

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL *Lactobacillus acidophilus* YANG  
TERENKAPSULASI *REFINE CARRAGEENAN* JENIS *Euchema cottonii*  
DENGAN KONSENTRASI 3% TERHADAP KOLONISASI *Lactobacillus  
acidophilus*, KOLONISASI *Escherichia coli* DAN BERAT BADAN SECARA  
IN VIVO**

**LAPORAN SKRIPSI  
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI HASIL PERIKANAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :  
**DWI NUR INDAHSAARI**  
**NIM. 0710830024**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
MALANG  
2011**

PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL *Lactobacillus acidophilus* YANG  
TERENKAPSULASI *REFINE CARRAGEENAN* JENIS *Euchema cottonii*  
DENGAN KONSENTRASI 3% TERHADAP KOLONISASI *Lactobacillus*  
*acidophilus*, KOLONISASI *Escherichia coli* DAN BERAT BADAN SECARA  
IN VIVO

Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
Sarjana Perikanan Pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya Malang

Oleh :  
**DWI NUR INDAHSARI**  
NIM. 0710830024

Menyetujui,

Dosen Penguji I,

Dosen Pembimbing I,

Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MSi  
NIP. 19640726 198903 2 004

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

Tanggal :

Tanggal :

Dosen Penguji II,

Dosen Pembimbing II,

Prof. Ir. Sukoso, M.Sc. Ph.D  
NIP. 19640919 198903 1 002

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

Tanggal :

Tanggal :

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP,

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

## RINGKASAN

**DWI NUR INDAHSAARI.** Skripsi Tentang Pengaruh Pemberian Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* Yang Terenkapsulasi *Refine Carrageenan* Jenis *Euchema Cottoni* Terhadap Kolonisasi *Lactobacillus acidophilus* dan *Escherichia coli* Ir. Dwi Setijawati, M. Kes. dan Ir. Muhamad Firdaus, MP.

*Lactobacillus acidophilus* adalah satu dari beberapa bakteri probiotik yang ditemukan dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. Ketika diberikan dalam jumlah yang cukup sebagai probiotik, *L. acidophilus* dipercaya mampu menciptakan keseimbangan yang sehat antara mikroba menguntungkan dan yang berpotensi merugikan di dalam usus. Agar mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan dan memberikan efek yang menguntungkan, maka diperlukan suatu lapisan yang mampu melindungi bakteri tersebut. Perlindungan dapat dilakukan dengan cara teknik mikroenkapsulasi. Bahan pengenkapsulat dapat menggunakan kekayaan polimer alami yang dapat diaplikasikan seperti : *carrageenan*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *Refine Carrageenan* (RC) jenis *Euchema cottoni* sebagai pengenkapsulat terhadap berat badan, kolonisasi *L. acidophilus*, dan *E. coli* secara *in vivo*.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - November 2010 di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan dilanjutkan dengan metode deskriptif. Penelitian dilakukan menggunakan hewan uji mencit yang berjenis kelamin jantan untuk mengetahui pengaruh mikrokapsul probiotik dari RC (*E. cottoni*) terhadap Berat badan, kolonisasi *L. acidophilus*, dan *E. coli* secara *in vivo*. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kali ulangan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program SPSS 15. Data pertambahan berat badan, uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* di analisa menggunakan uji F.

Rerata kolonisasi *L. acidophilus* tertinggi diperoleh sebesar 6,266 log cfu/ml pada perlakuan dengan pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi *Refine Carrageenan* jenis *E. cottoni* (B) dan terendah sebesar 3,637 log cfu/ml pada perlakuan kontrol (A), dimana mencit tidak diberi perlakuan apapun. Rerata kolonisasi *E. coli* tertinggi diperoleh sebesar 5,793 log cfu/ml pada perlakuan kontrol (A) dan terendah diperoleh sebesar 3,639 log cfu/ml pada perlakuan dengan pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni*. Pertambahan berat badan mencit tertinggi didapatkan pada perlakuan dengan pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* sebesar 43,92%, dan terendah didapatkan pada perlakuan kontrol sebesar 31,42%. Jadi, kesimpulannya adalah perlakuan dengan pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* (B) berpengaruh terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan pertambahan berat badan mencit.

Saran untuk penelitian ini adalah Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pengaplikasian secara nyata untuk produk-produk pangan ataupun kepada manusia.

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penulisan laporan skripsi ini dengan judul: Pengaruh Pemberian Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* Yang Terenkapsulasi *Refine Carrageenan* Jenis *Euchema cottoni* Dengan Konsentrasi 3% Terhadap Kolonisasi *Lactobacillus acidophilus*, Kolonisasi *Escherichia coli* Dan Berat badan Secara *In Vivo*. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan ini tidak akan tersusun tanpa bantuan dari berbagai pihak, rasa hormat dan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku dosen pembimbing I dan Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, nasehat, waktu dan motivasi hingga laporan ini selesai.
2. Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih selaku dosen penguji I dan Prof. Ir. Sukoso M.Sc. Ph.D selaku dosen penguji II, terimakasih atas waktu dan saran yang diberikan untuk skripsi ini.
3. Program penelitian fundamental tahun 2010 selaku penyandang dana pada penelitian ini.
4. Orang Tua yang selalu memberikan dukungan dan doanya serta saudara-saudaraku yang memberikan semangat.
5. Teman tim yang telah membantu dalam kegiatan penelitian dan sumbangan pemikiran dalam penyusunan skripsi ini dan teman-teman THP'07 yang telah memberikan masukan dan semangat.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, sehingga adanya kritik dan saran dari pembaca nantinya kami harapkan dapat menambah kesempurnaan skripsi ini. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 11 Agustus 2011

**Penulis**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat .....	3
1.5 Hipotesa .....	4
1.6 Tempat dan Waktu .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 <i>Euchema cottoni</i> .....	5
2.2 <i>Refine Carrageenan</i> (RC) .....	6
2.2.1 Proses pembuatan Karaginan .....	9
2.2.2 Sifat – sifat Kappa Karaginan .....	9
2.2.3 Mekanisme Pembentukan Gel .....	10
2.3 Probiotik .....	11
2.3.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	12
2.3.1 Mekanisme Kerja Probiotik Secara <i>in vivo</i> Pada Mencit .....	14
2.4 Mikroenkapsulasi .....	15
2.4.1 Bahan Inti .....	17
2.4.2 Bahan Penyalut .....	18
2.4.3 Teknik Mikroenkapsulasi .....	19
2.4.4 Teknik Enkapsulasi Emulsi .....	21
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>23</b>
3.1 Materi Penelitian .....	23
3.1.1 Alat .....	23
3.1.2 Bahan .....	23
3.2 Metode Penelitian .....	24
3.2.1 Variabel Penelitian .....	24
3.2.2 Rancangan Percobaan .....	25
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	26
3.4 Prosedur Kerja .....	26
<b>4. HASIL dan PEMBAHASAN</b> .....	<b>31</b>
4.1 Kolonisasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	31
4.2 Kolonisasi <i>Escherichia coli</i> .....	35
4.3 Pertambahan Berat Badan Mencit .....	40

**5. KESIMPULAN dan SARAN ..... 43**  
5.1 Kesimpulan ..... 43  
5.2 Saran ..... 43

**DAFTAR PUSTAKA ..... 44**  
**LAMPIRAN ..... 51**



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi <i>Euchema cottoni</i> .....	5
2. Struktur Kimia Kappa Karaginan .....	8
3. Mekanisme Pembentukan Gel Karaginan .....	11
4. <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	13
5. Mekanisme Penempelan Bakteri Pada Usus .....	14
6. Bentuk – Bentuk Mikrokapsul .....	16
7. Morfologi Mikrokapsul .....	16
8. Proses <i>Double Emulsion</i> .....	22
9. Prosedur Pembuatan <i>Refine Carrageenan</i> .....	27
10. Mikroenkapsulasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	28
11. Skema Kerja Penelitian Secara <i>In vivo</i> .....	29
12. Uji kolonisasi <i>L. acidophilus</i> dan <i>E. coli</i> .....	30
13. Pengaruh Mikroenkapsulasi <i>L. acidophilus</i> dengan <i>RC E. cottoni</i> Terhadap Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> .....	31
14. Pengaruh Mikroenkapsulasi <i>L. acidophilus</i> dengan <i>RC E. cottoni</i> Terhadap Kolonisasi <i>E. coli</i> .....	35
15. Pertambahan Berat Badan Mencit .....	40



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan nutrisi Rumut Laut <i>Euchema cottoni</i> .....	6
2. Daya Kelarutan dan Stabilitas pH Kappa Karaginan.....	10
3. Sifat- Sifat Umun Karaginan.....	10
4. Teknik Enkapsulasi .....	20
5. Teknik Dan Proses Untuk Enkapsulai Mikroorganisme Probiotik.....	20
6. Rancangan Penelitian Pengaruh Pemberian Mikrokapsul Probiotik Dari RC ( <i>E. cottoni</i> ) Terhadap Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> , Kolonisasi <i>E. coli</i> Dan Berat Badan secara <i>in vivo</i> .....	25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Hasil Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> .....	51
2. Data Hasil Kolonisasi <i>E. coli</i> .....	52
3. Pertambahan Berat Badan Mencit .....	53
4. Uji Normalitas Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> .....	54
5. Uji Normalitas Kolonisasi <i>E. coli</i> .....	55
6. Uji Normalitas Berat Badan .....	56
7. Data Hasil Perhitungan Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> .....	57
8. Data Hasil Perhitungan Kolonisasi <i>E. coli</i> .....	59
9. Data Hasil Perhitungan Berat Badan .....	61
10. Proses Pembuatan <i>Refine Carrageenan</i> .....	63
11. Proses Mikroenkapsulasi <i>L. acidophilus</i> .....	64
12. Proses Penelitian secara <i>in vivo</i> .....	66
13. Hasil Pengujian Kolonisasi <i>L. acidophilus</i> Pada Media MRSA.....	67
14. Hasil Pengujian Kolonisasi <i>E. coli</i> Pada Media VRBA.....	69



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang dikonsumsi oleh manusia atau hewan dalam jumlah yang cukup, mampu hidup dan melewati kondisi lambung dan saluran pencernaan serta bermanfaat dengan jalan meningkatkan kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO, 2002). Manfaat kesehatan yang menguntungkan dari probiotik antara lain: mengurangi resiko kanker kolon, mengurangi gangguan intestin – diare, menurunkan kolesterol dalam darah, dan menurunkan alergi terhadap susu (Anonymous, 2010a). Probiotik juga berfungsi untuk menyempurnakan proses pencernaan manusia dengan cara melindungi saluran pencernaan dari serangan bakteri patogen (Agostoni *et al.*, 2004).

*Lactobacillus acidophilus* adalah satu dari beberapa bakteri probiotik yang ditemukan dalam saluran pencernaan hewan dan manusia. *L. acidophilus* menghasilkan senyawa antimikroba yang bersifat bakterisidal yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. *L. acidophilus* menghasilkan asam laktat sebagai hasil metabolismenya yang bersifat antimikroba terhadap *E. coli* (Reque *et al.*, 2000). Disamping itu, *L. acidophilus* telah dianggap dominan di antara *Lactobacilli* lainnya di dalam saluran testinal manusia. Kemampuan *Lactobacillus acidophilus* untuk bertahan hidup dan mempertahankan diri didalam saluran gastrointestinal yang merupakan salah satu karakteristik utama yang diinginkan sebagai aktivitas probiotik (Kos *et al.*, 2000).

*L. acidophilus* diharapkan mampu bertahan hidup di dalam saluran pencernaan bagian atas sehingga mereka mencapai kolon dalam jumlah besar untuk membunuh bakteri patogen, maka diperlukan suatu lapisan mikro yang mampu melindungi bakteri tersebut. Perlindungan bakteri probiotik dapat dilakukan dengan cara mikroenkapsulasi. Mikroenkapsulasi adalah teknik

penyalutan bahan inti yang berbentuk padatan, cairan maupun gas dengan suatu bahan penyalut (Boh, 2007). Barrow dan Shahidi (2008) menjelaskan bahwa teknik emulsi telah digunakan untuk mengenkapsul sel-sel sehat di dalam *micro* (0,1-1 mm) dan *macrospheres* (1-3 mm) dari polimer alam seperti agar-agar, agarosa, *carrageenan*, dan *gellan gum*.

*Carrageenan* merupakan getah rumput laut yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut merah dengan menggunakan air panas (*hot water*) atau larutan alkali pada temperatur tinggi (Glicksman 1983). *Carrageenan* merupakan suatu senyawa hidrokolid yang terdiri atas ester kalium, natrium, magnesium dan kalium sulfat dengan galaktosa 3,6 anhidrogalaktosa kopolimer. *Carrageenan* adalah suatu bentuk polisakarida linear dengan berat molekul di atas 100 kDa (Winarno 1996 ; WHO 1999). *Carrageenan* tersusun dari perulangan unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidro galaktosa (3,6-AG). Keduanya baik yang berikatan dengan sulfat atau tidak, dihubungkan dengan ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,3 dan  $\beta$ -1,4 secara bergantian (FMC Corp, 1977).

*Carrageenan* sebagai mikroenkapsulat sudah diteliti sebelumnya. Penelitian Fitdiyanto (2009) menggunakan RC jenis *E. cottoni* konsentrasi 1% sebagai bahan pengenkapsulat, menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* sebesar 3,2118 - 3,0655 log cfu/ml pada pH 2 dan 7 secara *in vitro*. Penelitian Kantiniwangi (2010) menggunakan RC jenis *E. cottoni* konsentrasi 3% sebagai bahan pengenkapsulat, menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* yang lebih baik atau meningkat sebesar 6,18962 sampai 5,15027 log cfu/ml atau  $10^6$ - $10^5$  pada pH 2 dan 7 yang dilakukan secara *in vitro*. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan RC jenis *E. cottoni* sebagai pengenkapsulat terhadap kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* yang dilakukan secara *in vivo*.

## 1.2 Identifikasi Masalah

Probiotik yang mencapai saluran pencernaan sebesar  $10^6$ - $10^7$  Colony-Forming Unit (CFU)/mL akan memberikan efek yang menguntungkan (Lo, 2007). Salah satu cara untuk mempertahankan kondisi tersebut yaitu dengan mikroenkapsulasi menggunakan bahan pengenkapsulat berupa *carrageenan* dari *Euchema cottoni*. Fitdiyanto (2009) dalam penelitiannya menggunakan RC jenis *E. cottoni* konsentrasi 1% sebagai bahan pengenkapsulat, menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* sebesar 3,2118 - 3,0655 log cfu/ml pada pH 2 dan 7 secara *in vitro*. Penelitian Kantiniwangi (2010) menggunakan RC jenis *E. cottoni* konsentrasi 3% sebagai bahan pengenkapsulat, menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* yang lebih baik atau meningkat sebesar 6,18962 sampai 5,15027 log cfu/ml atau  $10^5$ - $10^6$  pada pH 2 dan 7 yang dilakukan secara *in vitro*. Untuk itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan RC jenis *E. cottoni* sebagai pengenkapsulat terhadap kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* yang dilakukan secara *in vivo*.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh *Refine Carrageenan* (RC) jenis *E. cottoni* sebagai pengenkapsulat terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan secara *in vivo*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang teknologi mikroenkapsulasi *Refine Carrageenan* (RC) jenis *E. cottoni* sebagai bahan pengenkapsulat terhadap kolonisasi *L. acidophilus* dan kolonisasi *E.coli* dan berat badan yang dilakukan secara *in vivo*.

### 1.5 Hipotesis

Diduga *Refine Carrageenan* (RC) jenis *E. cottoni* sebagai pengenkapsulat berpengaruh terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan yang dilakukan secara *in vivo*.

### 1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - November 2010 di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Eucheuma cottonii*

Rumput laut merupakan tumbuhan laut jenis alga. Berbeda dengan tanaman sempurna pada umumnya, rumput laut tidak memiliki akar, batang dan daun (Anonymous, 2010c). Di Indonesia, jenis rumput laut yang betul-betul mendapat perhatian serta pengelolaan yang sungguh-sungguh adalah jenis ganggang merah seperti *Eucheuma sp*, *Gelidium sp*, *Gracilaria sp*, dan *Hypnea sp*. Salah satu spesies *Eucheuma* yang banyak dijumpai adalah *E. cottonii* (Atmadja *et al.*, 2006). Klasifikasi rumput laut *E. cottonii* adalah sebagai berikut:

Phylum	: Rhodophyta
Class	: Floridaephycidae
Sub class	: Bangiophycidae
Ordo	: Gigartinales
Family	: Solieriaceae
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Spesies	: <i>Eucheuma cottonii</i>

Morfologi *E. cottonii* adalah mempunyai thallus silindris, permukaan licin. Keadaan warna tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, hijau kuning, abu-abu atau merah. Penampakan thalli bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada thallus runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari thallus. Percabangan ke berbagai arah dengan batang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal) (Wulandari, 2010). Secara morfologi *E. cottonii* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Euchemma cottonii* (Anonymous, 2010)

Dalam habitatnya, rumput laut *E. cottoni* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis. Oleh karena itu, rumput laut jenis ini hanya mungkin hidup pada lapisan fotik, yaitu kedalaman sejauh sinar matahari masih mampu mencapainya. *E. cottoni* tumbuh di rataan terumbu karang dangkal sampai kedalaman 6 m, melekat di batu karang, cangkang kerang, dan benda keras lainnya (Anggadiredja *et al.*, 2006).

Rumput laut merah memiliki beberapa manfaat di bidang pangan, industri, dan kesehatan. Manfaat rumput laut merah di bidang pangan adalah sebagai bahan penstabil, bahan tambahan makanan, dan bahan pengemulsi. Di bidang industri, adalah sebagai bahan tambahan untuk tekstil, kertas, keramik, fotografi. Sedangkan dalam bidang kesehatan, adalah sebagai *emulsifier*, *stabilizer*, *suspended agent* dalam pembuatan tablet dan kapsul (Nindyaning, 2007).

Kandungan nutrisi dari rumput laut *E. cottoni* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Kandungan Nutrisi Rumput Laut *Eucheuma cottonii***

Komponen	Komposisi
Kadar air (%)	13,90
Protein (%)	2,69
Lemak (%)	0,37
Karbohidrat (%)	65
Serat kasar (%)	0,95
Abu (%)	17,09
Mineral: Ca (ppm)	29,92
Fe (ppm)	0,701
Cu (ppm)	0,121
Pb (ppm)	0,04
Thiamin (mg/100g)	0,14
Riboflavin (mg/100g)	2,70
Vitamin C (mg/100g)	12,00

Sumber: Markati (2007)

## 2.2 Refine Carrageenan (RC)

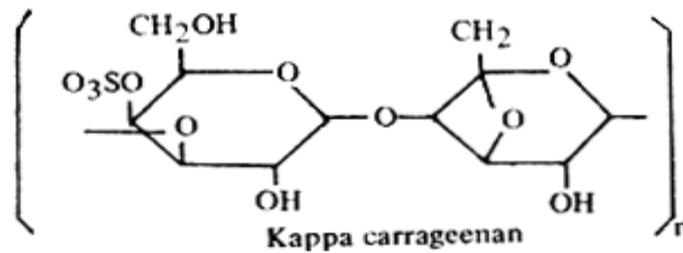
*Carrageenan* merupakan getah rumput laut yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut merah dengan menggunakan air panas (*hot water*) atau

larutan alkali pada suhu tinggi (Glicksman, 1983). Sebagian besar karaginan adalah senyawa hidrokoloid yang mengandung ester, kalium, natrium, magnesium, dan kalium sulfat dengan galaktosa dan 3,6 anhidro galaktosa kopolimer. Karaginan tersusun dari perulangan unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidro galaktosa (3,6-AG). Keduanya baik yang berikatan dengan sulfat atau tidak, dihubungkan dengan ikatan glikosidik  $\alpha$ -1,3 dan  $\beta$ -1,4 secara bergantian (FMC Corp, 1997).

*Carrageenan* mempunyai kemampuan yang unik, yaitu dapat membentuk berbagai variasi gel pada suhu ruang (Anggraini, 2004). Karaginan sangat penting peranannya sebagai *stabilizer* (penstabil), *thickener* (bahan pengentalan), pembentuk gel, pengemulsi dan lain-lain. Sifat ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, obat-obatan, kosmetik, tekstil, cat, pasta gigi dan industri lainnya (Winarno, 1996).

Jenis produk karaginan ada tiga macam, yaitu *iota* karaginan dikenal dengan tipe *E. spinosum*, *kappa* karaginan dikenal dengan tipe *E. cottonii*, dan *lambda* karaginan. Ketiga macam karaginan ini dibedakan karena sifat jeli yang terbentuk. *Kappa* karaginan jeli yang disilkan bersifat kaku dan getas serta keras (Towle, 1973).

Kappa karaginan dihasilkan dari rumput laut jenis *E. cottoni*. Struktur kappa karaginan tersusun dari (1,3)-D-galaktosa-4- sulfat dan (1,4)-3,6-anhidro-D-galaktosa. Karagenan juga mengandung D-galaktosa-6-sulfat ester dan 3,6-anhidro-D-galaktosa-2-sulfat ester. Adanya gugusan 6-sulfat, dapat menurunkan daya gelasi dari karaginan, tetapi dengan pemberian alkali mampu menyebabkan terjadinya transeliminasi gugusan 6-sulfat, yang menghasilkan 3,6-anhidro-D-galaktosa. Dengan demikian derajat keseragaman molekul meningkat dan daya gelasinya juga bertambah (Winarno, 1996). Struktur kimia kappa karaginan dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2. Struktur kimia kappa carrageenan**

*Carrageenan* mempunyai kemampuan yang unik, yaitu dapat membentuk berbagai variasi gel pada suhu ruang. Larutan karaginan dapat mengentalkan dan menstabilkan partikel-partikel sebaik pendispersian koloid dan emulsi air atau minyak (Anggraini, 2004). Pada industri makanan, karaginan digunakan sebagai *stabilizer* (penstabil), *thickener* (bahan pengental), *gelling agent*, zat tambahan (*additive*) dalam proses pengolahan coklat, susu, puding, susu instant, dan makanan kaleng. Pada industri farmasi, karaginan digunakan sebagai bahan pengental (*suspensi*), emulsi dan *stabilizer* dalam proses pembuatan pasta gigi, obat-obatan, minyak mineral, dan lain-lain. Selain itu, juga digunakan dalam industri tekstil, cat dan keramik (Winarno, 1996).

### 2.2.1 Proses Pembuatan Carrageenan

Proses produksi *carrageenan* pada dasarnya terdiri atas proses penyiapan bahan baku, ekstraksi *carrageenan* dengan menggunakan bahan pengekstrak, pemurnian, pengeringan dan penepungan. Penyiapan bahan baku meliputi proses pencucian rumput laut untuk menghilangkan pasir, garam mineral, dan benda asing yang masih melekat pada rumput laut. Ekstraksi karaginan dilakukan dengan menggunakan air panas atau larutan alkali panas (Food Chemical Codex, 1981).

Suasana alkalis dapat diperoleh dengan menambahkan larutan basa misalnya larutan NaOH, Ca(OH)<sub>2</sub>, atau KOH sehingga pH larutan mencapai 8-10. Volume air yang digunakan dalam ekstraksi sebanyak 30 - 40 kali dari berat rumput laut. Ekstraksi biasanya mendekati suhu didih yaitu sekitar 90 – 95 °C selama satu sampai beberapa jam. Penggunaan alkali mempunyai dua fungsi, yaitu membantu ekstraksi polisakarida menjadi lebih sempurna dan mempercepat eliminasi 6-sulfat dari unit monomer menjadi 3,6-anhidro-D-galaktosa sehingga dapat meningkatkan kekuatan gel dan reaktivitas produk terhadap protein (Towle, 1973).

Pemisahan *carrageenan* dari bahan pengeksrak dilakukan dengan cara penyaringan dan pengendapan. Penyaringan ekstrak karaginan umumnya masih menggunakan penyaringan konvensional yaitu kain saring dan *filter press*, dalam keadaan panas yang dimaksudkan untuk menghindari pembentukan gel (Chapman dan Chapman, 1980). Pengendapan karaginan dapat dilakukan antara lain dengan metode *gel press*, *KCl freezing*, *KCl press*, atau pengendapan dengan alkohol (Yunizal *et al.*, 2000). Pengeringan karaginan basah dapat dilakukan dengan oven atau penjemuran (Gliksman, 1983). Karaginan kering tersebut kemudian ditepungkan, diayak, distandardisasi dan dicampur (Guiseley *et al.*, 1980).

### 2.2.2 Sifat – sifat kappa *carrageenan*

Sifat-sifat dari kappa *carrageenan* adalah dalam air dingin hanya garam natriumnya saja yang larut, kappa karaginan larut air pada temperatur 70°C ke atas, larut dalam susu panas tetapi tidak larut dalam susu dingin, kappa karaginan dapat membentuk gel dengan ion Kalium, stabil pada pH netral dan alkali tetapi pada pH asam akan terhidrolisa (Istini *et al.*, 2008). Daya kelarutan dan stabilitas pH kappa *carrageenan* pada berbagai media pelarut dapat dilihat

pada Tabel 2.

**Tabel 2. Daya Kelarutan dan Stabilitas pH Kappa Carrageenan**

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

Sumber: Glicksman (1983)

Selain itu ada juga sifat-sifat umum *carrageenan* antara lain seperti pada

Tabel 3 berikut ini:

**Tabel 3. Sifat-sifat Umum Carrageenan**

Sifat umum	Spesifikasi
Melting point	50 – 70°C
Gelling point	30 – 50°C
Viskositas (air; 1,5% sol pada 75°C)	30 -300 cps
Gel strength (air; 1,5% sol; 0,2 KCl; 20 °C)	500 – 1200 g/cm <sup>2</sup>
(air; 1,5% sol; 20 °C)	100 - 350 g/cm <sup>2</sup>
(susu; 0,5% sol; 20 °C)	500 – 2000 g/cm <sup>2</sup>
Kadar air	Maks 18%
Kadar abu	Maks 15%

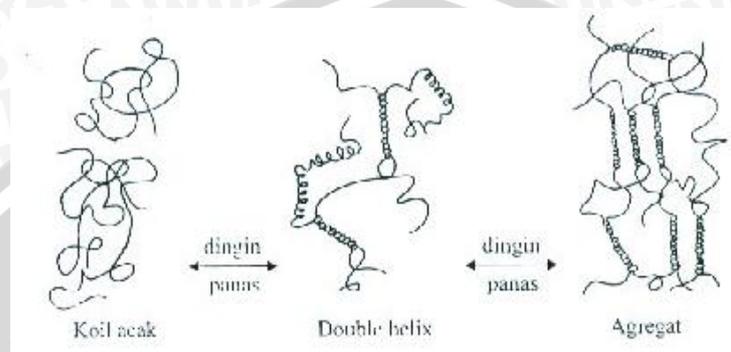
Sumber : Porto (2003)

### 2.2.3 Mekanisme pembentukan gel

*Kappa* karaginan merupakan fraksi yang mampu membentuk gel dalam air dan bersifat *reversible* yaitu meleleh jika dipanaskan dan membentuk gel kembali jika didinginkan. Proses pemanasan dengan suhu yang lebih tinggi dari suhu pembentukan gel akan mengakibatkan polimer karaginan dalam larutan menjadi *random coil* (acak). Bila suhu diturunkan, maka polimer akan membentuk struktur *double helix* (pilinan ganda) dan apabila penurunan

suhu terus dilanjutkan polimer-polimer ini akan terikat silang secara kuat dan dengan makin bertambahnya bentuk *heliks* akan terbentuk agregat yang bertanggung jawab terhadap terbentuknya gel yang kuat (Glicksman, 1969).

Mekanisme pembentukan gel karaginan dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Mekanisme pembentukan gel carrageenan**

Kemampuan pembentukan gel pada *kappa carrageenan* karaginan terjadi pada saat larutan panas yang dibiarkan menjadi dingin karena mengandung gugus 3,6-anhidrogalaktosa. Adanya perbedaan jumlah, tipe dan posisi gugus sulfat akan mempengaruhi proses pembentukan gel. *Kappa* karaginan sensitif terhadap ion kalium (Glicksman, 1983).

### 2.3 Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang secara alami hidup di saluran pencernaan dan vagina (Tarigan, 2009). Probiotik dikenal juga dengan sel mikrobia hidup atau komponen sel mikrobia yang mempunyai efek menguntungkan bagi kesehatan tubuh manusia (Salminen *et al.*, 1998). Sebagian besar probiotik dikelompokkan sebagai mikroorganisme yang memproduksi asam laktat, secara umum dikonsumsi sebagai yoghurt (Subijanto, 2005).

Jenis bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik adalah *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*. Karakteristik pemilihan atau kriteria bahwa bakteri itu termasuk probiotik adalah: 1) berasal dari manusia, 2) Tahan terhadap asam dan asam empedu, 3) Melekat pada sel usus manusia, 4) melakukan kolonisasi, 5) antagonisme terhadap bakteri patogen, 6) menghasilkan senyawa antimikroba, 7) dapat memperbaiki imunitas, dan 8) secara klinis terbukti menyehatkan (Wardhanu, 2009).

Probiotik juga memiliki manfaat bagi kesehatan antara lain: 1) melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogen, 2) mengurangi resiko kanker kolon, 3) mengurangi gangguan in testin – diare, 4) menurunkan kolesterol dalam darah, dan 5) menurunkan alergi terhadap susu (Anonymous, 2010a). Probiotik yang terdapat dalam saluran pencernaan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan mencegah kolonisasinya di dinding usus halus (Abun, 2008).

Prinsip kerja dari probiotik adalah bakteri-bakteri probiotik (*Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*) bekerja secara anaerob menghasilkan asam laktat mengakibatkan turunnya pH saluran pencernaan yang menghalangi perkembangan dan pertumbuhan bakteri-bakteri patogen (Samadi, 2008).

### 2.3.1 *Lactobacillus acidophilus*

*L. acidophilus* adalah satu dari beberapa bakteri probiotik dari genus *Lactobacillus*, sebagian besar dari kelompok bakteri asam laktat, dinamakan demikian karena dapat memfermentasi gula menjadi asam laktat. *L.acidophilus* tumbuh pada pH rendah (dibawah pH 5) dan suhu optimum 30-40°C. Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Pada manusia, bakteri ini dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan (Anonymous, 2010b).

*L. acidophilus* dipercaya mampu menciptakan keseimbangan yang sehat antara mikroba menguntungkan dan yang berpotensi merugikan di dalam usus ketika diberikan dalam jumlah yang cukup sebagai probiotik. Potensi probiotik ini telah menunjukkan kemampuannya tahan pada proses pencernaan dalam saluran pencernaan dan resistan pada empedu. Lebih jauh lagi, penelitian *in vivo* menunjukkan bahwa *Lactobacillus* mampu menurunkan tingkat kolesterol (Yulinery *et al.*, 2006). *L. acidophilus* menghasilkan senyawa antimikroba yang bersifat bakterisidal yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* (Reque *et al.*, 2000)

Manfaat *L. acidophilus* sebagai probiotik yaitu membantu dalam pengobatan sembelit kronis, menekan pertumbuhan berlebih dari organisme yang merugikan dalam saluran, mengurangi gejala sindrom iritasi usus besar, meningkatkan respon kekebalan, membantu menurunkan kolesterol, dan meningkatkan penyerapan laktosa pencernaan pada orang yang tidak toleran laktosa (University of Maryland, Medical Center, 2009).

Bentuk *L. acidophilus* dapat dilihat pada gambar 3 dan klasifikasi *L. acidophilus* Anonymous (2010b) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Species	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>

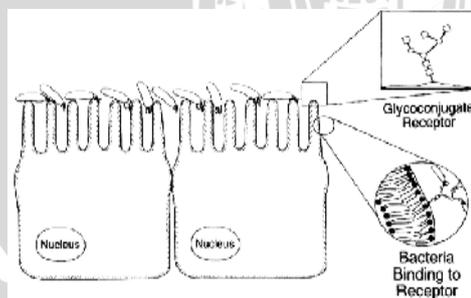


**Gambar 4.** *Lactobacillus acidophilus* (Anonymous, 2010)

### 2.3.2 Mekanisme kerja probiotik secara *in vivo* pada mencit

Mekanisme kerja probiotik adalah melekat / menempel dan berkolonisasi pada saluran pencernaan, berkompetisi terhadap makanan dan memproduksi zat anti mikrobal serta meningkatkan sistem kekebalan sel inang (Anonymous, 2011a). Kemampuan bakteri asam laktat menempel dan berkolonisasi di saluran cerna merupakan faktor penting yang berkontribusi pada kelangsungan hidup bakteri asam laktat sehingga membantu untuk menimbulkan efek positif bagi kesehatan (Subijanto, 2005). Mekanisme probiotik ini dalam usus adalah dengan mengeliminasi mikroba yang tidak diharapkan atau bakteri patogen (Abun, 2008).

Hasil riset membuktikan, bahwa bakteri probiotik bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi. Bakteri ini tahan terhadap lisozim, asam lambung, dan asam ampedu sehingga mampu mencapai usus dalam keadaan hidup. Bakteri probiotik mampu melekat pada usus dan memproduksi zat metabolit yang berperan dalam menjaga dan mempertahankan probiotik. Kondisi seimbang probiotik dalam usus memberikan aktivitas menguntungkan dan menghasilkan efek positif bagi kesehatan (Yukuchi *et al.*, 1992). Mekanisme penempelan bakteri probiotik pada usus dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5. Mekanisme Penempelan Bakteri Probiotik pada Usus**  
Sumber: Walker, 2008

Bakteri probiotik supaya dapat berkolonisasi pada saluran pencernaan mencit sebagai hewan model, maka pertama kali harus melekat pada glikokonjugat yang ada pada membran mikrovili. Glikokonjugat merupakan

terminal gula pada sisi rantai oligosakarida yang terletak pada membran mikrovili. Glikokonjugat ini dapat berupa glikoprotein atau glikolipid. Bakteri probiotik dapat melakukan pelekatan pada permukaan usus untuk meningkatkan pertahanan saluran pencernaan inang (Walker, 2008).

#### 2.4 Mikroenkapsulasi

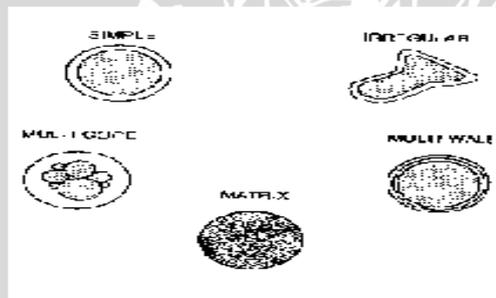
Mikroenkapsulasi didefinisikan sebagai teknik pengemasan bahan padat, cair ataupun gas dalam ukuran mikro, yang dikemas dalam kapsul yang bisa melepaskan isi pada kondisi spesifik yang terkontrol (Anal and Singh, 2007). Sedangkan menurut Paramita (2010), Mikroenkapsulasi adalah proses fisik dimana bahan aktif (bahan inti), seperti partikel padatan, tetesan air ataupun gas, dikemas dalam bahan sekunder (dinding), berupa lapisan tipis. Proses ini digunakan untuk melindungi suatu zat agar tetap tersimpan dalam keadaan baik dan untuk melepaskan zat tersebut pada kondisi tertentu saat digunakan.

Mikroenkapsulasi dalam produk pangan digunakan untuk melindungi zat terhadap lingkungan dari kemungkinan terjadinya oksidasi, kelembaban, penguapan dan udara, melindungi makanan dari rasa dan bau yang tidak enak, untuk ramuan tambahan dalam formulasi makanan, serta mengubah bentuk cair menjadi padatan yang mudah dalam penanganan (Damanik, 2009). Sedangkan mikroenkapsulasi probiotik, digunakan untuk memberikan perlindungan terhadap tinggi keasaman cairan lambung. Manfaat lain yaitu, meningkatkan kelangsungan hidup sel selama pemrosesan dan penyimpanan. (Gibson *et al.*, 2005).

Mikrokapsul terdiri dari suatu inti dan suatu dinding (kulit). Bentuk inti bisa merupakan suatu partikel unsur tidak beraturan atau berbentuk bola (Bain, 1998). Berdasarkan ukurannya, mikroenkapsulat dapat dibagi menjadi tiga

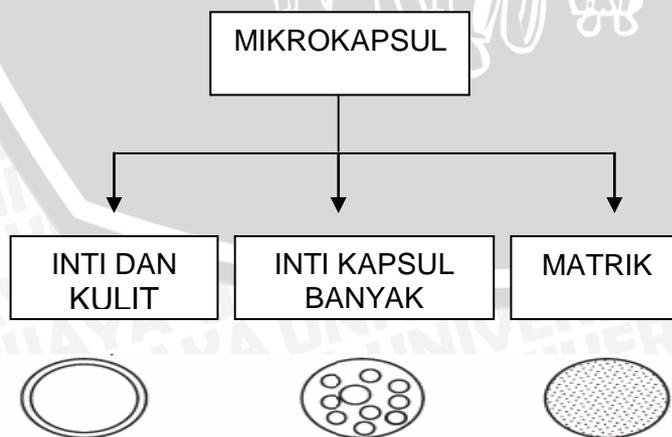
golongan, yaitu makroenkapsulat ( $>5000\mu\text{m}$ ), mikroenkapsulat ( $0,2\mu\text{m}-5000\mu\text{m}$ ) dan nanomikroenkapsulat ( $<0,2\mu\text{m}$ ) (Paramita, 2010).

Morfologi mikrokapsul bergantung pada bahan inti dan proses deposisi kulit. Mikrokapsul mungkin memiliki bentuk yang beraturan ataupun tidak beraturan, dan berdasarkan morfologinya bisa diklasifikasikan sebagai mononuklear, polinuklear, dan tipe matriks. Mononuklear (inti-kulit) berarti posisi kulit disekitar inti, polinuklear berarti ada banyak inti di dalam sebuah kulit, dan matriks, bahan inti didistribusikan secara homogen di dalam inti (Ghosh, 2006). Bentuk mikrokapsul yaitu: bentuk sederhana (*simple*), tidak beraturan (*irregular*), berinti banyak (*multi-core*), dinding berlapis (*multi-wall*) dan bentuk matrix (Wong, 1998). Bentuk mikrokapsul dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 6. Bentuk-bentuk mikrokapsul**

Morfologi dari mikrokapsul dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 7. Morfologi mikrokapsul (Ghosh, 2006)**

Ada beberapa pertimbangan mengapa unsur mungkin dikapsul yaitu: 1) untuk memisahkan komponen yang tidak cocok, 2) untuk meningkatkan stabilitas (melindungi zat reaktif dari lingkungan), 3) mengkonversi komponen aktif cairan ke dalam suatu sistem padat kering, 4) melindungi dari bau yang tidak enak, 5) untuk melindungi lingkungan dekat mikrokapsul dari komponen atau bahan yang reaktif, 6) untuk mengendalikan pelepasan komponen aktif serta menunda mengatur waktu pelepasan komponen tersebut dan 7) untuk menargetkan obat (Arshadi, 1989).

Faktor – faktor yang di gunakan sebagai pertimbangan dalam memilih bahan pengenkapsul yang digunakan, yaitu meliputi: 1) apakah inti adalah padat atau cairan, 2) daya larut inti, 3) kereaktifan inti dengan material calon dinding dan bahan pelarut, 4) ukuran kapsul yang diinginkan, 5) metode pelepasan inti, dan 6) proses serta ekonomis produk. Dalam mikroenkapsulasi ini dibagi menjadi tiga konteks yaitu inti, kulit, dan teknik mikroenkapsulasi (Nack, 1970).

#### 2.4.1 Bahan inti

Mikrokapsul bisa dibagi menjadi dua bagian utama yaitu inti dan kulit. Bahan inti adalah bahan yang akan dienkapsulasi. Bahan inti dapat berupa emulsi, bahan kristalin, suspensi padatan, ataupun gas. Isi dalam mikrokapsul dilepaskan dengan berbagai macam mekanisme. Pelapis dapat rusak secara mekanik, misalnya akibat dikunyah, meleleh ketika terekspos dengan panas, terlarut dalam *solvent* (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, difusivitas, tekanan uap, dan

koefisien partisi) dan pelapis (seperti ketebalan, porositas dan kemampuan bereaksi) juga mempengaruhi pelepasan bahan aktif (Paramita, 2010).

Kecocokan bahan inti dan kulit adalah suatu hal yang penting untuk meningkatkan efisiensi proses mikroenkapsulasi dan perlakuan pendahuluan dari bahan inti adalah sering kali dilaksanakan untuk memperbaiki kecocokan seperti itu. Ukuran dari bahan inti juga memegang peran penting untuk difusi, permeabilitas, dan juga aplikasi yang terkontrol. Bergantung pada aplikasi, bahan inti yang berbeda bisa dienkapsulasi, termasuk pigmen, warna, monomer-monomer, katalisator-katalisator, dan juga nano partikel (Ghosh, 2006).

#### **2.4.2 Bahan Penyalut**

Kulit (bagian luar) merupakan bahan yang melindungi bagian inti dalam waktu lama ataupun singkat dari pengaruh luar. Kelimpahan bahan alami maupun polimer buatan manusia, menyediakan ruang lingkup yang luas dalam pemilihan bahan kulit, yang mungkin bisa dibuat permeable, semi permeable, dan impermeable. Permeable biasanya digunakan untuk aplikasi, kapsul semi permeable biasanya tidak tembus terhadap bahan inti tetapi dapat menyerap cairan dengan berat molekul rendah. Jadi kapsul ini dapat digunakan untuk menyerap substansi dari lingkungan dan melepaskannya kembali ketika dibawa ke medium lain. Sedangkan kulit yang impermeabel melindungi inti dari lingkungan luar (Ghosh, 2006).

Bahan penyalut yang ideal harus mempunyai sifat sebagai berikut: 1) tidak reaktif terhadap bahan inti selama proses atau penyimpanan, 2) dapat menyaluti bahan inti dalam strukturnya selama proses atau penyimpanan, 3) mampu melepaskan pelarut atau bahan lainnya secara sempurna yang digunakan dalam proses mikroenkapsulasi, 4) mampu melindungi bahan inti dari faktor lingkungan, 5) larutan dalam pelarut yang diterima pada industri pangan

(misal: air, etanol, dsb), 6) mampu melarutkan bahan inti dan melepaskannya, dan 7) murah (Mosilhey, 2003).

Bahan penyalut yang dipilih dalam enkapsulasi harus dapat memberikan suatu lapisan tipis yang kohesif dengan inti, tercampur secara kimia dan tidak bereaksi dengan inti, serta mempunyai sifat yang sesuai dengan tujuan penyalutan (kuat, fleksibel, *impermeable*, stabil dan bersifat optis) (Lachman *et al.*, 1994). Bahan pengenkapsulat dapat menggunakan kekayaan polimer alami yang dapat diaplikasikan seperti : gum Arab, selulosa, agar, kitosan, gelatin, karaginan (k-karaginan, i-karaginan,  $\lambda$ -karaginan) (King, 1995).

#### 2.4.3 Teknik Mikroenkapsulasi

Teknik-teknik enkapsulasi yang banyak digunakan secara komersial adalah “spray drying”, “air suspension coating”, akstruksi, “spray cooling and spray chilling”, “centrifugal axstrusion”, “rotational suspension separation” dan “inclusion complexing”. “spray drying” atau pengering semprot (Koswara, 2008). Ditambahkan Meiners (2009), beberapa teknik enkapsulasi yang dapat digunakan yaitu pengeringan semprot (*Spray-drying*), pendinginan semprot (*Spray-chilling*), ekstrusi, liposom, inklusi kompleksasi, dan koaservasi.

Berdasar prosesnya Mosilhey (2003) membedakannya menjadi proses kimia dan proses mekanik. Lachman *et al.*, (1994) menjelaskan bahwa teknik enkapsulasi berdasar sifat fisiko-kimia bahan dapat dibedakan yaitu: metode suspensi di udara, koaservasi pemisahan fasa, dehidrasi pada suhu rendah, *spray drying* dan *spray congealing*, teknik dengan panci penyalut, *fluidized bed*, *orifice process*, dan teknik polimerisasi. Spray drying adalah salah satu metode enkapsulasi yang paling umum digunakan, karena mutu enkapsulat yang dihasilkan dan teknologi hemat biaya. Beberapa proses penting yang digunakan pada proses enkapsulasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Teknik Enkapsulasi

Proses secara kimia	Proses secara fisika	
	Fisika-kimia	Fisika-mekanis
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suspensi, dispersi, emulsi polimerisasi</li> <li>• Polikondensasi</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>coaservation</i></li> <li>• enkapsulasi sol-gel</li> <li>• perakitan lapis demi lapis (L-B-L) <i>assembly</i></li> <li>• enkapsulasi dengan bantuan superkritikal CO<sub>2</sub></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>spray drying</i></li> <li>• <i>multiple nozzle spraying</i></li> <li>• <i>fluid bed-coating</i></li> <li>• teknik sentrifugal</li> <li>• enkapsulasi vakum</li> <li>• enkapsulasi elektrostatik</li> </ul>

Sumber: Ghosh (2006)

Teknik dan proses yang digunakan untuk teknik enkapsulasi mikroorganisme probiotik dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Teknik dan Proses untuk Enkapsulasi Mikroorganisme Probiotik

Teknik enkapsulasi	Tipe Bahan Untuk Pelapis	Tahapan Utama dalam Proses
Pengeringan Semprot ( <i>Spray-drying</i> )	Polimer larut air	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Persiapan mikroorganisme</li> <li>2. Pengabutan makanan kedalam penyemprot</li> <li>3. Pengeringan semprot (Penguapan embun)</li> <li>4. Pemisahan produk dalam bentuk kering</li> </ol>
Pembekuan Semprot ( <i>Spray-congealing</i> )	Lilin, polimer larut air dan tidak larut air, monomer	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Persiapan bahan inti (contoh: probiotik)</li> <li>2. Pembekuan lapisan dengan membekukan bahan pelapis yang dicairkan kedalam bahan bukan pelarut</li> <li>3. Memindahkan bahan bukan pelarut dengan penyerapan, ekstraksi atau teknik penguapan</li> </ol>
Perlindungan Alas yang Dicairkan (Fluidized-bed Coating)/suspensi udara	Polimer larut air dan tidak larut air, lemak, lilin	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Persiapan bahan pelapis</li> <li>2. Pencairan partikel bahan inti</li> <li>3. Perlindungan partikel bahan inti dengan bahan pelindung</li> </ol>
Tekanan ( <i>Extrusion</i> )	Polimer larut air dan tidak larut air	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Persiapan bahan pelindung</li> <li>2. Pemisahan bahan inti</li> <li>3. Pendinginan campuran bahan pelindung melalui dehidrasi</li> </ol>

		cairan
Koaservasi/Fase teknik separasi	Polimer larut air	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. bahan inti diendapkan dalam polimer pelindung, bahan pelarut untuk polimer menjadi cairan sebagai tahap pengangkut</li> <li>2. Pemecahan bahan pelindung, yang terkendali, pencampuran fisik dari bahan pelindung dan inti pada fase pengangkut</li> <li>3. Mengeraskan bahan pelindung dengan panas, teknik desolvasi, untuk membentuk mikroenkapsulasi</li> </ol>

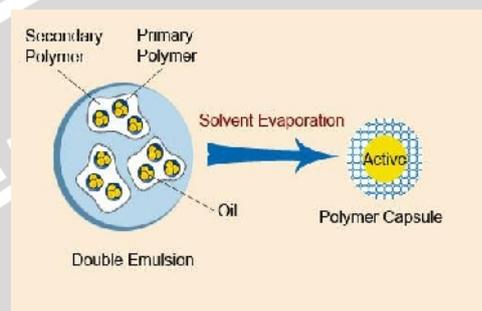
Sumber: Anal dan Singh (2007)

#### 2.4.4 Teknik Mikroenkapsulasi Emulsi

Microemulsion adalah sistem pengiriman senyawa potensial dan bahan-bahan bioaktif. *Emulsions*, yang terbentuk dengan menggunakan protein, polisakarida, lesitin, dan molekul lain yang memiliki emulsifier yang rendah, secara individu dan dalam berbagai kombinasi (Venugopal, 2009). Keuntungan dari teknik emulsion adalah bahwa inti dan kerangka dapat bercampur (Barrow dan Shahidi, 2008).

Teknik emulsi telah digunakan untuk mengenkapsulat sel-sel sehat di dalam *micro* (0,1-1 mm) dan *macrospheres* (1-3 mm) dari polimer gel thermotropic alam seperti *agar-agar*, *agarosa*, *carrageenan*, dan *gellan gum*. Proses pembentukan bola melibatkan dispersi dua fase cair yang dihasilkan tidak bercampur dengan air-dalam-minyak (w / o) emulsi. Sebuah suspensi sel-sel sehat dalam larutan polimer (fase terdispersi) adalah emulsified dalam fase hidrofobik seperti minyak sayur (fase kontinu). Tetesan kecil Minyak dari fase terdispersi kemudian dimulai dengan mengurangi emulsi temperatur di bawah transisi sol-gel suhu (Guisan, 2006).

Jenis emulsi minyak didalam air didalam minyak (O/W/O) dapat digunakan sebagai emusifier antara bahan organik dan anorganik pada proses enkapsulasi. Di dalam proses enkapsulasi mikroemulsi dapat ditemukan di dalam pelarut evaporasi yaitu pada enkapsulasi dengan teknik spray drying (Wikipedia, 2010). Gambar mikroemulsi dengan menggunakan dua emulsi dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 8. Proses double emulsion**

Prinsip kerja metode emulsi adalah menanggungkan pencampuran partikel inti dalam solusi kerangka, dan kemudian menuangkan suspensi melalui aparat disk yang berputar. Gaya sentrifugal yang dihasilkan oleh piringan yang berputar memaksa emulsi ke tepi luar dari disk untuk membuat tetesan diskrit (Barrow dan Shahidi, 2008). Venugopal (2009) menambahkan, minyak dalam emulsion air memungkinkan bertahannya inti dan kestabilan molekul. Jumlah minyak yang bisa dikirimkan dalam format ini bervariasi 1-30%.

Keuntungan dari metode emulsi menurut Talwakar dan Kailasapathy (2003) yaitu diameter kapsul yang kecil akan menghasilkan distribusi sel yang lebih merata, sehingga jumlah sel metode emulsi lebih banyak dibanding metoda ekstrusi. Sedangkan kelemahan metode emulsi menurut penelitian Lee dan Heo (2000) adalah ukuran kapsul sebagai pelindung pada metode emulsi lebih kecil sehingga kemampuan melindungi sel terhadap perlakuan panas juga lebih rendah.

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi penelitian

##### 3.1.1 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan pembuatan *Refine Carrageenan* (RC), proses mikroenkapsulasi *L. acidophilus*, proses penelitian secara *in vivo*, uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli*.

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan RC, antara lain: pisau, *beaker glass* 500 ml, gelas ukur 10 ml dan 100 ml, thermometer, spatula kaca, jam, timbangan analitik, kain saring, baskom plastik, loyang, panci, blender, dan ayakan. Sedangkan alat – alat yang digunakan dalam proses mikroenkapsulasi probiotik adalah erlenmeyer 250 ml, *beaker glass* 250 ml, gelas ukur 100 ml, thermometer, spatula kaca, jam, timbangan analitik, sentrifuge, hot plate, magnetic stirer, *freezer*, *waterbath*, dan pipet tetes. Adapun alat – alat yang di gunakan dalam pemeliharaan mencit adalah berupa box persegi panjang, kawat, wadah pakan, botol minum, pipa kaca, karet, dan timbangan digital.

Alat – alat yang digunakan pada saat penelitian adalah *disposable syringe* (sonde). Sedangkan alat yang digunakan dalam uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* adalah tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer 500 ml , rak tabung reaksi, bunsen, gelas ukur 10 ml dan 100, spatula, pipet serologis, vortex, autoklaf, *incubator*, *colony counter*, timbangan digital, jarum ose, *sprayer*, dan mortar.

##### 3.1.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut jenis *E. cottoni*. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan RC, antara lain: *E. cottoni*, HCl, air, KOH, kapas, koran, kain saring, plastik, KCl, karet, kertas lakmus

dan aquadest. Bahan-bahan yang digunakan dalam mikroenkapsulasi probiotik adalah tepung *refine carrageenan*, kultur bakteri *L. acidophilus*, *tissue*, minyak merk Tropicana, tween 80, KCl 4 M, kertas saring dan aluminium foil. Bahan-bahan yang digunakan pada proses penelitian adalah minyak wijen, *L. acidophilus* 10<sup>10</sup>, enkapsulat dan enkapsulat probiotik. Serta bahan-bahan yang digunakan dalam uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* antara lain: Feses *fresh* hari ke 15 dari mencit (*Mus musculus*) yang berjenis kelamin jantan dan berumur 3 bulan, media MRS Agar, VRB Agar, NaCl fisiologis 0,9% 9 ml, aquadest, , alkohol 95%.

### 3.2 Metode Penelitian

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 bisa mengganggu (Arikunto, 2002).

Studi eksperimen bertujuan untuk menguji hipotesis tentang adanya hubungan antara variabel 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

#### 3.2.1 Variabel Penelitian

Ada dua macam variabel dalam penelitian, yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang disedit pengaruhnya, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai

pengaruh dari variabel bebas (Surachmad, 1994). Variabel bebas dan terikat dalam penelitian ini adalah:

Penelitian ini menggunakan hewan uji mencit yang berjenis kelamin jantan untuk mengetahui pengaruh mikrokapsul *L.acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan secara *in vivo*. Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni*, sedangkan variabel terikat yang digunakan adalah kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan secara *in vivo*.

### 3.2.2 Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pengaruh pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* terhadap kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* secara *in vivo* dimana masing-masing diulang sebanyak 3 kali ulangan.

**Tabel 6. Rancangan Penelitian Pengaruh pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan secara *in vivo***

Perlakuan	Kolonisasi <i>L. acidophilus</i>			Kolonisasi <i>E. coli</i>			Berat Badan		
	Ulangan			Ulangan			Ulangan		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3
B	B1	B2	B3	B1	B2	B3	B1	B2	B3
C	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
D	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3

Keterangan :

- A : Kontrol
- B : Mikrokapsul *L. acidophilus*
- C : BAL (*L. acidophilus*)
- D : Enkapsulat

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

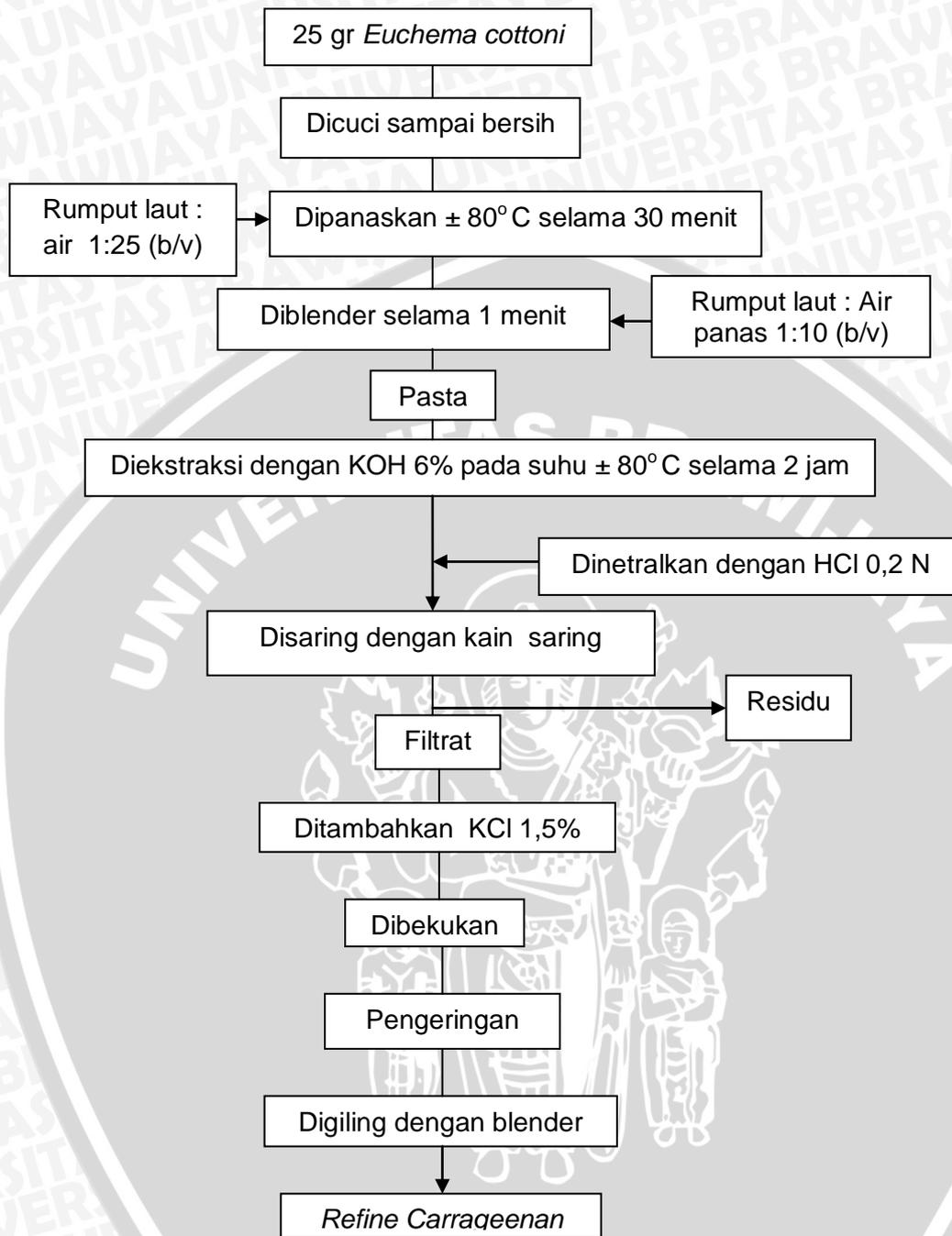
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottonii* terhadap kolonisasi *L. acidophilus*, kolonisasi *E. coli* dan berat badan secara *in vivo*.

### 3.4 Prosedur Penelitian

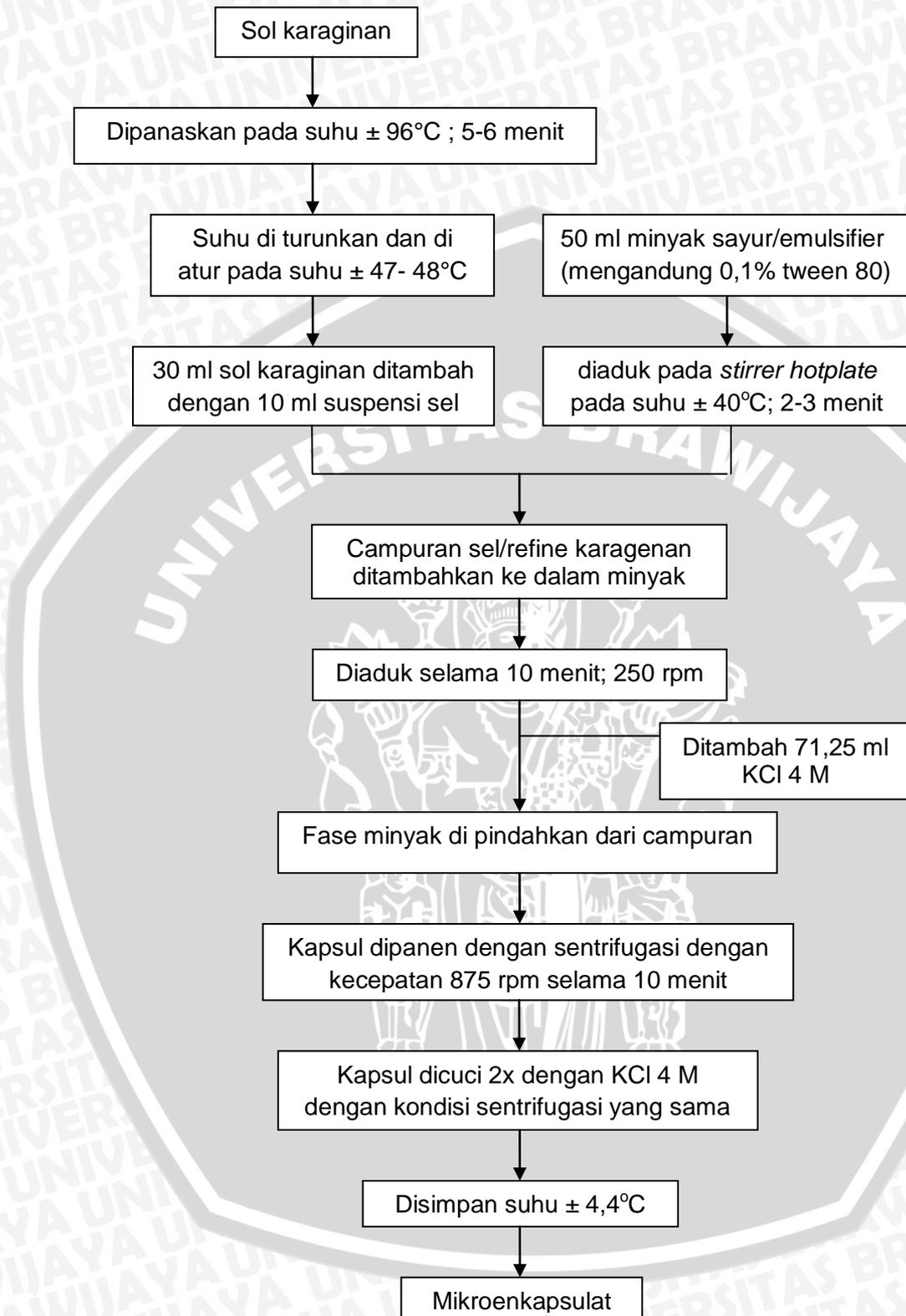
Pelaksanaan penelitian ini dilakukan dengan 4 tahapan, seperti pada skema kerja. Adapun 4 tahapan tersebut antara lain adalah :

Prosedur pembuatan *Refine Carrageenan* dan mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dan dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10.





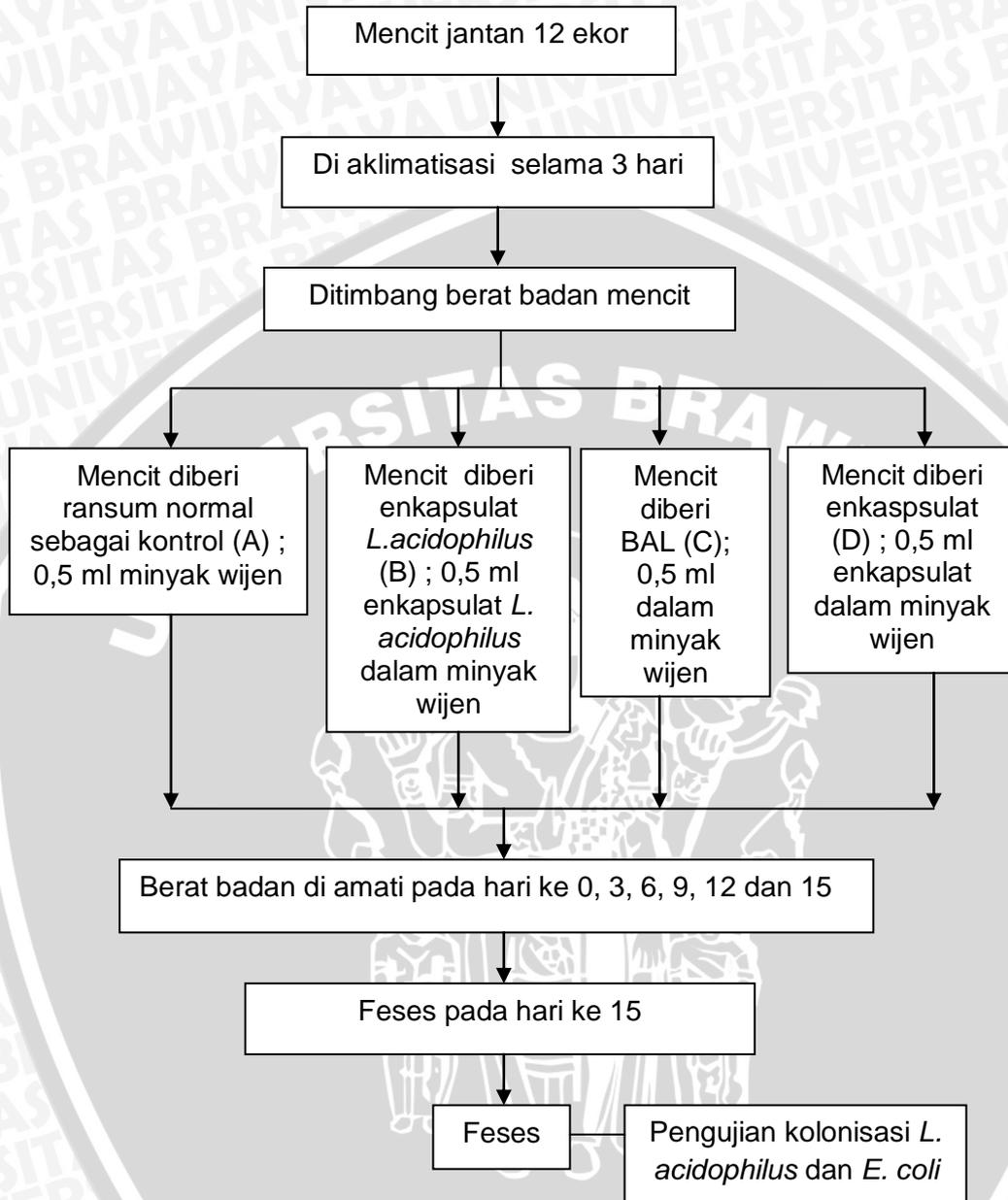
Gambar 9. Proses Pembuatan Refine Carrageenan (RC)  
 Sumber : Sindha, (2006)



Gambar 10. Mikroenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus*

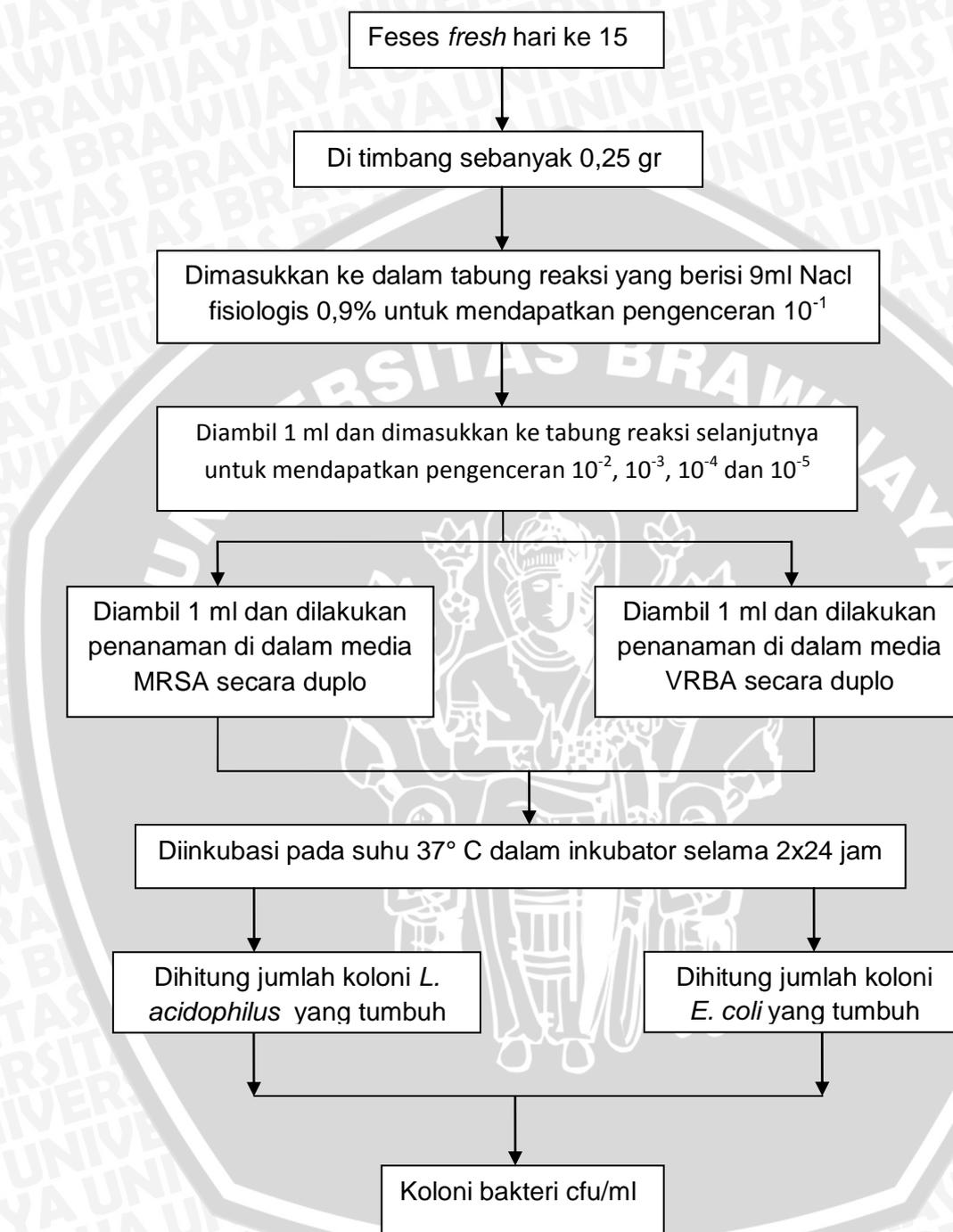
Sumber : Adhikari *et al.*, (2003)

Prosedur penelitian secara *in vivo* dapat dilihat pada gambar 11



Gambar 11. Prosedur penelitian secara *in vivo*

Prosedur uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli* dapat dilihat pada gambar 12.

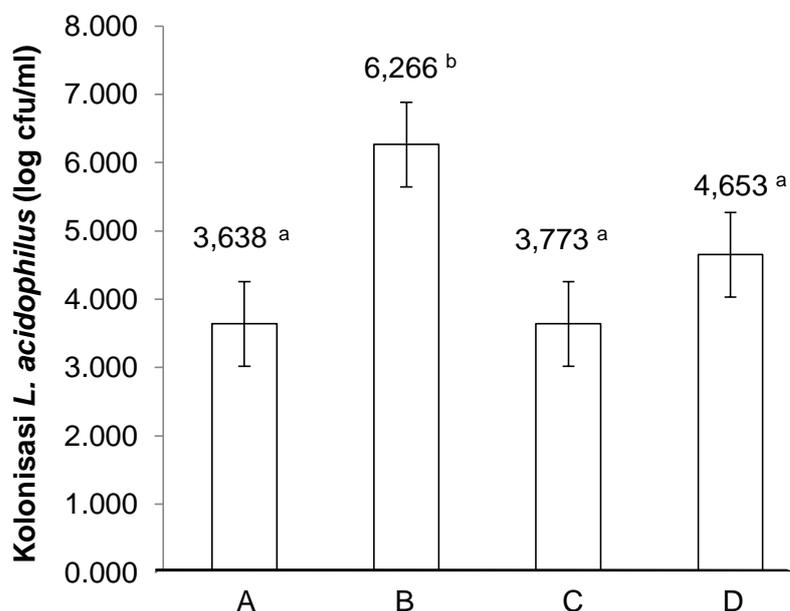


Gambar 12. Uji kolonisasi *L. acidophilus* dan *E. coli*

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Kolonisasi *L. acidophilus*

Rerata kolonisasi *L. acidophilus* dari feses mencit antar perlakuan dapat dilihat pada gambar 13.



**Gambar 13.** Pengaruh mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dengan RC *E. cottoni* terhadap kolonisasi *L. acidophilus*.

Gambar 13 memperlihatkan ada perbedaan secara nyata rerata kolonisasi *L. acidophilus* antara perlakuan B dan perlakuan lainnya. Pada perlakuan A, rerata kolonisasi *L. acidophilus* merupakan yang terendah dari semua perlakuan. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Nuraida *et al.*, (2008) dimana dalam penelitiannya, pada perlakuan kontrol jumlah BAL yang didapatkan pada feses tikus percobaan (*Sprague-Dawley*) paling rendah dibandingkan dengan perlakuan tikus yang diberi ekstrak ubi jalar, BAL dan ekstrak ubi jalar dengan BAL. Rendahnya rerata yang didapat dikarenakan perlakuan A tidak mendapatkan penambahan apapun dalam perlakuannya

sehingga yang tumbuh hanyalah bakteri *Lactobacillus* alami yang menghuni saluran pencernaan. Ditambahkan oleh Suryadjaja (2005), *Lactobacillus* menghuni saluran pencernaan dan dapat mengkolonisasi permukaan dinding usus. Jumlah *Lactobacillus* tergolong sangat sedikit, yaitu jarang mencapai  $>10^3$ /ml/g.

Pada perlakuan B, rerata yang didapatkan merupakan hasil tertinggi dari semua perlakuan. Tingginya rerata pada perlakuan B dikarenakan adanya perlindungan dari kappa karaginan yang berfungsi sebagai pengenkapsulat. Penelitian kantiniwangi (2010), menggunakan carrageenan jenis *Euchema cottoni* konsentrasi 3% sebagai pengenkapsulat mampu menghasilkan viabilitas *L. acidophilus* sebesar 5,312 dan 5,150 pada pH 2 dan 7 secara *in vitro*.

Fitdiyanto (2009), dalam penelitiannya menunjukkan karakteristik RC *Euchema cottoni* yaitu : kadar sulfat (21,71%), kekuatan gel (1176 g/cm<sup>2</sup>), *gelling point* (30,21°C), dan *melting point* (76,35°C). Carrageenan ketika dalam bentuk gel mempunyai sifat yang stabil dan tidak mudah terhidrolisis pada pH asam sehingga masih mampu untuk melindungi bahan inti dari pengaruh luar seperti pH asam dan juga oksigen bebas. Mikroenkapsulasi probiotik mampu untuk mempertahankan dan meningkatkan viabilitas dalam saluran pencernaan dengan cara melindungi sel di dalam gel dari kondisi lingkungan yang merugikan (Lo, 2007).

Kemampuan mikrokapsul *L. acidophilus* yang baik terhadap kolonisasi *L. acidophilus* disebabkan oleh ketahanan bakteri itu sendiri terhadap kondisi asam dan garam empedu karena adanya mikrokapsul yang mampu memberikan perlindungan. Dengan kemampuan ketahanan terhadap kondisi asam dan garam empedu ini menjadikan bakteri *L. acidophilus* mampu untuk melewati saluran pencernaan dan sampai pada usus besar dimana kehadiran bakteri probiotik di dalam usus besar sangat berguna untuk menekan jumlah bakteri patogen. Hal ini

sesuai dengan penelitian yang dilakukan Chandramouli *et al.*, (2003) menyatakan bahwa dengan adanya enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi.

Fungsi utama mikroenkapsulasi adalah untuk memberikan perlindungan terhadap tinggi keasaman cairan lambung. Mikrokapsul yang mengandung probiotik tidak boleh mengalami keretakan sebelum sampai pada kolon. Mikrokapsul di gunakan sebagai lapisan yang tahan terhadap pH rendah dan dapat melepaskan inti pada pH tinggi atau pada pH yang mirip dengan pH usus besar (pH 5,5-7) (Gibson, 2005)..

Pada perlakuan C dengan adanya penambahan *L. acidophilus* hasil rerata yang didapatkan masih rendah, seperti yang didapatkan pada perlakuan A hanya mencapai  $10^3$ . Sedangkan dalam penelitian yang dilakukan Kusumawati *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah BAL pada feses tikus akibat pemberian probiotik dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Gross *et al.*, (2008) juga melaporkan bahwa populasi *Lactobacillus* di usus halus tikus percobaan dengan pemberian probiotik *Lactobacillus* lebih tinggi  $10^6$  daripada kontrol  $10^5$ .

Hal tersebut didukung oleh Salminen dan von-Wright (1993) menjelaskan bahwa BAL mempunyai kemampuan menekan pertumbuhan patogen disebabkan karena senyawa antimikrobia yang diproduksi (seperti asam laktat, peroksida, dan bakteriosin), kompetisi sisi penempelan, peningkatan produksi lendir/mukus usus dan kompetisi untuk mendapatkan nutrisi. Sehingga mampu mendominasi populasi. Namun, pernyataan tersebut bertolak belakang dengan hasil penelitian ini yang mana, pada perlakuan C rerata yang diperoleh rendah dan tidak menunjukkan pebedaan dari hasil yang didapatkan pada perlakuan A yaitu hanya mencapai pada  $10^3$ .

Surono (2003) menyatakan bahwa keasaman lambung merupakan faktor utama yang mempengaruhi kelangsungan hidup dari probiotik dalam saluran pencernaan. Jadi, bisa disimpulkan bahwa rendahnya rerata kolonisasi *L. acidophilus* pada perlakuan C bisa dikarenakan bakteri *L. acidophilus* tidak mampu bertahan saat melewati pH asam di dalam lambung. Sehingga pada saat sampai di usus besar tidak mampu untuk bersaing dengan bakteri – bakteri patogen yang ada dalam berkompetisi untuk memperoleh nutrisi, yang mengakibatkan *L. acidophilus* tidak dapat berkembang biak dan mempertahankan hidupnya pada saluran cerna.

Pada perlakuan D, rerata kolonisasi *L. acidophilus* yang dihasilkan lebih besar dibandingkan perlakuan A dan C. Nuraida *et al.*, (2008) juga melaporkan bahwa jumlah BAL dalam feses tikus lebih tinggi dengan penambahan ekstrak ubi jalar karena mengandung oligosakarida atau polisakarida rantai pendek sebagai prebiotik dari pada perlakuan kontrol. Tingginya rerata pada perlakuan D diduga karena pengaruh enkapsulat dari *carrageenan* jenis *E. cottoni* yang diberikan.

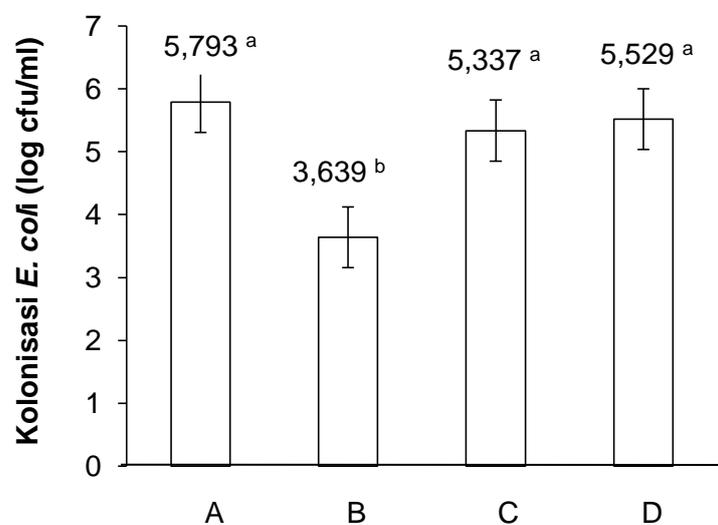
*Carrageenan* adalah salah satu jenis polisakarida yang termasuk dalam serat makanan, berfungsi sebagai prebiotik untuk menstimulasi pertumbuhan beberapa mikrobia menguntungkan. (Yissaluthana, 2010). Menurut Kasim (2004) kadar serat makanan dari rumput laut *E. cottoni* kering mencapai 65,07% yang terdiri dari 39,47% serat makanan larut air dan 25,57% serat makanan tidak larut air sehingga termasuk dalam kelompok bahan berserat makanan tinggi. Serat pangan memiliki sifat fungsional bagi kesehatan karena tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan manusia (Alsuhendra, 2011).

Prebiotik tidak dapat diserap dalam usus kecil pada akhirnya akan masuk ke usus besar. Selanjutnya akan dimetabolisme secara anaerobik (fermentasi) oleh probiotik seperti *Lactobacillus* dan memproduksi asam lemak rantai pendek

(seperti: asam asetat, asam propionat dan asam butirat) yang berakibat pH kolon turun, penurunan pH akan membantu pertumbuhan *Lactobacillus* dan menekan pertumbuhan bakteri patogen (Topping and Clifton, 2001). Sehingga akan mengubah komposisi bakteri dalam usus. Bakteri yang menguntungkan yaitu *Lactobacillus* bertambah jumlahnya, sedangkan bakteri yang merugikan seperti *E. coli* ditekan pertumbuhannya (Sibuea, 2002).

#### 4.2 Kolonisasi *E. coli*

Rerata kolonisasi *E. coli* dari feses mencit antar perlakuan dapat dilihat pada gambar 14.



**Gambar 14. Pengaruh mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dengan RC *E. cottoni* terhadap kolonisasi *E. coli***

Gambar 14 memperlihatkan ada perbedaan secara nyata rerata kolonisasi *E. coli* antara perlakuan B dan perlakuan lainnya. Pada perlakuan A, mencit tanpa di beri perlakuan apapun (kontrol) memperoleh hasil rerata tertinggi dari semua perlakuan. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Sobariah

(2007) yang melaporkan bahwa jumlah *E. coli* feses tikus kontrol lebih tinggi dari feses tikus yang mendapat perlakuan.

Tingginya rerata kolonisasi *E. coli* pada perlakuan A disebabkan tidak ada penambahan *Lactobacillus* atau *carrageenan* maupun mikrokapsul *L. acidophilus* yang diberikan pada mencit. Sehingga hanya bakteri *lactobacillus* alami yang menghuni saluran pencernaan. Ditambahkan oleh Suryadjaja (2005), *Lactobacillus* banyak menghuni saluran pencernaan dan dapat mengkolonisasi permukaan dinding usus. Jumlah *Lactobacillus* tergolong sangat sedikit, yaitu jarang mencapai  $>10^3$ /ml/g. Sedikitnya jumlah tersebut membuat *L. acidophilus* tidak mampu bersaing dan menekan pertumbuhan *E. coli* pada saluran pencernaan.

Perlakuan B dengan pemberian mikrokapsul *L. acidophilus* didapatkan rerata kolonisasi terendah dari perlakuan A, C dan D. Kondisi ini disebabkan adanya pengenkapsulat yang mana berfungsi untuk melindungi probiotik agar sampai pada saluran pencernaan dengan jumlah sebesar  $10^6 - 10^7$ . Hasil tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Chandramouli *et al.*, (2003) menyatakan bahwa dengan adanya enkapsulasi dapat meningkatkan viabilitas bakteri probiotik dibandingkan dengan sel bebas tanpa enkapsulasi. Jadi dapat dikatakan jika bakteri probiotik meningkat maka pertumbuhan bakteri patogen dapat ditekan.

*L. acidophilus* yang berada dalam mikrokapsul akan terlindungi sampai melewati saluran pencernaan terutama pada pH yang sangat asam. Dan akan dilepaskan pada saat sampai di usus besar untuk bersaing dengan bakteri patogen dan berkolonisasi pada usus. Adanya lapisan yang mampu melindungi bakteri *L. acidophilus* melewati saluran pencernaan dan sampai pada usus dalam jumlah yang banyak diharapkan agar mampu bersaing dengan bakteri-bakteri patogen dalam mendapatkan nutrisi dan menempel pada usus untuk

mempertahankan hidupnya sehingga mampu mendominasi populasi tersebut. Kemampuan menempel pada usus tersebut menyebabkan sel bakteri asam laktat tidak mudah terusir keluar dari usus (Mack *et al.*, 1999). *L. acidophilus* ini akan dilindungi dengan cara diperangkap oleh pengenkapsulat pada saat melewati pH asam di lambung dan akan dilepaskan jika sudah sampai pada target yaitu pada kolon dengan pH sekitar 5,5-7 (Gibson *et al.*, 2005).

Pada perlakuan C dengan pemberian *L. acidophilus* rerata yang diperoleh tidak menunjukkan penurunan yang signifikan dari perlakuan A karena masih tetap berkisar pada  $10^5$ . Namun, penelitian serupa yang dilakukan oleh Johansson *et al.*, (1993) melaporkan bahwa pemberian bakteri asam laktat dari genus *lactobacilli* dapat menurunkan jumlah bakteri patogen pada saluran pencernaan atau feses manusia maupun hewan percobaan. Medellin-Pena & Griffiths (2009) juga melaporkan bahwa probiotik mampu menghambat kolonisasi *E. coli* pada usus tikus percobaan.

Fox (1988) juga menjelaskan bahwa bakteri *L. acidophilus* mampu mempertahankan hidupnya dan menurunkan pertumbuhan yang cepat dari *E. coli*. *L. acidophilus* menghasilkan senyawa antimikroba yang bersifat bakterisidal yang mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. *L. acidophilus* menghasilkan senyawa asam organik terutama asam laktat sebagai hasil metabolismenya yang bersifat antimikroba terhadap *E. coli* (Reque *et al.*, 2000).

Berbeda dengan pernyataan tersebut, dimana rerata kolonisasi *E. coli* tidak menunjukkan penurunan yang signifikan pada perlakuan C. Hal ini bisa disebabkan karena tidak adanya lapisan yang mampu melindungi *L. acidophilus* saat melewati saluran pencernaan sehingga *L. acidophilus* tidak mampu bersaing dan menekan pertumbuhan bakteri patogen (*E. coli*) sehingga tidak dapat mendominasi jumlah bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan. Hood dan Zottola (1988) menunjukkan bahwa sel *L. acidophilus* tidak dapat

tumbuh pada pH rendah tanpa pengaruh lapisan polisakarida. Karagenan merupakan bentuk polisakarida yang mengandung serat, dimana berfungsi sebagai media pertumbuhan probiotik.

Tingginya rerata *E.coli* pada perlakuan C mengindikasikan bahwa *L. acidophilus* tidak mampu bertahan pada saluran pencernaan terutama pada saat di lambung dengan pH yang sangat asam tanpa ada lapisan yang mampu melindunginya. Sehingga *L. acidophilus* tidak mampu bersaing dengan *E. coli* yang akhirnya mendominasi saluran pencernaan tersebut. Hood dan Zottola (1988) menunjukkan bahwa sel *L. acidophilus* tidak dapat tumbuh pada pH rendah tanpa pengaruh lapisan polisakarida. Karagenan adalah suatu bentuk polisakarida dengan berat molekul di atas 100 kDa (Winarno 1996 ; WHO 1999). Jadi dapat disimpulkan bahwa karagenan berfungsi sebagai pengekapsulat yang baik karena dapat melindungi *L. acidophilus* dan menekan pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan.

Berbagai rintangan harus dihadapi oleh mikroba dalam saluran pencernaan mulai dari mulut sampai anus. Hambatan yang paling berarti adalah asam lambung dan garam empedu. Sedangkan pada usus besar harus mampu bersaing dengan bakteri patogen yang jumlah dan jenisnya banyak, sehingga harus mampu berkompetisi untuk mendapatkan nutrisi dan harus dapat menempel pada usus. Bakteri probiotik harus mampu bertahan dalam menghadapi rintangan-rintangan tersebut, agar dapat mencapai usus halus dalam keadaan hidup dalam jumlah yang cukup memadai untuk berkembang biak dan menyeimbangkan mikrobiota dalam usus (Surono, 2003).

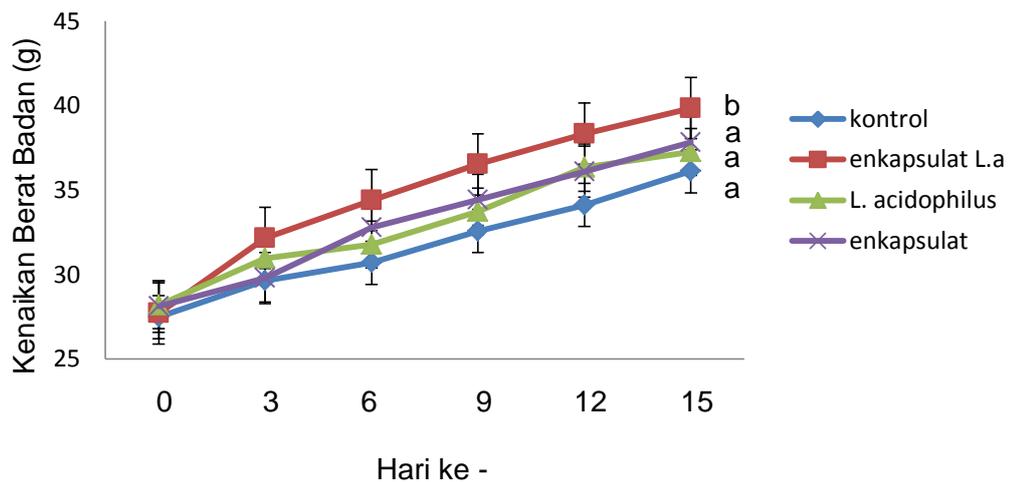
Pada perlakuan D, rerata kolonisasi *E. coli* yang didapatkan juga tidak menunjukkan perbedaan dari rerata yang didapat pada perlakuan A dan C yaitu 5,520 log cfu/ml. Hasil penelitian tersebut bertolak belakang dengan penelitian Nuraida *et al.*, (2008) melaporkan bahwa pemberian dari produk olahan ubi jalar

terhadap tikus *Sprague-Dawley* lebih mampu menekan jumlah *E. coli* dalam feses dari pada perlakuan kontrol yang dilakukan secara *in vivo*.

Dibandingkan dengan perlakuan B yang mana dalam perlakuannya sama dengan perlakuan D yaitu mendapat penambahan mikrokapsul dari *carrageenan*, rerata kolonisasi *E. coli* yang dihasilkan lebih rendah hanya mencapai 3,639 log cfu/ml. Hasil rerata kolonisasi *E. coli* yang rendah pada perlakuan B dikarenakan adanya *L. acidophilus* dalam enkapsulat, dimana *L. acidophilus* harus mampu bertahan dalam jumlah  $10^6 - 10^7$  dalam usus sehingga mampu bersaing dengan bakteri patogen dan menekan pertumbuhannya. Namun, diperlukan lapisan yang mampu melindunginya agar sampai dalam usus dengan jumlah yang cukup. Hal inilah yang menyebabkan hasil rerata *E. coli* yang diperoleh lebih rendah dari pada perlakuan D yang hanya di tambahkan enkapsulat tanpa disertai *L. acidophilus*.

Tingginya rerata *E. coli* yang didapatkan dikarenakan tidak ada *L. acidophilus* yang ditambahkan sehingga tidak mampu bersaing dengan berbagai macam bakteri didalam usus dan menekan pertumbuhannya terutama *E. coli*. Enkapsulat yang mampu berfungsi sebagai prebiotik untuk pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* ternyata tidak mampu menekan pertumbuhan *E. coli*. Hal tersebut terjadi karena sedikitnya *L. acidophilus* dalam saluran pencernaan yang tidak mampu bersaing dengan bakteri-bakteri patogen didalam usus, sehingga *E. coli* yang lebih dominan tumbuh dari pada *L. acidophilus*. Suryadjaja (2005), menyatakan bahwa *Lactobacillus* menghuni saluran pencernaan dan dapat mengkolonisasi permukaan dinding usus. Jumlah *Lactobacillus* tergolong sangat sedikit, yaitu jarang mencapai  $>10^3$ /ml/g.

### 4.3 Pertambahan Berat Badan Mencit



**Gambar 15. Pertambahan Berat Badan Mencit Antar Perlakuan**

Gambar 15 memperlihatkan kenaikan berat badan mencit yang diberi perlakuan *L. acidophilus* yang terenkapsulasi *refine carrageenan* berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Rerata kenaikan berat badan pada mencit yang diberi perlakuan *L. acidophilus* yang terenkapsulasi *refine carrageenan* paling tinggi sebesar 43,92% dibanding perlakuan lainnya dan paling rendah pada mencit kontrol sebesar 31,42%. Martijo (1992) menyatakan bahwa pertumbuhan berat badan mencit (*Mus musculus*) yang normal untuk tiap harinya adalah 1 gr/ekor/hari dan berat dewasa untuk jantan yaitu 20-40 gram.

Kemampuan bakteri *L. acidophilus* yang terenkapsulasi *refine carrageenan* pada perlakuan B dapat meningkatkan berat badan mencit sebesar 12,5% dari kontrol diduga disebabkan oleh ketahanan bakteri *Lactobacillus* itu terhadap kondisi asam dan garam empedu karena adanya perlindungan dari *carrageenan* sebagai pengenkapsulat. Kemampuan ketahanan terhadap kondisi asam dan garam empedu ini menjadikan bakteri *Lactobacillus* mampu untuk melewati saluran pencernaan dan sampai pada usus besar dalam jumlah yang cukup, dimana kehadiran bakteri probiotik di dalam usus besar sangat berguna

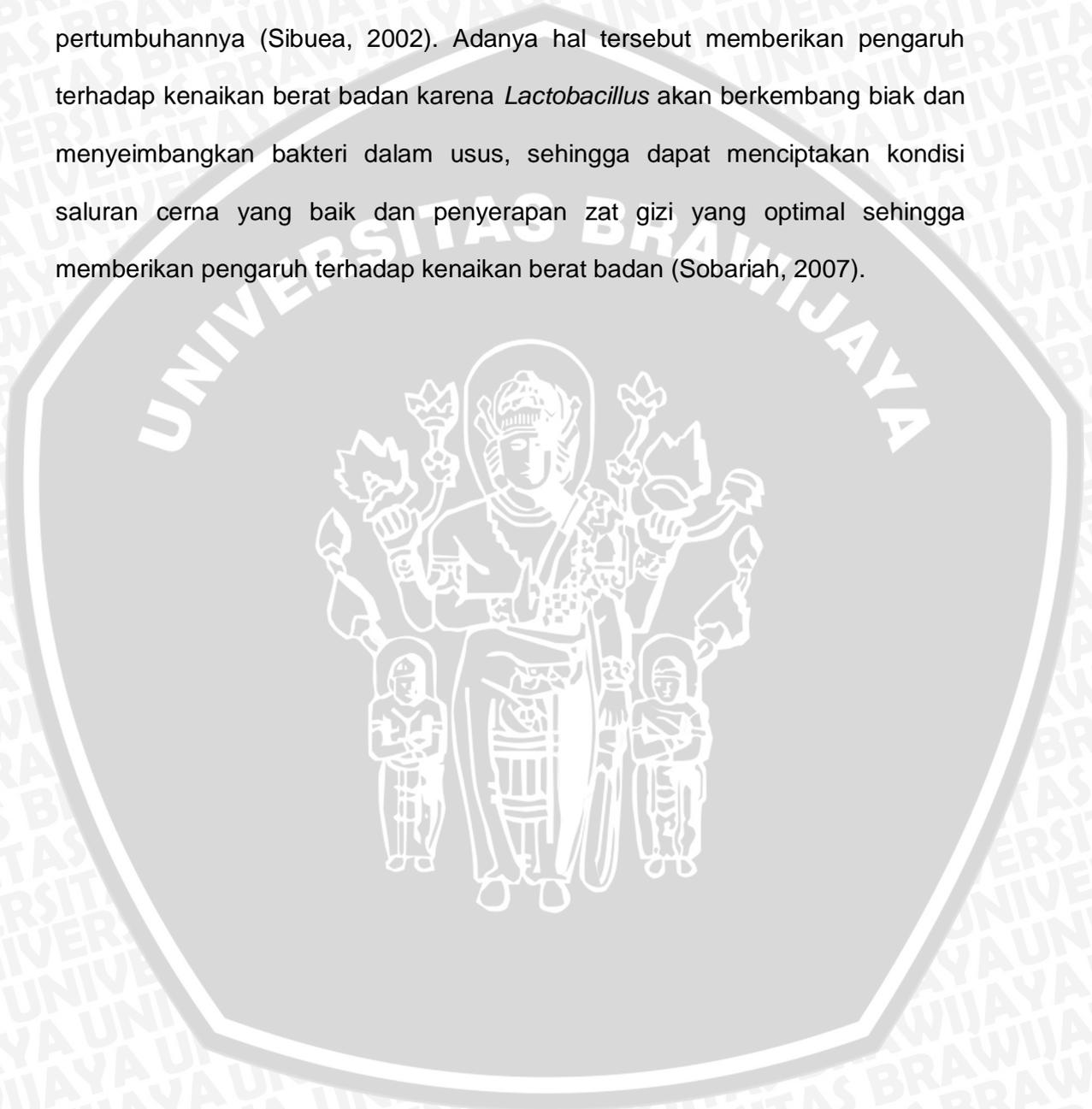
untuk menekan jumlah bakteri patogen. *Lactobacillus* akan berkembang biak dan menyeimbangkan bakteri dalam usus, sehingga dapat menciptakan kondisi saluran cerna yang baik dan penyerapan zat gizi yang optimal sehingga memberikan pengaruh terhadap kenaikan berat badan (Sobariah, 2007).

Perlakuan C, dengan penambahan *L. acidophilus* juga mampu meningkatkan berat badan mencit sebesar 0,77% dari kontrol. Hal ini didukung oleh penelitian Oyetayo (2004) yang melaporkan bahwa probiotik *L. acidophilus* mampu meningkatkan bobot badan pada mencit. Surono (2003) menyatakan, dengan adanya penambahan probiotik pada tikus menyebabkan bakteri non patogen di dalam saluran cerna akan lebih banyak daripada bakteri patogen sehingga akan menekan pertumbuhan bakteri patogen yang akan menciptakan kondisi yang baik pada saluran cerna. Ditambahkan Sobariah (2007), dengan kondisi saluran cerna yang baik, penyerapan zat gizi juga optimal sehingga memberikan pengaruh terhadap kenaikan berat badan.

Perlakuan D, dimana mencit diberi penambahan *carrageenan* dalam bentuk mikrokapsul juga memberikan pengaruh terhadap peningkatan berat badan mencit sebesar 3,22% dari kontrol. Hal ini diduga karena pengaruh *carrageenan* yang diberikan. *Carrageenan* yang merupakan polisakarida dan diklasifikasikan sebagai komponen serat pangan yang larut air yang memiliki sifat fungsional bagi kesehatan karena tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pencernaan manusia. Serat ini berfungsi sebagai prebiotik untuk menstimulasi pertumbuhan beberapa mikrobia menguntungkan (Alsuhendra, 2011; Yissaluthana, 2010).

Prebiotik tidak dapat diserap dalam usus kecil yang pada akhirnya akan masuk ke usus besar. Selanjutnya akan difermentasi oleh probiotik seperti *lactobacillus* dan memproduksi asam lemak rantai pendek (seperti: asam asetat, asam propionat dan asam butirat) yang berakibat pH kolon turun, penurunan pH

akan membantu pertumbuhan *Lactobacillus* dan menekan pertumbuhan bakteri patogen (Topping and Clifton, 2001), sehingga akan mengubah komposisi bakteri dalam usus. Bakteri yang menguntungkan yaitu *Lactobacillus* bertambah jumlahnya, sedangkan bakteri yang merugikan seperti *E. coli* ditekan pertumbuhannya (Sibuea, 2002). Adanya hal tersebut memberikan pengaruh terhadap kenaikan berat badan karena *Lactobacillus* akan berkembang biak dan menyeimbangkan bakteri dalam usus, sehingga dapat menciptakan kondisi saluran cerna yang baik dan penyerapan zat gizi yang optimal sehingga memberikan pengaruh terhadap kenaikan berat badan (Sobariah, 2007).



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa:

- Perlakuan dengan pemberian mikro kapsul *L. acidophilus* yang terenkapsulasi RC jenis *E. cottoni* (B) berpengaruh terhadap kolonisasi *L. acidophilus* dengan didapatkannya hasil rerata tertinggi yaitu 6,266 log cfu/ml, dan terendah pada perlakuan kontrol (A) sebesar 3,638 log cfu/ml. Berpengaruh terhadap kolonisasi *E. coli* dengan didapatkannya hasil rerata terendah yaitu 3,639 log cfu/ml dan tertinggi pada perlakuan kontrol (A) sebesar 5,793 log cfu/ml. Serta berpengaruh terhadap berat badan mencit dengan didapatkannya rerata kenaikan tertinggi yaitu 43,92% dan terendah 31,42% pada perlakuan kontrol (A).

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pengaplikasian secara nyata pada produk pangan ataupun kepada manusia.

Ucapan Terimakasih:

Kepada program penelitian fundamental tahun 2010 yang telah memberikan sebagian dana dalam penelitian ini dibawah bimbingan Ir. Dwi Setijawati, M. Kes selaku dosen pembimbing I dan Ir. Muhamad Firdaus, MP selaku dosen pembimbing II.

Lampiran 1. Data Hasil Kolonisasi *L. acidophilus*

Hasil Kolonisasi *L. acidophilus* (cfu/ml)

NO	Perlakuan	Kolonisasi (cfu/ml)		
		I	II	III
1	A	$3,1 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$	$6,6 \cdot 10^3$
2	B	$1,4 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^6$
3	C	$9,6 \cdot 10^3$	$6,8 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^3$
4	D	$2,5 \cdot 10^5$	$2,6 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^4$

Hasil Rerata Kolonisasi *L. acidophilus* (Log cfu/ml)

NO	Perlakuan	Kolonisasi (Log cfu/ml)					
		I	II	III	TOTAL	Rerata	St. dev
1	A	3,491	3,6021	3,8195	10,919	3,638	0,1669
2	B	6,1461	6,2553	6,3979	18,799	6,266	0,1262
3	C	3,982	3,833	3,505	11,320	3,773	0,244
4	D	5,3979	4,145	4,146	13,959	4,653	0,658

Lampiran 2. Data Hasil Kolonisasi *E. coli*Hasil Kolonisasi *E. coli* (cfu/ml)

NO	Perlakuan	Kolonisasi (cfu/ml)		
		I	II	III
1	A	$2,6 \cdot 10^6$	$4,2 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^6$
2	B	$3,7 \cdot 10^3$	$6,6 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^3$
3	C	$2,0 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^5$	$1,9 \cdot 10^5$
4	D	$1,3 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^5$	$1,4 \cdot 10^6$

Hasil Rerata Kolonisasi *E. coli* (Log cfu/ml)

NO	Perlakuan	Kolonisasi (Log cfu/ml)					
		I	II	III	TOTAL	Rerata	St. dev
1	A	6,415	4,6232	6,3424	17,381	5,793	1,014
2	B	3,568	3,8195	3,5315	10,919	3,639	0,156
3	C	5,301	5,431	5,278	16,011	5,337	0,0824
4	D	5,113	5,301	6,146	16,561	5,520	0,549

## Lampiran 3. Pertambahan berat badan mencit

NO	Perlakuan	Hari penimbangan (g)					
		0 hari	3 hari	6 hari	9 hari	12 hari	15 hari
1	A 1	26,79	28,86	30,12	31,95	33,66	35,36
2	A 2	26,88	28,28	29,87	32,02	34,77	36,78
3	A 3	28,75	30,74	32,07	33,72	33,90	36,18
4	B 1	28,13	31,60	33,77	35,84	36,80	37,98
5	B 2	28,05	33,06	36,19	38,70	39,92	41,01
6	B 3	26,89	30,78	33,20	35,01	38,30	40,57
7	C 1	28,55	31,51	32,41	34,30	37,20	38,09
8	C 2	27,28	29,75	30,91	33,55	34,91	36,94
9	C 3	28,71	30,58	31,98	33,33	35,89	36,73
10	D 1	28,72	29,49	33,42	36,56	38,78	39,29
11	D 2	27,68	29,72	31,40	32,57	34,04	36,98
12	D 3	27,88	30,13	33,55	34,13	35,42	37,21

Persentase pertambahan berat badan mencit:  $\frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat awal}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$

$$\text{Perlakuan A : } \frac{36,11 - 27,47}{27,47} \times 100\% = 31,42\%$$

$$\text{Perlakuan B : } \frac{39,85 - 27,69}{27,69} \times 100\% = 43,92\%$$

$$\text{Perlakuan C : } \frac{37,25 - 28,18}{28,18} \times 100\% = 32,19\%$$

$$\text{Perlakuan D : } \frac{37,83 - 28,09}{38,09} \times 100\% = 34,64\%$$

**Lampiran 4. Uji normalitas kolonisasi *L. acidophilus***

Perlakuan HasilkolonisasiBAL  
/MISSING ANALYSIS.

Output Created	20-JUN-2011 08:29:08	
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 for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax	NPAR TESTS /K-S(NORMAL)= Perlakuan HasilkolonisasiBAL /MISSING ANALYSIS.	
Resources	Elapsed Time	0:00:00,05
	Number of Cases Allowed(a)	157388
	Processor Time	0:00:00,03

a Based on availability of workspace memory.

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan	Hasilkolonisasi BAL
N		12	12
Normal Parameters(a,b)	Mean	2,5000	4,5775
	Std. Deviation	1,16775	1,13648
Most Extreme Differences	Absolute	,166	,233
	Positive	,166	,233
	Negative	-,166	-,169
Kolmogorov-Smirnov Z		,574	,808
Asymp. Sig. (2-tailed)		,897	,531

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

**Lampiran 5. Uji normalitas kolonisasi *E. coli***

Perlakuan Hasilkolonisasie.coli  
/MISSING ANALYSIS.

Output Created		20-JUN-2011 08:40:17
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 for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPART TESTS /K-S(NORMAL)= Perlakuan Hasilkolonisasie.coli /MISSING ANALYSIS.
Resources	Elapsed Time	0:00:00,02
	Number of Cases Allowed(a)	157388
	Processor Time	0:00:00,02

a Based on availability of workspace memory.

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

	Perlakuan	Hasilkolonisasi e.coli
N	12	12
Normal Parameters(a,b)		
Mean	2,5000	5,0683
Std. Deviation	1,16775	1,01230
Most Extreme Differences		
Absolute	,166	,183
Positive	,166	,143
Negative	-,166	-,183
Kolmogorov-Smirnov Z	,574	,634
Asymp. Sig. (2-tailed)	,897	,816

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

**Lampiran 6. Uji normalitas Berat Badan**

Perlakuan HasilBB  
/MISSING ANALYSIS.

Output Created		24-Juni-2011 12:48:27
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 for each test are based on all cases with valid data for the variable(s) used in that test.
Syntax		NPAR TESTS /K-S(NORMAL)= Perlakuan HasilBB /STATISTICS DESCRIPTIVES QUANTILES /MISSING ANALYSIS.
Resources	Elapsed Time	0:00:00,00
	Number of Cases Allowed(a)	157388
	Processor Time	0:00:00,00

a Based on availability of workspace memory.

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Perlakuan	HasilBB
N		12	12
Normal Parameters(a,b)	Mean	2,5000	1,5193
	Std. Deviation	1,16775	,01908
Most Extreme Differences	Absolute	,166	,121
	Positive	,166	,121
	Negative	-,166	-,111
Kolmogorov-Smirnov Z		,574	,420
Asymp. Sig. (2-tailed)		,897	,994

a Test distribution is Normal.

Lampiran 7. Data perhitungan kolonisasi *L. acidophilus*

## One-Way ANOVA

## Descriptives

Hasil kolonisasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	3,6377	0,16696	0,09640	3,2229	4,0524	3,49	3,82
B	3	6,2664	0,12628	0,07291	5,9528	6,5801	6,15	6,40
C	3	3,7733	0,24401	0,14088	3,1672	4,3795	3,51	3,98
D	3	4,6530	0,65898	0,38046	3,0160	6,2900	4,15	5,40
Total	12	4,5826	1,13777	0,32845	3,8597	5,3055	3,49	6,40

## Test of Homogeneity of Variances

Hasil kolonisasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4,897	3	8	0,032

## ANOVA

Hasil kolonisasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13,165	3	4,388	32,649	0,000
Within Groups	1,075	8	0,134		
Total	14,240	11			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil kolonisasi

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Upper Bound	Lower Bound
LSD	A	B	-2,62879(*)	0,29934	0,000	-3,3191	-1,9385
		C	-0,13565	0,29934	0,662	-0,8259	0,5546
		D	-1,01536(*)	0,29934	0,009	-1,7056	-0,3251
	B	A	2,62879(*)	0,29934	0,000	1,9385	3,3191
		C	2,49314(*)	0,29934	0,000	1,8029	3,1834
		D	1,61343(*)	0,29934	0,001	0,9232	2,3037
	C	A	0,13565	0,29934	0,662	-0,5546	0,8259
		B	-2,49314(*)	0,29934	0,000	-3,1834	-1,8029
		D	-,87970(*)	0,29934	0,019	-1,5700	-0,1894
	D	A	1,01536(*)	0,29934	0,009	0,3251	1,7056
		B	-1,61343(*)	0,29934	0,001	-2,3037	-0,9232
		C	-,87970(*)	0,29934	0,019	0,1894	1,5700

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

## Homogeneous Subsets

	Perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
			2	3	1
Duncan(a)	A	3	3,6377		
	C	3	3,7733		
	D	3		4,6530	
	B	3			6,2664
	Sig.			0,662	1,000

### Lampiran 8. Data perhitungan kolonisasi *E. coli*

#### One-Way ANOVA

##### Descriptives

##### Hasil Kolonisasi

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					A	3		
B	3	3,6397	0,15679	0,09052	3,2502	4,0292	3,53	3,82
C	3	5,3370	0,08243	0,04759	5,1323	5,5418	5,28	5,43
C	3	5,5204	0,54994	0,31751	4,1542	6,8865	5,11	6,15
Total	12	5,0727	1,01150	0,29200	4,4300	5,7154	3,53	6,41

##### Test of Homogeneity of Variances

##### Hasil kolonisasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8,085	3	8	0,008

##### ANOVA

##### Hasil kolonisasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,530	3	2,843	8,348	0,008
Within Groups	2,725	8	0,341		
Total	11,254	11			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Hasil kolonisasi

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Upper Bound	Lower Bound
LSD	A	B	2,15381(*)	0,47650	0,002	1,0550	3,2526
		C	0,45650	0,47650	0,366	-0,6423	1,5553
		D	0,27318	0,47650	0,582	-0,8256	1,3720
	B	A	-2,15381(*)	0,47650	0,002	-3,2526	-1,0550
		C	-1,69731(*)	0,47650	0,007	-2,7961	-0,5985
		D	-1,88063(*)	0,47650	0,004	-2,9794	-0,7818
	C	A	-0,45650	0,47650	0,366	-1,5553	0,6423
		B	1,69731(*)	0,47650	0,007	0,5985	2,7961
		C	-0,18332	0,47650	0,710	-1,2821	0,9155
	D	A	-0,27318	0,47650	0,582	-1,3720	0,8256
		B	1,88063(*)	0,47650	0,004	0,7818	2,9794
		C	0,18332	0,47650	0,710	-0,9155	1,2821

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

### Homogeneous Subsets

	Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
			2	1
Duncan(a)	B	3	3,6397	
	C	3		5,3370
	D	3		5,5204
	A	3		5,7935
	Sig.			1,000

### Lampiran 9. Data Perhitungan Berat Badan

#### Oneway

##### Descriptives

HasilBB

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1,00	3	1,5000	0,00889	0,00513	1,4779	1,5221	1,49	1,51
2,00	3	1,5400	0,01732	0,01000	1,4970	1,5830	1,53	1,56
3,00	3	1,5133	0,00577	0,00333	1,4990	1,5277	1,51	1,52
4,00	3	1,5133	0,01528	0,00882	1,4754	1,5513	1,50	1,53
Total	12	1,5167	0,01865	0,00538	1,5048	1,5285	1,49	1,56

##### Test of Homogeneity of Variances

HasilBB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,026	3	8	0,189

##### ANOVA

HasilBB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0,003	3	0,001	5,231	0,027
Within Groups	0,001	8	0,000		
Total	0,004	11			

## Post Hoc Tets

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: HasilBB

	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Upper Bound	Lower Bound
LSD	A	B	-,04000(*)	0,01037	0,005	-0,0639	-0,0161
		C	-0,01333	0,01037	0,235	-0,0373	0,0106
		D	-0,01333	0,01037	0,235	-0,0373	0,0106
	B	A	,04000(*)	0,01037	0,005	0,0161	0,0639
		C	,02667(*)	0,01037	0,033	0,0027	0,0506
		D	,02667(*)	0,01037	0,033	0,0027	0,0506
	C	A	0,01333	0,01037	0,235	-0,0106	0,0373
		B	-,02667(*)	0,01037	0,033	-0,0506	-0,0027
		D	0,00000	0,01037	1,000	-0,0239	0,0239
	D	A	0,01333	0,01037	0,235	-0,0106	0,0373
		B	-,02667(*)	0,01037	0,033	-0,0506	-0,0027
		C	0,00000	0,01037	1,000	-0,0239	0,0239

## Homogeneous Subsets

HasilBB

	Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
			2	1
Duncan(a)	A	3	1,5000	
	C	3	1,5133	
	D	3	1,5133	
	B	3		1,5400
	Sig.			0,253



Lampiran 10. Proses Pembuatan *Refine Carragenan*



Gambar a. Proses pemasakan rumput laut pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$



Gambar b. Proses penghalusan rumput laut



Gambar c. Proses ekstraksi dengan KOH pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam



Gambar d. Proses penyaringan bubuk karagenan



Gambar e. Filtrat karagenan yang sudah ditambah KCL 1,5 %



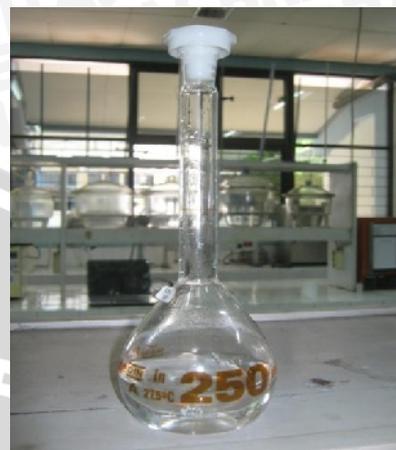
Gambar f. Pengeringan karagenan pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$



Lampiran 11. Proses Mikroenkapsulasi



Gambar a. Sol karagenan



Gambar b. KCL 4 M 71,25 ml



Gambar c. Pemanasan minyak pada suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$



Gambar d. Campuran sol + bakteri di stirrer



Gambar e. Penambahan 71,25 ml KCL 4 M



Gambar f. Hasil mikroenkapsulasi sesudah ditambah KCL



Gambar g. Pemasukan mikro-  
enkapsulasi pada kuvet



Gambar h. disentrifuse



Gambar i. Hasil mikroenkapsulasi  
setelah disentrifuse



Gambar j. Hasil penyentrifusan  
setelah ditambah KCL



Lampiran 12. Proses penelitian secara *in vivo*



Gambar a. Pemeliharaan mencit



Gambar b. Proses penyondean



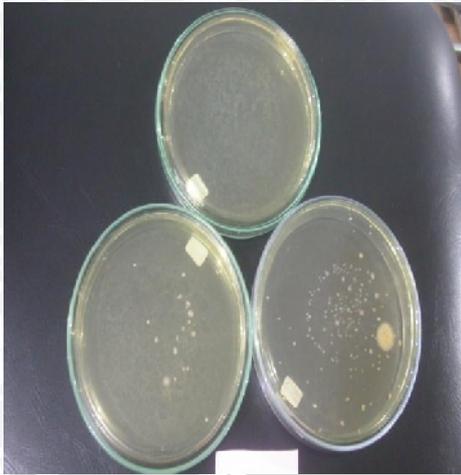
Gambar c. Proses penimbangan berat badan mencit



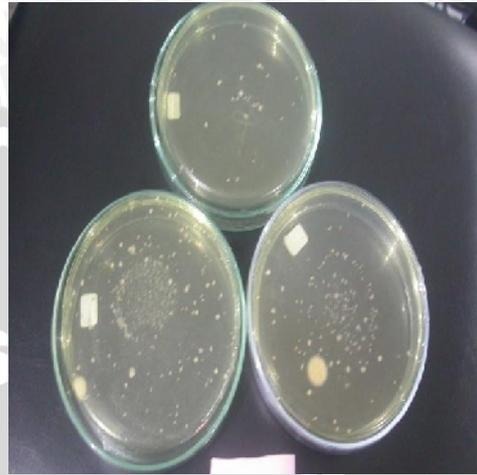
Gambar d. Feses mencit yang akan di uji



Lampiran 13. Hasil pengujian kolonisasi *L. acidophilus* pada media MRSA



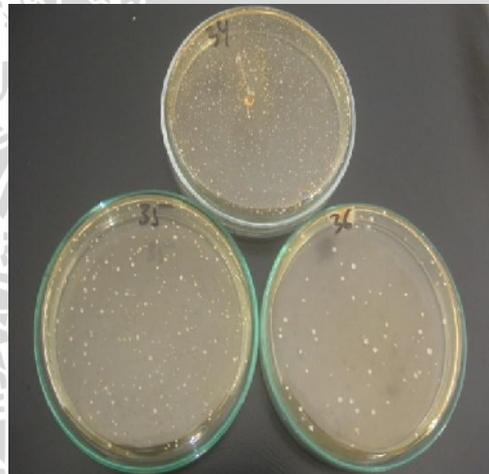
Gambar a. Perlakuan A



Gambar b. Perlakuan B



Gambar c. Perlakuan C

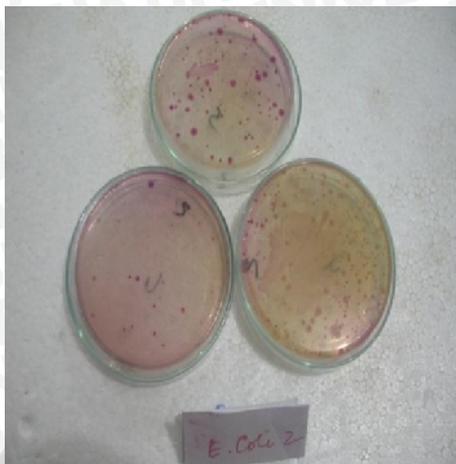


Gambar d. Perlakuan D

**KODE SAMPEL** : 419/IB  
**JENIS SAMPEL** : Padatan  
**PENGIRIM** : Indah  
**PARAMETER** : Identifikasi Bakteri  
**HASIL** : Hasil Identifikasi Bakteri

JENIS TES	HASIL
BGP	POSITIF
SPORA	NEGATIF
<b>FERMENT GULA-GULA</b>	
Arabinosa	NEGATIF
Fruktosa	POSITIF
Glukosa	POSITIF
Laktosa	POSITIF
Maltosa	POSITIF
Mannitol	POSITIF
Raffinosa	POSITIF
Rhamnosa	NEGATIF
Salicin	POSITIF
Sorbitol	POSITIF
Sukrosa	POSITIF
Xylosa	NEGATIF
<b>SUHU PERTUMBUHAN</b>	
25 <sup>0</sup> C	POSITIF
35 <sup>0</sup> C	POSITIF
40 <sup>0</sup> C	NEGATIF
45 <sup>0</sup> C	NEGATIF
<b>UJI NaCl</b>	
3%	POSITIF
4%	NEGATIF
6,5%	NEGATIF
10%	NEGATIF
<b>TUMBUH DI</b>	
Nutrient Broth	NEGATIF
MCA	NEGATIF
TSI	A/A,H2S-,G-
CITRAT	NEGATIF
INDOL	NEGATIF
MR	NEGATIF
VP	NEGATIF
<b>UJI KARAKTERISTIK</b>	
Katalase	NEGATIF
Motilitas	POSITIF
Oksidase	NEGATIF
Proteolitik	POSITIF
Amilolitik	POSITIF
Lipolitik	NEGATIF
<b>DX. LAB.</b>	<b><i>L.acidophilus</i></b>

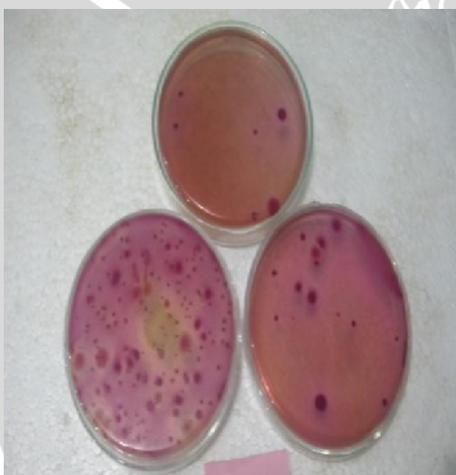
Lampiran 14. Hasil pengujian kolonisasi *E. coli* pada media VRBA



Gambar a. Perlakuan A



Gambar b. Perlakuan B



Gambar c. Perlakuan C



Gambar d. Perlakuan D



MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E



		GNB 24E																								
		GNB 12A / 12E										GNB 12B														
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Flaffinose	Salicin	Arginine
		+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+												
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1

Result / Resultado / Ergebnis /  
 Résultat / Risultato / Resultat /  
 Resultat / Resultado /  
 Amontajana

Sum / Suma / Summa / Somme /  
 Somme / Sum / Summa /  
 Soma / Abpekar

Identification / Identificación /  
 Identifikation / Identifcation /  
 Identificaziune / Identifikation /  
 Identifizierung / Identificação /  
 Toumraolng

*S. coli 96.38*

