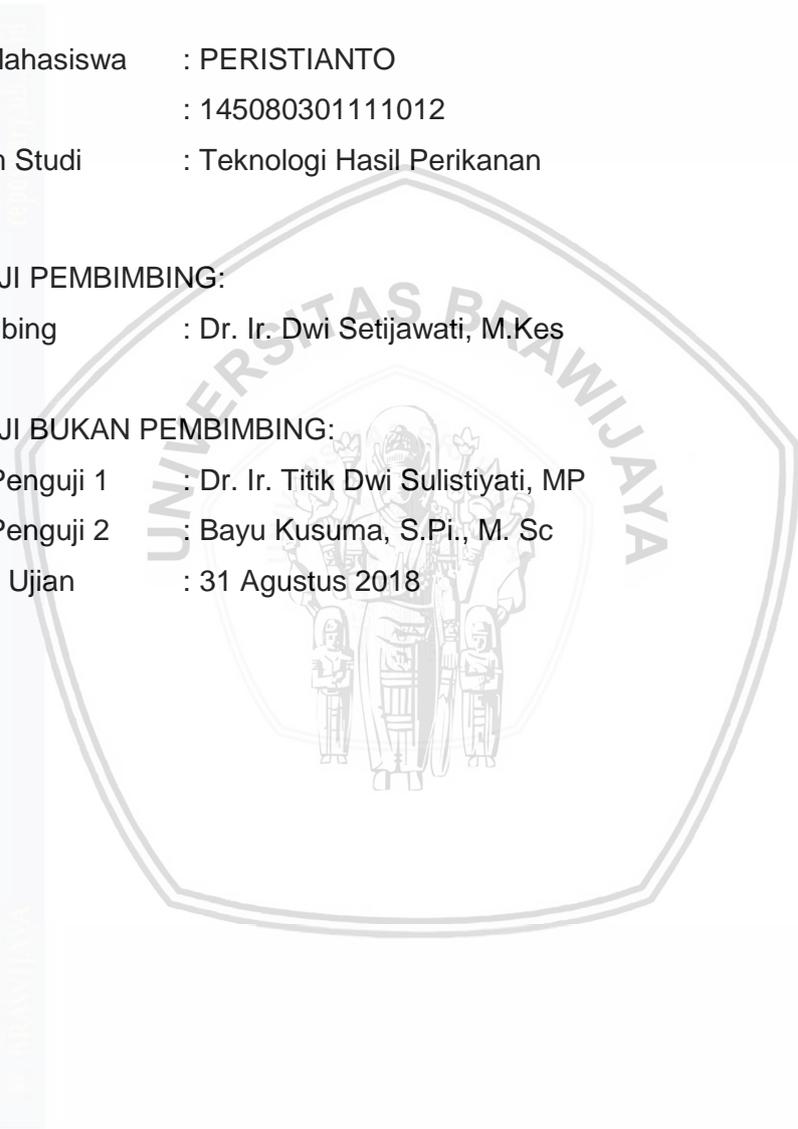
Pembimbing : Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP

Dosen Penguji 2 : Bayu Kusuma, S.Pi., M. Sc

Tanggal Ujian : 31 Agustus 2018



PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Peristianto

NIM : 145080301111012

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, selama pengetahuan saya, dalam laporan ini tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan yang telah disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila pada suatu hari nanti pada skripsi yang saya tulis ini terbukti atau dapat dibuktikan merupakan hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut dan akan menerima hukuman sesuai yang berlaku di Indonesia.

Malang, 31 Agustus 2018

Mahasiswa

Peristianto

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan hidayah-Nya yang telah dilimpahkan, penulis dapat menyelesaikan penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kitosan sebagai *Coating* Pada Mikroenkapsulasi Kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan Maltodekstrin Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*”.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis tidak terlepas dari bantuan, semangat, dukungan serta kritik dan saran dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, selanjutnya penulis juga ingin menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT, yang selalu memberikan kesehatan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi.
2. Kedua orangtua tercinta, Ibunda Sri Wahyuni dan Ayahanda Jumali yang terus memberikan semangat, kasih sayang, dukungan serta do'a.
3. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku dosen pembimbing yang telah memberikan petunjuk, informasi serta waktu dari awal hingga akhir dalam menyelesaikan penelitian tugas akhir dan penulisan skripsi.
4. Ibu Dr. Ir. Titik Dwi Sulistiyati, MP dan Bapak Bayu Kusuma, S.Pi., M. Sc selaku dosen penguji atas bimbingannya.
5. Keluarga besar Bapak Gimman Santoso yang telah memberikan dukungan serta semangat yang tidak henti-hentinya.
6. Teman-teman penelitian “Tim Mikroenkapsulasi” yang terdiri dari Ridhal Sylvano, Fitdhia Rahmawati, Fahma Mufti H., Inessa Putri A.P., Septien

Indriena I. A. R., Leonita Yohana B. R. T., Esti Koimah, dan Mario Rosa yang telah memberikan do'a dan semangat.

7. Teman-teman group "5 Serangkai" yang terdiri dari Irene Tiara P., Fitria Dwi A., dan Mutia Restiani serta group "Kontribusi PES" yang terdiri dari Aditya Teguh, Alfian Reza, Mukti Ali, Bachtiar Ari W., Moh. Imam Hidayat., Moh. Dzakir Pratama, Finendi Ramadhani, Inri Agung J., M. Rohman, Moch Nurhuda, Rico Septian, Ridhal Sylvano, Setyanto, Syukri Ismail, Yugmaya Aji R., dan Zainiar.
8. Teman-teman Tim Asisten "Mikrobiologi Hasil Perikanan" yang terdiri dari Kiko Rachmad D. K., Andi Sukarno E., Anis Mirza A., Lingga Puspita E. B., Mery Betty P., Abdul Mulki P., Dian Wahyu W., Govinda Arsagriestian G., dan Raja Dolly T. serta teman-teman Tim Asisten "Sanitasi Industri Perikanan" yang terdiri dari M. Rohman, Joko Aji P., Alif Valdy, Hesti Septiana P., Anis Mirza A., Nurafi Razna S., Belinda Ardianti, Isna Puji Utami, dan Febrina Fitria yang telah memberikan semangat.
9. Keluarga besar Himpunan dan seluruh Mahasiswa Angkatan 2014 Program Studi Teknologi Hasil Perikanan.
10. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari laporan skripsi ini jauh dari kesempurnaan, sehingga penulis bersedia menerima masukan, baik kritik maupun saran yang sifatnya membangun untuk menyempurnakan laporan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap agar laporan skripsi ini dapat bermanfaat bagi seluruh pihak yang membutuhkannya.

Malang, 31 Agustus 2018

Peristianto

RINGKASAN

PERISTIANTO. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kitosan sebagai *Coating* Pada Mikroenkapsulasi Kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan Maltodekstrin Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* (dibawah Bimbingan **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes**).

Mikroenkapsulasi merupakan salah satu teknik yang efektif untuk melindungi bahan inti dari pengaruh lingkungan disekitarnya. Salah satu komponennya yaitu bahan inti yang berasal dari probiotik. Probiotik yang dipilih pada umumnya berasal dari bakteri asam laktat (BAL) karena mampu menghasilkan asam laktat yang bermanfaat untuk menjaga keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan pada manusia. Bakteri asam laktat (BAL) yang umum digunakan berasal dari jenis strain *Lactobacillus acidophilus*.

Selain bahan inti, penyusun dari mikroenkapsulasi adalah bahan penyalut. Bahan penyalut dapat berasal dari rumput laut merah yang diekstraksi untuk menghasilkan bahan penyalut yaitu, kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC). Penyalut ini mempunyai kelebihan yaitu bersifat kuat, namun juga dapat menjadi kelemahan karena penyalut jenis ini mudah mengalami keretakan. Untuk menutupi kelemahan tersebut diperlukan penyalut tambahan yang bersifat hidroskopis, bahan penyalut tersebut yaitu maltodekstrin.

Pada penelitian sebelumnya kombinasi penyalut kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin menghasilkan nilai viabilitas sebesar 6,30 CFU/gr untuk penyalut kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dengan konsentrasi 5% dan 6,51 CFU/gr untuk maltodekstrin dengan konsentrasi 6%. Untuk meningkatkan nilai viabilitas probiotik dilakukan proses *coating* agar dapat melindungi probiotik dari pengaruh lingkungan disekitarnya. Bahan tersebut salah satunya adalah kitosan, karena bahan ini dapat memperkuat lapisan struktur dari mikroenkapsulasi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap viabilitasnya.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2018 di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, Divisi Perencanaan Hasil Perikanan, Divisi Nutrisi Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Terpadu Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksperimen yang terdiri dari 2 variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi kitosan yang berbeda yaitu, 0%, 2,25%, 2,5%, 2,75%, 3%, dan 3,25%, sedangkan parameter uji yang digunakan meliputi viabilitas, kadar air, diameter, *water activity*, *yield* dan pewarnaan gram. Berdasarkan hasil penelitian dari 6 perlakuan tersebut, dapat dinyatakan bahwa pemberian konsentrasi kitosan sebagai *coating* yang berbeda pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin memberikan pengaruh terhadap nilai viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil penelitian didapatkan nilai viabilitas, kadar air, diameter, *water activity*, dan *yield* terbaik terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25% dengan nilai rata-rata secara berturut-turut adalah 6.84 log CFU/g, 7,17%, 48.05 µm, 0.76, dan 49,85%.

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul “Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kitosan sebagai *Coating* Pada Mikroenkapsulasi Kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan Maltodekstrin Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*”. Pada tulisan ini disajikan beberapa bahasan yang meliputi tentang mikroenkapsulasi, bahan inti mikroenkapsulasi, bahan penyalut mikroenkapsulasi, bahan *coating* dan viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Penulis menyadari adanya keterbatasan kemampuan dan pengetahuan dalam menyusun Laporan Skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Malang, 31 Agustus 2018

Peristianto

DAFTAR ISI

| | |
|--|-----------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | ii |
| IDENTITAS TIM PENGUJI..... | iii |
| PERNYATAAN ORISINALITAS..... | iv |
| UCAPAN TERIMAKASIH..... | v |
| RINGKASAN..... | vii |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| DAFTAR ISI..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| 1. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah..... | 2 |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | 3 |
| 1.4 Hipotesis..... | 3 |
| 1.5 Kegunaan Penelitian..... | 3 |
| 1.6 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 3 |
| 2. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| 2.1 Mikroenkapsulasi..... | 5 |
| 2.1.1 Bahan Inti..... | 5 |
| 2.2 Bahan Penyalut..... | 7 |
| 2.2.1 <i>Eucheuma cottoni</i> | 7 |
| 2.2.2 Karaginan..... | 8 |
| 2.2.3 Kappa <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC)..... | 9 |
| 2.2.4 Maltodekstrin..... | 9 |
| 2.3 <i>Coating</i> | 10 |
| 2.3.1 Kitosan..... | 10 |
| 2.4 Metode Gel Partikel..... | 11 |
| 3. METODE PENELITIAN..... | 13 |
| 3.1 Materi Penelitian..... | 13 |
| 3.1.1 Alat Penelitian..... | 13 |
| 3.1.2 Bahan Penelitian..... | 14 |
| 3.2 Metode Penelitian..... | 14 |
| 3.2.1 Metode..... | 14 |
| 3.2.2 Variabel Penelitian..... | 15 |
| 3.3 Tahapan Penelitian..... | 15 |
| 3.3.1 Penelitian Pendahuluan..... | 15 |
| 3.3.2 Penelitian Utama..... | 16 |
| 3.4 Prosedur Penelitian..... | 18 |
| 3.4.1 Penelitian Pendahuluan..... | 18 |
| 3.4.2 Penelitian Utama..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 4. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 24 |
| 4.1 Penelitian Pendahuluan | 24 |
| 4.1.1 Viabilitas Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 24 |
| 4.2 Penelitian Utama..... | 24 |
| 4.2.1 Spektra FT-IR SRC <i>Eucheuma cottoni</i> , Maltodekstrin, dan Kitosan..... | 24 |
| 4.2.2 Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 31 |
| 4.2.3 Kadar Air Mikroenkapsulasi..... | 33 |
| 4.2.4 Diameter Mikroenkapsulasi | 35 |
| 4.2.5 <i>Water Activity</i> (aw) Mikroenkapsulasi | 36 |
| 4.2.6 <i>Yield</i> Mikrokaenkapsulasi | 38 |
| 4.2.7 Pewarnaan Gram Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 39 |
| 5. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 40 |
| 5.1 Kesimpulan | 40 |
| 5.2 Saran | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 41 |
| LAMPIRAN..... | 46 |



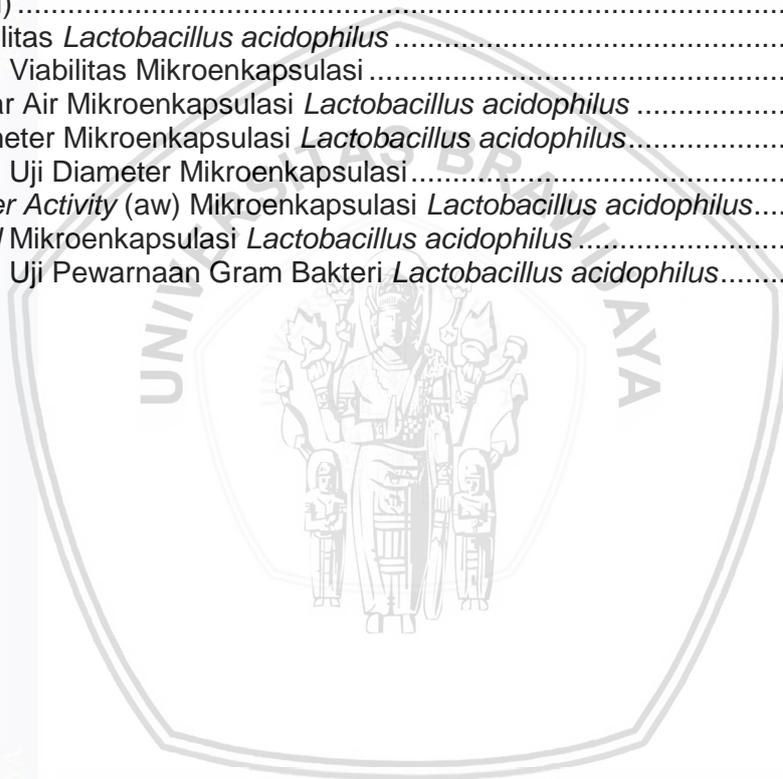
DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Model Rancangan Penelitian Pendahuluan | 16 |
| 2. Desain Perlakuan dan Ulangan Penelitian Utama..... | 17 |
| 3. Viabilitas Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 24 |
| 4. Gugus Fungsional Pita Serapan <i>Semi Refined Carrageenan (SRC) Eucheuma cottoni</i> | 25 |
| 5. Gugus Fungsi Serapan FT-IR Maltodesktrin | 27 |
| 6. Gugus Fungsi Serapan FT-IR Kitosan | 28 |



DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. <i>Eucheuma cottoni</i> | 7 |
| 2. Struktur Kimia Kappa Karaginan | 9 |
| 3. Metode Gel Partikel Mikroenkapsulasi | 12 |
| 4. Spektra FT-IR <i>Semi Refined Carrageenan (SRC) Eucheuma cottoni</i> | 25 |
| 5. Spektra FT-IR Maltodekstrin | 26 |
| 6. FT-IR Kitosan..... | 28 |
| 7. Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network (IPN)</i> | 29 |
| 8. Bentuk Penjeratan dalam Struktur Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network (IPN)</i> | 30 |
| 9. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 31 |
| 10. Hasil Viabilitas Mikroenkapsulasi | 33 |
| 11. Kadar Air Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 34 |
| 12. Diameter Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 35 |
| 13. Hasil Uji Diameter Mikroenkapsulasi | 36 |
| 14. <i>Water Activity (aw)</i> Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 37 |
| 15. <i>Yield</i> Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 38 |
| 16. Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 39 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Diagram Alir Pembuatan Kappa <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) | 46 |
| 2. Diagram Alir Pembuatan Kitosan | 47 |
| 3. Prosedur Kultur Bakteri dan <i>Sentrifuge</i> Kultur Bakteri..... | 48 |
| 4. Diagram Alir Pembuatan Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan Metode Gel Partikel | 49 |
| 5. Diagram Alir Proses Coating Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> ... | 50 |
| 6. Diagram Alir Pengujian Viabilitas Sel Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 51 |
| 7. Diagram Alir Pengujian Kadar Air..... | 52 |
| 8. Diagram Alir Pengujian Diameter Mikroenkapsulasi..... | 53 |
| 9. Diagram Alir Pewarnaan Gram Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 54 |
| 10. Pembuatan Kappa <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC)..... | 55 |
| 11. Pembuatan Kitosan..... | 56 |
| 12. Pembuatan Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 58 |
| 13. Proses <i>Coating</i> Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 59 |
| 14. Pengujian Viabilitas Sel Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 60 |
| 15. Pengujian Kadar Air Mikroenkapsulasi..... | 61 |
| 16. Pengujian Diameter Mikroenkapsulasi..... | 62 |
| 17. Pengujian Pewarnaan Gram Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 63 |
| 18. Hasil Uji FT-IR | 65 |
| 19. Perhitungan Derajat Deasetilisasi Kitosan | 67 |
| 20. Analisa Keragaman Uji Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> | 68 |
| 21. Analisa Keragaman Uji Kadar Air Mikroenkapsulasi..... | 70 |
| 22. Analisa Keragaman Uji Diameter Mikroenkapsulasi | 72 |
| 23. Analisa Keragaman Uji <i>Water Activity</i> (aw) Mikroenkapsulasi..... | 74 |
| 24. Analisa Keragaman Uji <i>Yield</i> Mikroenkapsulasi | 76 |

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroenkapsulasi merupakan teknik yang efektif dalam melindungi bahan inti dari faktor lingkungan luar seperti bakteri patogen atau kondisi yang dapat menurunkan kualitas dan kuantitas dari bahan inti (Chávarri *et al.*, 2010). Salah satu bahan yang umum untuk dijadikan sebagai bahan inti mikroenkapsulasi adalah probiotik. Probiotik dipilih dikarenakan mempunyai manfaat untuk saluran pencernaan manusia salah satunya adalah dapat menjaga keseimbangan mikroflora usus manusia (Rizqiati *et al.*, 2009). Jenis probiotik yang sering digunakan sebagai bahan inti mikroenkapsulasi adalah bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus acidophilus* (Malago *et al.*, 2011). Bakteri ini termasuk kedalam bakteri gram positif, bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh pada suhu 37-42°C (Bull *et al.*, 2013).

Mikroenkapsulasi terbentuk dari berbagai bahan penyalut salah satunya adalah kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC). Bahan penyalut ini merupakan hasil ekstraksi dari rumput laut merah. Bahan penyalut ini dipilih karena memiliki sifat yang kuat daripada jenis karaginan lainnya (Rowe *et al.*, 2009), selain itu pada bahan penyalut ini terdapat kandungan ion K⁺ yang dapat dimanfaatkan oleh probiotik sebagai sumber nutrisi. Gel yang dihasilkan dari kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) memiliki tipe gel yang mudah pecah dengan dicirikan adanya sineresis yang tinggi (Pebrianata, 2005). Untuk mengatasi kelemahan tersebut perlu ditambahkan bahan penyalut yang bersifat hidroskopis. Bahan penyalut tersebut adalah maltodekstrin. Maltodekstrin adalah produk modifikasi pati (Yuliaty dan Susanto, 2015).

Pada penelitian sebelumnya kombinasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin menghasilkan nilai viabilitas sebagai berikut, penyalut

kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) sebesar 6,30 CFU/gr dengan konsentrasi 5%, maltodekstrin sebesar 6,51 CFU/gr dengan konsentrasi 6% (Mahara, 2016). Untuk meningkatkan nilai viabilitas probiotik dilakukan suatu penambahan perlakuan dengan cara proses *coating*. Bahan yang dapat dijadikan sebagai *coating* adalah kitosan. Bahan ini memiliki sifat yang mudah larut dalam asam sehingga ketika mikroenkapsulasi masuk kedalam organ pencernaan manusia maka bagian yang terdegradasi terlebih dahulu adalah bagian kitosan dan mempermudah probiotik untuk sampai dan rilis tepat pada bagian usus manusia.

Kitosan adalah produk deasetilisasi dari kitin. Kitosan bersifat non polar (Sashiwa *et al.*, 2003). Kitosan juga polimer yang bersifat polikationik. Adanya gugus hidroksil dan amino mengakibatkan kitosan dengan mudah mengikat kation dari zat-zat organik seperti protein dan lemak. Selain itu kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai absorben (Agustina *et al.*, 2015). Peran kitosan sebagai *coating* dalam mikroenkapsulasi yaitu dapat memperkuat manik-manik pada lapisan (Ansari *et al.*, 2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka penelitian tentang pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* belum dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap nilai viabilitasnya.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah apakah perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* berpengaruh terhadap viabilitasnya.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* terhadap viabilitasnya.

1.4 Hipotesis

Hipotesa yang mendasari penelitian ini adalah:

H_0 = Pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* tidak berpengaruh terhadap viabilitasnya.

H_1 = Pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* berpengaruh terhadap viabilitasnya.

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating* pada mikroenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2018. Pelaksanaan penelitian di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan Divisi Keamanan Hasil Perikanan, Divisi Perekayasaan Hasil Perikanan, Divisi Nutrisi Ikan Fakultas

Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Terpadu Fakultas Teknologi
Pertanian Universitas Brawijaya, Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan suatu teknik yang efektif dalam melindungi bahan inti dari lingkungan yang ekstrim, seperti kondisi pada lambung manusia. Salah satu bahan inti yang dapat digunakan adalah probiotik, hal ini dikarenakan probiotik dapat memberikan manfaat pada bagian saluran pencernaan manusia. Mikroenkapsulasi melindungi bakteri dengan cara membentuk matriks (Chávarri *et al.*, 2010).

Mikroenkapsulasi merupakan metode yang paling efisien dari sudut pandang mikrobiologi. Mikroenkapsulasi dapat diartikan sebagai suatu jebakan bagi sel mikroorganisme dengan cara melapisinya dengan bahan hidrokoloid. Hal ini dapat melindungi sel-sel mikroorganisme dari lingkungan sekitarnya (Mortazavian *et al.*, 2007).

Mikroenkapsulasi dapat menjaga bahan inti dengan baik dari lingkungan sekitarnya selama proses menuju tempat tujuan, sehingga hal ini dapat meningkatkan kestabilan bahan inti. Bahan yang melindungi bahan inti disebut sebagai dinding mikroenkapsulasi. Dinding ini dirancang untuk melindungi bahan inti. (Kailasapathy, 2002).

2.1.1 Bahan Inti

2.1.1.1 Probiotik

Probiotik diartikan sebagai mikroorganisme hidup yang dapat memberikan manfaat pada inangnya ketika diberikan dalam jumlah yang cukup. *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* adalah jenis probiotik yang disarankan untuk digunakan. Probiotik jenis ini dapat melakukan pencegahan terhadap virus dan juga diare (FAO/WHO, 2002).

Probiotik adalah jenis mikroba hidup yang bermanfaat untuk menjaga keseimbangan mikroflora usus manusia. Manfaat tersebut berupa kesehatan pada manusia. Jumlah mikroba hidup harus cukup memberikan efek yang positif dan dapat berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah tertentu yang dibutuhkan (Rizqiati *et al.*, 2009).

Jenis probiotik yang umum digunakan adalah bakteri dari jenis bakteri asam laktat (BAL). Bakteri ini dapat menghasilkan asam laktat yang dapat melindungi bagian saluran pencernaan (usus) dari bakteri patogen. Jenis golongan bakteri ini terdiri dari, strain *Lactobacillus* (*Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp*), strain *Bifidobacteria* (*Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*), dan strain *Streptococcus salivarius subsp* (Malago *et al.*, 2011).

2.1.1.2 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus spp. merupakan kelompok bakteri penghasil asam laktat, selain itu memiliki ciri-ciri anaerob fakultatif, gram positif, tidak berspora, berbentuk batang yang tumbuh baik dibawah kondisi mikroaerofilik. Bakteri ini mempunyai beragam bentuk seperti batang pendek, bulat batang, silinder dalam rangkaian rantai. Morfologi koloni bervariasi dari kecil sampai sedang yang berwarna abu-abu. *Lactobacillus* mampu tumbuh pada media *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) (Goldstein *et al.*, 2015).

Lactobacillus acidophilus termasuk bakteri gram positif, berukuran antara (2-10 μm), berbentuk batang dan dapat tumbuh secara optimal pada suhu 37-42°C. bakteri ini dapat tumbuh pada kondisi asam yaitu pada pH 5.5-6.0 dan dapat berhenti pertumbuhannya pada pH 4.0 kebawah. Bakteri ini juga toleran terhadap oksigen (Bull *et al.*, 2013).

Lactobacillus acidophilus memiliki karakteristik antara lain yaitu, golongan gram positif, non spora, berbentuk kokus atau batang. Bakteri ini juga bersifat

anaerob fakultatif atau dapat tumbuh baik ada atau tidaknya oksigen di lingkungannya. Pada umumnya bakteri ini tumbuh secara anaerobik (Jafarei dan Ebrahimi 2011).

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu strain bakteri dari golongan bakteri asam laktat (BAL) yang sering digunakan sebagai probiotik. Hal ini dikarenakan bakteri ini dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan manusia. Kelebihan itulah yang menjadi faktor penting untuk menjadikan bakteri ini sebagai probiotik (Mariana dan Susanti, 2012).

2.2 Bahan Penyalut

2.2.1 *Eucheuma cottoni*

Eucheuma cottoni merupakan salah satu jenis rumput laut merah yang dapat menghasilkan karaginan berjenis kappa sebagai pembentuk gel. Klasifikasi *Eucheuma cottoni* menurut Amora dan Sukesri (2013) adalah:

Divisi : Rhodophyta

Kelas : Rhodophyceae

Ordo : Gigartinales

Famili : Solariaceae

Genus : *Eucheuma*

Spesies: *Eucheuma cottoni*

Penampakan *Eucheuma cottoni* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Eucheuma cottoni* (Koleksi Pribadi)

Eucheuma sp dapat menghasilkan karaginan dan dapat berfungsi juga sebagai *stabilizer*, *thickener*, pembentuk gel dan pengemulsi. Ciri fisik *Eucheuma cottonii* yaitu mempunyai talus silindris, bagian permukaannya licin, warna tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi karena dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Kejadian ini merupakan suatu proses penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan (Prasetyowati *et al.*, 2008).

2.2.2 Karaginan

Karaginan adalah kelompok polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut. Karaginan kompleks, bersifat larut dalam air, dan berantai linier. Senyawa tersebut terdiri dari sejumlah unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa yang berikatan dengan gugus sulfat atau tidak dengan ikatan α 1,3-D-galaktosa dan β 1,4-3,6-anhidrogalaktosa. Berdasarkan substituen sulfatnya pada setiap monomer maka karaginan dapat dibedakan dalam beberapa tipe yaitu kappa, iota, lamda, mu, nu dan xi- karaginan (Diharmi *et al.*, 2011).

Sumber utama untuk mendapatkan karaginan secara umum berasal dari rumput laut genus *Eucheuma*. Senyawa tersebut dapat diekstraksi dengan mudah menggunakan air atau larutan alkali. Total karaginan yang dihasilkan dipengaruhi oleh spesies rumput laut (Widyastuti, 2010).

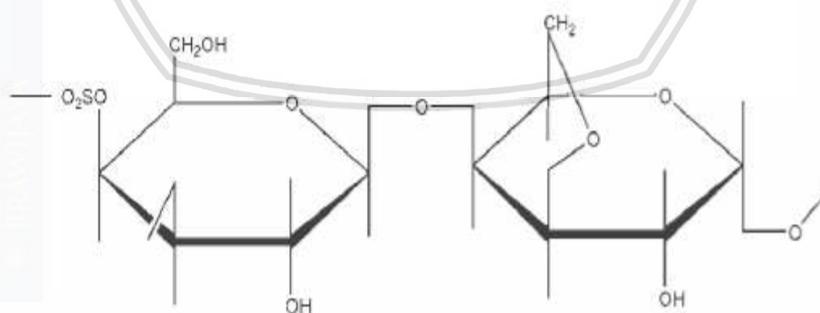
Karaginan mempunyai peranan penting sebagai pembentuk gel. Sifat ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan serta obat-obatan. Selain itu juga berfungsi sebagai pensuspensi, pengikat, *protective* (melindungi koloid), *film former* (mengikat suatu bahan), dan *syneresis inhibitor* (mencegah terjadinya pelepasan air) (Fathmawati *et al.*, 2013).

2.2.3 Kappa Semi Refined Carrageenan (SRC)

Kappa karaginan dapat dibuat dari rumput laut dari spesies *Eucheuma*, *Hypochondrus*, dan *Furcellaria* (Prajapati *et al.*, 2014). Kappa karaginan mempunyai tekstur yang kuat serta akan membentuk gel yang keras ketika ditambahkan dengan ion K^+ . Kappa karaginan memiliki tipe gel yang mudah pecah yang dicirikan dengan adanya sineresis (Pebrianata, 2005). Pembentukan gel terjadi pada kisaran suhu 60° - 80° C (Mustapa *et al.*, 2011).

Metode pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dapat dilakukan dengan cara ekstraksi pada rumput laut kering menggunakan larutan KOH. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang dan dicuci dengan air distilasi untuk menghilangkan residu KOH. Setelah itu didapatkanlah kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) (Bono *et al.*, 2014).

Kappa karaginan dimungkinkan dapat melakukan pembesaran sel karena kappa karaginan adalah polimer yang mengandung gel. Selain itu, mengandung ester sulfat 25% dan 3,6 anhidrogalaktosa sebesar 34% (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Kappa Karaginan (Rowe *et al.*, 2009)

2.2.4 Maltodekstrin

Maltodekstrin adalah produk modifikasi pati yang bersifat hidroskopis. Maltodekstrin juga merupakan hasil hidrolisis secara kimia maupun enzimatik.

Hasil hidrolisis dapat dilakukan dengan DE (*dextrose equivalent*) (Yuliawaty dan Susanto, 2015).

Maltodekstrin mempunyai rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$. Maltodekstrin merupakan produk degradasi bahan baku pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang saling berikatan oleh ikatan glikosidik. Kelebihan produk ini dapat bercampur dengan air membentuk cairan koloid bila dipanaskan dengan mempunyai kemampuan sebagai perekat, dan tidak bersifat toksik (Husniati, 2009).

2.3 *Coating*

Coating merupakan suatu langkah yang efektif untuk melindungi bahan inti yang berada di dalam mikroenkapsulasi. Proses ini dilakukan dengan cara melapisi suatu bahan inti yang telah diperangkap oleh bahan penyalut. Selain itu, pelapisan ini bertujuan agar mikroorganisme atau bahan inti yang telah disalut tidak terkontaminasi dengan patogen yang berada di luar lingkungan mikroenkapsulasi (Pereira *et al.*, 2018).

Pembuatan mikroenkapsulasi *coating* dapat dilakukan dengan dua tahap. Tahap pertama bahan inti yang sudah dienkapsulasi dimasukkan kedalam bahan *coating* untuk membentuk membran atau jaringan. Tahap kedua dengan cara meneteskan bahan inti kedalam larutan *coating* (Gaserod *et al.*, 1998).

2.3.1 *Kitosan*

Peran kitosan sebagai *coating* dalam mikroenkapsulasi yaitu dapat memperkuat manik-manik pada lapisan. Selain itu kitosan juga dapat mencegah lepasnya bahan inti atau probiotik yang telah dienkapsulasi oleh bahan penyalut pada saat masuk ke dalam saluran pencernaan manusia. Hal tersebut bertujuan untuk meningkatkan jumlah dan viabilitas probiotik (Ansari *et al.*, 2017).

Kitosan adalah produk N-deasetilisasi dari kitin. Kitosan adalah biomakromolekul yang bersifat non polar (Sashiwa *et al.*, 2003). Kitosan juga

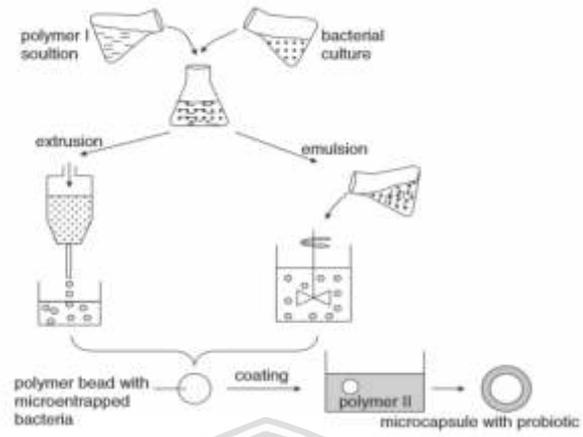
polimer yang bersifat polikationik. Adanya gugus hidroksil dan amino mengakibatkan kitosan dengan mudah mengikat kation ion logam berat dan kation dari zat-zat organik seperti protein dan lemak. Selain itu kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang berfungsi sebagai abseorben (Agustina *et al.*, 2015).

2.4 Metode Gel Partikel

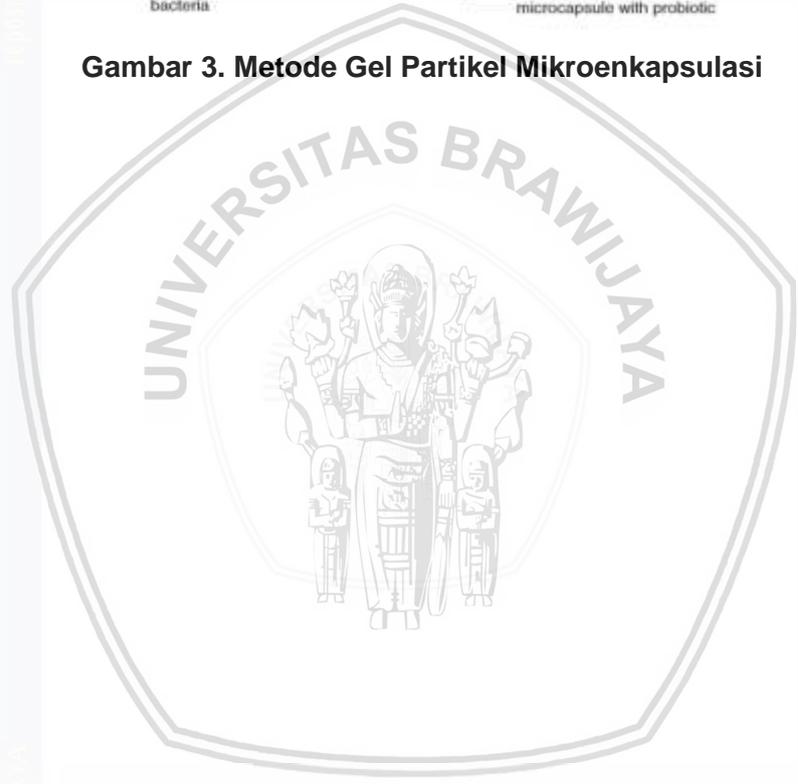
Metode gel partikel merupakan penggabungan dari teknik ekstruksi dengan teknik emulsifikasi. Teknik ekstruksi yaitu mencampurkan hidrokoloid dengan sel probiotik. Campuran antara hidrokoloid dimasukkan kedalam ekstruder menggunakan jarum *syringe* dan akan keluar membentuk tetesan. Sedangkan metode emulsifikasi dilakukan dengan penambahan bahan baku seperti agen pengemulsi (Gbassi dan Vandamme, 2012).

Teknik ekstruksi atau teknik emulsifikasi dapat diterapkan untuk menghasilkan manik-manik polimer. Langkah pertama yaitu mencampurkan kultur bakteri dengan larutan polimer untuk menciptakan suspensi bakteri polimer, kemudian diekstruksi dengan jarum untuk menghasilkan tetesan mikroenkapsulasi. Langkah selanjutnya mikroenkapsulasi dicampurkan dengan bahan pengemulsi (Manajlovic *et al.*, 2010).

Pengeringan vakum merupakan cara pengeringan suatu bahan di suatu ruangan yang memiliki tekanan lebih rendah daripada tekanan udara atmosfer. Proses pengeringan dapat berlangsung secara efektif meskipun pada suhu yang lebih rendah daripada pengeringan atmosfer. Dengan kondisi tekanan uap air dalam udara yang lebih rendah, air pada bahan akan menguap pada suhu rendah (Astuti, 2008). Metode Gel Partikel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Metode Gel Partikel Mikroenkapsulasi



repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari perlatan yang digunakan untuk proses pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC), pembuatan kitosan, pembuatan mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*, uji viabilitas, uji kadar air, uji pengukuran diameter mikroenkapsulasi, dan uji pewarnaan gram. Alat yang digunakan dalam pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) terdiri dari timbangan digital, *disk mill*, pH meter, loyang, oven, penyaring, ayakan 100 mesh, *waterbath*, spatula, *beaker glass* 500 mL, gelas ukur 100 mL, dan labu ukur 500 mL. Alat yang digunakan dalam pembuatan kitosan terdiri dari timbangan digital, *hot plate*, *magnetic* stirer, spatula, pH meter, nampan, *beaker glass* 500 mL, gelas ukur 100 mL, dan labu ukur 100 mL. Alat yang digunakan dalam pembuatan mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* terdiri dari timbangan digital, sendok bahan, *magnetic* stirer, spatula, *syringe*, tabung reaksi, *sentrifuge*, autoklaf, *hot plate*, penyaring, *cuvet* 15 mL, *beaker glass* 100 mL, 250 mL, 500 mL, gelas ukur 100 mL. Alat yang digunakan dalam uji viabilitas terdiri dari spatula, sendok bahan, tabung reaksi, cawan petri, bunsen, pipet serologis, 250 mL, 500 mL, gelas ukur 100 mL. Alat yang digunakan dalam uji kadar air terdiri dari botol timbang, *crushable tank*, loyang, desikator, timbangan digital, dan oven. Alat yang digunakan dalam uji pengukuran diameter mikroenkapsulasi terdiri dari mikroskop, sendok bahan, *object glass*, *cover glass*, dan kaca arloji. Alat yang digunakan dalam uji pewarnaan gram terdiri dari *object glass*, *cover glass*, bunsen, jarum ose, pipet tetes, mikroskop.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) terdiri dari rumput laut *Eucheuma cottoni* basah yang berasal dari perairan Kabupaten Sumenep, Pulau Madura, Jawa Timur, kain blacu, akuades, larutan KOH 6%, KCl 0,75%, alumunium foil, kertas label, kaca arloji, dan plastik klip. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kitosan terdiri dari kulit udang basah berjenis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang berasal dari Kawasan Home Industri Kabupaten Sidoarjo, alumunium foil, kertas label, kaca arloji, kain blacu, akuades, larutan HCl 1N, NaOH 3N, NaOH 50% dan plastik klip. Bahan yang digunakan dalam mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* terdiri dari kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC), maltodekstrin, kitosan, akuades, NaCl, kultur bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, *de Mann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), kapas, *plastik wrab*, KCl 3,9 M, asam asetat 1%, kertas label, kaca arloji, dan plastik klip. Bahan yang digunakan dalam uji viabilitas terdiri dari *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), kapas, *plastic wrab*, kertas koran, NaCl, tali, akuades, spirtus, kertas label, kaca arloji, dan plastik klip. Bahan yang digunakan dalam uji kadar air dan uji pengukuran diameter mikroenkapsulasi terdiri dari kertas label. Bahan yang digunakan dalam uji pewarnaan gram terdiri dari alkohol, spirtus, kristal violet, iodin, safranin, dan akuades.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, metode ini digunakan dengan tujuan untuk mengetahui sebab akibat dua variabel atau lebih dengan mengendalikan pengaruh variabel lain.

3.2.2 Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini diberikan variabel bebas secara sengaja kepada obyek penelitian untuk mengetahui adanya akibat terhadap variabel terikat. Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi kitosan sebagai *coating*.
2. Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi. Variabel terikat pada penelitian ini adalah viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian ini dibagi menjadi dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan kitosan serta menentukan konsentrasi bahan penyalut kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) yang terbaik dengan penambahan maltodekstrin yang *dicoating* menggunakan kitosan berdasarkan nilai viabilitasnya.

Pada penelitian pendahuluan ini diberikan beberapa konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) yaitu 4% dan 5% dari volume akuades untuk mengetahui konsentrasi yang tepat saat dicampurkan dengan maltodekstrin dan saat di *coating* menggunakan kitosan dalam pembuatan mikroenkapsulasi. Penentuan konsentrasi tersebut berdasarkan hasil pada penelitian sebelumnya dimana konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) yang terbaik adalah

5%, sedangkan model rancangan pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Model Rancangan Penelitian Pendahuluan

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| A1 | (A1) ₁ | (A1) ₂ | (A1) ₃ | |
| A2 | (A2) ₁ | (A2) ₂ | (A2) ₃ | |

Keterangan:

A1 = konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) 4%, maltodekstrin 3%, dan kitosan 2%.

A2 = konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) 5%, maltodekstrin 3%, dan kitosan 2%.

Setelah didapatkan perlakuan yang terbaik berdasarkan nilai viabilitasnya maka konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) tersebut digunakan sebagai acuan pada penelitian utama dalam pembuatan mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus acidophilus*.

3.3.2 Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan dengan menentukan konsentrasi kitosan yang terbaik untuk mengetahui pengaruh penambahan kitosan sebagai *coating* mikroenkapsulasi berdasarkan nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang tertinggi. Rancangan percobaan yang digunakan untuk penelitian utama ini adalah Rancangan Acak Lengkap Sederhana (RALS). Perlakuan yang diberikan terdiri dari 6 konsentrasi kitosan yang berbeda yaitu A1 (0%), A2 (2,25%), A3 (2,5%), A4 (2,75%), A5 (3%), dan A6 (3,25%) dengan menggunakan 3 kali ulangan, sedangkan model rancangan pada penelitian utama dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Desain Perlakuan dan Ulangan Penelitian Utama

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-Rata |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| A1 | (A1) ₁ | (A1) ₂ | (A1) ₃ | |
| A2 | (A2) ₁ | (A2) ₂ | (A2) ₃ | |
| A3 | (A3) ₁ | (A3) ₂ | (A3) ₃ | |
| A4 | (A4) ₁ | (A4) ₂ | (A4) ₃ | |
| A5 | (A5) ₁ | (A5) ₂ | (A5) ₃ | |
| A6 | (A6) ₁ | (A6) ₂ | (A6) ₃ | |

Keterangan:

A1 = konsentrasi kitosan 0%

A2 = konsentrasi kitosan 2,25%

A3 = konsentrasi kitosan 2,5%

A4 = konsentrasi kitosan 2,75%

A5 = konsentrasi kitosan 3%

A6 = konsentrasi kitosan 3,25%

Penentuan konsentrasi diatas berdasarkan pada penelitian sebelumnya, dimana hasil terbaik yaitu konsentrasi kitosan sebesar 2% dari jumlah aquades yang digunakan. Analisis dalam penelitian ini menggunakan analisis data statistik metode *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui besarnya nilai F menggunakan program SPSS V.20, jika hasil analisis keragaman menunjukkan adanya perbedaan pada taraf 5% maka dilanjutkan dengan menggunakan uji BNT 5%, sedangkan model analisis menurut Siska dan Rudy (2012) adalah sebagai berikut:

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

Dimana:

Y_{ij} = hasil pengamatan (viabilitas *Lactobacillus acidophilus*)

μ = nilai rata-rata umum

T_i = pengaruh konsentrasi pada taraf ke-I terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

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

i = perbedaan konsentrasi

J = ulangan (1,2,3)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penelitian Pendahuluan

3.4.1.1 Prosedur Pembuatan Kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) (Setijawati *et al.*, 2012 termodifikasi)

Rumput laut jenis *Eucheuma cottoni* kering ditimbang sebesar 5% dari larutan yang digunakan, dibersihkan lalu dicuci. Kemudian rumput laut *Eucheuma cottoni* direbus dalam larutan KOH dengan konsentrasi 6% (w/v) dan ditambahkan dengan 0,75% KCl selama 2 jam lalu direbus dengan suhu 70-74°C. Setelah direbus kemudian rumput laut disaring dengan kain blacu, dan dicuci dengan air mengalir sampai pH netral (pH=7). Setelah itu rumput laut dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C sampai kering dan diblender hingga halus, selanjutnya dilakukan pengayakan menggunakan ayakan 100 mesh. Diagram alir pembuatan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.4.1.2 Prosedur Pembuatan Kitosan (Hanafi *et al.*, 2000 termodifikasi)

Kulit udang berjenis udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) kering dihaluskan dan dilakukan proses demineralisasi dengan penambahan larutan asam klorida 1 N (1:10), diaduk diatas *hot plate* pada suhu sekitar 75°C selama 1 jam, kemudian disaring. Residu dicuci dengan air hingga netral, dan ditambahkan larutan basa NaOH dengan konsentrasi 3 N sebanyak 6 kali bahan baku (1:6), dipanaskan pada suhu sekitar 75°C selama 1 jam, filtrat kemudian dibuang dengan cara disaring dan menghasilkan kitin. Kitin yang dihasilkan dicuci dengan akuades hingga pH netral, kemudian dilakukan proses deasetilasi dengan menambahkan larutan NaOH 50% sebanyak 5 kali bahan baku kulit udang (1:5) lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, dicuci dengan air mengalir sampai pH netral (pH=7) dan dikeringkan dalam oven selama 6 jam pada suhu 50°C. Diagram alir pembuatan kitosan dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.4.2 Penelitian Utama

3.4.2.1 Prosedur Pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) (Pereira *et al.*, 2009)

Pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya untuk mengetahui gugus fungsional dari kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC), maltodekstrin dan kitosan. *Spectrum infrared* dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel, kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Pita absorpsi pada *spectrum infrared* yang terbentuk menggunakan tabel korelasi sehingga analisis gugus fungsi sampel dapat dilakukan. *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) adalah metode yang dilengkapi transformasi fourier untuk hasil spektrumnya. Metode spektroskopi inframerah yang digunakan adalah metode absorpsi dimana terdapat perbedaan penyerapan radiasi inframerah pada hasilnya.

3.4.2.2 Prosedur Pembuatan Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dengan Metode Gel Partikel (Manojlovic *et al.*, 2010 termodifikasi)

Pembuatan mikroenkapsulasi dengan menggunakan metode gel partikel dilakukan dengan menimbang sol kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin. Setelah ditimbang kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* berukuran 100 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 30 mL. Setelah itu larutan diaduk hingga homogen dan dipanaskan diatas *hot plate stirrer* dengan suhu 97°C , kemudian *beaker glass* yang berisi larutan diangkat dari *hot plate* diturunkan suhunya menjadi 45°C dan diaduk, hal itu bertujuan agar larutan tidak cepat membentuk gel. Disiapkan kultur *Lactobacillus acidophilus* padatan yang telah di *sentrifuge* dengan kecepatan 1000 rpm dengan lama waktu 10 menit, dan endapan dicuci menggunakan NaFis 0,9 steril sebanyak 0,1 mL dan diaduk dengan menggunakan jarum ose sehingga didapatkan kultur bakteri *Lactobacillus*

acidophilus, kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* yang telah berisi larutan kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin lalu diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer* kecepatan 100 rpm. Setelah itu, siapkan larutan KCl 3.9 M sebanyak 75 mL dan masukkan campuran kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC), maltodekstrin beserta larutan kultur bakteri yang telah homogen kedalam larutan KCl 3.9 M menggunakan *syringe* 5 mL dengan jarum diameter 1 mm. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan ayakan untuk mendapatkan residu dari mikroenkapsulasi. Dikeringkan pada oven vakum dengan suhu 40°C selama 24 jam dan didapatkan mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*. Diagram alir pembuatan mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dengan metode gel partikel oven vakum dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.4.2.3 Prosedur Pembuatan Coating Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* (Gaserod et al., 1998 termodifikasi)

Mikroenkapsulasi yang berisi bakteri *Lactobacillus acidophilus* dimasukkan ke dalam larutan kitosan 0%, 2,25%, 2,5%, 2,75%, 3%, dan 3,25% dan ditambahkan asam asetat 1% lalu diaduk dengan kecepatan 300 rpm dan didiamkan selama 2 jam, kemudian mikroenkapsulasi disaring dan dikeringkan dalam oven vakum dengan suhu 40 °C selama 24 jam. Diagram alir pembuatan *coating* mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Lampiran 5.

3.4.2.4 Prosedur Pengujian Viabilitas Sel (Chavarri et al., 2010 termodifikasi)

Pengujian viabilitas dilakukan dengan cara bahan kering mikroenkapsulasi kering diambil 1 gr, kemudian dimasukkan kedalam 9 ml Na-Fis dan dicatat sebagai pengenceran 10^{-1} . Langkah selanjutnya, dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Selanjutnya dilakukan penanaman secara duplo dari pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-7} dengan metode *Pour Plate* dalam media *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Kemudian diinkubasi dalam kondisi anaerob pada suhu 37°C selama 48 jam di dalam inkubator. Selanjutnya dilakukan perhitungan

Total Plate Count (TPC) dalam satuan CFU/g. Diagram alir prosedur pengujian vabilitas sel dapat dilihat pada Lampiran 6.

Perhitungan angka lempeng total menurut SNI (2006), adalah dengan rumus sebagai berikut.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan:

N = jumlah koloni produk (koloni/g)

$\sum C$ = jumlah koloni yang dapat dihitung pada semua cawan

n_1 = jumlah cawan yang dapat dihitung pada pengenceran pertama

n_2 = jumlah cawan yang dapat dihitung pada pengenceran kedua

d = pengenceran pertama yang dihitung

3.4.2.5 Prosedur Pengujian Kadar Air (SNI, 2006)

Pengujian kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan kadar air yang terkandung dalam bahan. Dalam pengujian kadar air langkah awal yang dilakukan adalah dengan mengeringkan botol timbang pada oven dengan suhu 40 °C selama 2 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan selanjutnya ditimbang menggunakan timbangan digital. Sampel dimasukkan kedalam botol timbang sebanyak 2 gr dan dioven pada suhu 105 °C selama 24 jam, pindahkan botol timbang menggunakan *crushable tank* ke dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang dengan timbangan digital. Kadar air dihitung berdasarkan kehilangan berat yaitu selisih berat botol timbang berisi sampel basah dengan berat botol timbang berisi sampel kering, sehingga didapatkan presentase nilai kadar air yang terkandung dalam suatu bahan. Diagram alir prosedur pengujian vabilitas sel dapat dilihat pada Lampiran 7. Perhitungan persentasi kadar air adalah sebagai berikut:

$$\% \text{Kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = berat botol timbang kosong dinyatakan dalam gr

B = berat botol timbang + sampel awal, dinyatakan dalam gr

C = berat botol timbang + sampel kering, dinyatakan dalam gr

3.4.2.6 Prosedur Pengujian Diameter Mikroenkapsulasi (Rahmadevi *et al.*, 2013, termodifikasi)

Pengujian diameter mikroenkapsulasi menggunakan mikroskop elektron. Penggunaan mikroskop ini bertujuan agar hasil perbesaran dapat lebih akurat dan jelas dibandingkan mikroskop optik. Analisa diameter mikroenkapsulasi juga menggunakan *object glass* dan *cover glass* yang diletakkan pada mikroskop elektron. *Object glass* dan *cover glass* dibersihkan dengan akuades terlebih dahulu, hal tersebut agar mencegah adanya kotoran pada *object glass* dan *cover glass* yang mempengaruhi hasil perbesaran sampel, lalu serbuk mikroenkapsulasi ditebarkan pada *object glass* dan diratakan dengan sendok bahan lalu ditutup dengan *cover glass*. Sampel diamati dengan perbesaran 40 kali dan didapatkan hasil. Diagram alir prosedur pengujian vabilitas sel dapat dilihat pada Lampiran 8.

3.4.2.7 Prosedur Pengujian Water Activity (aw) (Susanto, 2009)

Pengujian *water activity* (aw) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas air bebas yang terkandung dalam bahan pangan. Pengukuran aktivitas air ini dilakukan dengan alat aw meter. Pengujian dengan cara memasukkan BaCl₂ 2H₂O pada aw meter, terlebih dahulu aw meter dikalibrasi agar mendapatkan hasil yang maksimal. Setelah itu ditutup dan dibiarkan selama 3 menit, kemudian aw meter dibaca dan dicatat hasilnya dengan memperhatikan faktor koreksi dan skala temperatur. Skala temperatur diatas 20°C maka pembacaannya ditambahkan sebanyak kelebihan temperatur dikalikan faktor koreksi 0.0002° serta juga sama dengan hasil dibawah 20°C.

3.4.2.8 Prosedur Pengujian *Yield* Mikroenkapsulasi (Chavvari *et al.*, 2010)

Yield mikroenkapsulasi adalah nilai efisiensi dari penyalut dengan jumlah bakteri yang mampu bertahan hidup setelah melalui proses mikroenkapsulasi, tujuan dari pengujian *yield* ini adalah untuk mengetahui seberapa besar bakteri dapat bertahan hidup setelah dilakukan proses enkapsulasi. Rumus perhitungan *yield* adalah sebagai berikut:

$$EY = N / N_0 \times 100\%$$

Keterangan :

N = Jumlah sel hidup yang terlepas

N₀ = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

3.4.2.9 Prosedur Pengujian Pewarnaan Gram (Ibrahim *et al.*, 2015 termodifikasi)

Pengujian pewarnaan gram bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh pada media *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) merupakan bakteri dari golongan gram positif. Prosedur pengujian pewarnaan gram diawali dengan membersihkan preparat glass menggunakan alkohol 70% kemudian difiksasi di atas bunsen, dipijarkan jarum ose dan diambil sampel bakteri dari media *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) yang telah ditumbuhi bakteri lalu diratakan di atas preparat glass, dikeringkan dan dianginkan preparatnya, diteteskan larutan zat warna *crystal violet* sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit, dikeringkan dan dianginkan preparatnya, dibilas dengan akuades mengalir dan dikeringkan, diteteskan dengan larutan iodin dan dibiarkan selama 1 menit lalu dibilas dengan akuades mengalir dan dikeringkan. Kemudian dibilas dengan alkohol 95% selama 30 detik, lalu dibilas dengan akuades mengalir dan dikeringkan, diberi larutan safranin selama 2 menit dan dibilas dengan akuades mengalir dan dikeringkan kemudian diamati dibawah mikroskop. Diagram alir prosedur pengujian vabilitas sel dapat dilihat pada Lampiran 9.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

Hasil penelitian pendahuluan tentang nilai viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 1. Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

| Perlakuan | Ulangan | | | Rata-rata | Standart Deviasi |
|-----------|---------|------|------|-----------|------------------|
| | 1 | 2 | 3 | | |
| A1 | 6,68 | 6,78 | 6,71 | 6,72 | 0,05 |
| A2 | 6,84 | 6,72 | 6,80 | 6,78 | 0,06 |

Data Hasil Analisis Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam bentuk log CFU/g

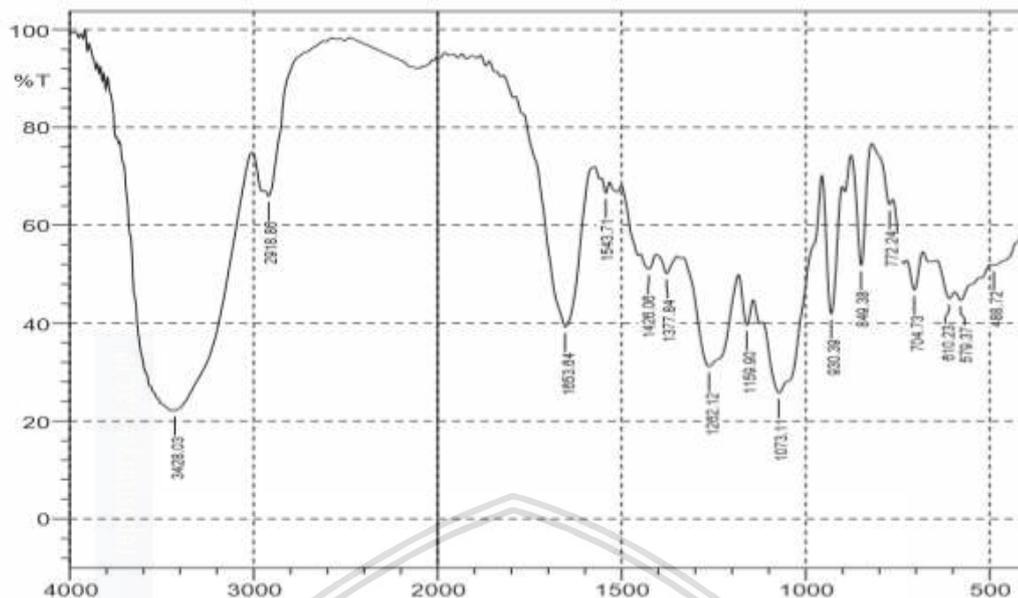
Dari hasil diatas menunjukkan bahwa nilai rata-rata viabilitas terbaik terdapat pada perlakuan A2 yaitu konsentrasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) sebesar 5% dengan nilai rata-rata sebesar 6,78 CFU/g, hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut mampu melindungi viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan baik, sehingga hasil ini dijadikan sebagai acuan untuk penelitian utama. Hal ini juga dinyatakan pada penelitian sebelumnya, bahwa nilai viabilitas pada kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) sebesar 6,30 CFU/gr dengan konsentrasi 5%, maltodekstrin sebesar 6,51 CFU/gr dengan konsentrasi 6% (Mahara, 2016).

4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Spektra FT-IR SRC *Eucheuma cottoni*, Maltodekstrin, dan Kitosan

4.2.1.1 *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni*

Analisa spektra FT-IR *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari karaginan yang dihasilkan dari proses semi murni (*semi refined*). Hasil nilai uji FT-IR *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* dapat dilihat pada Lampiran 18., sedangkan hasil analisa spektra FT-IR *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* dapat dilihat Gambar 4.



Gambar 1. Spektra FT-IR Semi Refined Carrageenan (SRC) *Eucheuma cottoni*

Semi Refined Carrageenan (SRC) *Eucheuma cottoni* memiliki hasil gugus fungsi ester sulfat pada bilangan gelombang 1262.12 cm^{-1} . Gugus fungsi glikosidik pada bilangan gelombang 1073.11 cm^{-1} . Gugus fungsi Anhidro-Galaktosa (AG) pada bilangan gelombang 930.39 cm^{-1} . Gugus fungsi galaktosa sulfat pada bilangan gelombang 849.38 cm^{-1} . Gugus fungsi galaktosa 2 sulfat pada bilangan gelombang 772.24 cm^{-1} . Hasil gugus fungsional pita serapan FT-IR *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* dapat dilihat pada Tabel 4.

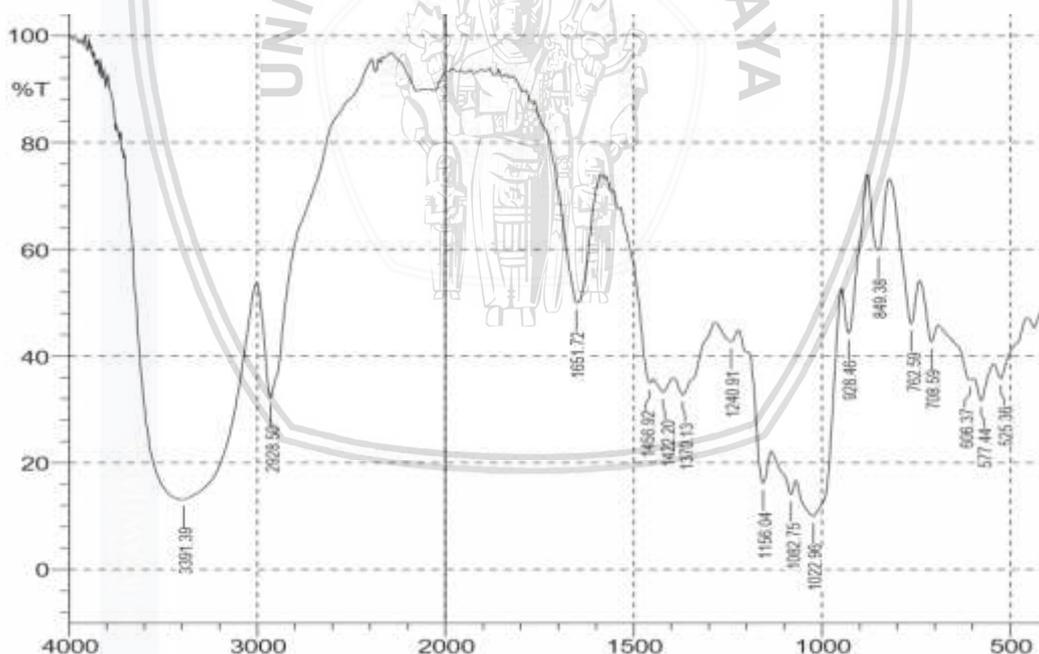
Tabel 2. Gugus Fungsional Pita Serapan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni*

| Gugus Duguan | Namazkar dan Ahmad (2013) (cm^{-1}) | Setijawati (2017) (cm^{-1}) | Hasil (cm^{-1}) |
|-----------------------|--|--|----------------------------|
| Ester sulfat | 1263 | 1210-1260 | 1262.12 |
| Ikatan glikosidik | 1050 | 1010-1080 | 1073.11 |
| 3,6-anhidro-galaktosa | 926 | 928-933 | 930.39 |
| D-galaktosa-4-sulfat | 847 | 840-850 | 849.38 |
| D-galaktosa-2 sulfat | - | 800-805 | 772.24 |

Berdasarkan hasil yang terdapat pada Tabel 4. dari hasil identifikasi dengan spektroskopi inframerah dan uraian dari bilangan gelombang, maka dapat disimpulkan bahwa karagenan yang dianalisis merupakan tipe kappa karagenan. Hal ini didapatkan dengan adanya D-galaktosa 2-sulfat, galaktosa 4-sulfat dan 3,6-anhidrogalaktosa, hal ini juga didukung oleh Setijawati (2017), yang menyatakan bahwa *Eucheuma cottonii* yang mengandung kappa karagenan yang tersusun dari D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhidro-galaktosa.

4.2.1.2 FT-IR Maltodekstrin

Analisa spektra FT-IR Maltodekstrin dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari maltodekstrin yang telah dihasilkan. Hasil nilai uji FT-IR Maltodekstrin dapat dilihat pada Lampiran 18., sedangkan hasil analisa spektra FT-IR SRC maltodekstrin dapat dilihat Gambar 5.



Gambar 2. Spektra FT-IR Maltodekstrin

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan FT-IR maltodekstrin pada Gambar 5. muncul puncak pada serapan 3391 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus alcohol O-H, muncul puncak pada serapan 1651 cm^{-1} yang menunjukkan adanya

gugus alifatik C=C, muncul puncak pada serapan 2928 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus alkane C-H. Hasil gugus fungsional pita serapan FT-IR *Semi Refined Carrageenan (SRC)* maltodekstrin dapat dilihat pada Tabel 5.

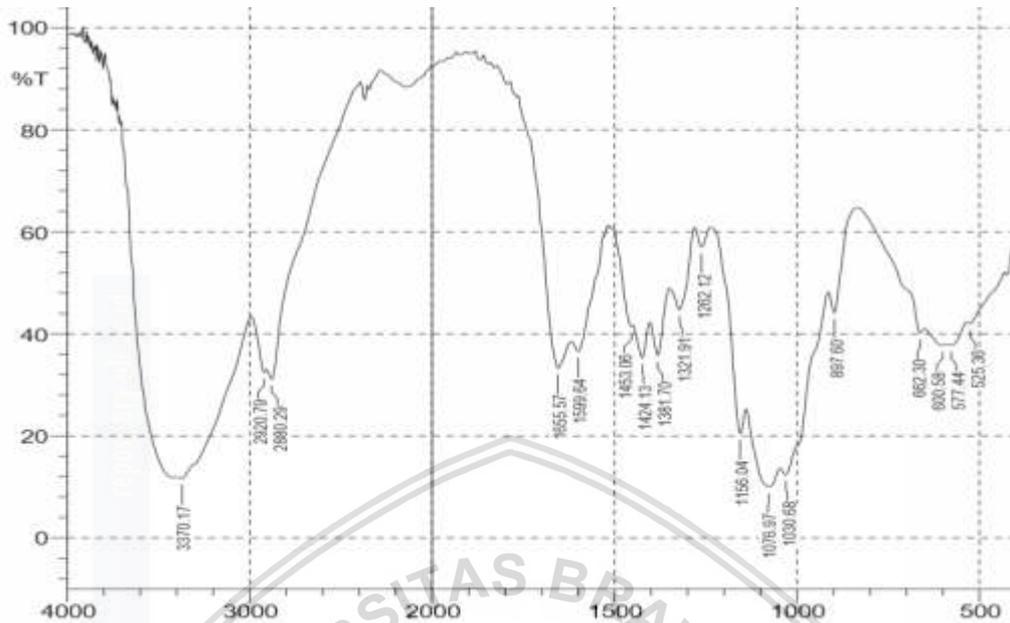
Tabel 3. Gugus Fungsi Serapan FT-IR Maltodesktrin

| Gugus Fungsi | Radhiyatullah <i>et al.</i> , 2015 | Hasil cm^{-1} |
|--------------|---------------------------------------|------------------------|
| Alkohol O- H | 3200-3500 | 3391 |
| Alifatik C=C | 1600-1680 | 1651 |
| Alkana C-H | 2850-3000 | 2928 |

Berdasarkan hasil yang terdapat pada Tabel 5. hasil identifikasi dengan spektrokopi inframerah dan uraian dari bilangan gelombang, maka dapat disimpulkan bahwa yang dianalisis memang benar kitosan. Hal ini didapatkannya adanya gugus alcohol O-H, gugus alifatik C=C dan gugus alkane C-H.

4.2.1.3 FT-IR Kitosan

Analisa spektra FT-IR Kitosan dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari Kitosan yang dihasilkan. Hasil uji FT-IR Kitosan dapat dilihat pada Lampiran 18, sedangkan hasil analisa spektra FT-IR Kitosan dapat dilihat Gambar 6.



Gambar 3. FT-IR Kitosan

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan FT-IR kitosan pada Gambar 6. muncul puncak pada serapan 897 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H Alkana, muncul puncak pada serapan 1262.12 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-O, muncul puncak pada serapan 1321.91 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-N amina/amida, muncul puncak pada serapan 1453.06 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus NO_2 .

Gugus fungsi pada spektrum FT-IR yang dilakukan pada kitosan sebagai bahan penelitian yang dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Setijawati (2017), tentang FT-IR kitosan didapatkan hasil gugus fungsi spektrum infra merah pada kitosan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 4. Gugus Fungsi Serapan FT-IR Kitosan

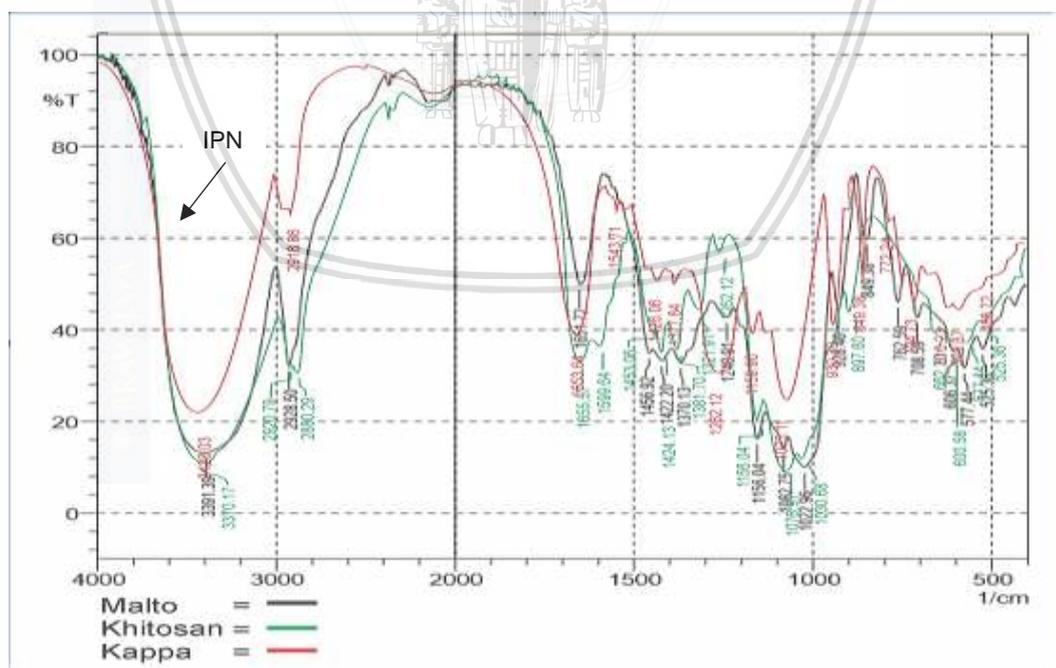
| Gugus Fungsi | Setijawati <i>et al.</i> , 2017 (cm^{-1}) | Hasil (cm^{-1}) |
|-----------------|---|----------------------------|
| C-H Alkena | 675-995 | 897.6 |
| C-O | 1050-1300 | 1262.12 |
| C-N Amina/amida | 1180-1360 | 1321.91 |
| NO_2 | 1500-1570 | 1453.06 |



Berdasarkan hasil yang terdapat pada Tabel 6. hasil identifikasi dengan spektrokopi inframerah dan uraian dari bilangan gelombang dapat disimpulkan bahwa yang dianalisis merupakan jenis kitosan. Hal ini didapatkan adanya gugus C-N amina/amida dan gugus C-H alkane serta gugus O-H alkohol ikatan hidrogen.

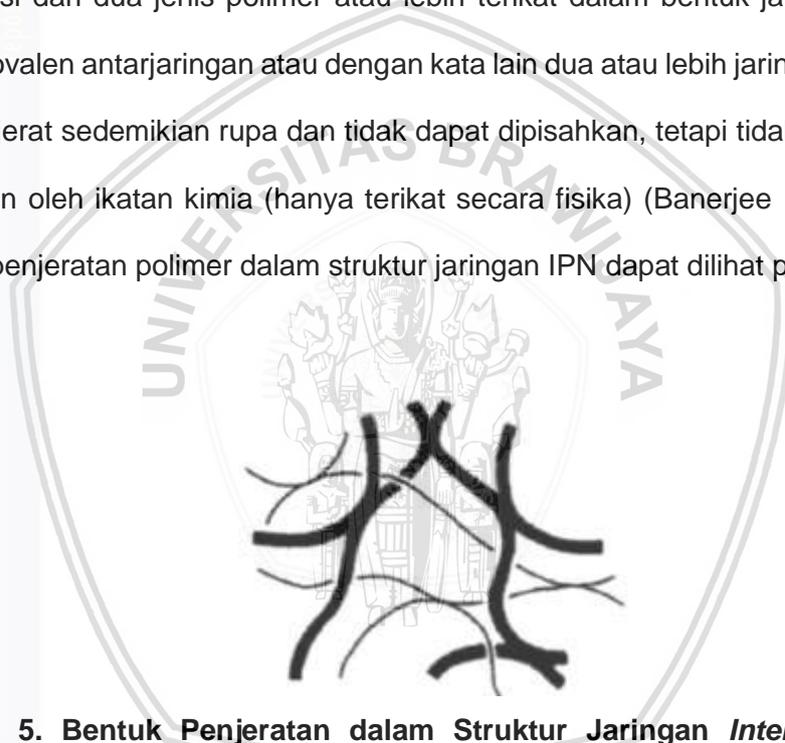
Derajat Deasetilasi (DD) kitosan dapat ditentukan berdasarkan spektrum FT-IR dengan metode *base line*. Hasil derajat deasetilasi pembuatan kitosan didapatkan nilai derajat deasetilasi (DD) sebesar 81,96% berpedoman pada rumus perhitungan (Khan *et al.*, 2002). Nilai tersebut menunjukkan bahwa polimer tersebut adalah polimer kitosan, hal ini didukung dengan pernyataan dari Rifai (2010), bahwa jika nilai derajat deasetilasi $> 60\%$ maka polimer tersebut disebut dengan kitosan, hal serupa juga dinyatakan oleh Kusumaningsih *et al.*, (2004), bahwa nilai derajat deasetilasi kitosan berkisar antara 70-100%. Hasil nilai derajat deasetilasi dapat dilihat pada Lampiran 19.

4.2.1.4 Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN)



Gambar 4. Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN)

Pada Gambar 7. menunjukkan bahwa kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC), maltodekstrin, dan kitosan dapat berikatan silang membentuk jaringan polimer interpenetrasi atau *Interpenetrating Polymer Network* (IPN). Ketiga bahan polimer tersebut dapat berinterpenetrasi atau saling bertautan satu dengan yang lainnya dan saling mengayam (*entanglement*) membentuk *chain interlocking* (rantai yang saling mengunci). Jaringan polimer interpenetrasi atau *Interpenetrating Polymer Network* (IPN) adalah polimer campuran dimana kombinasi dari dua jenis polimer atau lebih terikat dalam bentuk jaringan tanpa ikatan kovalen antarjaringan atau dengan kata lain dua atau lebih jaringan tersebut akan terjat sedemikian rupa dan tidak dapat dipisahkan, tetapi tidak terikat satu sama lain oleh ikatan kimia (hanya terikat secara fisika) (Banerjee *et al.*, 2010). Bentuk penjeratan polimer dalam struktur jaringan IPN dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 5. Bentuk Penjeratan dalam Struktur Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN) (Ahmed *et al.*, 2017)

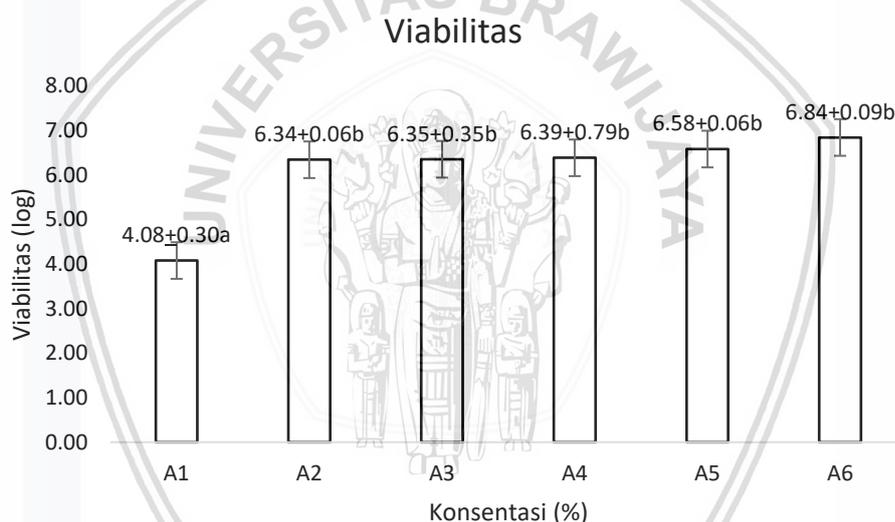
Ikatan silang IPN yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi bahan enkapsulasi. Peningkatan konsentrasi bahan akan meningkatkan jumlah ikatan silang IPN terdekat, selanjutnya jumlah ikatan silang IPN akan mempengaruhi struktur matriks mikroenkapsulasi. Semakin banyak jumlah ikatan silang maka semakin baik kualitas mikroenkapsulasi yang dihasilkan hal ini dikarenakan adanya ikatan silang IPN yang terbentuk di antara jaringan bahan mampu mengurangi rongga-rongga yang tidak berikatan, sehingga mampu menghambat

sineresis dan autohidrolisis ketika menghadapi pH rendah dari lingkungan luar (Setijawati, 2014).

4.2.2 Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi *coating* kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata (F hitung > dari F tabel 5%) dari masing-masing perlakuan, sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 9.

Gambar 6. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

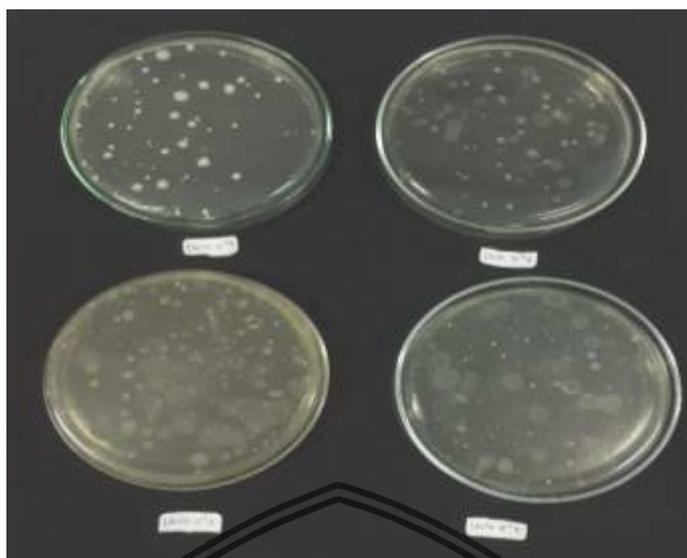


Viabilitas sel yang dilakukan perlakuan *coating* akan lebih besar nilai viabilitasnya dari pada viabilitas sel yang tidak *dicoating*, terbukti pada mikroenkapsulasi yang tidak dilapisi kitosan mendapatkan nilai rata-rata sebesar 4.08 log CFU/g pada perlakuan A1 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 0%, sedangkan mikroenkapsulasi yang dilakukan proses *coating* mendapatkan nilai rata-rata sebesar 6.84 log CFU/g pada perlakuan A6 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25%. Purwandhani (2007) menyatakan bahwa adanya perlakuan *coating* sebagai pelindung akan menghasilkan jumlah sel yang lebih banyak jika dibandingkan dengan mikroenkapsulasi yang tidak dilakukan proses

coating, hal ini disebabkan karena kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) membentuk gel yang kuat dan stabil yang mengakibatkan terjadinya *cross-linked* melalui proses gelasi eksternal. Kandungan ester sulfat pada kappa karaginan pada hasil penelitian didapatkan kandungan sulfat kappa karaginan yang rendah sehingga mempengaruhi kekuatan gel dan viskositas, dengan kadar sulfat yang rendah dapat meningkatkan gelasi pada struktur mikroenkapsulasi.

Semakin tingginya gelasi menurut Wang et al., (2011) maka akan meningkatkan pemadatan dari struktur mikroenkapsulasi serta dapat mengurangi kebocoran sel dan untuk meningkatkan perlindungan terhadap sel didalamnya. Untuk meminimalisir kebocoran sel pada mikroenkapsulasi ditambahkan kitosan sebagai *coating*. Kitosan memiliki gugus amino reaktif dan gugus fungsional hidroksil. Kitosan merupakan salah satu matriks imobilisasi yang paling menjanjikan karena memiliki kemampuan membentuk membran (Irianto dan Muljanah, 2011).

Hal ini juga didukung oleh Zanjani et al., (2014) yang menyatakan bahwa pelapisan kitosan pada mikroenkapsulasi yang sudah terlapisi alginat mampu melindungi sel yang ada di dalam mikroenkapsulasi tersebut. Sel yang terlapisi kitosan akan mampu bertahan sampai pada saluran pencernaan manusia, begitu juga sebaliknya sel yang tidak terlapisi kitosan tidak akan mampu bertahan hingga saluran pencernaan manusia. Hasil uji viabilitas mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 10.

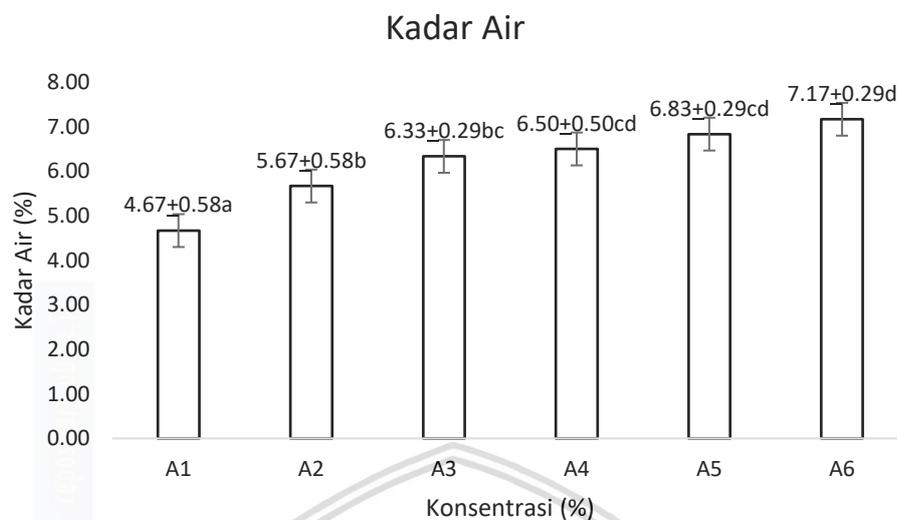


Gambar 7. Hasil Viabilitas Mikroenkapsulasi

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pyar dan Peh (2014), menunjukkan bahwa pada pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* secara aerob dan anaerob tidak mengalami perbedaan, hal ini dikarenakan bakteri tersebut memiliki sifat anaerob fakultatif yaitu dapat tumbuh baik meskipun ada atau tidaknya kandungan oksigen disekitarnya. Oleh karena itu, kedua kondisi aerob dan anaerob dapat memberikan pertumbuhan yang sesuai untuk pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. Morfologi dari bakteri ini berbentuk seperti pasir berwarna putih, hal ini juga dinyatakan oleh Goldstein *et al.*, (2015) dimana bakteri ini jika ditumbuhkan pada media *Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRS) akan berwarna putih.

4.2.3 Kadar Air Mikroenkapsulasi

Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) kadar air dengan konsentrasi *coating* kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata (F hitung $>$ dari F tabel 5%) dari masing-masing perlakuan, sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji nilai kadar air mikroenkapsulasi *coating* kitosan berprobiotik *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 8. Kadar Air Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

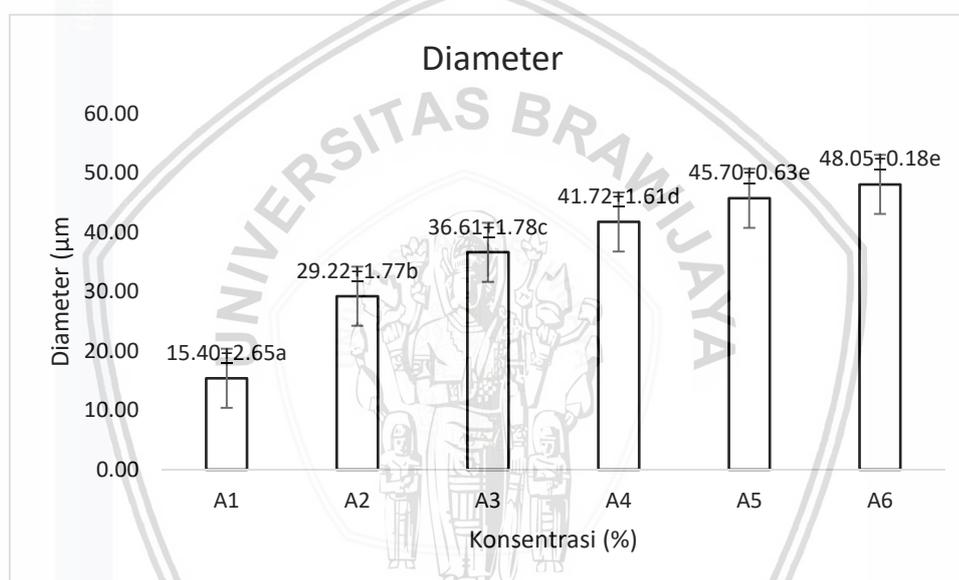
Kadar air mikroenkapsulasi dengan hasil tertinggi diperoleh pada perlakuan A6 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25%, dengan nilai rata-rata sebesar 7,17%, sedangkan hasil terendah diperoleh pada perlakuan A1 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 0%, dengan nilai rata-rata sebesar 4,67%. Kadar air menunjukkan persentase air dalam mikroenkapsulat. Air merupakan salah satu faktor yang penting, karena semakin rendah kadar air dari mikroenkapsulat maka peluang mengalami kerusakan akan semakin tinggi. Penentuan kadar air merupakan analisis paling penting yang dilakukan dalam pengolahan dan pengujian pangan. Kadar air berpengaruh secara langsung terhadap stabilitas dan kualitas pangan (Sundari et al., 2015).

Hal ini dimungkinkan karena rasio konsentrasi *coating* kitosan yang lebih banyak sehingga tingkat gelasi dari kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *coating* kitosan lebih tinggi dari pada konsentrasi lainnya, Tripathi dan Giri, (2014) menyatakan bahwa tingginya kekentalan akan menyebabkan air yang terperangkap dalam struktur mikroenkapsulasi semakin tinggi sehingga akan sulit menguap pada proses pengeringan. Kadar air yang dihasilkan berbanding lurus dengan hasil viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Apabila kadar air yang dihasilkan

terlalu rendah maka dapat menyebabkan terbentuknya rongga pada dinding mikroenkapsulasi sehingga dapat menurunkan laju viabilitas.

4.2.4 Diameter Mikroenkapsulasi

Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) diameter mikroenkapsulasi dengan konsentrasi *coating* kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata (F hitung $>$ dari F tabel 5%) dari masing-masing perlakuan. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji nilai diameter mikroenkapsulasi dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 9. Diameter Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

Diameter mikroenkapsulasi didapatkan rata-rata hasil yang tertinggi pada perlakuan A6 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25%, dengan nilai rata-rata sebesar 48,05 µm, sedangkan hasil terendah diperoleh pada perlakuan A1 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 0%, dengan nilai rata-rata sebesar 15.40 µm. Hasil serupa juga dilaporkan oleh Burgain *et al.*, (2011) enkapsulasi dengan menggunakan teknik emulsi akan menghasilkan ukuran mikroenkapsulasi yang bervariasi, antara 0,1-5000 µm. Bentuk mikroenkapsulasi yang dihasilkan keseluruhan berbentuk bulat, hal serupa juga dilaporkan oleh Fahimdanesh *et al.*, (2012) yang melaporkan bahwa ciri fisik mikroenkapsulasi adalah bulat.

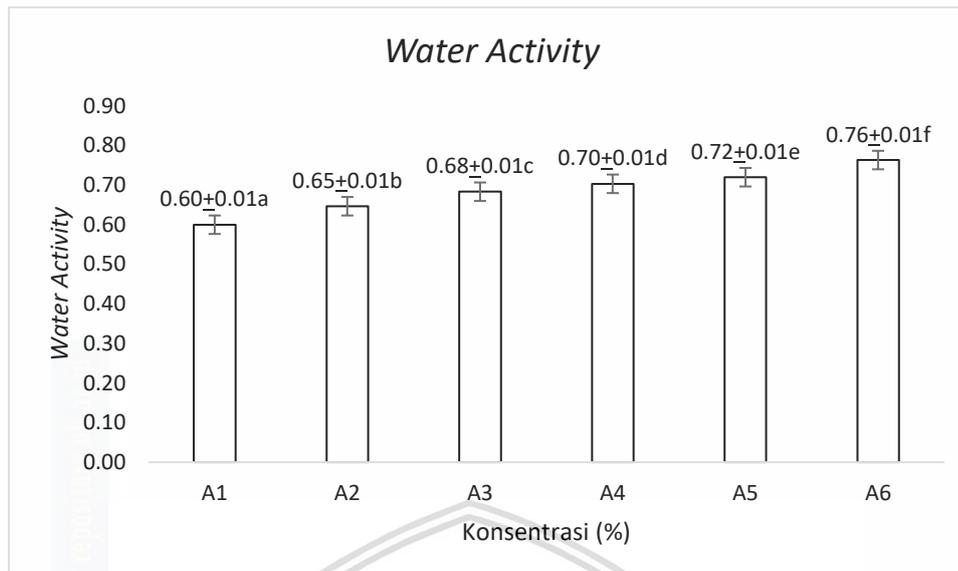
Mikroenkapsulasi yang dihasilkan yang dihasilkan dalam penelitian cenderung tidak seragam. Mikroenkapsulasi yang terbentuk dapat berupa partikel atau bentuk agregat, dan biasanya memiliki rentang ukuran partikel antara 5 – 5000 μm (Sholihat *et al.*, 2016). Ukuran tersebut bermacam-macam tergantung pada metode dan ukuran partikel bahan inti yang digunakan. Hasil uji diameter mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 10. Hasil Uji Diameter Mikroenkapsulasi

4.2.5 Water Activity (a_w) Mikroenkapsulasi

Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) *water activity* (a_w) dengan konsentrasi *coating* kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata (F hitung > dari F tabel 5%) dari masing-masing perlakuan. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji nilai nilai *water activity* (a_w) mikroenkapsulasi dapat dilihat pada Gambar 14.



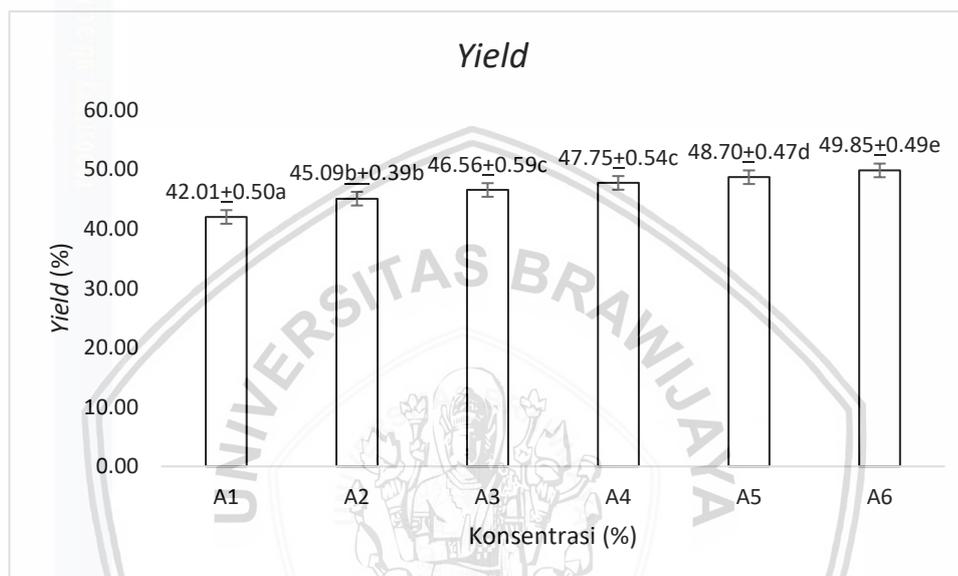
Gambar 11. Water Activity (aw) Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

Nilai *water activity* (aw) didapatkan rata-rata hasil yang tertinggi pada perlakuan A6 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25%, dengan nilai rata-rata sebesar 0.76%, sedangkan hasil terendah diperoleh pada perlakuan A1 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 0%, yaitu dengan nilai rata-rata sebesar 0.60%. Menurut (Supriyadi dan Rujita, 2013), hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah konsentrasi bahan inti, maka semakin rendah nilai *water activity* (aw) yang dihasilkan oleh produk dan begitu pula sebaliknya. Produk dengan bahan inti tinggi, air yang ada lebih susahdiupkan selama proses pengeringan. Sebagai akibatnya kadar air produk dannilai aw menjadi lebih tinggi.

Water activity (aw) untuk mikroenkapsulasi diperoleh dalam kisaran normal untuk produk mikroenkapsulasi dan juga dengan dalam batas yang direkomendasikan untuk memastikan stabilitas mikrobiologi. Secara umum, mikroorganisme bertahan terbaik dengan aktivitas air rendah. Namun, kelebihan pengeringan dapat mengurangi stabilitas dan kelangsungan hidup mikroorganisme (Li *et al.*, 2011).

4.2.6 Yield Mikroenkapsulasi

Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) *yield* mikroenkapsulasi dengan konsentrasi *coating* kitosan yang berbeda memberikan pengaruh nyata (F hitung > dari F tabel 5%) dari masing-masing perlakuan. Sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji nilai nilai *yield* mikroenkapsulasi dapat dilihat pada Gambar 15.

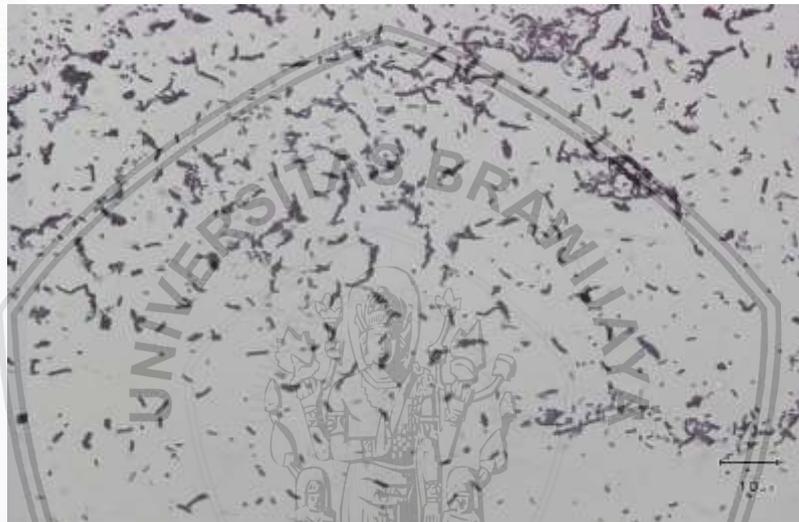


Gambar 12. Yield Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

Pada gambar diatas didapatkan nilai rata-rata tertinggi pada perlakuan A6 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25%, dengan nilai rata-rata sebesar 49,85%, sedangkan hasil terendah diperoleh pada perlakuan A1 yaitu dengan konsentrasi kitosan sebesar 0%, yaitu dengan nilai rata-rata sebesar 42,01%. Rendahnya kenaikan presentase *yield* mikroenkapsulasi ini dimungkinkan karena perbandingan konsentrasi *coating* kitosan yang relatif lebih kecil sehingga menghasilkan nilai perbandingan *yield* antar perlakuan yang relatif kecil. Hasil serupa dinyatakan oleh dari Chavvari *et al.*, (2010), bahwa nilai uji *yield* sebesar 40%, hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu bertahan hidup setelah mengalami proses mikroenkapsulasi dan pengeringan.

4.2.7 Pewarnaan Gram Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Pewarnaan gram yaitu pewarnaan yang menggunakan suatu macam zat warna dengan tujuan untuk melihat bentuk sel bakteri dan mengetahui morfologi. Pewarnaan ini dapat menggunakan pewarnaan basa seperti, kristal violet, iodin, dan safranin. Hasil uji pewarnaan gram bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 13. Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram diperoleh bentuk batang (basil). Bakteri asam laktat berbentuk batang warna koloni yang terbentuk berwarna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat menyerap warna kristal violet secara maksimal, hal ini didukung dengan pernyataan dari (Goldstein *et al.*, 2015) bahwa bakteri *Lactobacillus spp.* merupakan jenis bakteri gram positif. Hal serupa juga diungkapkan oleh (Bull *et al.*, 2013) yang menyatakan bahwa bakteri *Lactobacillus acidophilus* termasuk bakteri gram positif.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tersebut didapatkan kesimpulan bahwa penambahan kitosan sebagai *coating* mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin memberikan pengaruh nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Hasil nilai viabilitas tertinggi terdapat pada perlakuan A6 dengan konsentrasi kitosan sebesar 3,25% yaitu dengan nilai rata-rata sebesar 6,84 log CFU/g. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi kitosan yang semakin tinggi dapat melindungi bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang berada di dalam mikroenkapsulasi dan menyebabkan nilai viabilitasnya menjadi tinggi.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlunya penelitian lebih lanjut tentang penambahan konsentrasi yang lebih besar pada kitosan sebagai *coating* mikroenkapsulasi berprobiotik dengan penyalut kappa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dan maltodekstrin, agar dapat mengetahui berapa konsentrasi yang optimum untuk meningkatkan viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang terenkapsulasi saat melalui saluran pencernaan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S., I. M. D. Swantara, dan I. N. Suartha. 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*. **9**(2): 271-278
- Ahmed, J., Pawel P., dan Santanu B. 2017. Advances in Food Rheology and Its Applications. *Woodhead Publishing*.
- Amora, S.D., dan Sukei. 2013. Ekstraksi Senyawa Antioksidan pada Nugget Rumput Laut Merah *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **2**(2): 23-25
- Ansari F., Hadi P., Vahid J., Javad S., dan Amir A. Effect of Eudragit S100 Nanoparticles and Alginate Chitosan Encapsulation On The Viability Of *Lactobacillus Acidophilus* and *Lactobacillus Rhamnosus*. **7**(144): 1-8
- Astuti, S. M. 2008. Teknik Pengeringan Bawang Merah dengan Cara Perlakuan Suhu dan Tekanan Vakum, **13**(2), 79–82
- Badan Standarisasi Nasional. 2006a. [SNI] Standar Nasional Indonesia. Cara Uji Mikrobiologi Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan. (SNI 01-2332.3-2006), Jakarta.
- _____. 2006b. [SNI] Standar Nasional Indonesia. Cara Uji Kimia Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan. (SNI 01-2354.2-2006), Jakarta.
- Banerjee, S., Gaurav C., Dilipkumar P., Ashoke K.G., Santanu K. 2010. Investigaion on Crosslinking Density for Development of Novel Interpenetrating Polymer Network (IPN) Based Formulation. *J. Sci. Ind, Res.* **69**:777-784
- Bono, A. Anisuzzaman, S. M. dan Ding, O. W. 2014. Effect of Process Conditions on the Gel Viscosity and Gel Strength of Semi-Refined Carrageenan (SRC) Produced from Seaweed (*Kappaphycus alvarezii*). *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*. **26**(1): 3–9.
- Bull, M., Sue P., Julian M., dan Eshwar M. 2013. The Life History of *Lactobacillus acidophilus* as A Probiotic: A Tale of Revisionary Taxonomy, Misidentification and Commercial Success. *FEMS Microbiol Lett.* **349**: 77-87.
- Burgain J, Gaiani C, Linder M, Scher J. 2011. Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications. *J Food Eng.* 104: 467-483
- Chavarri, M., Maranon, I., Ares, R., Ibanez, F. C., Marzo, F., & Villaran, M. del C. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*. **142**(1–2), 185–189.
- Diharmi, A., Dedi F., Nuri A., dan Endang S. H. 2011. Karakteristik Karagenan Hasil Isolasi *Eucheuma spinosum* (Alga merah) dari Perairan Sumenep Madura. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **16**(1): 117-124.
- Fahimdanesh, M. 2012 Effect of microencapsulation plus resistant starch on survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* in mayonnaise

- FAO/WHO, 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1
- Fathmawati, D., M. Renardo P. A., dan Achmad R. 2013. Studi Kinetika Pembentukan Karaginan dari Rumput Laut. *Jurnal Teknik Pomits*. **3**(1): 27-32
- Gaserod, O., Smidsrod, O., & Skjak-Braek, G. 1998. Microcapsules of Alginate-Chitosan I A Quantitative Study of the Interaction Between Alginate and Chitosan. *Biomaterials*, 19, 1815-1825
- Gbassi, G. K. dan T. Vandamme. 2012. Probiotic encapsulation Technology: From Microencapsulation to Release into The Gut. *Journal Pharmaceutics*. 4: 149-163
- Goldstein, E. J. C., K. L. Tyrrell., dan D. M. Citron. 2015. *Lactobacillus* Species: Taxonomix Complexity and Controversial Susceptibilities. Sumppelement Article.
- Hanafi, M., Syahrul A., Efrina D., dan B. Suwandi. 2000. Pemanfaatan Kulit Udang untuk Pembuatan Kitosan dan Glukosamin. **10**(2): 17-21
- Husniati. 2009. Studi Karakterisasi Sifat Fungsi Maltodekstrin dari Pati Singkong. *Jurnal Riset Industri*. **3**(2): 133-138
- Ibrahim, A., Aditya F., dan Fila D. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **1**(2): 159-163
- Irianto, H. E. dan Ijah. M. 2011. Proses dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat. *Squalen*. **6**(1):1-8
- Jafarei, P., dan M. T. Ebrahimi. 2011. *Lactobacillus acidophilus* Cell Structure and Application. *African Journal of Microbiology Research*. **5**(24):4033-4042.
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Current Issues Interest of Microbiology*. **3**(2): 39-48
- Khan, T.A., Kok K.P., Hung S. C. 2002. Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosa: The Influence of Analytical Methods. *J Pharm Pharmaceut Sci*. **5**(3): 205-212
- Kusumaningsih, T., Abu M., dan Usman A. 2004. Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*). *Journal of Natural Product Biochemistry*. **2**(2): 64-68
- Li XY, Chen XG, Sun ZW, Park HJ, Cha D-S. 2011. Preparation of Alginate Chitosan Carboxymethyl Chitosan Complex Microcapsules and Application in *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Carbohydr Polym* 83:14
- Mahara, F. A. 2016. Pengaruh Konestrasi dan Jenis Probiotik Berbeda dalam Pembuatan Mikroenkapsulasi Kappa-Iota Karaginan Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidhopilus* dan *Bifidobacterium bifidum*. 1-93
- Malago Joshua J, Kononkx JG Logar, Marinsek R. 2011. Probiotic Bacteria and Enteric Infection. Cyoptoprotection of Probiotic Bacteria. Springer Dordecht Heidelberg London New york
- Manojlovic, V., Nedovic V.A., Kailasapathy K., Zuidam N.J. 2010 Encapsulation of Probiotics for use in Food Products. In: Zuidam N., Nedovic V. (eds)

Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer, New York, NY

- Mariana, E, dan H. Susanti. 2012. Pengaruh suplementasi tepung terigu terhadap pertumbuhan dan laju pengasaman probiotik *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. **4**(3)
- Mortazavian, A., Razavi, S.H., Ehsani, M.R. and Sohrabvandi, S., 2007. Principle And Methods of Microencapsulation of Probiotic Microorganism. *Iranian J. Biotechnol.* **5**(1):1-18
- Mustapha, S., H. Chandar, Z. Z. Abidin, R. Saghravani dan M. Y. Harun. 2011. Production of Semi-Refined Carrageenan From *Eucheuma cottonii*. *Journal of Scientific and Industrial Research*. **70**: 865–870.
- Namazkar, S., dan W.A. Ahmad. 2013. Spray-Dried Prodigiosin From *Serratia marcescens* As A Colorant. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. **10**(1): 69-76
- Pebrianata, Eko. 2005. Pengaruh Pencampuran Kappa dan Iota Karagenan Terhadap Kekuatan Gel dan Viskositas Karagenan Campuran. 1-63
- Pereira, J. O., Jose S., Maria J. P. M., Ana G., dan Manuela P. 2018. Impact of whey protein coating incorporated with *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* on sliced ham properties. **139**: 125-133
- Pereira, L, Amado, A.M., Critley, A.T., van de Velde, F., and Ribeiro-Calro, P.J.A., 2009, "Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman), Food Hydrocolloids, 17.
- Prajapati, V. D., P. M. Maheriya, G. K. Jani dan H. K. Solanki. 2014. Carrageenan: A Natural Seaweed Polysaccharide and its Applications. *Carbohydrate Polymers*. **105**(1): 97–112.
- Prasetyowati, C. J. A., dan Devy A. 2008. Pembuatan Tepung Karaginan dari Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengendapan. *Jurnal Teknik Kimia*. **15**(2): 27-33
- Purwandhani, Made Suladra, E. S. R. 2007. Stabilitas Thermal Agensi Probiotik *L. acidophilus* SNP 2 Terenkapsulasi Metode Ekstruksi Dan Emulsi. 1–6
- Pyar, H., dan K.K Peh. 2013. Characterization and Identification of *Lactobacillus acidophilus* using Biolog Rapid Identification System. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. **6**(1): 192.
- Radhiyatullah, A., Novita I., M. Hendra, S. Ginting. 2015. Pengaruh Berat Pati Dan Volume Plasticizer Gliserol Terhadap Karakteristik Film Bioplastik Pati Kentang. *Jurnal Teknik Kimia*. **4**(3): 35-39
- Rahmadevi, Erizal Z., Auzal H. 2013. Penggunaan Eudragit L 100 Dalam Formulasi Mikroenkapsulasi Natrium Diklofenak Dengan Teknik Emulsifikasi-Penggunaan Pelarut. *Jurnal Farmasi Andalas*. **1**(1): 24-29
- Rifai, Dewi Nur Rizqiyah. 2010. Isolasi dan Identifikasi Kitin, Kitosan dari Cangkang Hewan Mimi (*Horseshoe Crab*) Menggunakan Spektrofotometri Infra Merah. *Alchemy*. **2**(1): 104-157
- Rizqiati, H., Jenie, B.S.L., Nurhidayat, N., dan Nurwitri, C.C. 2009. Karakteristik Mikroenkapsulasi Probiotik *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi

dengan Susu Skim dan Gum Arab. Bidang Mikrobiologi Puslit Biologi-LIPI. Serpong

- Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn M., E. 2009. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Lexi-Comp: American Pharmaceutical Association, Inc
- Sashiwa, H., Yamamori, N., Ichinose, Y., Sunamoto, J., & Aiba, S. 2003. Chemical Modification of Chitosan, 17a Michael Reaction of Chitosan with Acrylic Acid in Water. *Macromolecular Bioscience*. **3**(5), 231–23
- Setijawati, D., Susinggih W., Aulaniam., dan Imam S. 2012. Pengaruh Caragenan dengan Metode Proses Berbeda (SRC dan RC) sebagai Bahan Pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus* Terhadap Viabilitas dan Struktur Mikroenkapsulasi Secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Pangan*. **3**(1): 1-12.
-
2014. Carrageenan from *Eucheuma sp* and Concentration Difference As Encapsulation Material Toward *Lactobacillus acidophilus* Viability At Simulation GI Tract pH Condition. *J. Basic. Sci. Res.* **4**(6): 261-268.
- Setijawati, Dwi. 2017. Penggunaan *Eucheuma sp* dan Chitosan sebagai Bahan *Edible Film* terhadap Kualitasnya. *Journal of Fisheries and Marinen Science*. **20**(22)
- Sholihat, A., Amila G., dan Gita C. E. D. 2016. Optimasi Kadar Konsentrat Likopen Terenkapsulasi Penyalut Alginat dan Kitosan. *Prosiding Farmasi*. **2**(2): 454-459
- Siska, M dan Rudy S. 2012. Desain Eksperimen Pengaruh Zeolit Terhadap Penurunan Limbah Kadmium (Cd). *Jurnal Ilmiah Teknik Industri*. **11**(2): 173-184
- Sundari, D., Almasyhuri and Lamid, A. 2015. Pengaruh Proses Pemasakan Terhadap Komposisi Zat Gizi Bahan Pangan Sumber Protein. *Media Litbangkes*. **25**(4):235–242
- Supriyadi and Rujita A. S. 2013. Karakteristik Mikroenkapsulasi Minyak Atsiri Lengkuas dengan Maltodekstrin sebagai Enkapsulan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **24** : 201-208.
- Susanto, A., 2009. Uji Korelasi Kadar Air, Kadar Abu, Water activity dan Bahan Organik pada Jagung di Tingkat Petani, Pedagang pengumpul dan Pedagang Besar.Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Hal:835
- Tripathi, M. K., and S. K. Giri. 2014. Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics during Processing and Storage. *Journal of Functional Foods*. **9**(1): 225–41
- Wang, R., Tian, Z. and Chen, L. 2011. A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. *Food Research International*. **44**(9): 2735-2741
- Widyastuti, S. 2010. Sifat Fisik dan Kimiawi Karagenan yang Diekstrak dari Rumput Laut *Eucheuma cottoni* dan *E. spinosum* pada Umur Panen yang Berbeda. *Agroteksos*. **20**(1): 41-50
- Yuliaty, S. T. dan W. H. Susanto. 2015. Pengaruh Lama Pengeringan dan Konsentrasi Maltodekstrin Terhadap Karakteristik Fisik Kimia dan Organoleptik Minuman Instan Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L*). **3**(1): 41-52

Zanjani, M. A., Tarzi, B. G., Sharifan, A., & Mohammadi, N. 2014. Microencapsulation of probiotics by calcium alginate-gelatinized starch with chitosan coating and evaluation of survival in simulated human gastrointestinal condition. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. **13**(3), 843– 852

