

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL MIX *Lactobacillus acidophilus*
DAN *Bifidobacterium bifidum* PADA MI INSTAN LELE (*Clarias gariepinus*)
UBI JALAR UNGU (*Ipomea batatas*) SIAP SAJI PADA KONDISI GI TRACT
TERHADAP VIABILITASNYA**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh :
ARIYANI PRIHASTUTI
NIM. 105080303111003



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL MIX *Lactobacillus acidophilus*
DAN *Bifidobacterium bifidum* PADA MI INSTAN LELE (*Clarias gariepinus*)
UBI JALAR UNGU (*Ipomea batatas*) SIAP SAJI PADA KONDISI GI TRACT
TERHADAP VIABILITASNYA**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

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

Oleh :

ARIYANI PRIHASTUTI

NIM. 105080303111003



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL MIX *Lactobacillus acidophilus*
DAN *Bifidobacterium bifidum* PADA MI INSTAN LELE (*Clarias gariepinus*)
UBI JALAR UNGU (*Ipomea batatas*) SIAP SAJI PADA KONDISI GI TRACT
TERHADAP VIABILITASNYA

Oleh :

ARIYANI PRIHASTUTI
NIM. 105080303111003

Telah dipertahankan didepan penguji
Pada tanggal 27 Mei 2015
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat
SK Dekan No. :
Tanggal :

Dosen Penguji I

Dr. Ir. Yahya, M.P
NIP. 19630706 199003 1 003
Tanggal :

Dosen Penguji II

Dr. Ir. Bambang Budi S., M.S
NIP. 19570119 198601 1 001
Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

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

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. M. Firdaus, M.P
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, M.S
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (*plagiasi*), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 27 Mei 2015

Mahasiswa

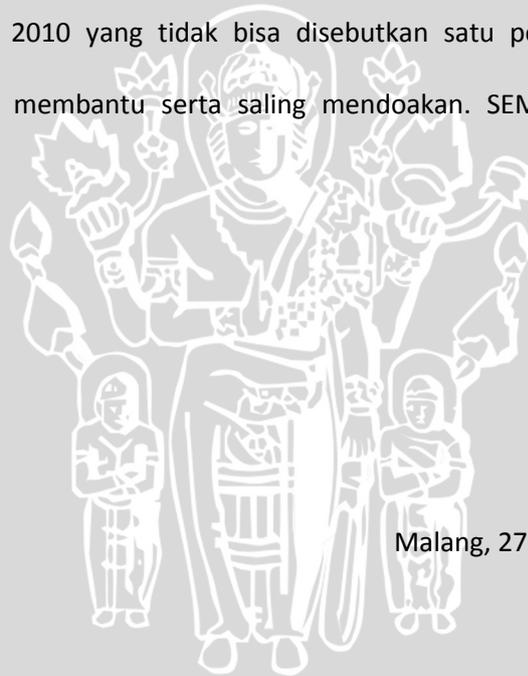
Ariyani Prihastuti
NIM. 105080303111003

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam kesempatan ini penulis tak lupa menyampaikan rasa syukur dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya atas segala bantuan serta dukungan dari semua pihak yang telah membantu, kepada:

1. Mama Sih Pangestu, Ayah Hari Pristiyanto dan Adek Arieftyarto tercinta yang tak henti-hentinya memberikan do'a, dukungan serta semangatnya hingga laporan skripsi ini selesai.
2. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku dosen pembimbing I dan Bapak Dr. Ir. M. Firdaus, MP selaku dosen pembimbing II yang dengan sangat sabar memberikan bimbingan, petunjuk serta pengarahan dalam penelitian hingga penyusunan laporan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Ir. Yahya, MP selaku dosen penguji I dan Bapak Dr. Ir. Bambang Budi Sasmito, MS selaku dosen penguji II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahannya untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
4. Uti Sri Sulastri dan Alm. Kung Iskak Notokusumo yang telah mendukung dan mendoakan agar diberikan kelancaran dalam pelaksanaan dan pengerjaan laporan skripsi ini.
5. Teman-teman tim *Mikrokapsul* "Nita Marsha (mama mikha), Miftachul Arief, Alvian Dio, Rakhlisya Ammriasilmy dan Rizka Khikmatun" yang telah bersama-sama saling mendukung serta mendorong dalam suka dan dukanya selama penelitian hingga penyelesaian laporan skripsi ini.

6. Spesial untuk “William Darwis Sorenti”, atas semua bantuan, do’a serta segala dukungan yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian hingga penyelesaian laporan skripsi ini.
7. Elisa Fitria Ramadhani, teman dari ospek sampai sekarang. Yang selalu mendukung dan mendo’akan hingga laporan skripsi ini selesai.
8. Teman-teman Cicak (nizhar, hafid, pinctada, atha, dina, elda, adi citra, intan) yang tak henti-hentinya selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Rizka Riandini aka Mbok Jamu yang senantiasa mendukung dan mendo’akan selama penelitian skripsi.
10. Teman-teman THP 2010 yang tidak bisa disebutkan satu persatu untuk saling mendukung, saling membantu serta saling mendoakan. SEMOGA KITA SEMUA SUKSES.



Malang, 27 Mei 2015

penulis

RINGKASAN

ARIYANI PRIHASTUTI Pengaruh Pemberian Mikrokapsul Mix *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* pada Mi Instan Lele (*Clarias gariepinus*) Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas*) Siap Saji pada Kondisi *GI tract* terhadap Viabilitasnya (di bawah bimbingan **Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes** dan **Dr. Ir. M. Firdaus, MP**)

Mi instan didefinisikan sebagai produk makanan kering yang dibuat dari tepung terigu dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain, siap dihidangkan setelah dimasak atau diseduh dengan air mendidih. Tepung terigu yang selama ini digunakan sebagai bahan baku pembuatan mi instan masih impor, sehingga diperlukan adanya alternatif bahan yang dapat mengurangi penggunaan tepung terigu. Salah satunya adalah menggunakan potensi alam Indonesia yang melimpah dan belum sepenuhnya dimanfaatkan secara maksimal seperti halnya umbi-umbian.

Pembuatan mi instan yang sebagian bahan bakunya difortifikasi dengan ubi jalar ungu dan ikan lele akan lebih memiliki nilai fungsional bila diperkaya dengan probiotik. Probiotik merupakan mikroba hidup atau spora yang dapat hidup atau berkembang dalam usus, dan dapat menguntungkan inangnya baik secara langsung maupun tidak langsung dari hasil metabolitnya. Penambahan probiotik pada mi instan ini harus tetap mampu mempertahankan viabilitasnya pada jumlah tertentu hingga masuk pada sistem pencernaan manusia. Berkurangnya viabilitas pada sebagian besar bakteri probiotik berhubungan dengan bagian pencernaan, hal ini berkaitan dengan konsentrasi asam dan garam empedu yang tinggi, sehingga perlu adanya suatu pengkapsul yang berfungsi untuk melindungi probiotik tersebut dari pengaruh luar yang ekstrim.

Pada penelitian yang terdahulu oleh Susanti (2013), yakni tentang pengaruh fortifikasi *L. acidophilus* yang terenkapsulasi karaginan terhadap viabilitas *L. acidophilus* pada mi instan ubi jalar ungu, menggunakan jumlah konsentrasi masing-masing 4%, 6% dan 8% memberikan pengaruh yang nyata dengan viabilitas tertinggi yaitu pada konsentrasi 8% sebesar 4,619 log cfu/g. Berdasarkan penelitian tersebut, perlu adanya penelitian yang dapat mempertahankan viabilitas probiotik di dalam pencernaan manusia yang sesuai dengan standar probiotik di produk pangan, sehingga dilakukan penelitian dengan menggunakan metode yang sama dan diaplikasikan kedalam mi instan yang telah siap saji dan melanjutkannya ke uji viabilitas *GI tract* untuk mengetahui kelayakan dalam sistem pencernaan manusia.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode eksperimen dilakukan untuk mengetahui sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh dari variabel lain. Pada penelitian pendahuluan dilakukan dengan tujuan mengetahui konsentrasi mikrokapsul probiotik *L. acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* yang terbaik untuk dilanjutkan ke penelitian utama. Penelitian ini dilakukan dengan penelitian yang berjenis Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana. Pada penelitian utama menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana, yang merupakan lanjutan dari penelitian pendahuluan dimana konsentrasi yang terbaik akan diberikan perlakuan simulasi pencernaan (*GI Tract*) pada pH 2, pH 7 dan pH 2-7. Mi dengan konsentrasi terbaik di penelitian pendahuluan masing-masing

ditimbang 2 gram lalu dicampur dengan 10 mL larutan SGJ dan 10 mL larutan SIJ lalu diinkubasi dalam *shaker incubator* (37°C , 50 rpm, 2 jam) kemudian disaring dan diuji viabilitas residunya.

Dari hasil penelitian ini, mi instan siap saji dengan penambahan konsentrasi mikrokapsul mix sebanyak 8% memiliki viabilitas simulasi pada *Gastric tract* (pH 2) dan *Intestine tract* (pH 7) yaitu sama-sama sebesar 4,8 log CFU/g. Sedangkan simulasi pada *Gastric tract* yang dilanjutkan ke *Intestine tract* (pH 2-7) viabilitasnya sebesar 0.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi sebagai salah satu syarat kelulusan di Universitas Brawijaya khususnya pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dengan judul “PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL MIX *Lactobacillus acidophilus* DAN *Bifidobacterium bifidum* PADA MI INSTAN LELE (*Clarias gariepinus*) UBI JALAR UNGU (*Ipomea batatas*) SIAP SAJI PADA KONDISI *GI TRACT* TERHADAP VIABILITASNYA”. Pada skripsi ini disajikan tulisan dalam pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan pada bab I, tinjauan pustaka pada bab II, materi dan metode penelitian pada bab III, hasil dan pembahasan pada bab IV, serta kesimpulan dan saran pada bab V.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti dan cermat, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan, maka penulis mengharapkan saran yang membangun untuk tulisan ini agar bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 27 Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

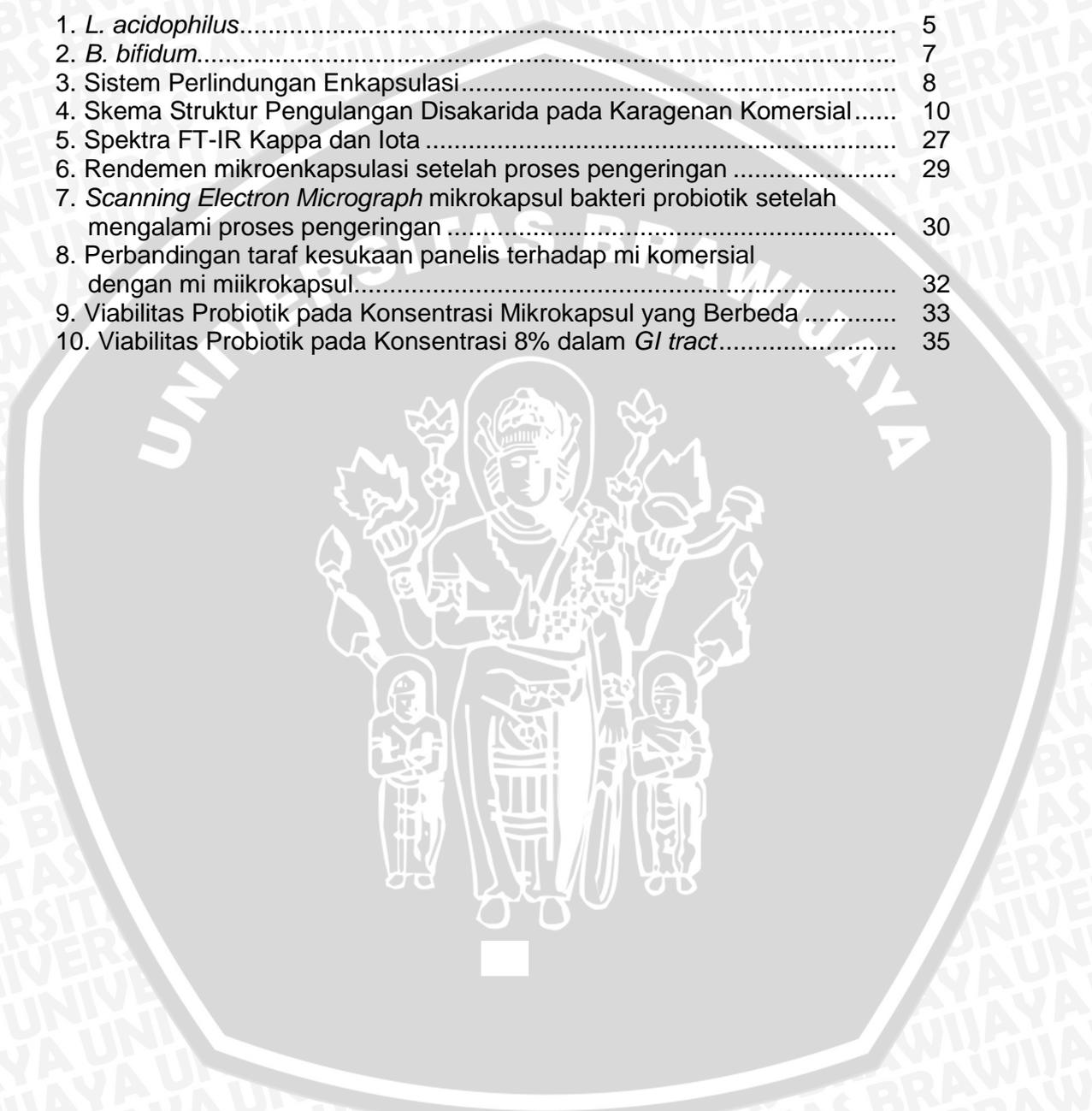
	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Probiotik	4
2.1.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	5
2.1.2 <i>Bifidobacterium bifidum</i>	6
2.2 Enkapsulasi	7
2.3 Karaginan.....	9
2.3.1 Kappa.....	10
2.3.2 Iota	11
2.4 Mi instan.....	12
2.5 <i>Gastrointestinal tract (GI tract)</i>	12
2.5.1 Lambung	13
2.5.2 Usus.....	14
2.6 Viabilitas Probiotik	15
3. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Bahan Penelitian	17
3.3 Alat Penelitian	18
3.4 Metode Penelitian	18
3.5 Tahap Penelitian	19
3.5.1 Penelitian Pendahuluan.....	19
3.5.2 Penelitian Utama.....	19
3.6 Prosedur Kerja Penelitian Pendahuluan.....	20
3.6.1 Pembuatan <i>Semi Refined Carageenan</i> (SRC) Kappa dan Iota.	20

3.6.2 Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel <i>Foam mat</i>	21
3.6.3 Pembuatan Mi Instan Lele Ubi Jalar Ungu.....	21
3.6.4 Pembuatan Mi Instan lele Ubi Jalar Ungu yang difortifikasi dengan <i>L. acidophilus</i> dan <i>B. bifidum</i>	22
3.7 Prosedur Kerja Penelitian Utama	22
3.7.1 Uji Viabilitas Mi Instan Lele Ubi Jalar Ungu dengan Penambahan Mikrokapsul Campuran <i>L. acidophilus</i> dan <i>B. bifidum</i> dengan Penyalut Kappa dan Iota SRC pada Kondisi pH Saluran Pencernaan secara <i>In vitro</i>	22
3.8 Analisa Pengujian.....	23
3.8.1 Kadar Air	23
3.8.2 Uji Organoleptik.....	24
3.8.3 <i>Cooking Loss</i>	24
3.8.4 <i>Elongasi</i>	24
3.8.5 <i>Hardness</i>	25
3.8.6 Viabilitas Probiotik	26
4. PEMBAHASAN	
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	27
4.1.1 Spektra FT-IR SRC <i>E. cottonii</i> dan <i>E. spinosum</i>	27
4.1.2 Rendemen Mikroenkapsulasi	28
4.1.3 Kadar Air	30
4.1.4 <i>Cooking Loss</i>	30
4.1.5 <i>Hardness</i>	31
4.1.6 <i>Elongasi</i>	31
4.1.7 Organoleptik.....	32
4.1.8 Viabilitas.....	33
4.2 Penelitian Utama	34
4.2.1 Viabilitas	34
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	42



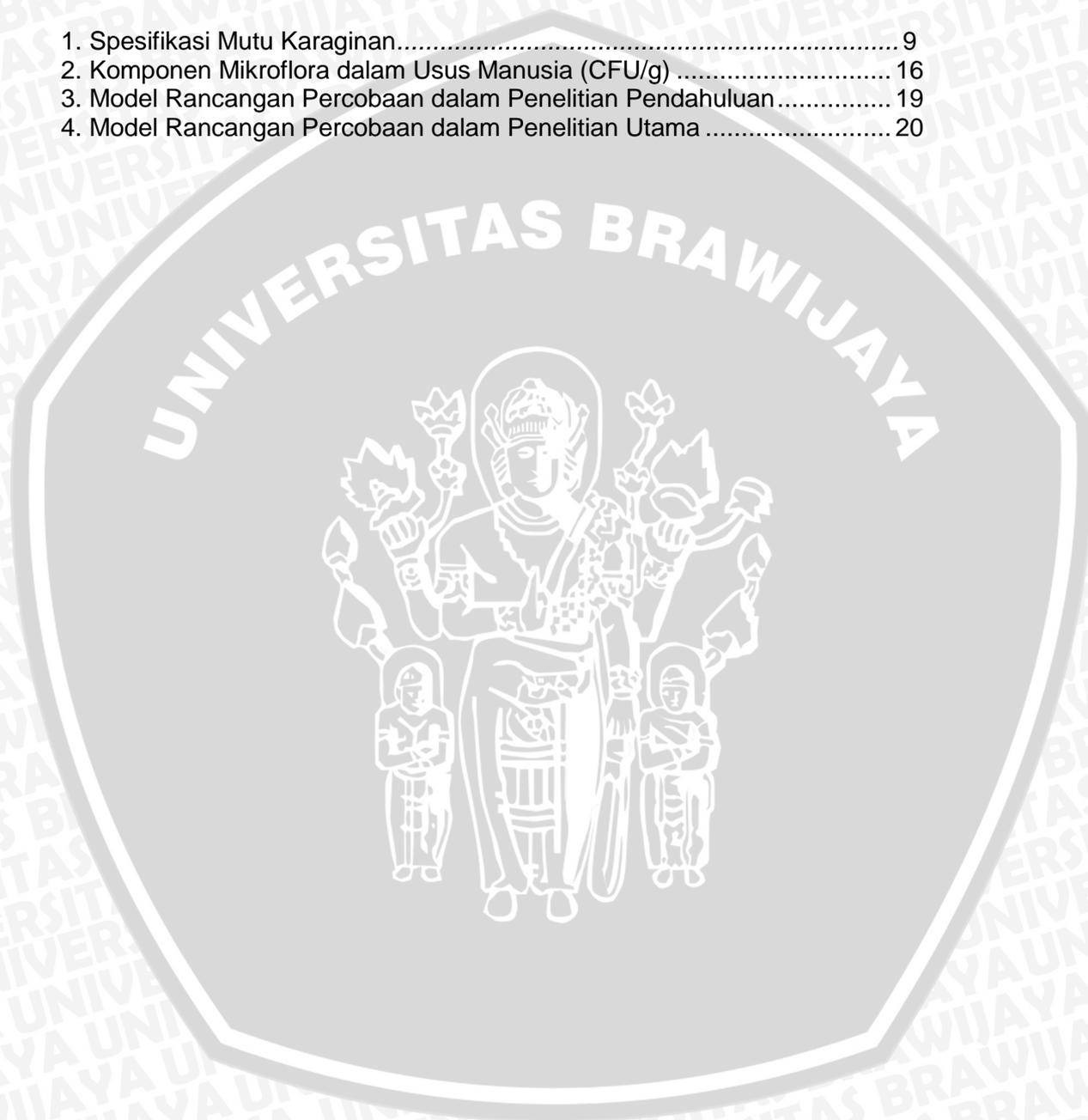
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>L. acidophilus</i>	5
2. <i>B. bifidum</i>	7
3. Sistem Perlindungan Enkapsulasi.....	8
4. Skema Struktur Pengulangan Disakarida pada Karagenan Komersial.....	10
5. Spektra FT-IR Kappa dan Iota	27
6. Rendemen mikroenkapsulasi setelah proses pengeringan	29
7. <i>Scanning Electron Micrograph</i> mikro kapsul bakteri probiotik setelah mengalami proses pengeringan	30
8. Perbandingan taraf kesukaan panelis terhadap mi komersial dengan mi mikro kapsul.....	32
9. Viabilitas Probiotik pada Konsentrasi Mikro kapsul yang Berbeda	33
10. Viabilitas Probiotik pada Konsentrasi 8% dalam <i>GI tract</i>	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Spesifikasi Mutu Karaginan.....	9
2. Komponen Mikroflora dalam Usus Manusia (CFU/g)	16
3. Model Rancangan Percobaan dalam Penelitian Pendahuluan.....	19
4. Model Rancangan Percobaan dalam Penelitian Utama	20



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan SRC dengan Metode PNG (Phillips dan William, 2001)	41
2. Pembuatan SRC	42
3. Pembuatan Mikrokapsul (Arief, 2014)	44
4. Pembuatan Mikrokapsul	45
5. Pembuatan Mi Instan Siap Saji Berprobiotik (Irmawan, 2014 termodifikasi)	47
6. Pembuatan Mi Instan Siap Saji Berprobiotik	48
7. Pengujian Mi Instan Siap Saji Berprobiotik dalam Kondisi <i>Gastric tract</i> (Chavvari <i>et al.</i> , 2010 termodifikasi)	50
8. Pengujian Mi Instan Siap Saji Berprobiotik dalam Kondisi <i>Intestinal tract</i> (Chavvari <i>et al.</i> , 2010 termodifikasi)	51
9. Pengujian dalam Kondisi Saluran Pencernaan	52
10. Hasil analisa Spektrofotometer FT-IR SRC <i>E. cottonii</i>	54
11. Hasil analisa Spektrofotometer FT-IR SRC <i>E. spinosum</i>	54
12. Data Karakteristik Mi Lele Ubi Jalar Ungu.....	55
13. Organoleptik Mi Instan lele Ubi Jalar Ungu	56
14. Viabilitas Probiotik pada Konsentrasi yang berbeda pada Mi Instan	57
15. Uji Normalitas dan ANOVA	58
16. Perhitungan Koloni Bakteri Setelah Pengujian dalam <i>GI tract</i>	59
17. Uji Normalitas dan ANOVA	60
18. Viabilitas probiotik sebelum dan setelah proses pengeringan	62



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini mi instan merupakan bahan pangan yang sangat digemari berbagai kalangan masyarakat. Pengolahan yang cepat dan praktis ditambah beragam jenis rasa membuatnya populer di kalangan masyarakat. Konsumsi mi instan semakin meningkat dari tahun ke tahun.

Mi instan didefinisikan sebagai produk makanan kering yang dibuat dari tepung terigu dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain, siap dihidangkan setelah dimasak atau diseduh dengan air mendidih (Astawan, 2004). Pembuatan mi instan yang sebagian bahan bakunya difortifikasi dengan ubi jalar ungu dan ikan lele akan lebih memiliki nilai fungsional bila diperkaya dengan probiotik.

Probiotik merupakan mikroba hidup atau spora yang dapat hidup atau berkembang dalam usus, dan dapat menguntungkan inangnya baik secara langsung maupun tidak langsung dari hasil metabolitnya. Probiotik dapat berupa bakteri, jamur atau ragi, namun yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) (Mutmainah *et al.*, 2010). Beberapa BAL diklaim sebagai bakteri probiotik antara lain *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium* karena merupakan mikroflora alami saluran pencernaan (Usmiati dan Utami, 2008).

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri asam laktat jenis *L. acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*. Berdasarkan laporan Pyar dan Peh (2013), *L. acidophilus* teridentifikasi sebagai bakteri gram negatif yang berbentuk coccus (batang), non motil serta bersifat katalase negatif. Bakteri ini memfermentasikan maltosa, laktosa, sukrosa dan glukosa akan tetapi tidak dapat

memfermentasi arabinosa dan sorbitol. *B. bifidum* merupakan bakteri yang bersifat an aerobik, gram positif, tidak membentuk struktur ganda, berbentuk *pleomorphic* (Ishibashi *et al.*, 1997).

Penambahan probiotik pada mi instan ini harus tetap mampu mempertahankan viabilitasnya pada jumlah tertentu hingga masuk pada sistem pencernaan manusia. Berkurangnya viabilitas pada sebagian besar bakteri probiotik berhubungan dengan bagian pencernaan, hal ini berkaitan dengan konsentrasi asam dan garam empedu yang tinggi (Cook *et al.*, 2012), sehingga perlu adanya suatu pengkapsul yang berfungsi untuk melindungi probiotik tersebut dari pengaruh luar yang ekstrim.

Pada penelitian yang terdahulu oleh Susanti (2013), yakni tentang pengaruh fortifikasi *L. acidophilus* yang terenkapsulasi karaginan terhadap viabilitas *L. acidophilus* dalam mi instan lele ubi jalar ungu, menggunakan jumlah konsentrasi masing-masing 4%, 6% dan 8% memberikan pengaruh yang nyata dengan viabilitas tertinggi yaitu pada konsentrasi 8% sebesar 4,619 log cfu/g. Berdasarkan penelitian tersebut, perlu adanya penelitian yang dapat mempertahankan viabilitas probiotik di dalam pencernaan manusia yang sesuai dengan standar probiotik di produk pangan, sehingga dilakukan penelitian dengan menggunakan metode yang sama dan diaplikasikan kedalam mi instan yang telah siap saji dan melanjutkannya ke uji viabilitas *GI tract* untuk mengetahui kelayakan dalam sistem pencernaan manusia.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pemberian mix *L. acidophilus* dan *B. bifidum* terkapsulat pada mi instan lele ubi jalar ungu berpengaruh terhadap viabilitas probiotik setelah melewati kondisi pH larutan simulasi saluran pencernaan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian mikrokapsul mix *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada mi instan lele ubi jalar ungu siap saji pada kondisi larutan pH larutan simulasi saluran pencernaan terhadap viabilitasnya.

1.4 Hipotesis

H₀ : Diduga pemberian mix *L. acidophilus* dan *B. bifidum* yang terkapsulasi karaginan mix kappa dan iota pada mi tidak memberikan pengaruh pada kondisi pH larutan simulasi pencernaan terhadap viabilitasnya.

H₁ : Diduga pemberian mix *L. acidophilus* dan *B. bifidum* yang terkapsulasi karaginan mix kappa dan iota pada mi memberikan pengaruh pada kondisi pH larutan simulasi pencernaan terhadap viabilitasnya.

1.5 Manfaat Penelitian

Memberikan informasi secara luas mengenai konsentrasi probiotik yang tepat kepada masyarakat luas sehingga tidak khawatir lagi mengonsumsi mi instan yang ditambahkan mix *L. acidophilus* dan *B. bifidum*.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Nutrisi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang Juli 2014 – Januari 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik

Probiotik merupakan mikroba hidup atau sporenya yang dapat hidup atau berkembang dalam usus, dan dapat menguntungkan inangnya baik secara langsung maupun tidak langsung dari hasil metabolitnya. Probiotik dapat berupa bakteri, jamur atau ragi. Tapi yang paling bersifat probiotik adalah bakteri. Salah satu bakteri yang berperan sebagai probiotik adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) (Mutmainah *et al.*, 2010).

Bakteri asam laktat terutama dari kelompok Bifidobacteria dan beberapa spesies laktobasili telah diketahui sebagai bakteri probiotik karena berperan penting dalam menjaga fungsi imun. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi sebagai probiotik, diantaranya memiliki aktivitas antimikroba dan antikarsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* terbukti bahwa merupakan probiotik yang tahan terhadap asam lambung, cairan empedu, mampu menempel pada dinding saluran cerna sehingga melindungi mukosa saluran cerna, dan mampu menghasilkan zat yang berpotensi sebagai antimikroba, berkompetisi dengan mikroorganisme patogen dalam hal nutrisi dan mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh yaitu respon sel-sel fagosit. Komposisi probiotik multipel lebih menguntungkan jika dibanding dengan mikroorganisme tunggal (Kusumaningrum, 2011).

Probiotik adalah inti/salut dari kelompok bakteri asam laktat yang mempunyai fungsi menyehatkan dan penting bagi kesehatan. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang apabila diberikan pada *host*, baik manusia maupun hewan, dalam jumlah cukup akan memberikan manfaat kesehatan (Setijawati *et al.*, 2011). Rizqiati *et al.* (2009) menjelaskan pentingnya viabilitas probiotik, yaitu

preparasi mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan. Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan dan mampu berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu.

2.1.1. *Lactobacillus acidophilus*

L. acidophilus teridentifikasi sebagai bakteri gram negatif yang berbentuk *coccus* (batang), non motil serta bersifat katalase negatif. Bakteri ini memfermentasikan maltosa, laktosa, sukrosa dan glukosa akan tetapi tidak dapat memfermentasi arabinosa dan sorbitol (Pyr dan Peh, 2013).

Menurut Garrity *et al.* (2004), klasifikasi bakteri ini adalah :

Domain : Bacteria
Kingdom : Bacteria
Phylum : Firmicutes
Order : Lactobacillales
Family : Lactobacillaceae
Genus : Lactobacillus
Scientific name : *Lactobacillus acidophilus*



Gambar 1. *L. acidophilus*
Sumber: Prescott *et al.* (2002)

L. acidophilus merupakan bakteri asam laktat yang berbentuk batang (basil) dan termasuk dalam kelompok *low Gram positive bacteri* atau bakteri yang memiliki lapisan peptidoglikan yang sama dengan bakteri Gram negatif sehingga

akan berwarna merah pada saat pewarnaan Gram. Bakteri dari jenis *Lactobacillus* akan tumbuh secara optimum pada pH antara 4,5 – 6,4 dan termasuk golongan *anaerob* fakultatif tetapi terkadang juga diklasifikasikan kedalam golongan *aerotolerant anaerobe* yang secara alamiah ditemukan pada tubuh manusia yaitu dalam mulut, saluran usus dan vagina. Bakteri ini tidak bersifat patogen (Prescott *et al.*,2002).

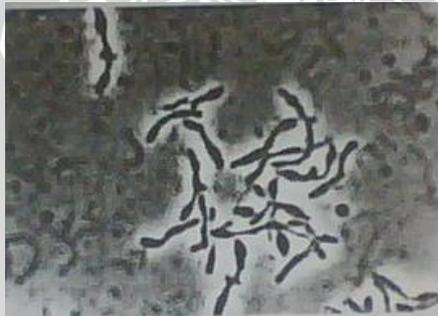
2.1.2. *Bifidobacterium bifidum*

Menurut Garrity *et al.* (2004), *Bifidobacterium bifidum* diklasifikasikan sebagai berikut :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Actinobacteria
Subclass	: Actinobacteridae
Order	: Bifidobacteriales
Family	: Bifidobacteriaceae
Genus	: Bifidobacterium
Specific descriptor	: bifidum
Scientific name	: <i>Bifidobacterium bifidum</i>

Standar internasional (*International Dairy Federation*) mengharuskan produk probiotik yang layak mengandung 10^7 bakteri per gram produk, atau 10^9 sel per ukuran penyajian ketika dijual, atau 10^6 - 10^8 sel/g tinja. Namun, banyak produk yang gagal memenuhi standar ini ketika mereka dikonsumsi. Hal ini disebabkan oleh kematian sel-sel probiotik dalam produk makanan selama penyimpanan, bahkan pada suhu pendingin. Akibatnya, permintaan industri teknologi yang memastikan stabilitas bifidobacteria dalam makanan tetap kuat, mengarah ke pengembangan teknologi sel bergerak untuk menghasilkan probiotik dengan sel yang dapat melawan faktor-faktor lingkungan dan stres (Manojlović *et al.*, 2010).

B. bifidum merupakan bakteri yang bersifat an aerobik, gram positif, tidak membentuk struktur ganda, berbentuk pleomorphic (Ishibashi *et al*, 1997). *Bifidobacterium* merupakan jenis probiotik yang penting digunakan bagi konsumsi manusia. Jenis bakteri ini memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap asam, akan tetapi mereka memiliki ketahanan yang lemah pada lingkungan yang merugikan seperti pada saluran pencernaan dan makanan fermentasi. Oleh karena itu penggunaan kultur bakteri hidup menjadi terbatas. Optimalisasi yang strategis berdasarkan pada adaptasi terhadap stres dan mekanisme perlindungan pada *Bifidobacterium* merupakan pilihan menarik untuk meningkatkan fungsi dan kegunaannya. Kemampuan *Bifidobacterium* untuk bertahan pada kondisi asam berdasarkan pada aplikasi adaptasi stres terhadap asam digunakan untuk meningkatkan toleransi terhadap asam (Sanz, 2007).



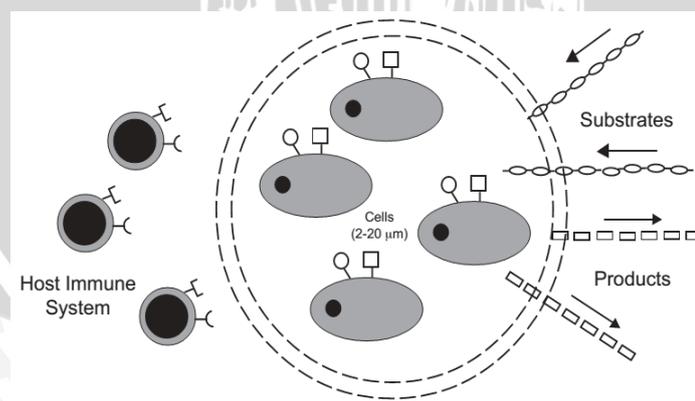
Gambar 2. *B. bifidum*
Sumber: Prescott *et al.* (2002)

2.2. Enkapsulasi

Enkapsulasi adalah pelapisan atau melindungi inti dengan materi polimer untuk menghasilkan mikrosfer dengan range ukuran 1-1000 μ m. Teknologi ini telah digunakan untuk mengenkapsulasi produk seperti obat-obatan, rasa, minyak atsiri, ekstrak tanaman enzim dan lain-lain. Pada beberapa dekade, teknologi ini juga telah diaplikasikan pada sel mikroba dan memberikan keuntungan berupa kapasitas sel yang besar, peningkatan daya tahan sel, termasuk peningkatan produksi produk mikroba (Rathore *et al.*, 2012).

Enkapsulasi adalah proses fisik dimana bahan aktif (bahan inti), seperti partikel padatan, tetesan air ataupun gas, dikemas dalam bahan sekunder (dinding), berupa lapisan film tipis. Proses ini digunakan untuk melindungi suatu zat agar tetap tersimpan dalam keadaan baik dan melepaskan zat tersebut pada kondisi tertentu saat digunakan. Ide dasar enkapsulasi berasal dari sel, yaitu permeabilitas selektif membran sel memberikan perlindungan terhadap inti sel dari kondisi lingkungan yang berubah-ubah dan berperan dalam pengaturan metabolisme sel. Enkapsulasi yang berkembang saat ini menggunakan prinsip yang sama untuk melindungi bahan aktif dari kondisi lingkungan yang tidak mendukung (Ariandy *et al.*, 2011).

Menurut Rizqiati *et al.* (2009), untuk komponen yang bersifat peka seperti mikroorganisme, dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya. Bahan yang umum digunakan untuk enkapsulasi adalah berbagai jenis polisakarida dan protein seperti pati, alginat, gum arab, gelatin, karagenan, albumin dan kasein. Penggunaan bahan untuk enkapsulasi perlu dipertimbangkan, karena masing-masing bahan mempunyai karakter yang berbeda dan belum tentu cocok dengan bahan inti yang akan dienkapsulasi



Gambar 3. Sistem perlindungan enkapsulasi
Sumber : Kallaspathy (2002)

2.3. Karaginan (Enkapsulat)

Karaginan merupakan salah satu *phycocolloid* yang diekstrak dari rumput laut merah, dimana kandungannya yang berperan pada fungsi struktural. Dia benar-benar memiliki ion polisakarida, komposisi galaktosa dengan tingkatan berbeda dan pola dari distribusi sulfat dalam rantai polimer, memiliki karakteristik dapat larut. Beberapa karaginan larut dalam air dingin, ada juga yang hanya larut pada air panas dan memiliki kemampuan *thermoreversible gel* dengan menggunakan potasium atau ion kalsium. Secara luas karaginan digunakan pada industri makanan dan obat-obatan. Proses pembuatan karaginan terbagi dalam 2 tahapan, yang pertama melarutkan polisakarida kedalam pelarut, lalu disaring untuk menghilangkan padatan, pemurnian dengan cara presipitasi menggunakan pelarut organik atau garam potasium. Tahap yang kedua karaginan tidak diekstraksi, rumput laut diberi perlakuan dengan pelarut alkali, lalu dihilangkan pelarut murninya, yang tersisa hanya karaginan dan selulosa. Proses terakhir adalah pengeringan dan penggilingan (Hernandez, 2013).

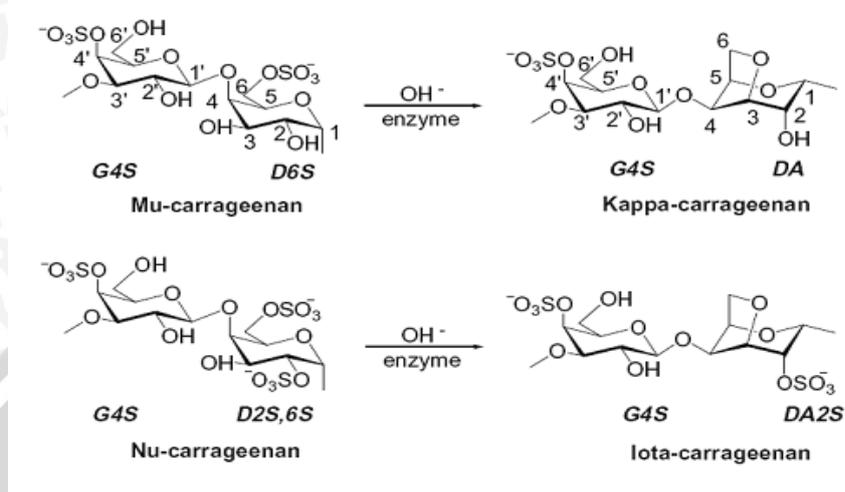
Tabel 1. Spesifikasi mutu karaginan

Spesifikasi	FAO	FCC	EEC
Sulfat (%)	15-40	18-40	15-40
Viskositas (cps)	Min 5	Min 5	Min 5
Kadar abu (%)	15-40	Maks 35	15-40
Kadar abu tak larut asam (%)	Maks 2	Maks 1	Maks 2
Logam berat :			
Pb (mg/L)	Maks 10	Maks 10	Maks 10
As (mg/L)	Maks 3	Maks 3	Maks 3

Sumber: Peranginangin *et al.* (2011)

Tiga jenis karaginan komersial yang paling penting adalah karaginan iota, kappa dan lambda. Sedangkan karaginan mu adalah prekursor karaginan kappa, karaginan nu adalah prekursor iota. Jenis karaginan yang berbeda ini diperoleh dari spesies rhodophyta yang berbeda. Secara alami, jenis iota dan kappa dibentuk secara enzimatik dari prekursornya oleh sulfohidrolase.

Sedangkan secara komersial, jenis ini diproduksi menggunakan perlakuan alkali atau ekstraksi dengan alkali (Distantina *et al.*, 2010).



Gambar 4. Skema struktur pengulangan disakarida pada karagenan komersial

Sumber: Distantina *et al.* (2010)

Spesies yang umum dibudidayakan oleh petani adalah *E. cottonii* yang menghasilkan kappa karagenin dan *E. spinosum* yang menghasilkan iota karagenin (Widyastuti, 2010).

2.3.1. Kappa

E. cottonii akan menghasilkan tipe kappa-karagenin, dengan sifat gel yang keras dan kokoh. Salah satu metoda proses yang umum digunakan untuk mengekstrak adalah metoda pemanasan dengan alkali. Pemanfaatan *E. cottonii* dengan hasil ekstrak karagenin adalah sebagai bahan pengenkapsulat (*encapsulating agent*) pada metoda enkapsulasi. (Setijawati *et al.*, 2011)

Menurut Mappiratu (2009), rumput laut jenis *E. cottonii* mengandung karagenin kelompok kappa karagenin dengan kandungan yang relatif tinggi, yakni sekitar 50 % atas dasar berat kering. Karagenin dari kelompok kappa (kappa karagenin) termasuk produk olahan rumput laut yang bernilai ekonomi tinggi, yakni 10 sampai 20 kali harga rumput laut. Kappa karagenin digunakan



sebagai bahan baku industri farmasi, kosmetik, industri pangan dan industri lainnya

Dalam ekstrak rumput laut jenis kappa beberapa D-galaktosa berisi kelompok 6-sulfat ester dan beberapa 3.6-anhydro-D-galaktosa berisi kelompok-kelompok ester 2-sulfat. ester 6-sulfat kelompok mengurangi kekuatan gelling, tetapi dengan alkali mungkin untuk transeliminasi 6-sulfat kelompok, yang mengakibatkan pembentukan 3.6-anhydro D-galaktosa dan menyebabkan keteraturan dari molekul dan dengan demikian kekuatan *gelling* meningkat. Kappa terbuat dari spesies *E. cottonii* dan *Chondrus* dan *Gigartina* (Cp Kelco, 2014).

2.3.2. Iota

Menurut FAO (2001), iota karaginan merupakan karaginan yang diekstraksi dari rumput laut jenis *E. spinosum*. Iota karaginan akan menunjukkan beberapa ciri pada saat dilakukan analisa gugus fungsional menggunakan spektrofotometer FT-IR. Gugus ester sulfat akan muncul pada panjang gelombang 1220 – 1260 cm^{-1} ; gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa pada panjang gelombang 928-933 cm^{-1} , gugus fungsi galaktosa-4-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 840-850 cm^{-1} serta gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa-2-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 800-805 cm^{-1} .

Rasyid (2003) melaporkan bahwa perbedaan antara kappa dan iota karaginan adalah pada proses esterifikasi dengan asam sulfat, dimana kappa karaginan teresterifikasi dengan gugus hidroksil pada C-4 galaktosil dengan kadar sulfat sebesar 25 - 30%. Pada iota karaginan, teresterifikasi dengan gugus hidroksil pada C-2 anhidro galaktosil dengan kadar sulfat sekitar 23 - 35%.

2.4. Mi Instan

Mi secara luas dikonsumsi masyarakat dunia dan menjadi konsumsi global kedua selain roti. Pasar mi instan berkembang secara pesat di negara Asia, dan mendapat kepopuleran di pasar Barat. Tepung terigu yang sering digunakan pada pembuatan mi instan tidak hanya memiliki kandungan serat dan protein yang rendah, tetapi juga kandungan asam amino lysine yang kurang (Jayasena, 2008).

Mi instan didefinisikan sebagai produk makanan kering yang dibuat dari tepung terigu dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain, siap dihidangkan setelah dimasak atau diseduh dengan air mendidih (Astawan, 2004). Jenis mi ini disebut instan karena proses pemasakannya sangat singkat, hanya memakan waktu lebih kurang 4 menit. Mi instan bisa juga hanya diseduh dengan air panas dan siap dihidangkan. Mi instan dibuat dari untaian mi (mi mentah) yang selanjutnya dikukus dan dikeringkan dengan cara digoreng. Proses pengukusan dan pengeringan akan memodifikasi pati sehingga dihasilkan tekstur mi kering yang berpori dan mudah direhidrasi. proses pengukusan pada suhu 100°C selama 1-5 menit. Penggorengan dilakukan pada suhu $140\text{-}160^{\circ}\text{C}$ selama 1-2 menit. Produk akhir yang dihasilkan memiliki kadar minyak 15-20% dan kadar air 2-5% (Rustandi, 2011).

2.5. Gastrointestinal tract (GI tract)

Saluran pencernaan manusia terdiri dari mulut, rongga mulut, kerongkongan, perut, usus kecil dan usus besar. Usus besar dimulai di persimpangan ileum, daerah sekum, usus besar yang naik, usus besar tranverse, usus menurun, dan kolon sigmoid. Fungsi biologis dari usus besar meliputi penyerapan, sekresi air dan elektrolit, penyimpanan dan ekskresi material sampah (Gibson dan Roberfroid, 1994).

Sistem pencernaan manusia yang dikenal sebagai *digestive tract* atau *GI tract* merupakan suatu rangkaian dari organ yang terhubung satu sama lain dimulai dari mulut sampai dengan anus. Sistem pencernaan berfungsi untuk mendapatkan energi dan nutrisi dari makanan yang kita makan. Sistem pencernaan makanan dapat memiliki panjang sampai 30 kaki atau kurang lebih sekitar 9 meter pada orang dewasa. Sistem ini terbagi menjadi delapan organ utama yaitu mulut, esofagus, lambung, usus kecil, usus besar, serta dibantu dengan hati, pancreas serta kelenjar empedu yang mensekresikan zat untuk membantu proses pencernaan. Organ-organ ini memiliki enam tugas utama yaitu proses pencernaan, sekresi, mendorong makanan, mencerna, menyerap serta pembuangan (ASGE Press Room, 2014).

2.5.1. Lambung

Lambung merupakan organ besar yang memiliki struktur tebal serta mensekresikan cairan-cairan pencernaan. Aktifitas sekresi ini dirangsang oleh bau dan rasa makanan serta gerakan mengunyah makanan. Cairan yang disekresikan merupakan enzim pepsin dengan pH 2 yang mengandung asam klorida (HCl) serta lendir. pH yang sangat asam ini membantu membunuh bakteri-bakteri yang ikut masuk kedalam saluran pencernaan bersama makanan (Pearce, 1973).

Kelenjar dari lapisan mukosa lambung akan mensekresikan cairan pencernaan penting yaitu getah lambung berupa cairan bening tidak berwarna yang mengandung 0,4% asam hidroklorida (HCl). Selain itu dalam lambung juga terdapat enzim pencernaan yaitu pepsin yang berasal dari pepsinogen dalam lingkungan asam hidroklorida dan berfungsi untuk mengubah protein menjadi pepton (Cook *et al.*, 2012).

2.5.2. Usus

Saluran usus terbagi menjadi dua bagian yaitu usus kecil dan usus besar. Usus kecil terbagi lagi menjadi tiga yaitu duodenum, jejunum dan ileum. Fungsi usus kecil antara lain mencerna protein menjadi peptida dan asam-asam amino. Peptida kemudian dipecah menjadi asam amino, lemak dipecah menjadi asam lemak dan gliserol serta karbohidrat dipecah menjadi senyawa gula yang lebih sederhana (Cook *et al.*, 2012).

Senyawa prebiotik yang tidak dapat dicerna oleh usus halus akan mencapai usus besar, selanjutnya akan didegradasi atau difermentasi oleh bakteri usus dan dapat menstimulir pertumbuhan BAL (Daud *et. al.*, 2009). Usus besar merupakan usus yang memiliki berat paling besar pada saluran pencernaan manusia, ia memiliki hingga 10^{12} bakteri untuk setiap gram usus. Di dalamnya terjadi proses fermentasi, koloni bakteri mampu menghasilkan kandungan yang memiliki dua efek yaitu positif dan negatif secara luas pada fisiologi usus sebagai dampak sistemik yang lain. Misalnya koloni bakteri menghasilkan asam lemak rantai pendek (SCFA) dari metabolisme karbohidrat kompleks dan protein (Gibson dan Roberfroid, 1994).

Menurut Firmansyah (2001), di dalam organ usus terdapat kelompok mikroflora yang komposisinya mirip dengan mikroflora yang ada di kolon (usus besar). Istilah mikroflora usus umumnya diartikan sebagai flora bakteri dari tinja karena flora usus bagian distal (ileum-kolon) hampir identik dengan yang terdapat pada tinja. Tampak bahwa pada saluran cerna bagian proksimal jumlah bakteri relatif sedikit dibandingkan dengan di dalam kolon. Mendekati katup ileosekum, yaitu pada ileum, jumlah bakteri mulai meningkat dan komposisinya juga mirip dengan yang terdapat di dalam kolon.

2.6. Viabilitas Probiotik

Menurut Sanders *et al.* (2007), viabilitas (umumnya dinilai sebagai CFU / g) harus dipertahankan pada tingkat yang dapat memberikan efek kesehatan. Meskipun beberapa penurunan tingkat viabilitas secara umum dari waktu ke waktu, formulasi awal harus menjamin bahwa tingkat viabilitas tidak turun di bawah apa yang ditunjukkan pada standar.

Probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 10^7 cfu/mL atau gram akan menunjukkan efek fungsional probiotik. Mikroflora probiotik yang memproduksi asam laktat biasanya berasal dari golongan *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria* (Setijawati *et al.*, 2011). Persyaratan jumlah minimum bakteri probiotik yang dikemukakan oleh Ooi dan Min-Tze (2010) agar mampu memberikan efek positif bagi kesehatan manusia sebesar 10^7 - 10^{11} CFU/gram makanan.

Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^6 CFU/g atau jumlah strain probiotik yang harus dikonsumsi setiap hari sekitar 10^8 CFU/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan. (Shah, 2007). Komponen mikroflora didalam usus manusia dapat dilihat pada

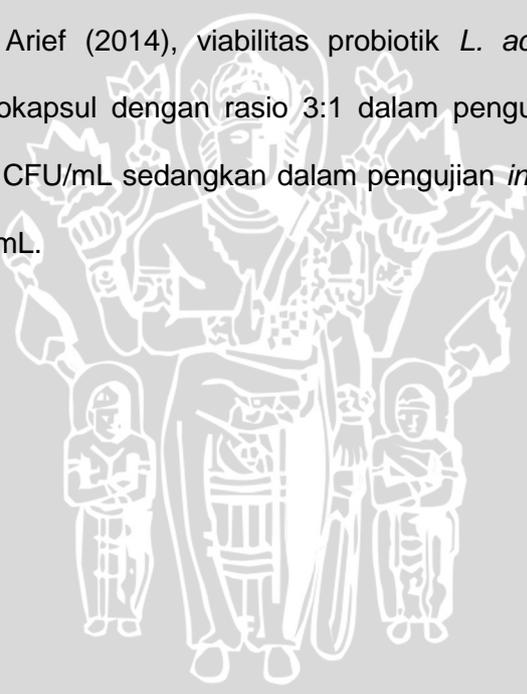
Tabel 2.

Tabel 2. Komponen mikroflora dalam usus manusia (CFU/g)

Jumlah bakteri	Lambung 0 - 10 ³	Jejunum 0 - 10 ⁴	Ileum 10 ⁵ - 10 ⁸	Kolon 10 ¹⁰ -10 ¹²
Aerob dan anaerob fakultatif				
• Streptococcus	0 - 10 ³	0 - 10 ⁴	10 ² - 10 ⁵	10 ⁴ - 10 ⁹
• Lactobacillus	0 - 10 ³	0 - 10 ⁴	10 ² - 10 ⁵	10 ⁶ - 10 ¹⁰
• Staphylococcus	0 - 10 ²	0 - 10 ²	10 ² - 10 ⁵	10 ² - 10 ⁶
• Enterobacteria	0 - 10 ²	0 - 10 ³	10 ³ - 10 ⁸	10 ⁵ - 10 ⁸
• Jamur	0 - 10 ²	0 - 10 ²	10 ² - 10 ⁴	10 ⁴ - 10 ⁶
Anaerob				
• Bacteroides	0	0	10 ³ - 10 ⁷	10 ⁶ - 10 ¹²
• Bifidobacteria	0	0	10 ³ - 10 ⁶	10 ⁸ - 10 ¹⁰
• Clostridium	0	0	10 ² - 10 ⁴	10 ⁸ - 10 ⁹
• Eubacteria	0	0	0	10 ⁹ - 10 ¹²

Sumber : Firmansyah (2001)

Pada penelitian Arief (2014), viabilitas probiotik *L. acidophilus* dan *B. bifidum* di dalam mikrokapsul dengan rasio 3:1 dalam pengujian *gastric tract* ialah sebesar 4,46 log CFU/mL sedangkan dalam pengujian *intestinal tract* ialah sebesar 4,53 log CFU/mL.



3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2014 - Januari 2015 bertempat di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium Nutrisi, Biokimia dan Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang serta Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Malang.

3.2 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan dalam pembuatan *Semi Refined Carageenan* (SRC) adalah *E. cottonii* dan *E. spinosum* yang didatangkan dari perairan Kabupaten Sumenep Pulau Madura Jawa Timur berupa rumput laut basah yang dipanen pada umur 45 hari. Sampel rumput laut dibawa dengan menggunakan wadah berupa kardus untuk mencegah bahan mengalami kekeringan selama transportasi.

Sedangkan bakteri uji menggunakan jenis *L. acidophilus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan *B. bifidum* yang diperoleh dari stok bakteri Universitas Gajah Mada Daerah Istimewa Yogyakarta.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan SRC antara lain air, aquadest, CaCl_2 teknis, KOH teknis dan KCl teknis. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan mikrokapsul adalah sol SRC, KCl 3,9 M, aquadest serta kain saring. Bahan utama pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu adalah tepung terigu, tepung ubi jalar ungu, tepung daging lele, garam, air, dan telur. Pengujian viabilitas *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dalam simulasi pH saluran

pencernaan antara lain MRS-Agar, *Bile Salt Oxgall*, NaCl, enzim pepsin, HCl, KCl, CaCl₂ dan NaHCO₃.

3.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan SRC adalah baskom, blender, beaker glass 1000 mL, gelas ukur 100 mL, waterbath, stopwatch, spatula, kain saring, timbangan analitik, loyang, pH paper, dan ayakan. Alat yang digunakan pada mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dan *B. bifidum* adalah beker glass 1000 mL, hotplate, magnetic stirrer, gelas ukur 100 mL, bola hisap, pipet tetes, pipet volume 10 mL, kulkas dan spatula, oven, Loyang, beaker glass 50 mL. Alat yang digunakan untuk menganalisa viabilitas *L. acidophilus* dan *B. bifidum* adalah tabung reaksi, cawan petri, *stirrer incubator* serta inkubator dan timbangan sartorius. Alat untuk membuat mi instan lele ubi jalar ungu adalah baskom, gilingan mi, timbangan, panci dan wajan.

3.4 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen dilakukan untuk mengetahui sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel lain. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya didalam variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah penambahan *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan konsentrasi yang berbeda pada mi instan lele ubi jalar ungu, terhadap variabel terikat viabilitas *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada larutan simulasi pH saluran pencernaan secara *in vitro*.

3.5 Tahap Penelitian

3.5.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan tujuan mengetahui konsentrasi mikrokapsul probiotik *L. acidophilus* dan *B. bifidum* yang terbaik untuk dilanjutkan ke penelitian utama. Penelitian ini dilakukan dengan penelitian yang berjenis Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain rancangan percobaan untuk penelitian pendahuluan dapat dilihat pada **Tabel 3** dibawah ini;

Tabel 3. Model rancangan percobaan dalam penelitian pendahuluan

Konsentrasi Mikrokapsul Probiotik	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	A ₁	A ₂	A ₃		
B	B ₁	B ₂	B ₃		
C	C ₁	C ₂	C ₃		

Keterangan :

A = Mikrokapsul Probiotik 4 % dari total bahan

B = Mikrokapsul Probiotik 6 % dari total bahan

C = Mikrokapsul Probiotik 8 % dari total bahan

3.5.2. Penelitian Utama

Penelitian utama ini merupakan lanjutan dari penelitian pendahuluan, dimana konsentrasi yang terbaik akan diberikan perlakuan simulasi pencernaan pada pH 2, pH 7 dan pH 2-7. Penelitian utama ini dilakukan dengan rancangan penelitian yang berjenis Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain rancangan percobaan untuk penelitian utama dapat dilihat pada **Tabel 4**;

Tabel 4. Model rancangan percobaan dalam penelitian utama

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A ₁					
A ₂					
A ₃					

Keterangan :

- A₁ = Perlakuan simulasi *Gl tract* pH 2
 A₂ = Perlakuan simulasi *Gl tract* pH 7
 A₃ = Perlakuan simulasi *Gl tract* pH 2 hingga 7

Model Matematis :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}; i = 1, 2, \dots, t$$

Dimana :

- Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
 μ = nilai tengah umum
 T_i = pengaruh perlakuan ke-i
 ε_{ij} = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji F. Jika hasil analisis keragaman menunjukkan adanya perbedaan ($F_{\text{tabel } 5\%} < F_{\text{hit}} < F_{\text{tabel } 1\%}$ atau $F_{\text{hit}} > F_{\text{tabel } 1\%}$) maka dilanjutkan dengan uji BNT 5% menggunakan program SPSS V.18.0.

3.6 Prosedur Kerja Penelitian Pendahuluan

3.6.1. Pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Kappa dan Iota

Prosedur kerja dalam pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dari jenis Kappa dan Iota yaitu menggunakan metode PNG yang berdasarkan dari penelitian Phillips dan William (2001) sebagai berikut, *E. cottonii* (sumber kappa) dan *E. spinosum* (sumber Iota) segar ditimbang dan dicuci sampai bersih lalu diekstraksi dalam larutan alkali dengan konsentrasi 6% pada suhu 70-74°C selama 2 jam, kemudian dicuci kembali dengan air bersih sampai bau larutan

alkali hilang (penetralan) selanjutnya rumput laut tersebut dikeringkan. Rumput laut yang dikeringkan kemudian digiling sehingga menjadi SRC, dengan kappa didapatkan dari *E. cottonii* dan iota didapatkan dari *E. spinosum*

3.6.2. Pembuatan mikrokapsul dengan metode gel partikel *foam mat*

Prinsip dari mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dan *B. bifidum* yaitu suspense sel dienkapsulasi sol *semi SRC* yang telah menggejel pada suhu 42-45⁰C dan di lapisi lagi menggunakan busa putih telur, kemudian dikeringkan pada suhu 40⁰C. Pembuatan mikroenkapsulasi dengan metode gel partikel *foam mat* berdasarkan penelitian Arif (2015) adalah sebagai berikut, ditimbang 2,25 g karaginan (1,125 g kappa karaginan dan 1,125 g iota karaginan) ditambahkan 30 mL akuades kemudian dipanaskan di atas *hot plate* hingga mencapai suhu 80⁰C, sambil terus diaduk karaginan diangkat dari *hot plate* dan suhunya diturunkan hingga 40⁰C sambil terus diaduk agar tidak cepat menggelasi. Sebanyak 30 mL kultur *L. acidophilus* dan *B. bifidum* di masukan ke dalam sol karaginan, dan diaduk hingga homogen. Campuran sel dan sol dimasukan ke dalam larutan 75 mL larutan KCl 3,9 M menggunakan pipet tetes, pengadukan dilakukan menggunakan stirrer selama 10 menit, mikrokapsul yang didapat disaring menggunakan kain saring sampai didapatkan residu. Penambahan busa putih telur mengacu pada hasil penelitian terdahulu oleh Kartikasari (2013), residu tersebut ditambahkan dengan busa putih telur sebanyak 17,5% dari total residu. Kemudian campuran residu dan busa putih telur dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45⁰C dan didapat mikrokapsul.

3.6.3. Pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu

Pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu adalah mi instan yang disubstitusi dengan tepung ubi jalar ungu dan difortifikasi dengan tepung daging lele. Bahan pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu adalah tepung terigu 40 g, tepung ubi jalar ungu 5 g, tepung lele dumbo 5 g, telur 21 mL dan air 18 mL. Pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu berdasarkan metode Astawan (2004) sebagai berikut,

pertama-tama dicampurkan 40 g tepung terigu, 5 g tepung ubi jalar ungu, 5 g tepung lele dumbo, 21 mL telur, 18 mL air dan diaduk sampai semua bahan tercampur merata, dilanjutkan dengan pelempengan mi menggunakan mesin *roll press*, setelah itu pencetakan mi menjadi pilinan, pemasakan awal dengan cara dikukus selama 3 menit, lalu digoreng mi instan selama 100 menit dengan suhu 120°C. Didapatkan mi instan lele ubi jalar ungu.

3.6.4. Pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu yang difortifikasi dengan *L. acidophilus* dan *B. bifidum*

Prinsip pembuatannya yaitu mi instan lele ubi jalar ungu digoreng dengan cara *deepfried*. Pembuatan mi instan lele ubi jalar ungu yang difortifikasi *L. acidophilus* dan *B. bifidum* sebagai berikut, pertama tepung terigu dan pensubstitusi dicampur menjadi satu dan diaduk sampai rata. Adonan dibentuk menjadi lembaran, setelah menjadi lembaran dan dipilin menjadi untaian mi. Untaian mi tersebut lalu dikukus, kemudian digoreng dengan suhu 120°C. Mi yang telah digoreng kemudian didinginkan. Didapatkan mi instan. Kemudian direbus kembali dan ditiriskan, lalu ditaburi mikrokapsul probiotik dan diaduk hingga merata.

3.7. Prosedur Kerja Penelitian Utama

3.7.1. Uji viabilitas mi instan lele ubi jalar ungu dengan penambahan mikrokapsul campuran *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan penyalut kappa dan iota SRC pada kondisi pH saluran pencernaan secara *in vitro*.

Metode pengujian viabilitas mi instan lele ubi jalar ungu yang ditambahkan mikrokapsul campuran *L. acidophilus* dan *B. bifidum* sebanyak 8% pada simulasi kondisi pencernaan menggunakan metode Chávvari *et al.* (2010) sebagai berikut, simulasi jus isi lambung (*Simulated Gastric Juice* / SGJ) dibuat dari 9 g/L NaCl yang mengandung 3 g/L pepsin dengan asam klorida (HCl) yang memiliki pH 2. Sebanyak 2 g mi instan lele ubi jalar ungu yang ditambahkan mikrokapsul campuran *L. acidophilus* dan *B. bifidum* sebanyak 8% dimasukkan kedalam 10

mL SGJ lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 120 menit dengan pengadukan konstan 50 rpm.

Simulasi jus isi usus (*Simulated Intestinal Juice / SIJ*) dibuat dengan melarutkan *bile salt* pada larutan intestinal (6,5 g/L NaCl, 0,835 g/L KCl, 0,22 g/L CaCl₂ dan 1,386 g/L NaHCO₃) yang memiliki pH 7,5. Selanjutnya sebanyak 2 g sampel mi instan lele ubi jalar ungu yang ditambahkan mikrokapsul campuran *L. acidophilus* dan *B. bifidum* sebanyak 8% dimasukkan *shaker incubator* ke dalam dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 120 menit. Jumlah bakteri yang mampu bertahan hidup dihitung dengan menggunakan metode MRS agar secara aerobik dan diinkubasi pada 37° C untuk *L. acidophilus* selama 2 hari. sedangkan untuk *B. bifidum* diinkubasi pada suhu 39° C secara an-aerobik selama 2 hari.

3.8 Analisa Pengujian

3.8.1. Kadar air

Prinsip dari analisis kadar air adalah bahwa air yang terkandung dalam suatu bahan akan menguap bila bahan tersebut dipanaskan pada suhu 105⁰ C selama waktu tertentu. Perbedaan antara berat sebelum dan sesudah dipanaskan adalah kadar air. Penentuan kadar air menurut Sudarmadji *et al.* (2003) sebagai berikut, sampel seberat ± 3 g dimasukkan ke dalam cawan alumunium. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105⁰ C selama 4-6 jam. Setelah itu sampel yang kering ditimbang dan dihitung berat konstannya dan didapatkan hasil kadar air.

Rumus perhitungan kadar air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Bobot sampel awal (g)} - \text{Bobot sampel akhir (g)}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

3.8.2. Uji Organoleptik

Organoleptik adalah ilmu pengetahuan yang menggunakan indera manusia untuk mengukur tekstur, penampakan, aroma dan flavor produk pangan. Pada prinsipnya terdapat 3 jenis uji organoleptik, yaitu uji perbedaan (*discriminative test*), uji deskripsi (*descriptive test*) dan uji afektif (*affective test*). Uji perbedaan digunakan untuk memeriksa apakah ada perbedaan diantara contoh-contoh yang disajikan. Uji deskripsi digunakan untuk menentukan sifat dan intensitas perbedaan tersebut. Kedua kelompok uji di atas membutuhkan panelis yang terlatih atau 2 berpengalaman. Sedangkan uji afektif didasarkan pada pengukuran kesukaan (atau penerimaan) atau pengukuran tingkat kesukaan relatif.

3.8.3 *Cooking loss*

Cooking loss atau Kehilangan Padatan Akibat Pemasakan (KPAP) merupakan banyaknya padatan yang terkandung dalam mi kering yang keluar serta terlarut ke dalam air selama pemasakan. Penentuan *cooking loss* / KPAP dilakukan dengan cara merebus ± 5 g mi dalam 150 mL air. Setelah mencapai waktu optimum perebusan, mi ditiriskan dan disiram air. Kemudian ditiriskan kembali selama 5 menit. Mi kemudian ditimbang dan dikeringkan pada suhu 105⁰ C sampai berat konstan. Kemudian ditimbang kembali (Ulfa, 2009)

Rumus perhitungan *cooking loss*

$$KPAP = \frac{\text{Berat setelah dikeringkan (g)}}{[\text{berat awal (1-kadar air)}]} \times 100\%$$

3.8.4 *Elongasi*

Menurut Ulfa (2009), *elongasi* atau pemanjangan mi diukur dengan menggunakan alat *Tensile Strenght Tester*. Sampel mi yang telah direhidrasi

dengan panjang 18 cm disiapkan kemudian ujungnya dipasang pada bagian penjepit (klem) atas dari alat dan dikeraskan (dikunci). Ujung mi lainnya dipasang pada klem bawah dan dikeraskan. Selanjutnya pengunci bagian klem atas dikendorkan sehingga klem atas dapat bergerak bebas untuk mendapatkan penempatan contoh uji yang benar (vertikal dan tidak terpuntir). Pengukuran elongasi mi siap dilakukan. Untuk memulai pengukuran, tuas yang ada disebelah kanan ditekan kebawah sehingga alat akan menarik klem bawah dan sampel mi mendapat beban tarik tertentu. Bersamaan dengan itu jarum penunjuk bergerak ke atas menunjuk angka tertentu sesuai dengan beban tarik yang bekerja pada sampel mi. Pada saat tertentu sampel mi akan putus dan jarum penunjuk berhenti bergerak. Nilai yang ditunjuk oleh jarum pada skala piringan di bagian atas kanan alat menunjukkan nilai pemanjangan.

Rumus perhitungan *elongasi*

$$\text{Pemanjangan (\%)} = \frac{\text{Perpanjangan contoh uji (cm)}}{\text{Panjang uji awal (cm)}} \times 100\%$$

3.8.5 *Hardness*

Uji *Hardness* menggunakan metode *Tekstur Analyzer* by TA-XT menurut Ulfa (2009), mi direbus dalam air mendidih selama 10 menit. Setelah itu langsung disiram dengan air dingin dan ditiriskan selama 15 menit sehingga menjadi kering. Alat *tekstur analyzer* dinyalakan dan disetting pengujian *Tekstur* profil analisis dengan probe 35 mm. Mi diletakkan ditengah papan pengukuran dan *Tekstur Analyzer* dimulai. Hasil yang keluar di komputer dicetak dan parameter berupa *hardness* (kekerasan) dan *resiliency* (kekenyalan) digunakan untuk data sifat fisik mi.

3.8.6 Viabilitas probiotik

Pengujian viabilitas sel pada setiap tahapan proses (baik kering beku maupun kering semprot) dilakukan pada media MRS agar dengan metode *surface planting* dengan beberapa seri pengenceran (Harmayani *et al.*, 2001). Pengujian viabilitas *L. acidophilus* menurut Srianta *et al.* (2007) sebagai berikut, *L. acidophilus* dituangkan ke dalam MRS agar, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasi, dilanjutkan dengan perhitungan jumlah total bakteri.

Cara perhitungan TPC (Fardiaz 1988) adalah sebagai berikut:

$$\text{TPC (koloni/mL)} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

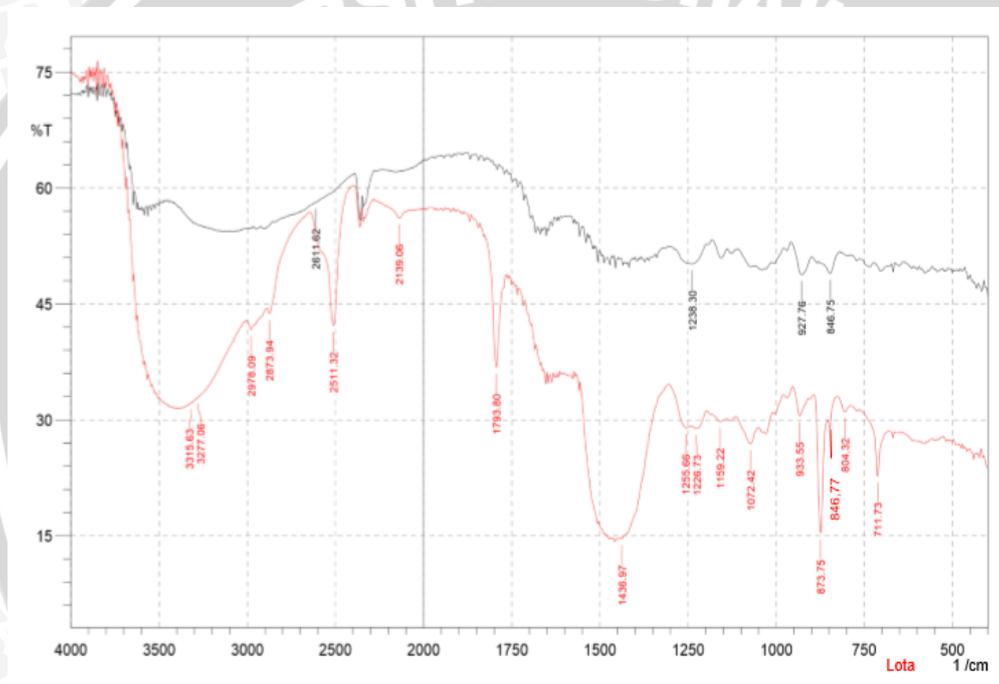


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penelitian Pendahuluan

4.1.1. Spektra FT-IR SRC *E. cottonii* dan *E. spinosum*

Spektrofotometer FT-IR pada karaginan *E. cottonii* dan *E. spinosum* dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari karaginan yang dihasilkan dari proses semi murni (*semi refined*). Spektra FT-IR tersebut dapat dilihat pada **Gambar 5** berikut,



Gambar 5. Spektra FT-IR kappa dan iota SRC

■ : iota (*E. spinosum*)

■ : kappa (*E. cottonii*)

Pada **Gambar 5** di atas SRC dari *E. cottonii* gugus fungsi ester sulfat muncul pada panjang gelombang $1238,3 \text{ cm}^{-1}$. Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktoza muncul pada panjang gelombang $927,76 \text{ cm}^{-1}$. Sedangkan gugus fungsi galaktosa-4-sulfat pada penelitian ini muncul pada panjang gelombang $846,75 \text{ cm}^{-1}$, untuk selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 10**

Menurut FAO (2001), kappa karaginan ditandai dengan gugus D-galaktosa-4-sulfat dan 3,5-anhidro-D-galaktosa. Analisa menggunakan spektrofotometer FT-IR, gugus fungsi D-galaktosa-4-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 840-840 cm^{-1} , gugus 3,6-anhidro-D-galaktosa akan muncul pada panjang gelombang 928-933 cm^{-1} , gugus 3,6-anhidro galaktosa-2-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 800-805 cm^{-1} serta gugus fungsi ester sulfat akan muncul pada panjang gelombang 1220-1260 cm^{-1} , sehingga dapat disimpulkan bahwa SRC yang dihasilkan dari *E. cottonii* merupakan kappa karaginan.

SRC dari *E. spinosum* gugus fungsi ester sulfat muncul pada panjang gelombang 1226,73 cm^{-1} , gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa muncul pada panjang gelombang 933,55 cm^{-1} , gugus fungsi galaktosa-4-sulfat muncul pada panjang gelombang 846,77 cm^{-1} . Gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa-2-sulfat muncul pada panjang gelombang 804,32 cm^{-1} , untuk selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

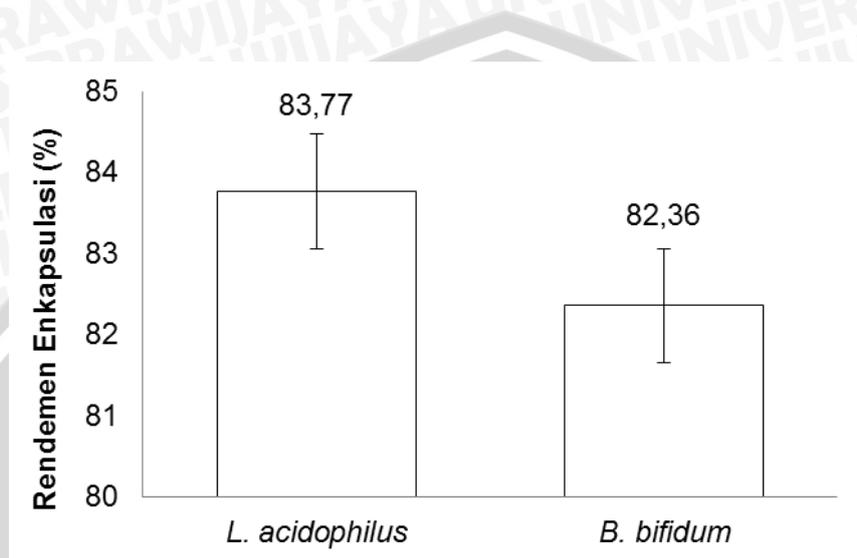
Menurut FAO (2001), iota karaginan gugus ester sulfat akan muncul pada panjang gelombang 1220-1260 cm^{-1} , gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa pada panjang gelombang 928-983 cm^{-1} , gugus galaktosa-4-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 840-850 cm^{-1} serta gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa-2-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 800-805 cm^{-1} . Sehingga dapat disimpulkan bahwa karaginan yang dihasilkan dari *E. spinosum* menghasilkan iota karaginan. Hal ini yang dapat membedakan karena adanya gugus ester sulfat, gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa, gugus galaktosa-4-sulfat, serta gugus fungsi 3,6-anhidro galaktosa-2-sulfat.

4.1.2. Rendemen mikroenkapsulasi

Rendemen mikroenkapsulasi merupakan persentase perbandingan antara viabilitas sel setelah proses pengeringan mikrokapsul pada suhu 40°C selama 48

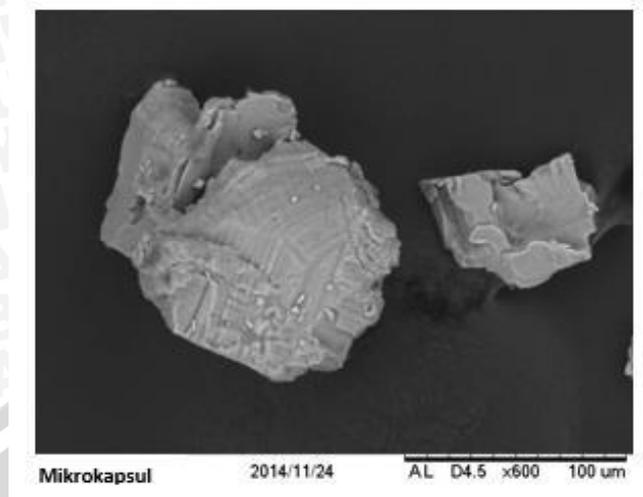
jam dengan viabilitas awal sel sebelum proses pengeringan. Rendemen tertinggi diperoleh pada bahan terkapsulat *L. acidophilus* sebesar 83,77% sedangkan rendemen *B. bifidum* sebesar 82,36%. Rendemen enkapsulasi dapat dilihat pada

Gambar 6.



Gambar 6. Rendemen mikroenkapsulasi setelah proses pengeringan

Hal ini kemungkinan disebabkan oleh retaknya matriks mikrokapsul pada saat pengeringan sehingga oksigen masuk ke dalam matriks. *L. acidophilus* merupakan bakteri *anaerob* fakultatif, maka ia akan cenderung bisa bertahan hidup dibandingkan dengan *B. bifidum* yang merupakan bakteri *anaerob* obligat. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) bahwasanya terjadi keretakan matriks mikrokapsul setelah proses pengeringan mikrokapsul pada suhu 40°C sehingga oksigen bisa masuk ke dalam mikrokapsul dan menghambat pertumbuhan *B. bifidum*. Struktur matriks mikrokapsul dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Scanning Electron Micrograph mikrokapsul bakteri probiotik setelah mengalami proses pengeringan

4.1.3. Kadar Air

Pada penelitian ini, karakteristik mi diuji dengan salah satu uji kimia yaitu uji Kadar air. Rerata jumlah kadar air pada mi instan ini adalah sebesar 7,55%, data kadar airnya dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Penambahan air pada saat pembuatan adonan mempengaruhi kandungan air pada mi instan ini. Pada proses perebusan juga menjadi salah satu faktor penyebab dimana kandungan air tinggi. Namun mi instan yang dikeringkan dengan cara digoreng memiliki standar kadar air maksimal sebesar 10% (SNI 01-2974-1992), dengan demikian diperoleh kesimpulan bahwa mi instan ini sesuai dengan standar SNI.

4.1.4. Cooking Loss

Pengujian ini adalah untuk mengetahui salah satu karakteristik mi yang lainnya melalui nilai *cooking loss* nya. *Cooking loss*/kehilangan padatan akibat pemasakan (KPAP) terjadi karena lepasnya sebagian kecil pati dari untaian mi saat pemasakan. Rerata nilai uji *cooking loss* pada mi instan ini adalah sebesar 5,27%, data nilai uji *cooking loss* dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Nilai uji *cooking loss* tersebut cukup bagus karena konsumen dapat menerima produk

dengan *cooking loss* dibawah 12,5%. Nilai *cooking loss* yang diinginkan adalah yang relatif kecil. Semakin rendah nilai *cooking loss* menunjukkan bahwa mi tersebut memiliki tekstur yang baik dan homogen (Subarna *et al.*, 2012)

4.1.5. *Hardness*

Hasil uji kekerasan (*hardness*) mie pada penelitian ini adalah sebesar 0,3N. Menurut Witono *et al.* (2012), kecenderungan yang diperoleh bahwa semakin besar nilai rasio tepung, maka akan memberikan tingkat kekerasan yang semakin tinggi. Tingkat kekerasan maksimum berada pada mi dengan komposisi penggunaan tepung terigu yang paling tinggi.

Di dalam protein tepung terigu, terkandung gliadin dan glutenin yang merupakan struktur pembentuk gluten. Gliadin memberikan sifat viskos kepada adonan, sedangkan glut memberikan sifat kekuatan dan elastisitas pada adonan. Jadi, keberadaan gluten memberikan pengaruh kepada sifat fisik adonan (Witono, 2012), sehingga semakin banyak proporsi tepung terigu yang digunakan sebagai bahan mi, maka akan semakin tinggi pula nilai *hardness* yang dihasilkan.

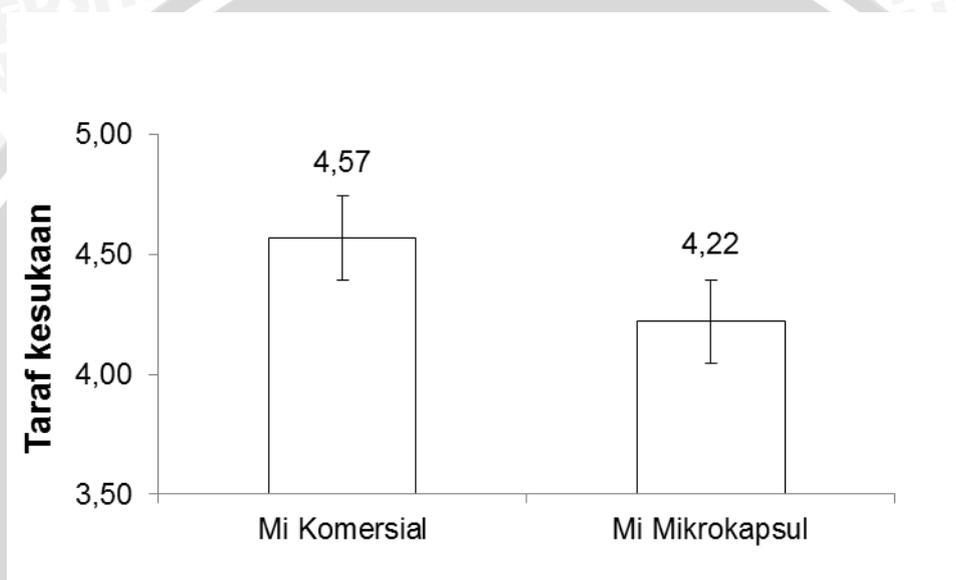
4.1.6. *Elongasi*

Pengujian ini dimaksudkan untuk mengetahui besarnya perpanjangan (*elongasi*) mi instan. Nilai uji *elongasi* pada mi instan lele ubi jalar ungu rata-rata sebesar 20,9%, data nilai uji *elongasi* dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Persen *elongasi* menunjukkan penambahan panjang maksimum mi yang mengalami tarikan sebelum putus.

Elongasi dinyatakan dalam satuan (%). Mi dengan persen *elongasi tinggi* menunjukkan karakteristik mi yang tidak mudah putus. Sifat ini penting karena konsumen tidak menginginkan mi yang hancur saat dimasak atau putus ketika ditarik saat dikonsumsi (Subarna *et al.*, 2012)

4.1.7. Organoleptik

Pada uji organoleptik pada penelitian ini menggunakan paired comparison test (uji secara berpasangan) antara mi komersial dengan mi mikrokapsul selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 13**. Pada uji tersebut didapatkan hasil yang tidak beda nyata. Hasil uji berpasangan tersebut dapat dilihat pada **Gambar 8** berikut,



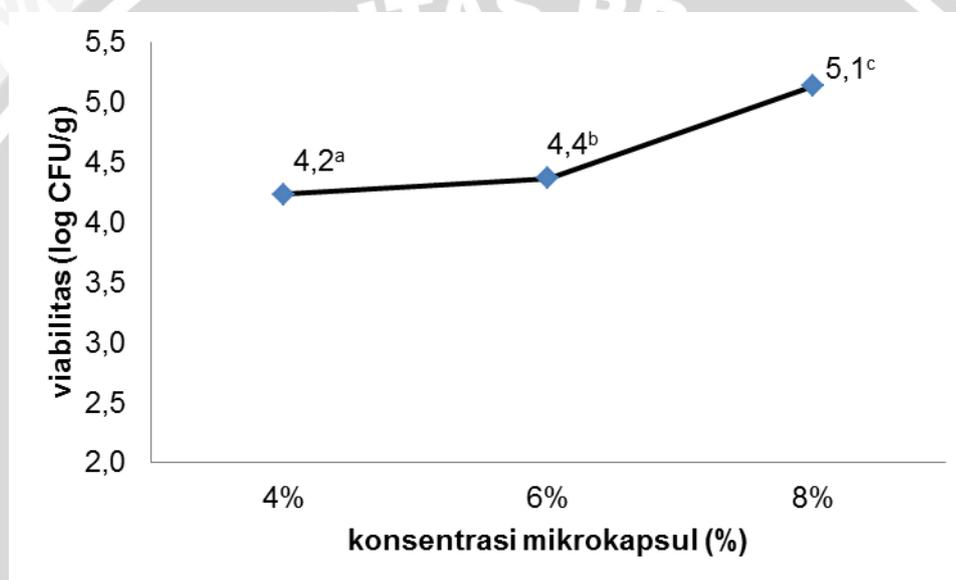
Gambar 8. Perbandingan taraf kesukaan panelis terhadap mi komersial dengan mi mikrokapsul

Dari **Gambar 8** di atas dapat diketahui bahwa perlakuan mi komersial dan mi mikrokapsul menyatakan bahwa tidak beda nyata, namun jika dilihat perbandingannya mi komersial lebih unggul sedikit dibandingkan dengan mi mikrokapsul, dimungkinkan karena mi komersial sudah lebih melekat di pasaran konsumen, sehingga menjadikannya memiliki taraf kesukaan yang lebih tinggi.

Menurut Lala *et al.* (2013), pengamatan penelitian dilakukan dengan melihat parameter mutu mie instan, yaitu sifat fisik, sifat kimia dan mutu organoleptik.

4.1.8. Viabilitas

Pengujian viabilitas mi instan siap saji yang ditambahkan mikrokapsul dengan konsentrasi berbeda adalah untuk mengetahui viabilitas probiotik mana yang terbaik diantara konsentrasi sebanyak 4%, 6% dan 8%. Pada perlakuan tersebut didapatkan hasil yang berbeda nyata, selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 14** dan **15**. Rerata viabilitas probiotik pada konsentrasi yang berbeda dalam mie instan dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Viabilitas probiotik pada konsentrasi yang berbeda dalam mi instan

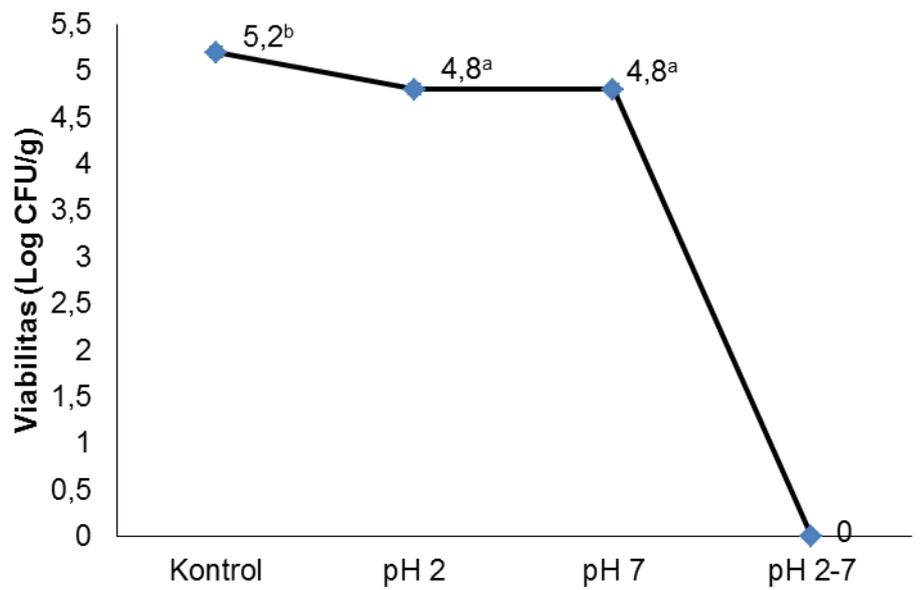
Pada **Gambar 9**, dapat dilihat bahwa viabilitas tertinggi ada pada mie instan dengan penambahan mikrokapsul sebanyak 8% lalu di ikuti dengan penambahan mikrokapsul sebanyak 6% dan 4%. Dalam penelitian Susanti (2013), juga mengungkapkan bahwa metode penambahan mikrokapsul dengan konsentrasi 8% lebih tinggi viabilitasnya dibandingkan dengan penambahan mikrokapsul sebanyak 6% dan 4% yaitu sebesar 4,619 log CFU/g, sehingga menunjukkan bahwa penelitian ini mengalami peningkatan sebesar 1 log dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan, maka semakin tinggi pula viabilitas yang dihasilkan oleh probiotik di dalam mi instan siap saji tersebut. Karena pada konsentrasi mikrokapsul sebanyak 8% memungkinkannya menghasilkan pertumbuhan lebih tinggi dibanding konsentrasi mikrokapsul sebanyak 6% dan 4%. Susanti (2013) juga menambahkan bahwa, penggunaan konsentrasi perbandingan yang lebih rendah 4% dan 6% yaitu bertujuan untuk melihat apakah pada konsentrasi tersebut sudah memenuhi standar viabilitas untuk masuk saluran pencernaan sehingga dapat dikembangkan lebih luas di industri bahan pangan yang sudah ada.

4.2. Penelitian Utama

4.2.1. Viabilitas

Pengujian mi instan siap saji dengan 8% mikrokapsul bakteri probiotik dalam larutan simulasi *gastric tract* dan *intestinal tract* dilakukan untuk mengetahui viabilitas probiotik pada kondisi sangat asam (pH 2) yang disesuaikan dengan pH dalam lambung manusia dan kondisi basa (pH 7) yang disesuaikan dengan pH dalam usus manusia, serta dilakukan pengujian simulasi *gastric tract* yang dilanjutkan ke *intestinal tract* (pH 2-7). Pada perlakuan tersebut didapatkan hasil yang berbeda nyata, selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 16** dan **17**. Rerata viabilitas probiotik pada konsentrasi 8% pada mi instan siap saji dalam *GI tract* dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Viabilitas probiotik pada pada mi instan lele ubi jalar ungu dalam *GI tract*

Pada **Gambar 10**, yaitu mi instan siap saji dengan penambahan konsentrasi mikrokapsul mix sebanyak 8% memiliki hasil viabilitas yang sama untuk *Simulated Gastric tract* (pH 2) dan *Simulated Intestine tract* (pH 7). Pada simulasi gastric ke intestinal tract (pH 2-7) memiliki viabilitas yang paling rendah. Digunakan juga kontrol pada penelitian utama ini, kontrol merupakan hasil viabilitas probiotik mikrokapsul pada mi instan siap saji di penelitian pendahuluan. Kontrol memiliki viabilitas tertinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain, dikarenakan kontrol tidak mengalami tahap simulasi pencernaan seperti perlakuan lainnya.

Probiotik pada pH 2 dan pH 7 memiliki viabilitas yang lebih rendah dibanding dengan kontrol. Menurut Burgain *et al.* (2011) mikrokapsul mengalami pengerutan ukuran pada saat diujikan kedalam larutan pH 2 karena mikrokapsul yang dihasilkan dari kappa karaginan bersifat rapuh serta tidak dapat mempertahankan bentuknya apabila mengalami suatu tekanan berupa kondisi yang sangat asam, sehingga pada pH 2 viabilitas probiotik mengalami penurunan rata-rata 1 siklus log serta menurut Ren (2014), semua jenis bakteri

Lactobacillus memiliki toleransi pada pH 2. Pada penelitian yang telah dilakukan *Lactobacillus* memiliki ketahanan yang baik pada pH 2 dan tidak terjadi penurunan jumlah yang signifikan pada pH 3, sedangkan Sanz (2007) melaporkan bahwa bakteri dari spesies *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. breve* dan *B. adolescentis* tidak memiliki resistansi yang baik pada saat dipaparkan pada pH 2 selama 90 menit. Bakteri-bakteri tersebut hanya memiliki kemampuan 1 % untuk bertahan hidup. Jadi, memungkinkan hanya *L. acidophilus* yang tolerir terhadap pH 2 dibandingkan dengan *B. bifidum* dan pada pH 7 *B. bifidum* lebih tolerir dibandingkan dengan *L. acidophilus* yang mengakibatkan pada pH 2 dan pH 7 memiliki viabilitas yang serupa.

Pada perlakuan pH 2 yang dilanjutkan ke pH 7 viabilitas yang dihasilkan adalah 0. Kemungkinan pada perlakuan ini *L. acidophilus* dan *B. bifidum* telah mati. Saat perlakuan di pH 2, *B. bifidum* telah mati dan ketika dilanjutkan ke pH 7 *L. acidophilus* juga menjadi mati, sehingga tidak ada viabilitas yang dihasilkan pada perlakuan pH2 ke pH 7 ini.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, mi instan siap saji dengan penambahan konsentrasi mikrokapsul mix sebanyak 8% memiliki viabilitas simulasi pada *Gastric tract* (pH 2) dan *Intestine tract* (pH 7) yaitu sama-sama sebesar 4,8 log CFU/g. Sedangkan simulasi pada *Gastric tract* yang dilanjutkan ke *Intestine tract* (pH 2-7) viabilitasnya sebesar 0.

5.2. Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menambahkan tingkat konsentrasi yang akan difortifikasikan ke dalam produk, karena pada penelitian ini dengan konsentrasi sebesar 8% dari berat produk ternyata kurang mencukupi standar probiotik di dalam produk pangan yang ada di Indonesia serta perlu diperhatikan kembali proporsi penggunaan bahan penyalut agar probiotik yang berada di dalamnya dapat terlindungi secara maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

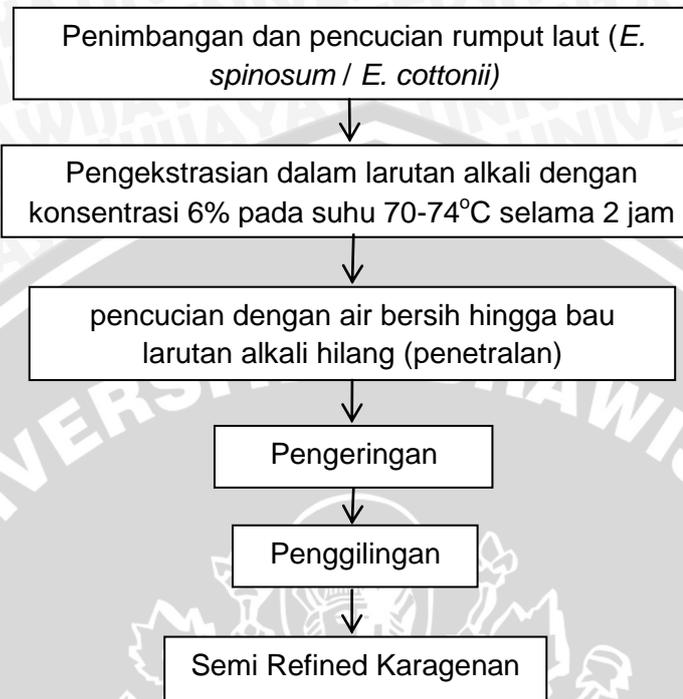
- American Association for Gastrointestinal Endoscopy [ASGE]. 2014. **Quick Anatomy Lesson: Human Digestive System**. <http://www.asge.org/ASGEHumanDigestiveSystem.htm>. Diakses pada 25 Januari 2015
- Ariandy, F. N., Rico A., Evi F. 2011. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (*Gallus Domesticus*)**. IPB: Bogor.
- Arief, M. 2014. **Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Probiotik pada Simulasi Saluran Pencernaan Manusia terhadap Viabilitas Probiotik**. Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Astawan, M. 2004. **Mi dan Bihun**. Gramedia Pustaka: Jakarta.
- Burgain, J., Gaiani, Linder, Scher. 2011. **Encapsulation of Probiotic Living Cells: From Laboratory Scale to Industrial Applications**. Journal of Food Engineering 104. 467–483
- Chávvari M., Izaskum M., Raquel A., Francisco C Ibáñez., Florencio M., Maria del C V. **Microencapsulation of a Probiotic Bacteria in Alginate-Chitosan Capsules Improves Survival In Simulated Gastro-Intestinal Conditions**. International Journal of Food Microbiology 142. 185 – 189.
- Cook, M. T., Tzortzis G., Charalampopoulos D, Khutoryanskiy V. 2012. **Microencapsulation of Probiotics for Gastrointestinal Delivery**. Journal of Controlled Release 162. 56–67.
- CP Kelco. 2014. **Carageenan Book**. <http://www.cpkelco.com/carageenan-description.pdf>. Diakses pada 10 September 2014.
- Daud, M., Wiranda G. P., Komang G. W., dan Agus S. 2009. **Pengujian secara *In Vitro* Oligosakarida dari Ekstrak Tepung Buah Rumbia (*Metroxylon sago Rottb.*) sebagai Sumber Prebiotik**. Agripet Vol 9, No. 2.
- Diniyati, B.. 2012. **Kadar Betakaroten, Protein, Tingkat Kekerasan, dan Mutu Organoleptik Mi Instan dengan Substitusi Tepung Ubi Jalar Merah (*Ipomea batatas*) dan Kacang Hijau (*Vigna radiata*)**. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Distantina, S., Fadilah, Rochmadi, Fahrurozi, Wiratni. 2010. **Proses Ekstraksi Karagenan dari *Eucheuma cottonii***. Seminar Rekayasa Kimia dan Proses. ISSN : 1411-4216.
- Ebookpangan. 2006. **Pengujian Organoleptik (Evaluasi Sensori) dalam Industri Pangan**. Ebookpangan. com.
- FAO. 2001. **Carageenan, Food and Agriculture Organization**. <http://www.fao.org/carageenan.pdf>. Diakses pada 20 Januari 2015.

- Fardiaz, S. 1993. **Analisis Mikrobiologi Pangan**. Raja Grafindo Pustaka: Jakarta.
- Firmansyah, A. 2001. **Terapi Probiotik dan Prebiotik pada Penyakit Saluran Cerna Anak**. Sari Pediatri 2(4):210 – 214.
- Garrity, G. M., Bell, J. A., Lilburn, T. G., Lansing, E., Bell, J. A. 2004. **Taxonomic Outline of The Prokaryotes. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. 2nd Edition. Springer : New York. p.1-399.
- Gibson, G. R. dan Roberfroid M. B. 1995. **Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: introducing the Concept of Prebiotics**. J Nutr 125, 1401–1412.
- Harmayani, E., Ngatirah, Endang S. R., dan Tyas U. 2001. **Ketahanan dan Viabilitas Probiotik Bakteri Asam Laktat Selama Proses Pembuatan Kultur Kering Dengan Metode Freeze dan Spray Drying**. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 12-126-132.
- Hernández-Carmona G. 2013. **Conventional and alternative technologies for the extraction of algal polysaccharides**. Woodhead Publishing Limited.
- Ishibashi N, Yaeshima T and Hayasawa H. 1997. **Bifidobacteria: Their Significance in Human Intestinal Health**. Mal J Nutr 3: 149-159.
- Jayasena, V., Peggy L., and Syed M. N. 2008. **Development and Quality Evaluation of Lupin-Fortified Instant Noodles**. Food Science and Technology, School of Public Health, Curtin University of Technology: Perth, Australia.
- Kailasapathy, K. 2002. **Microencapsulation of Probiotic Bacteria : Technology and Potential Application**. Intest Microbiol (2002) 3 : 39 – 48.
- Kartikasari, V. 2014. **Pengaruh Konsentrasi Busa Putih Telur dan Lama Pengeringan dengan Metode Foam-Mat Drying Terhadap Viabilitas dan Shelf-Life *L. acidophilus* yang Terenkapsulasi RC Campuran Kappa dan Iota**. Universitas Brawijaya: Malang.
- Kusumaningrum, A. P. 2011. **Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe dengan Variasi Substrat**. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Lala, F. H., Bambang S., Nur K. 2013. **Uji Karakteristik Mie Instan Berbahan-Baku Tepung Terigu dengan Substitusi Mocaf**. Jurnal Bioproses Komoditas Tropis. Vol. 1 No. 2
- Manojlović, V., Viktor A. N., Kasipathy Ky., Nicolaas J N. 2010. **Encapsulation of Probiotics for Use in Food Products**. Chapter 10. Springer Science+Business Media. LLC. pp.269-320.
- Mappiratu. 2009. **Kajian Teknologi Pengolahan Karaginan dari Rumpun Laut *E. cottonii* Skala Rumah Tangga**. Media Litbang Sulteng 2 (1) : 01–06

- Mutmainah, H., Risco B. G, Natsir D, Zaraswati D. 2010. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung *Gallus domesticus***. Universitas Hasanuddin: Makassar.
- Ooi L. G. dan Min-Tze L. 2010. **Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics: A Review of *in Vivo* and *in Vitro* Findings**. Int. J. Mol. Sci.
- Osibona, A. O., Kusemiju, K. and Akande, G. R.. 2006. **Proximate composition and fatty acids profile of the African Catfish *Clarias gariepinus***. Journal of Life and Physical Sciences vol. 3: 1-5.
- Pearce, E. 1995. **Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis**. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta.
- Peranginangin, R., Arif R., Hari E. I. 2011. **Pengaruh Perbandingan Air Pengekstrak dan Penambahan *Celite* Terhadap Mutu Kappa Karaginan**. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan : Jakarta.
- Phillips, G.O., & P. A. Williams, 2001. **Handbook of Hydrocolloids**. CRC Press: Inggris.
- Prescott, L., Harley, J. and Klein, D.A. 2002. **Microbiology 5th edition**. McGraw-Hill. p 820-950.
- Pyar, K., Peh K. K. 2013. **Characterization and Identification of *Lactobacillus acidophilus* Using Biolog Rapid Identification System**. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 6, Issue 1.
- Rasyid, A. 2003. **Beberapa Catatan tentang Karaginan**. Oseana, Volume XXVIII, Nomor 4, 2003: 1-6
- Rathore ,S., Mahendrakumar P D, Liew C V, Chan L W, Heng P W S. 2013. **Microencapsulation of Microbial Cells**. Journal of Food Engineering 116. 369–381.
- Ren, D., C. Li, Y. Qin, R. Yin, S. Du ,F. Ye, C. Liu, H. Liu, M. Wang ,Y. Li, Y. Sun, X. Li, M. Tian, N. Jin. 2014. **In vitro Evaluation of the Probiotic and Functional Potential of *Lactobacillus* Strains Isolated from Fermented Food and Human Intestine**. Clinical Microbiology. Anaerob. Hal 1-10.
- Rizqiati, H., Jennie B., Nurhidayat N., Nurwitri C. 2009. **Karakteristik Mikro kapsul Probiotik *Lactobacillus plantarum* Yang Dienkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab**. J.Indon.Trop.Anim.Agric. 34 [2].
- Rustandi, D. 2011. **Produksi Mi**. Tiga Serangkai Pustaka Mandiri: Solo. Hal.124.
- Sanders, M. E., Glenn G., Harshansjit S. G. 2007. **Probiotic: Their Potential to Impact Human Health**. CAST Issue Paper No 36.
- Sanz Y. 2007. **Ecological and Fungsional Implications of The Acid Adaptation Ability of *Bifidobacterium* : A Way of Selecting Improved Probiotic Strains**. International Dairy Journal. 17:1284-1289.

- Shah ,N.P. 2007. **Functional Cultures and Health Benefits**. Internatioal Dairy Journal. 17:1262-1277.
- Standar Nasional Indonesia [SNI] **01-2974-1992**. Badan Standarisasi Nasional Indonesia: Jakata.
- Setijawati, D., Susinggih W., Aulanium, Imam S. 2011.**Viabilitas Dan Struktur Mikrokapsul *L. acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *E. cottonii***. Jurnal Teknologi Pangan Vol.2 No.1.
- Srianta, N, Kusumawati., dan Effendi. 2007. **Pengaruh Perbedaan Jumlah Santan dan Lama Penyimpanan Beku Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam Es Krim Nabati Probiotik**. Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi vol. 6: 9-14.
- Subarna, Tjahja M., Budi N., dan Antung S. F. 2012. **Peningkatan Mutu Mi Kering Jagung dengan Penerapan Kondisi Optimum Proses dan Penambahan Monogliserida**. J. Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XXIII No. 2.
- Sudarmadji, S. 2003. **Analisa Bahan Makanan dan Pertanian**. Liberty: Yogyakarta.
- Susanti, F. I. 2014. **Pengaruh Fortifikasi Mikrokapsul yang Berbeda pada Mie Instan Lele Ubi Jalar Ungu (*I. batatas*) Terhadap Viabilitasnya**. Universitas Brawijaya: Malang.
- Ulfa, M. 2009. **Pemanfaatan Iota Karaginan (*Eucheuma spinosum*) Dan Kappa Karaginan (*Kappaphycus alvarezii*) Sebagai Sumber Serat Untuk Meningkatkan Kekenyalan Mie Kering**. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Usmiati, S. dan Tyas U. 2008. **Pengaruh Bakteri Probiotik Terhadap Mutu Sari Kacang Tanah Fermentasi**.
- Widyastuti, S. 2010. **Sifat Fisik Dan Kimiawi Karagenan yang Diekstrak dari Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma spinosum* Pada Umur Panen yang Berbeda**. Agroteksos Vol. 20 No.1.
- Witono, J. R., Angela J. K., Heidylia S. L. 2012. **Optimasi Rasio Tepung Terigu, Tepung Pisang dan Tepung Ubi Jalar, Serta Konsentrasi Zat Aditif Pada Pembuatan Mie**. Universitas Katolik Parahayangan.

Lampiran 1. Pembuatan *Semi Refined Carageenan* (SRC) dengan metode PNG (Phillip dan William, 2001)



Lampiran 2. Pembuatan Semi Refined Carageenan (SRC)



1. Penimbangan rumput laut



2. Pencucian rumput laut



3. Pengekstrasian dalam larutan alkali



4. Pencucian hingga bau larutan alkali hilang

BRAWIJAYA

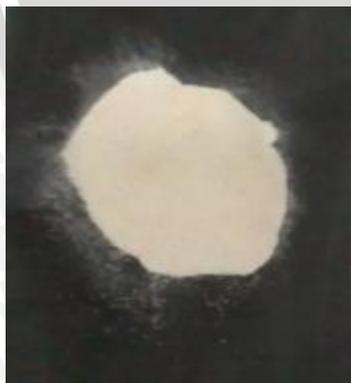




5. Pengeringan di bawah sinar matahari

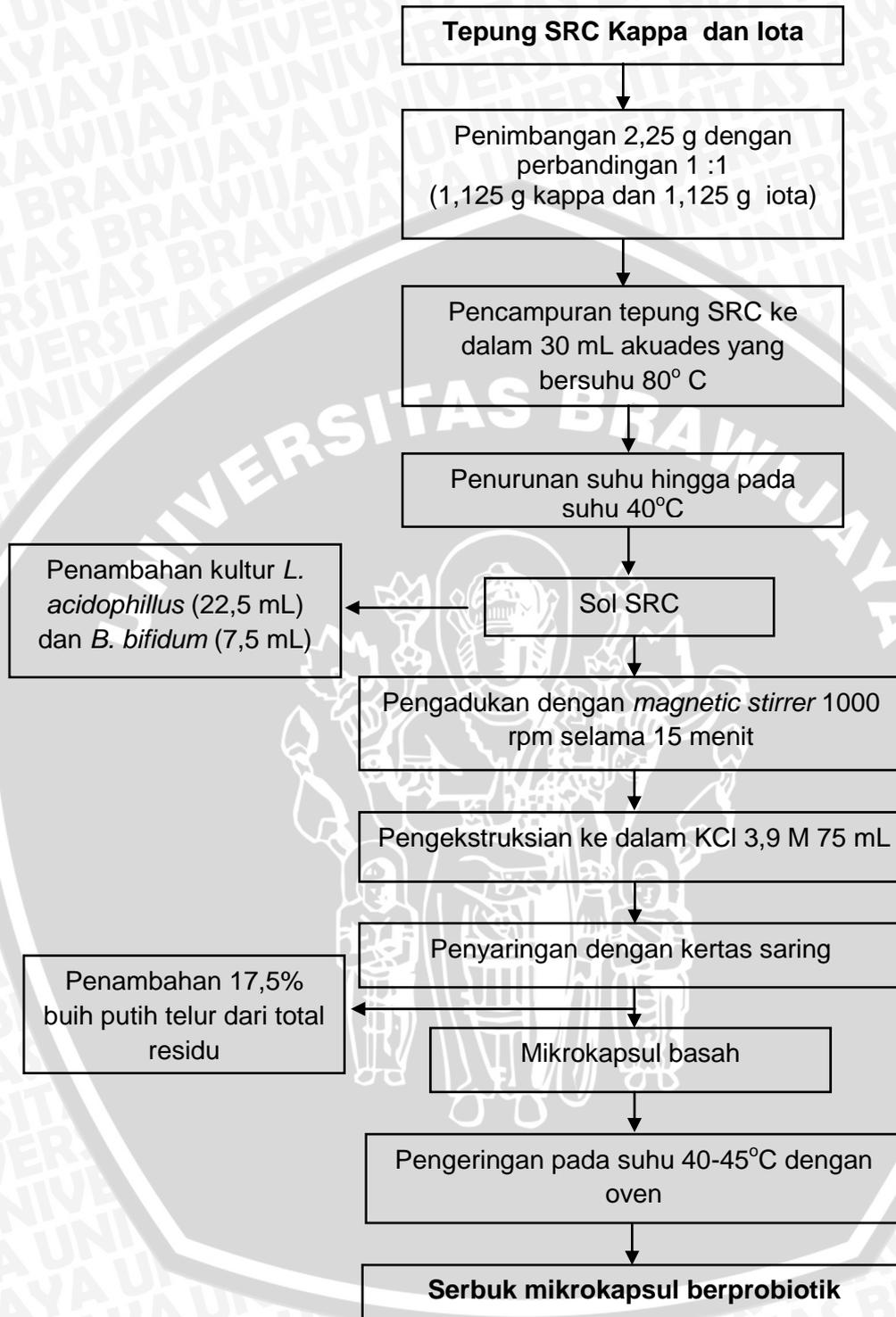


6. Penggilingan



7. SRC kappa dan iota

Lampiran 3. Pembuatan Mikrokapsul (Arief, 2014)



Lampiran 4. Pembuatan mikrokapsul



1. Tepung SRC kappa iota



2. Penimbangan 2,25 g tepung SRC kappa iota (1:1)



3. Pencampuran tepung SRC ke dalam 30 ml akuades yang bersuhu 80°C



4. Penurunan suhu hingga pada suhu 40°C



5. Sol SRC



6. Penambahan kultur *L. acidophilus* (22,5 mL) dan *B. bifidum* (7,5 mL)





7. Pengadukan dengan magnetic stirrer



8. Pengekstrusian ke dalam KCL 3,9 M 75 mL



9. Penyaringan dengan kertas saring



10. Penambahan 17,5% buih putih telur dari total residu



11. Mikro kapsul basah

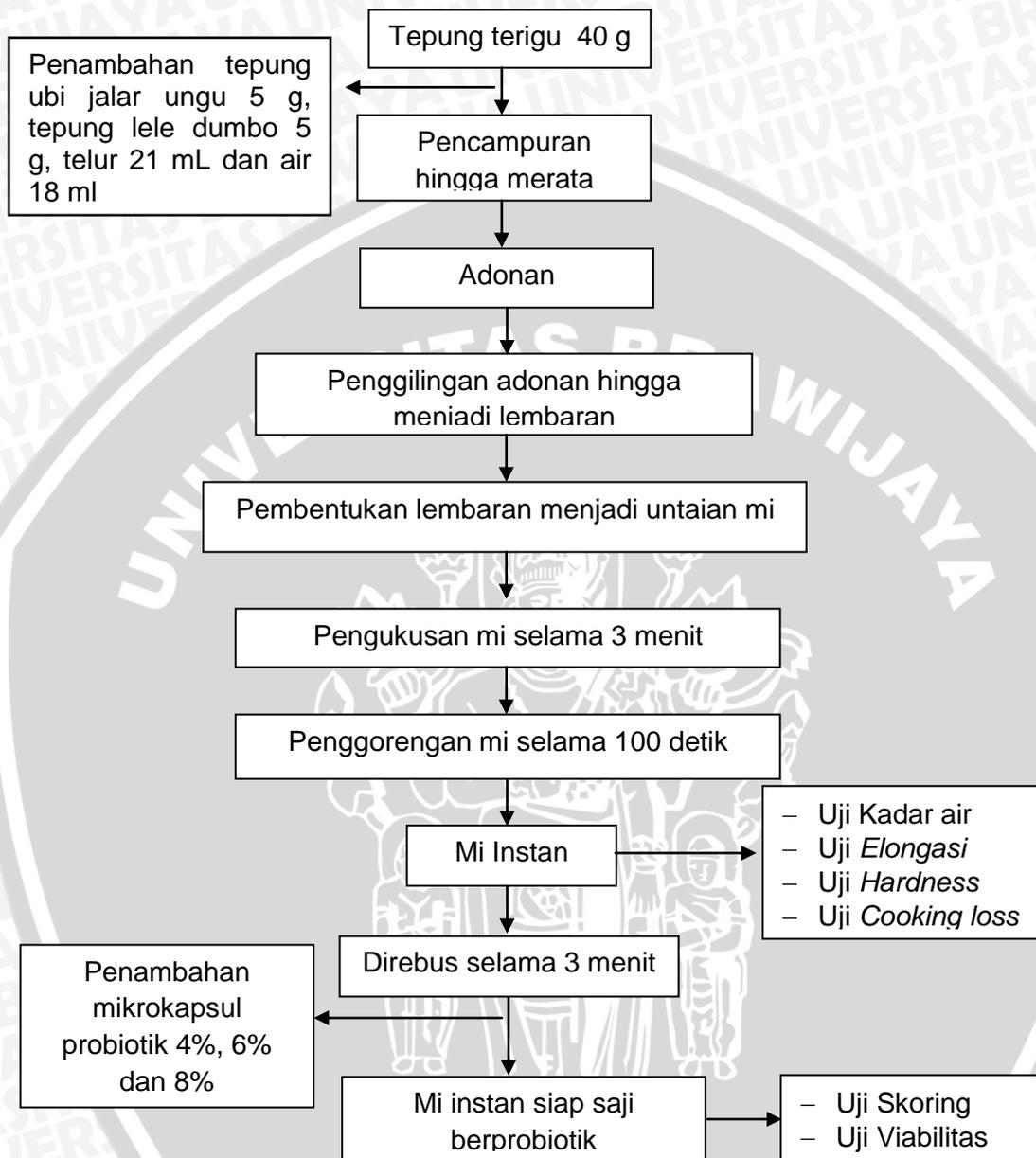


12. Pengeringan pada suhu 40-45°C dengan oven



13. Mikro kapsul kering

Lampiran 5. Pembuatan Mi Instan siap saji berprobiotik (Irmawan, 2014 termodifikasi)



Lampiran 6. Pembuatan mi instan siap saji berprobiotik



1. Tepung terigu 40 g



2. Tepung ubi jalar ungu 5 g, tepung lele 5 g, telur 21 mL dan air 18 mL



3. Pencampuran semua bahan



5. Adonan



6. Penggilingan adonan hingga menjadi lembaran



7. Pembentukan lembaran menjadi untaian mi



8. Pengukusan selama 3 menit



9. Penggorengan selama 100 detik



10. Mi Instan



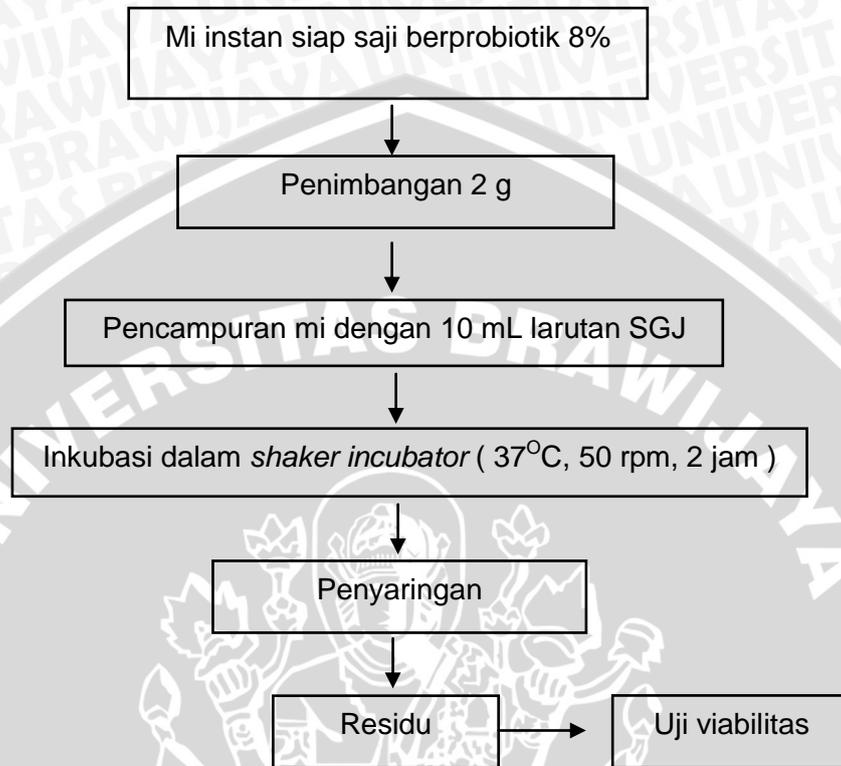
11. Perebusan selama 3 menit



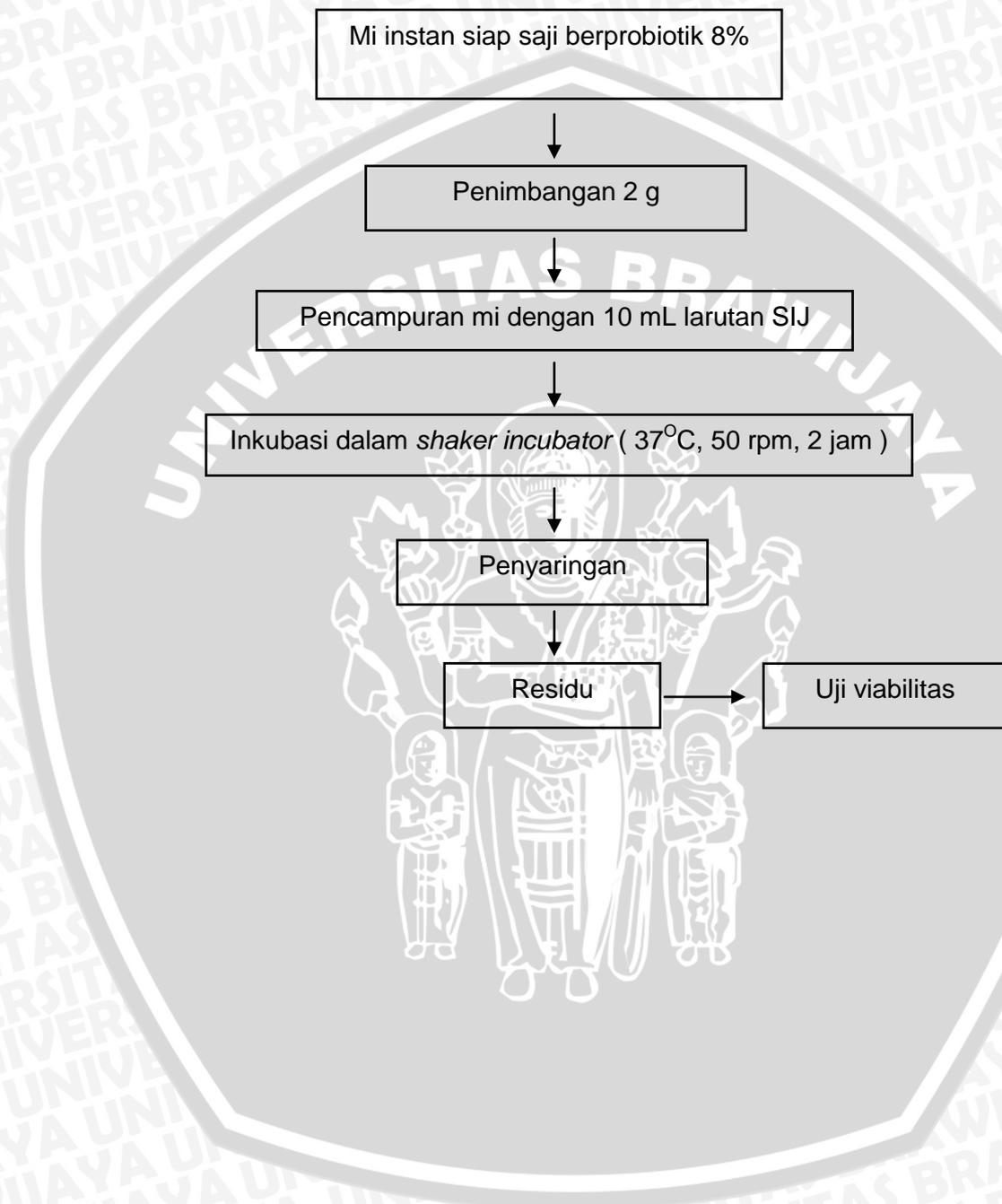
12. Penambahan mikro kapsul probiotik



Lampiran 7. Pengujian mi instan siap saji dengan probiotik dalam kondisi *gastric tract* (Chavvari *et al.*, 2010 termodifikasi)



Lampiran 8. Pengujian dalam kondisi *intestinal tract* (Chavvari et al., 2010 termodifikasi)



Lampiran 9. Pengujian dalam kondisi saluran pencernaan



1. Mi instan siap saji berprobiotik 8%



2. Penimbangan sebanyak 2 g



3. Pencampuran mi dengan larutan SIJ atau SGJ



4. Inkubasi dalam *shaker incubator*



5. Penyaringan sampel



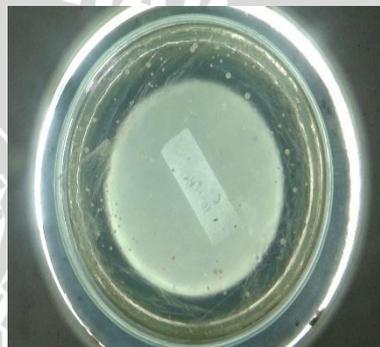
6. Residu



7. Pengenceran



8. Inokulasi bakteri



9. Inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam

10. Hasil pengamatan bakteri



Lampiran 10. Hasil analisa spektrofotometer FT – IR SRC *Eucheuma cottonii*

Spektra FT-IR kappa SRC *Eucheuma cottonii*

No	Peak	Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	846.75	48.942	867.97	821.68	13.9	0.361
2	927.76	48.787	958.62	900.76	17.25	0.81
3	1238.3	50.171	1246.02	1197.79	14.08	0.189
4	2611.62	58.143	2613.55	2393.66	48.995	0.216

Lampiran 11. Hasil analisa spektrofotometer FT – IR SRC *Eucheuma spinosum*

Spektra FT-IR iota SRC *Eucheuma spinosum*

NO	Peak	Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	711.73	22.693	758.02	680.87	42.505	1.931
2	804.32	31.056	825.53	790.81	17.291	0.277
3	846.77	30.057	875.54	802.31	18.934	0.35
3	873.75	15.325	893.04	854.47	23.644	4.285
4	933.55	30.516	952.84	908.47	21.956	0.87
5	1072.42	26.891	1114.86	1051.2	34.795	1.212
6	1159.22	29.754	1195.87	1145.72	26.011	0.209
7	1226.73	28.878	1236.37	1197.79	20.392	0.313
8	1255.66	28.971	1303.88	1246.02	29.328	0.486
9	1436.97	14.628	1440.83	1305.81	85.049	1.351
10	1793.8	36.765	1826.59	1776.44	17.27	2.252
11	2139.06	56.143	2247.07	2094.69	37.081	0.548
12	2511.32	42.165	2640.55	2401.38	66.815	11.256
13	2873.94	43.693	2887.44	2650.19	67.65	0.309
14	2978.09	41.698	3001.24	2889.37	41.127	0.864
15	3277.06	32.948	3278.99	3018.6	111.462	0.725
16	3315.63	32.241	3317.56	3278.99	18.788	0.021

Lampiran 12. Data Karakteristik Mi lele ubi jalar ungu**Data Kadar Air Mi lele ubi jalar ungu**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	8,15	6,28	8,23	22,66	7,55

Keterangan :

A = Mi lele ubi jalar ungu

Data Cooking Loss Mi lele ubi jalar ungu

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	4,23	5,62	5,97	15,82	5,27

Keterangan :

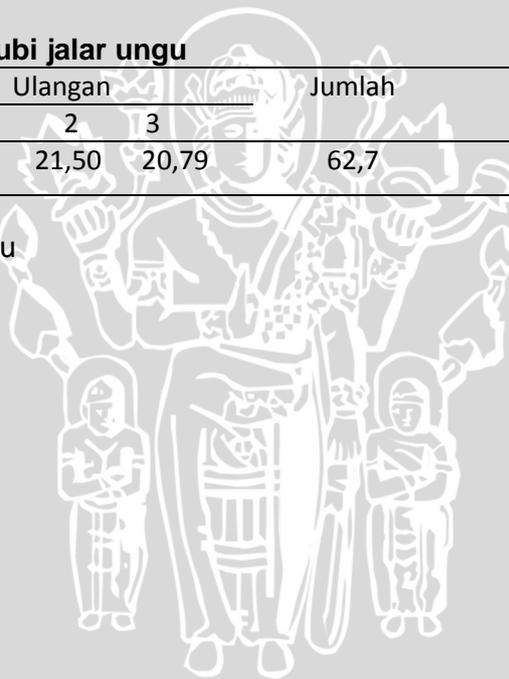
A = Mi lele ubi jalar ungu

Data Elongasi Mi lele ubi jalar ungu

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	20,41	21,50	20,79	62,7	20,9

Keterangan :

A = Mi lele ubi jalar ungu



Lampiran 13. Organoleptik mi instan lele ubi jalar ungu

Statistik sampel berpasangan

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MK	4.57	23	.507	.106
	MM	4.22	23	.850	.177

Menunjukkan bahwa rata-rata nilai pada mi komersial (MK) dan mi mikro kapsul. Mi komersial rata-rata mendapatkan nilai dari 23 panelis adalah 4,57 sementara mi mikro kapsul memiliki nilai rata-rata adalah sebesar 4,22

Korelasi sampel berpasangan

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	MK & MM	23	.229	.293

Hasil uji menunjukkan bahwa korelasi antara dua variabel adalah sebesar 0.229 dengan sig sebesar 0.293. Hal ini menunjukkan bahwa korelasi antara dua rata-rata nilai mi komersial dan mi mikro kapsul adalah kuat dan signifikan.

Uji sampel berpasangan

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MK - MM	-.130	.694	.145	-.431	.170	-.901	22	.377

Nilai t hitung adalah sebesar -0,901 dengan sig 0.377. Karena sig > 0.05 maka artinya rata-rata nilai mi komersial dan mi mikro kapsul adalah sama (tidak berbeda).

Lampiran 14. Viabilitas probiotik pada konsentrasi yang berbeda dalam mi instan

Data hasil perhitungan koloni probiotik dengan konsentrasi yang berbeda

Perlakuan	Pengenceran	Ulangan					
		I		II		III	
		a	b	a	b	a	b
4%	10^{-2}	213	196	152	147	126	141
	10^{-3}	115	108	127	139	98	108
	10^{-4}	48	37	74	58	43	56
6%	10^{-2}	286	273	225	236	212	215
	10^{-3}	135	129	110	124	155	161
	10^{-4}	59	66	62	47	109	100
8%	10^{-2}	302	305	309	340	301	306
	10^{-3}	133	151	159	176	120	125
	10^{-4}	37	41	56	48	29	37

Keterangan :

a : *L. acidophilus*

b : *B. bifidum*

Viabilitas probiotik pada mi instan (log CFU/g)

Perlakuan	Ulangan			Rerata	Simpangan baku
	I	II	III		
4%	4,3	4,3	4,3	4,2	0,06
6%	4,4	4,4	4,3	4,4	0,06
8%	5,1	5,2	5,1	5,1	0,06

Lampiran 15. Uji normalitas dan ANOVA

Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

		Perlakuan	Viabilitas
N		9	9
Parameter normal ^{a,b}	Rerata	2,0000	4,5778
	Simpangan baku	0,86603	0,42361
Perbedaan sangat nyata	Mutlak	0,209	0,329
	Positif	0,209	0,329
	Negatif	-,209	-,225
Kolmogorov-Smirnov Z		0,628	0,988
Asymp. Sig. (2-tailed)		0,826	0,283

a. Tpenyebaran data normal

b. Perhitungan data

ANOVA

Viabilitas

	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F hitung	Signifikansi
Perlakuan	1,416	2	0,708	212,333	0,000
Galat	0,020	6	0,003		
Total	1,436	8			

Nilai Fhitung sebesar 212,333

Nilai Ftabel (0,05) sebesar 5,14

Sehingga Fhitung > Ftabel, semua perlakuan berbeda nyata pada taraf 5%

Uji BNT dan pemberian notasi huruf

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{(\alpha, 0,05)} \times \frac{\sqrt{2(KTG)}}{n} \\
 &= 1,943 \times \frac{\sqrt{2(0,003)}}{3} \\
 &= 1,943 \times 0,045 \\
 &= 0,087
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	4,2	4,4	5,1	Notasi
A	4,2	-	-	-	a
B	4,4	0,2	-	-	b
C	5,1	0,9	0,7	-	c

Lampiran 16. Perhitungan koloni bakteri setelah pengujian dalam *GI tract*

Data hasil perhitungan koloni probiotik dalam *GI tract*

Perlakuan		Ulangan					
		I		II		III	
		A	B	A	B	A	B
Kontrol	10 ⁻²	302	305	309	340	301	306
	10 ⁻³	133	151	159	176	120	125
pH 2	10 ⁻⁴	37	41	56	48	29	37
	10 ⁻³	34	55	50	81	51	74
pH 7	10 ⁻⁴	31	35	32	39	45	38
	10 ⁻³	90	64	61	42	32	81
pH 2-7	10 ⁻⁴	35	48	22	39	12	24
	10 ⁻³	0	0	0	0	0	0
	10 ⁻⁴	0	0	0	0	0	0

Keterangan :

A = *L. acidophilus*

B = *B. bifidum*

TPC probiotik dalam *GI tract* (CFU/g)

Perlakuan	Ulangan		
	I	II	III
Kontrol	1,4.10 ⁵	1,7.10 ⁵	1,2.10 ⁵
pH 2	4,5.10 ⁴	6,5.10 ⁴	6,3.10 ⁴
pH 7	7,7.10 ⁴	5,2.10 ⁴	5,7.10 ⁴
pH 2-7	0	0	0

TPC probiotik dalam *GI tract* (Log CFU/g)

Perlakuan	Ulangan			Rerata	Simpangan baku
	I	II	III		
Kontrol	5,1	5,2	5,1	5,1	0,06
pH 2	4,7	4,8	4,8	4,8	0,09
pH 7	4,9	4,7	4,8	4,8	0,09
pH 2-7	0	0	0	0	0

Lampiran 17. Uji normalitas dan ANOVA

Uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov

		Kontrol	pH 2	pH 7	pH 2-7
N		3	3	3	3
Parameter Normal ^{a,b}	Rerata	5,1000	4,7667	4,8000	,0000
	Simpangan baku	,00000	,05774	,10000	,00000 ^c
Perbedaan sangat nyata	Mutlak	,500	,385	,175	
	Positif	,500	,282	,175	
	Negatif	-,500	-,385	-,175	
Kolmogorov-Smirnov Z		,866	,667	,303	
Asymp. Sig. (2-tailed)		,441	,766	1,000	

a. Penyebaran data normal

b. Perhitungan data

c. Variabel ini tidak berbeda penyebarannya. Uji normalitas dengan kolmogorov-smirnov tidak bisa diterapkan

ANOVA

Viabilitas					
	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F hitung	Signifikansi
Perlakuan	53,980	3	17,993	5398,000	,000
Galat	,027	8	,003		
Total	54,007	11			

Nilai Fhitung sebesar 22,200

Nilai Ftabel (0,05) sebesar 5,14

Sehingga F hitung > F tabel, semua perlakuan berbeda nyata pada taraf 5%.

Uji BNT dan pemberian notasi

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t_{(\alpha,0,05)} \times \frac{\sqrt{2(KTG)}}{n} \\
 &= 1,943 \times \frac{\sqrt{2(0,006)}}{3} \\
 &= 1,943 \times 0,063 \\
 &= 0,122
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	4,8	4,8	5,1	Notasi
A	4,8	-	-	-	a
B	4,8	-	-	-	a
C	-	-	-	-	-
Kontrol	5,1	0,3	0,3	-	b

Lampiran 18. Viabilitas probiotik sebelum dan setelah proses pengeringan

Viabilitas probiotik sebelum proses pengeringan

	N_0 (CFU/mL)	N_0 (log CFU/mL)
<i>L.acidophilus</i>	3×10^6	6,5
	$2,9 \times 10^6$	6,5
	$2,1 \times 10^6$	6,3
<i>B.bifidum</i>	$2,5 \times 10^6$	6,4
	3×10^6	6,5
	$2,7 \times 10^6$	6,4

Viabilitas probiotik setelah proses pengeringan

	N (CFU/mL)	N (log CFU/mL)
<i>L.acidophilus</i>	2×10^6	6,3
	$2,2 \times 10^6$	6,3
	$2,1 \times 10^6$	6,3
<i>B.bifidum</i>	$2,5 \times 10^5$	5,4
	$2,1 \times 10^5$	5,3
	$2,2 \times 10^5$	5,3

Analisa statistik deskriptif

		N_0	N
<i>L. acidophilus</i>	Mean	6,4	6,3
	Standar deviasi	0,12	0,00
	Maksimum	6,5	6,3
	Minimum	6,3	6,3
<i>B. bifidum</i>	Mean	6,4	5,3
	Standar deviasi	0,06	0,06
	Maksimum	6,5	5,4
	Minimum	6,4	5,3