

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik didefinisikan sebagai bahan makanan yang tidak dapat dicerna oleh usus manusia, tetapi dapat digunakan untuk mendorong pertumbuhan bakteri probiotik dalam usus besar sehingga dapat membantu meningkatkan kesehatan. Bakteri probiotik merupakan mikroba yang dapat memberikan efek menguntungkan bagi tubuh inang yang mengkonsumsinya dengan cara menyokong keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan. *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* termasuk spesies yang tergolong bakteri probiotik (Sievert dan Pomeranz, 1989).

Enkapsulasi diterapkan pada probiotik dengan tujuan untuk melindungi probiotik tetap hidup dari kondisi ekstrim akibat pengeringan, penyimpanan maupun cairan saluran pencernaan. Menurut Guerin *et al.*, (2003) telah menunjukkan bahwa probiotik yang di-enkapsulasi mempunyai viabilitas yang lebih tinggi pada perlakuan kondisi saluran pencernaan dibanding tanpa terenkapsulasi.

Mikrokapsul adalah bentuk sediaan yang mengalami mikroenkapsulasi, dengan proses pada masing-masing partikel atau tetesan cairan zat aktif, disebut bahan inti yang merupakan bahan obat dikelilingi atau dilapisi dengan suatu lapisan tipis dari bahan polimer (bahan penyalut) yang menghasilkan kapsul berukuran mikrometer sampai milimeter (Murtaza *et al.*, 2010). Proses penggunaan penyalut yang relatif tipis pada partikel-partikel kecil zat padat atau tetesan cairan dan dispersi zat cair dengan ukuran partikel berkisar antara 1 - 5000 mikrometer (Benita, 2006).

Mikroenkapsulasi bertujuan antara lain adalah untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dalam sediaan selama penyimpanan, mempertahankan

viabilitasnya dan melindungi probiotik dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, untuk membuat sediaan lepas lambat, melindungi zat aktif dari penguraian dalam cairan lambung, dan dapat digunakan untuk melindungi saluran pencernaan terutama lambung dari iritasi yang disebabkan bahan aktif obat (Wu *et al.*, 2000).

Komponen yang bersifat peka seperti mikroorganisme, dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya. Enkapsulasi merupakan teknik penyalutan suatu bahan sehingga bahan yang disalut dapat dilindungi dari pengaruh lingkungan. Enkapsulasi pada bakteri dapat memberikan kondisi yang mampu melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti panas dan bahan kimia. Bahan yang umum digunakan untuk enkapsulasi adalah berbagai jenis polisakarida dan protein seperti pati, alginat, gum arab, gelatin, karagenan (Pasifico *et al.*, 2001)

Bahan penyalut adalah bahan yang digunakan untuk melapisi inti. Bahan penyalut bermanfaat untuk menutupi rasa dan bau yang tidak enak, perlindungan terhadap lingkungan, meningkatkan stabilitas, dan mencegah penguapan. Bahan yang biasa digunakan sebagai bahan penyalut adalah polimer organik atau non organik baik berasal dari bahan alam atau buatan. Bahan penyalut yang dipilih dalam proses enkapsulasi haruslah 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, impermeabel, stabil dan bersifat optis) (Ding dan Shah, 2009).

Karaginan terpilih menjadi bahan penyalut karena kemampuannya dalam membentuk gel. Karaginan yaitu senyawa hidrokolloid yang merupakan senyawa polisakarida rantai panjang yang diekstraksi dari rumput laut jenis-jenis karaginofit, seperti *Eucheuma sp.*, *Chondrus sp.*, *Hypnea sp.*, dan *Gigartina sp.* Polisakarida tersebut tersusun dari sejumlah unit galaktosa dengan ikatan α (1,3)

D-galaktosa dan β (1,4) 3,6-anhidrogalaktosa secara bergantian, baik mengandung ester sulfat atau tanpa sulfat. Karagenan merupakan komponen fungsional utama dari rumput laut karagenan, alginat dan agar. Karagenan dimanfaatkan sebagai bahan penstabil, pengemulsi, pembentukan gel, penetral, serta banyak digunakan pada industri pangan. Sehingga dalam penelitian dilakukan uji terhadap penggunaan *Eucheuma cottonii* sebagai penghasil kappa karginan dengan fungsi sebagai bahan pengenkapsulasi *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium Bifidum*.

Pati sering digunakan di industri farmasi, pati dalam bentuk alami (*native starch*) adalah pati yang dihasilkan dari sumber umbi-umbian dan belum mengalami perubahan sifat fisik dan kimia atau diolah secara kimia-fisika (Rismana, 2004). Pati singkong banyak digunakan di industri makanan dan farmasi sebagai bahan pengisi (*filler*) dan pengikat (*binder*) dalam pembuatan tablet, pil dan kapsul (Ostertag, 2001).

Aplikasi proses mikroenkapsulasi pada industri pangan semakin banyak digunakan. Hal ini menyebabkan permintaan terhadap bahan penyalut semakin tinggi. Keberadaan singkong (*Manihot utilissima*) yang cukup melimpah dan mempunyai harga terjangkau mempunyai potensi untuk digunakan sebagai bahan penyalut dalam proses mikroenkapsulasi. Selain itu hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternative penggunaan bahan enkapsulasi. Tidak seperti sumber pati lainnya seperti tepung jagung, tepung beras, dan gandum, tapioka memiliki nilai pati yang tinggi dan sangat rendah kandungan kotorannya. Tapioka merupakan sumber material yang luar biasa dalam memproduksi pati dengan memperhitungkan kemudahan ketersediannya, perhitungan harga dan proses ekstraksinya. Secara umum proses mikroenkapsulasi telah banyak dikenal sebagai salah satu proses untuk mempertahankan kerusakan biologi dan kimiawi suatu bahan pangan.

Interaksi antara kappa karaginan dan pati ubi kayu dapat membungkus probiotik dikarenakan kappa dan pati merupakan salah satu bentuk polisakarida yang merupakan polimer alam, sehingga polisakarida tersebut berbentuk benzena dan ikatan antar molekulnya disebut glikosidik. Hal ini diduga dapat terjadi karena sistem pati hidrokoloid merupakan sistem bifase atau mempunyai dua fase, dimana hidrokoloid berada pada fase kontinyu (matriks gel). Karagenan merupakan hidrokoloid gel, senyawa alami yang berasal dari ekstrak rumput laut, banyak terdapat di Indonesia dan sudah sering digunakan bersama-sama dengan pati

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, belum adanya penelitian mengenai pengaruh mix kappa karaginan *Euचेuma cottonii* dan pati ubi kayu *Manihot utilissima* sebagai bahan pengenkapsulat terhadap viabilitas probiotik *L. acidophilus* dan *B. Bifidum*. Maka perlu adanya penelitian mengenai hal tersebut.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh pada bahan pelapis mix kappa karaginan dan pati ubi kayu terhadap viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pelapis mix kappa karaginan dan pati ubi kayu dengan konsentrasi volume berbeda terhadap viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah:

H₀: Pelapis mix kappa karaginan dan pati ubi kayu tidak berpengaruh terhadap viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*

H₁: Pelapis mix kappa karaginan dan pati ubi kayu berpengaruh terhadap viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*

1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai Pengaruh kappa karaginan *Eucheuma cottonii* dan pati ubi kayu *Manihot utilissima* sebagai bahan pelapis berpengaruh terhadap viabilitas probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* sehingga dapat digunakan sebagai pengembangan metode mikroenkapsulasi bakteri probiotik dimasa yang akan datang.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian pendahuluan dilaksanakan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari – April 2015. Pemeliharaan dan penyimpanan kultur bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pengujian spektrofotometer FT-IR dilakukan di Laboratorium Sentral FMIPA Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei 2015. Penelitian utama dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei – Agustus 2015. Pengamatan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* dilaksanakan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang pada bulan Oktober 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik merupakan mikroorganisme non patogen, yang jika dikonsumsi memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya (Triana *et al.*, 2007). Probiotik mempunyai berbagai fungsi kesehatan antara lain sebagai pencegah dan mempunyai efek melawan diare, mengurangi kejadian *lactose intolerance*, melindungi dari inflamasi/arthritis, mencegah hipertensi dan kanker serta meningkatkan system imun tubuh. Probiotik juga berfungsi untuk menyempurnakan proses pencernaan manusia dengan cara melindungi saluran pencernaan dari serangan bakteri patogen. Probiotik juga dilaporkan mampu mengatasi kejadian diare yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli*.

Bakteri asam laktat yang bersifat sebagai probiotik pada pencernaan manusia merupakan mikroflora normal usus, yang terdiri dari *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus*. Tidak semua jenis bakteri bisa digunakan sebagai probiotik. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, diantaranya memiliki aktivitas antimikroba dan anti karsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. Beberapa jenis probiotik yang sering digunakan adalah *Bifidobacterium brevis*, *Infantis*, *Longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, dan *Streptococcus thermophiles*. Dipasaran probiotik ini dijual dalam bentuk susu dan food supplement (O'Grady dan Gibson, 2007).

2.2 Persyaratan Bakteri Probiotik

Tidak semua jenis bakteri bisa digunakan sebagai probiotik. Ada beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, diantaranya memiliki aktivitas antimikroba dan

anti karsinogenik, mampu berkoloni dalam saluran pencernaan serta mampu meningkatkan penyerapan usus. Beberapa jenis probiotik yang sering digunakan adalah *Brevis*, *Infantis*, *Longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, dan *Streptococcus thermophiles*. Dipasaran probiotik ini dijual dalam bentuk susu dan food supplement (O'Grady dan Gibson, 2007).

Karakteristik pemilihan atau kriteria bahwa suatu bakteri itu termasuk probiotik adalah berasal dari manusia, tahan terhadap asam dan garam empedu, menempel pada sel saluran pencernaan, melakukan kolonisasi, antagonisme terhadap bakteri karsinogen dan patogen, menghasilkan senyawa antimikroba, aman digunakan pada pangan dan kesehatan, dan efek kesehatannya (Firdaus *et al.*, 2014).

Syarat probiotik adalah tidak patogen, toleran terhadap asam dan garam empedu, mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanannya serta memiliki kemampuan memberi efek kesehatan yang sudah terbukti (Shortt, 1999). *Lactobacillus* sebagai probiotik alternatif penurun kolesterol memiliki kemampuan bertahan terhadap garamempedu, kondisi asam, mampu menghambat bakteri pathogen, tahan terhadap antibiotik dan dapat mengikat kolesterol dengan menempel pada epitel dinding saluran pencernaan (Hood dan Zottola, 1998).

2.3 Deskripsi *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri asam laktat yang termasuk dalam filum firmicutes dan famili lactobacillales yang mempunyai morfologi berbentuk batang (basil). Menurut (Garrity *et al.*, 2004), klasifikasi bakteri ini adalah :

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Order	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Specific descriptor	: acidophilus
Scientific name	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>



Gambar 1. *Lactobacillus acidophilus* (Prescott et al., 2002)

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu dari delapan genera umum bakteri asam laktat. *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir (Triana, 2007).

Karakteristik *Lactobacillus acidophilus* tidak tumbuh pada suhu 15°C, optimum pertumbuhan pada suhu 35-38°C dan pH optimum 5,5-6,0. *Lactobacillus acidophilus* banyak ditemukan pada bagian akhir usus kecil dan bagian awal usus besar. Bakteri tersebut dapat memproduksi asam organik, hidrogen peroksida dan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen atau bakteri pembusuk, hal ini menunjukkan bahwa sifat antimikroba

bakteri gram positif lebih kuat daripada bakteri gram negatif dalam menghambat bakteri patogen. *Lactobacillus acidophilus* dalam saluran pencernaan dapat juga menghambat pertumbuhan bakteri patogen atau pembusuk yang menyebabkan gangguan pada usus, diare dan gangguan pencernaan serta berperan dalam menjaga kesehatan (Kanbe, 1992).

Bakteri ini memiliki kriteria sebagai probiotik saluran pencernaan penurun atau anti kolesterol. Isolat tersebut memiliki keunggulan dalam hal kemampuan hidupnya pada pH rendah, toleransi terhadap garam empedu, dan menghasilkan asam-asam organik penurun kolesterol (Napitupulu *et al.*, 2003), sebagaimana disyaratkan Hood dan Zottola (1998). Di samping itu hasil uji *in vivo* juga menunjukkan bahwa pemberian suspensi probiotik *Lactobacillus* sp pada tikus dapat menurunkan kolesterol pada hari ke-28 (Kurniawati, 2003). *Lactobacillus* yang dicekakkan pada tikus berfungsi menurunkan kadar LDL dan mempertahankan kadar HDL (*high density of lipoprotein*), dalam darah (Yulinery *et al.*, 2004). Syarat probiotik lain adalah mempunyai kemampuan bertahan pada proses pengawetan dan dapat bertahan pada penyimpanan (Shortt, 1999).

2.4 Deskripsi *Bifidobacterium bifidum*

Bifidobacterium bifidum merupakan bakteri salah satu jenis bakteri asam laktat yang tergolong sebagai bakteri probiotik karena mampu memberikan efek yang positif bagi kesehatan manusia. 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>



Gambar 2. *Bifidobacterium bifidum* (Prescott et al., 2002)

Karakteristik umum dari *Bifidobacterium* antara lain bersifat Gram positif, tidak membentuk spora, non motil, katalase negatif dan anaerobik, mempunyai pertumbuhan 36-38 μm , temperature optimum pertumbuhannya 36-38 $^{\circ}\text{C}$, pH optimum pertumbuhan sebesar 6,5 , bersifat heterofermentatif, memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam laktat dan asam asetat tanpa menghasilkan CO_2 .

2.5 Mikroenkapsulasi

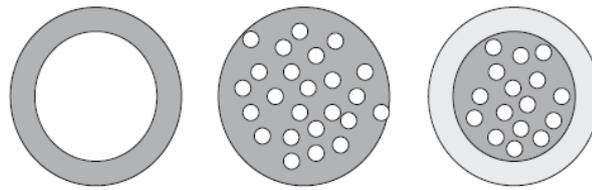
Mikroenkapsulasi adalah proses atau teknik untuk menyalut inti yang berupa suatu senyawa aktif baik itu padat, cair, gas, ataupun sel dengan suatu bahan pelindung tertentu yang dapat mengurangi kerusakan senyawa aktif

tersebut. Enkapsulasi dapat menghasilkan partikel dengan diameter beberapa nm sampai beberapa mm (Barbosa, 2005).

Komponen yang bersifat peka seperti mikroorganisme dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya. Enkapsulasi probiotik biasanya dilakukan dalam sistem polimer yang bersifat lembut dan tidak beracun (*food grade*). Polimer yang biasanya digunakan dalam proses enkapsulasi bakteri probiotik adalah polisakarida yang diekstrak dari rumput laut (Karagean dan alginat), tumbuhan (pati dan turunannya, gum arab), atau bakteri (gellan dan xanthan), dan protein hewan (kasein, whey, skim dan gelatin) (Pasifico *et al.*, 2001).

Berdasarkan ukuran partikelnya produk enkapsulasi dapat dibagi menjadi makrokapsul (ukuran partikel $>5000 \mu\text{m}$), mikrokapsul (ukuran partikel $1,0\text{-}5000 \mu\text{m}$) dan nanokapsul (jika ukuran partikel $<1,0 \mu\text{m}$). Produk enkapsulasi bisa berbentuk bola, persegi panjang atau tak beraturan. Dua jenis struktur utamanya adalah satu inti (*single core*) dan banyak inti (*multiple core*) pada bagian dindingnya (Jafari *et al.*; 2008).

Enkapsulasi membantu memisahkan material inti dengan lingkungannya hingga material tersebut terlepas (*release*) ke lingkungan. Material inti yang dilindungi disebut bahan inti (*core*), agen aktif, isi, fasa internal, atau fase *payload*. Substansi yang menyelimuti disebut lapisan, membran, *shell*, bahan pembawa, bahan dinding, fase eksternal atau matriks dan struktur yang dibentuk oleh bahan pelindung yang menyelimuti inti disebut sebagai dinding membran atau kapsul. Bahan yang digunakan untuk mengenkapsulasi produk makanan harus memiliki mutu yang bagus dan mampu melindungi zat aktif di dalamnya (Zuidam dan Nedovic, 2010). Gambar morfologi mikrokapsul dapat dilihat pada Gambar 3.



Mononuklear

Polinuklear

Matrik

Gambar 3. Morfologi Mikro kapsul (Zuidam dan Nedovic, 2010)

2.6 Metode Pembuatan Mikro kapsul

Menurut Jafari *et al.*, (2008), terdapat beberapa teknik yang digunakan untuk proses enkapsulasi, antara lain dengan menggunakan proses fisik, kimia atau kombinasi teknik fisik dan kimia. Pertimbangan dalam pemilihan teknik yang akan digunakan adalah sensitivitas bahan inti, sifat fisiko-kimia bahan inti dan pelapis, ukuran kapsul yang diinginkan, target produk untuk aplikasinya, mekanisme pelepasan bahan inti dan biaya. Teknik yang digunakan untuk enkapsulasi dapat dikelompokkan sebagai berikut:

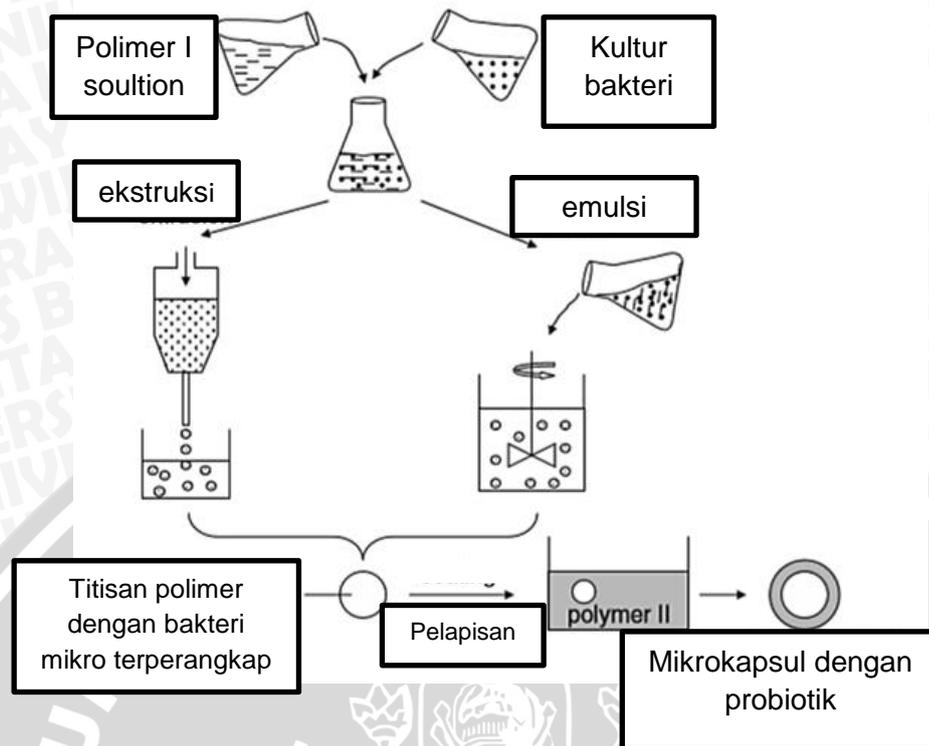
- Metode fisika, yang meliputi *spray drying*, *spray cooling and chilling*, *fluidized bed coating*, *freeze drying* dan *co-crystalization*.
- Metode kimia, yang meliputi *molekuler inclusion* dan *interfacial polymerization*.
- Metode *physicochemical* antara lain *coacervation*, *organic phase* dan *liposome entrapment*.

2.6.1 Metode Gel Partikel

Proses enkapsulasi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode pengeringan semprot, fluid bed coating, spray chilling, melt injection, melt extrusion, emulsification, pengeringan beku dan vakum, dan metode pembentukan manik-manik (Zuadiam dan Nedovic, 2010). Metode pengeringan beku dan vakum tergolong dalam metode yang memerlukan biaya tinggi. Teknik enkapsulasi untuk bakteri asam laktat dapat dilakukan dengan mudah, murah,

dan tidak toksik, yaitu menggunakan enkapsulan karaginan. Proses enkapsulasi probiotik menggunakan karaginan dapat dilakukan dengan teknik ekstruksi atau dengan teknik emulsi yang akan membentuk gel hidrokoloid yang berbentuk manik-manik. Diantara kedua teknik tersebut, ekstruksi merupakan teknik yang lebih sederhana dan membutuhkan biaya yang lebih rendah (Krasaekoop *et al.*, 2003).

Gel partikel merupakan salah satu metode dalam pembuatan lapisan luar untuk melindungi bakteri didalamnya. Metode yang sering digunakan dalam proses pembuatan mikrokapsul bakteri probiotik disebut dengan metode gel partikel yaitu gabungan antara metode ekstruksi dengan metode emulsifikasi. Caranya adalah mencampur kultur bakteri probiotik dengan larutan polimer (bahan pengkapsulat) kemudian dilewatkan jarum untuk diekstraksi dengan menggunakan jarum-jarum dengan diameter lubang 0,3 – 3 mm kedalam larutan penjendal (pembentuk gel) sehingga akan menghasilkan butiran-butiran mikrokapsul dengan diameter sesuai dengan ukuran lubang jarum yang digunakan. Teknologi ini memiliki kelebihan yaitu murah harganya, tidak perlu peralatan mahal, dan mudah penanganannya (Manojlovic *et al.*, 2010). Proses mikroenkapsulasi dengan metode gel partikel secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Mikroenkapsulasi metode gel partikel (Manojlovic et al., 2010)

Teknik ekstruksi (*dropping method*) ini dilakukan dengan prinsip melewati larutan enkapsulasi (yang didalamnya sudah terdapat komponen yang dienkapsulasi) melewati suatu lubang kecil sehingga membentuk tetesan. Tetesan yang terbentuk dijatuhkan ke dalam larutan KCl steril 3,9 M.

2.7 *Foam-mat drying*

Pengeringan busa (*foam-mat drying*) merupakan cara pengeringan bahan berbentuk cair yang sebelumnya dijadikan busa terlebih dahulu dengan menambahkan zat pembusa atau pembuih. *Foam-mat drying* berguna untuk memproduksi produk-produk kering dari bahan cair yang peka terhadap panas atau mengandung kadar gula tinggi yang menyebabkan lengket bila dikeringkan dengan cara pengeringan semprot. Konsentrasi busa yang semakin banyak akan meningkatkan luas permukaan dan memberi struktur berpori pada bahan sehingga akan meningkatkan kecepatan pengeringan (Zubaedah et al., 2003).

Pengeringan busa memberikan keuntungan pada pengeringan udara, biayanya murah dan mudah dikerjakan. Susunan busa memberikan keuntungan yang khas dalam penyebaran, pengeringan, penghilangan permukaan, penghancuran dan penguapan produk. Busa adalah jalan keluar dari pilihan pengendali ketebalan. Lapisan pada pengeringan busa lebih cepat daripada cairan bukan busa pada kondisi luar yang sama. Ini karena cairan bergerak lebih mudah melalui struktur busa daripada melalui padatan lapisan pada bahan yang sama (Van Arsdel *et al.*, 1973).

2.8 Bahan Mikrokapsul

2.8.1 Kappa Karaginan

Karaginan merupakan polisakarida alami yang diperoleh dari rumput laut merah yang dapat dimakan. Kata karaginan berasal dari nama spesies rumput laut *Chondrus crispus* yang dikenal sebagai lumut Carrageen atau lumut Irlandia dalam bahasa Inggris, dikenal sebagai Carraigin di Irlandia. Karaginan digunakan dalam berbagai aplikasi komersial sebagai *gelling* agent, bahan pengental (thickening) dan bahan penstabil (*stabilishing* agent) terutama dalam produk makanan dan saus. Selain itu karaginan juga digunakan dalam dunia farmasi serta dalam aplikasi industri (Necas dan Bartosikova, 2013).

Eucheuma cottonii adalah rumput laut merah penghasil kappa karaginan yang terdiri dari D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhidro-D-galaktosa (Stanley, 1990). *Eucheuma cottonii* dalam bentuk SRC (Semi Refine Caragenan) atau karaginan semi murni dapat dimanfaatkan sebagai bahan penyalut pada proses mikroenkapsulasi. Pemanfaatan ini ditinjau dari sifatnya sebagai penggel, dengan karakteristik gel yang keras dan kokoh tetapi gampang pecah (Setijawati *et al.*, 2011).

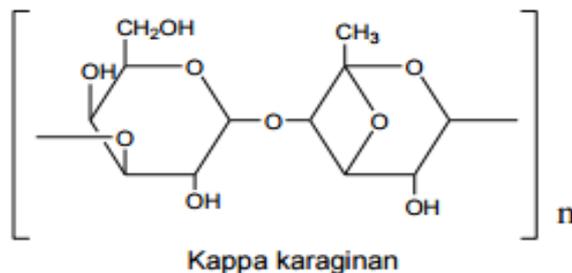
Kandungan utama dari *Eucheuma cottonii* yaitu karbohidrat (gula atau *vegetable-gum*), protein dan lemak. Protein dari beberapa jenis rumput laut memiliki kualitas lebih baik jika dibandingkan dengan protein tanaman darat. *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B6, B12 dan C serta mengandung mineral seperti fosfor, kalium, natrium, iodium, kalsium, dan zat besi (Norsanto, 2004). Komposisi bahan kimia dari rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Kimia *Eucheuma cottonii* (Rohmah, 2013)

Komposisi	Nilai
Air (%)	13,90
Protein (%)	2,69
Lemak (%)	0,37
Abu (%)	17,09
Mineral Ca (ppm)	22,39
Mineral Fe (ppm)	0,121
Mineral Cu (ppm)	2,763
Reboflavin (mg/100g)	2,7
Vitamin C (mg/100g)	12
Karagenan (%)	61,52

Kappa karaginan ditandai pada analisa dengan menggunakan spektrofotometer infra merah, 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} (FAO, 2001). Kappa karaginan akan membentuk gel dengan tekstur keras dengan adanya ion K^+ (garam kalium), akan tetapi akan membentuk gel dengan sifat rapuh dengan adanya ion kalsium (Ca^{2+}) serta akan mengalami sineresis jika membentuk gel (Hernández, 2013). Kandungan unsur-unsur yang terdapat dalam kappa karaginan antara lain Natrium (Na) sebesar 0,32%, Kalium (K) 9,1%, Kalsium (Ca) 0,88%, Magnesium (Mg) 0,18% dan kandungan Sulfur (S) sebesar 7,7%

(Brenner *et al.* 2014). Struktur kimia kappa karaginan ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Kappa Karaginan (Campo *et al.*, 2009)

2.8.2 Pati Ubi kayu

Pati merupakan derivat polisakarida yang strukturnya terdiri dari α -1,4-D-glukosa, amilosa, amilopektin, dan beberapa gugus hidroksil (Rowe *et al.*, 2009). Pati terdiri dari atom karbon, hidrogen, dan oksigen dengan perbandingan 6:10:5. Struktur pati hampir sama dengan selulosa, hanya berbeda pada ikatan glukosidanya, pati terletak pada α -1,4-D-glukosa sedangkan selulosa pada β -1,4-D-glukosa. Selain itu pati juga memiliki dua komponen utama lainnya yaitu amilosa dan amilopektin pada pati terikat pada α -1,4-D-glukosa yang masing-masing ikatan terhubung dengan α -1,6-D-glukosa. Amilosa bersifat larut dalam air dan menyebabkan viskositas pati yang cukup tinggi sedangkan amilopektin tidak larut dalam air. Kedua molekul ini membentuk granul semi-kristalin pati. Jumlah dan ukuran dari kedua molekul ini berbeda tergantung pada tanaman penghasil pati.

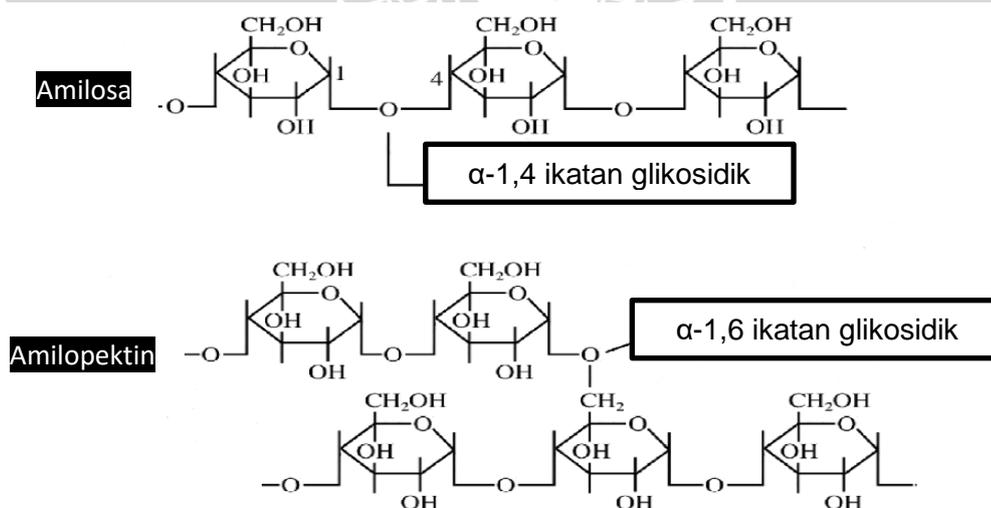
Pati merupakan karbohidrat yang tersebar dalam tanaman terutama tanaman berklorofil. Bagi tanaman pati merupakan cadangan makanan untuk masa pertumbuhan dan pertunasan yang terdapat pada biji, batang dan pada bagian umbi tanaman. Banyaknya kandungan pati pada tanaman tergantung asal pati tersebut, misalnya pati yang berasal dari biji beras mengandung pati 50-

60 %. Pati telah lama digunakan baik sebagai bahan makanan maupun *non-food* seperti perekat, dalam industri tekstil, polimer atau sebagai bahan tambahan dalam sediaan farmasi. Penggunaan pati dalam bidang farmasi sebagai formula sediaan tablet, baik sebagai bahan pengisi, penghancur maupun sebagai bahan pengikat (Tonukari, 2004).

Aplikasi pati dalam suatu produk dipengaruhi oleh kemampuannya untuk membentuk karakteristik produk akhir yang diinginkan. Perbedaan karakteristik fisiko-kimia seperti bentuk granula, rasio amilosa/ amilopektin, karakteristik molekuler pati dan keberadaan komponen lain merupakan penyebab perbedaan sifat fungsionalitas (Copeland *et al.*, 2009). Komposisi Pati dan Struktur amilosa dan amilopektin dapat dilihat pada Gambar 6 dan Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Komposisi kimia pati ubi kayu (Grace, 1977)

Komposisi	% Berat
Karbohidrat	87,87
Lemak	0,51
Protein	1,60
Air	7,80
Abu	2,22



Gambar 6. Struktur molekul amilosa dan amilopektin (Rowe *et al.*, 2009)

2.9 Metode Perhitungan koloni

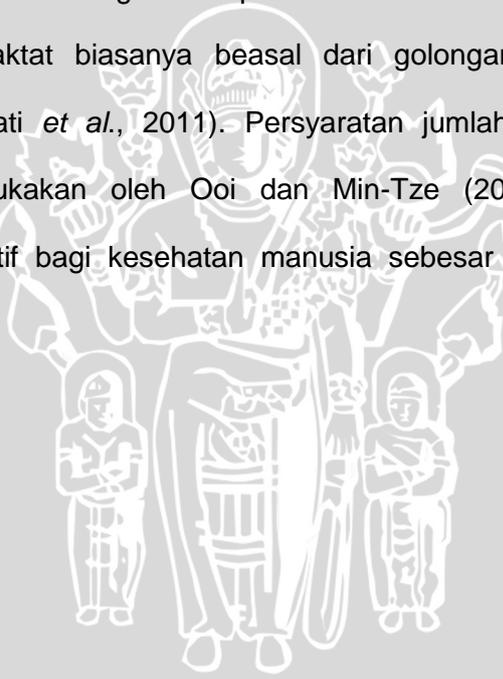
Metode perhitungan cawan langsung (total plate count) dengan menggunakan pengenceran bertingkat dan metode agar tuang (pour plate) serta metode tebar (spread plate). Pada metode agar tuang, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan bakteri diinokulasikan ke dalam cawan petri kosong, kemudian ditambahkan media agar cair lalu diratakan dengan cara cawan petri digerakan secara zig-zag sampai larutan bakteri menjadi tercampur dengan agar cair dan dibiarkan sampai agar membeku baru kemudian di inkubasi untuk menumbuhkan bakteri inokulan. Koloni bakteri yang bersifat aerob akan berada di atas permukaan agar, sedangkan koloni bakteri yang bersifat anaerob akan tumbuh pada dasar media agar. Koloni bakteri yang tumbuh dinyatakan dalam satuan CFU (colony forming units) dengan syarat perhitungan koloni antara 25 – 300 koloni (U.S FDA), akan tetapi para ahli biologi banyak yang menggunakan syarat perhitungan antara 30-300 koloni bakteri (Tortora *et al.*, 2014).

Metode agar tuang digunakan secara luas untuk pengkulturan bakteri dan fungsi. Sampel diencerkan secara bertingkat untuk mengurangi kepadatan populasi agar mendapatkan koloni terpisah pada saat ditanam. Sejumlah volume larutan bakteri dicampur dengan media agar cair dengan suhu sekitar 45°C, lalu dituangkan kedalam cawan petri steril dengan cepat. Cawan yang memiliki jumlah koloni antara 30 – 300 akan dihitung (Prescott *et al.*, 2002). Metode perhitungan agar tuang memiliki kelemahan yaitu sensitifitasnya rendah dikarenakan koloni bakteri yang terdapat dalam agar tidak dapat diamati tanpa menggunakan perbesaran pada saat perhitungan koloni dilakukan (Adams dan Moss, 2000).

2.10 Viabilitas Probiotik

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 dibawah apa yang ditunjukkan pada standart. Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^6 CFU/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan (Shah, 2007).

Probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 10^7 cfu/mL atau g 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/g makanan.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *Semi Refine Carageenan* (SRC) adalah rumput laut *E. cottonii* yang didatangkan dari perairan Sumenep, Madura, Jawa Timur. Pati yang digunakan yaitu menggunakan pati yang berasal dari ubi kayu (*Manihot utilissima*) yang didapatkan dari kota Malang, Jawa Timur.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan SRC kappa antara lain air, aquadest, KOH 6% dan kalium klorida (KCl) 1,5%. Bahan yang digunakan dalam pembuatan pati ubi kayu yaitu ubi kayu (*Manihot utilissima*), dan air. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dan *B. bifidum* adalah sol SRC kappa, pati ubi kayu (*Manihot utilissima*), kultur *L. acidophilus* dan *B. bifidum*, KCl 3,9 M, aquades. Bahan yang digunakan untuk *foam-mat drying* adalah mikrokapsulat dan busa putih telur ayam. Bahan yang digunakan untuk uji viabilitas mikrokapsul antara lain adalah mikrokapsulat yang telah diberi perlakuan, aquades, MRSA (deMann Rogosa Sharpe Agar), NaCl steril, alkohol 70%, spirtus, plastik wrap, dan kapas.

3.1.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan SRC kappa adalah baskom, blender, *beaker glass* 1000 mL, gelas ukur 100 mL, *waterbath*, *stopwatch*, spatula, kain saring, timbangan analitik, loyang, pH meter, dan ayakan. Alat yang digunakan pada pembuatan pati ubi kayu (*Manihot utilissima*) yaitu parutan, baskom, saringan, pisau, blender, timbangan analitik, dan ayakan. Alat yang digunakan pada pembuatan mikroenkapsulasi *L. acidophilus* dan *B. bifidum* adalah *beaker glass* 500 mL, *hotplate*, *magnetic stirrer*, gelas ukur 100 mL, bola

hisap, pipet tetes, kulkas, spatula, oven, loyang, *beaker glass* 50 mL serta spuit 50mL dengan jarum berdiameter 1 mm. Alat yang digunakan untuk *foam-mat drying* adalah mixer, oven, baskom, loyang, dan spatula. Alat yang digunakan untuk menganalisa viabilitas *L. acidophilus* dan *B. bifidum* adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, beaker glass 500 mL, cawan petri, mikropipet, *blue tip*, *Laminar Air Flow*, bunsen, *sprayer*, alkohol, vortex mixer, *stirrer incubator*, *colony counter*, timbangan analitik, serta inkubator.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen dengan tujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pelapis mix kappa karaginan dan pati ubi kayu dengan konsentrasi berbeda terhadap viabilitas bakteri probiotik *L. acidophilus* dan *B. bifidum*. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian. Penelitian eksperimen dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya akibat dari sesuatu yang dikenakan pada subjek yang diselidiki (Nazir, 2005). Penelitian eksperimen mencoba meneliti ada tidaknya hubungan sebab akibat. Metode ini dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variable terikat. Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas : Perbedaan volume bakteri probiotik
2. Variable terikat : Viabilitas, Kadar air, Aktivitas water (A_w) mikrokapsul *L. acidophilus* dan *B. bifidum*

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan rasio bahan pelapis mikroenkapsulasi mix kappa karaginan dan pati

ubi kayu yang terbaik untuk dilanjutkan ke penelitian utama. Rancangan penelitian pendahuluan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial. Model rancangan percobaan untuk penelitian pendahuluan yang digunakan ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Model rancangan percobaan dalam penelitian pendahuluan

Perlakuan		Ulangan			Total	Rerata
Rasio	Jenis Bakteri	1	2	3		
A1	B1	A1B1 1	A1B1 2	A1B1 3		
	B2	A1B2 1	A1B2 2	A1B2 3		
A2	B1	A2B1 1	A2B1 2	A2B1 3		
	B2	A2B2 1	A2B2 2	A2B2 3		
A3	B1	A3B1 1	A3B1 2	A3B1 3		
	B2	A3B2 1	A3B2 2	A3B2 3		

Keterangan :

- A1 = Kappa dan Pati dengan rasio 1 : 1
- A2 = Kappa dan Pati dengan rasio 1 : 2
- A3 = Kappa dan Pati dengan rasio 2 : 1
- B1 = *L. acidophilus*
- B2 = *B. bifidum*

3.3.2. Penelitian Utama

Penelitian utama ini merupakan lanjutan dari penelitian pendahuluan, dimana rasio yang terbaik akan diberikan perlakuan dengan menambahkan volume kultur *L. acidophilus* dan *B. bifidum* yaitu 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL dengan waktu pengeringan 48 jam dan 72 jam. Rancangan penelitian utama yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara faktorial. Model rancangan percobaan untuk penelitian utama yang digunakan ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Model rancangan percobaan dalam penelitian utama

Jenis Bakteri	Perlakuan		Ulangan			Total
	Volume	Waktu	1	2	3	
A1	B1	C1	A1B1C1.1	A1B1C1.2	A1B1C1.3	
		C2	A1B1C2.1	A1B1C2.2	A1B1C2.3	
	B2	C1	A1B2C1.1	A1B2C1.2	A1B2C1.3	
		C2	A1B2C2.1	A1B2C2.2	A1B2C2.3	
	B3	C1	A1B3C1.1	A2B3C1.2	A2B3C1.3	
		C2	A1B3C2.1	A2B3C2.2	A2B3C2.3	
	B4	C1	A1B4C1.1	A1B4C1.2	A1B4C1.3	
		C2	A1B4C2.1	A1B4C2.2	A1B4C2.3	
A2	B1	C1	A2B1C1.1	A2B1C1.2	A2B1C1.3	
		C2	A2B1C2.1	A2B1C2.2	A2B1C2.3	
	B2	C1	A2B2C1.1	A2B2C1.2	A2B2C1.3	
		C2	A2B2C2.1	A2B2C2.2	A2B2C2.3	
	B3	C1	A2B3C1.1	A2B3C1.2	A2B3C1.3	
		C2	A2B3C2.1	A2B3C2.2	A2B3C2.3	
	B4	C1	A2B4C1.1	A2B4C1.2	A2B4C1.3	
		C2	A2B4C2.1	A2B4C2.2	A2B4C2.3	

Keterangan :

A1 : Probiotik *L. acidophilus*

A2 : Probiotik *B. bifidum*

B1 : Volume 20 mL

B2 : Volume 30 mL

B3 : Volume 40 mL

B4 : Volume 50 mL

C1 : Waktu pengeringan 48 jam

C2 : Waktu pengeringan 72 jam

Model matematis yang digunakan untuk analisa ragam RAL adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \sum_{ijk}$$

Dimana :

Y_{ijk} = respon metode yang diamati

μ = nilai tengah umum

α_i = pengaruh pada taraf ke-i dari faktor A

β_j = pengaruh pada taraf ke-j dari faktor B

$\alpha\beta_{ij}$ = pengaruh interaksi taraf ke-I dari faktor A dan taraf ke-j dari faktor B

\sum_{ijk} = pengaruh sisa galat percobaan faktor A taraf ke-I dan faktor B taraf ke-j pada ulangan ke-k

Hasil penelitian dianalisis menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) analisis sidik ragam dan dilanjutkan dengan pengujian perlakuan yang menggunakan 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 Duncan.

3.3.3. Pembuatan Tepung (SRC) *E. cottoni*

Prosedur kerja dalam pembuatan SRC dari jenis rumput laut *E. cottoni* dilakukan berdasarkan metode penelitian Setijawati *et al.*,(2012) yang termodifikasi sebagai berikut :

- Rumput laut *E. cottoni* segar dicuci sampai bersih lalu di jemur sampai kering.
- Rumput laut *E. cottoni* yang telah kering ditimbang sebanyak 25 g kemudian ditambahkan air dengan perbandingan 1:20 dan direndam selama 24 jam.
- Pemanasan dalam *waterbath* selama 30 menit dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$. Rumput laut yang telah dipanaskan diblender sampai menjadi pasta kemudian diekstraksi. Pasta diekstraksi dengan menggunakan KOH 6%.
- Pemanasan dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam dalam *waterbath*.
- Filtrat *E. cottonii* disaring lalu dicuci dengan KCl 1,5%
- Selanjutnya dijemur sampai kering dan digiling sampai menjadi serbuk lalu didapatkan tepung *Semi Refined Carrageenan* (SRC).

3.3.4. Pembuatan Tepung Pati Ubi Kayu (*Manihot utilissima*)

Prosedur kerja dalam pembuatan Tepung Pati Ubi Kayu dari jenis *Manihot utilissima* dilakukan berdasarkan metode penelitian (Elvis, 2010) sebagai berikut :

- Ubi kayu dikupas lalu dicuci hingga bersih.
- Ubi kayu diparut hingga menjadi bubur umbi, lalu ditambahkan air dengan perbandingan umbi dan air adalah 1:2. Diaduk-aduk agar pati lebih banyak yang terlepas dari sel umbi.
- Disaring adonan pati atau diperas dengan menggunakan kain saring, seperti halnya memeras kelapa.
- Biarkan suspensi pati mengendap di dalam wadah ± selama 3 jam pati akan mengendap sebagai pasta.
- Buang cairan diatas endapan dan pasta dijemur dibawah sinar matahari diatas tampah hingga mengering.
- Pati kasar diblender hingga menjadi halus dan diayak dengan ayakan 60 mesh.

3.3.5. Uji *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Prinsip kerja spektrofotometer FT-IR adalah sumber radiasi yang dipancarkan oleh sumber sinar (radiasi) akan dilewatkan ke sel sampel, kemudian difokuskan oleh monokromator dan diteruskan ke detektor untuk difokuskan menjadi spektrum dengan panjang gelombang sesuai dengan gugus fungsional yang terdapat didalamnya (Hadi, 2008).

Pengujian spektrofotometer FT-IR dilakukan di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Brawijaya Malang untuk mengetahui gugus fungsional SRC yang dihasilkan dari ekstraksi *E. cottoni* dan Pati Ubi kayu (*Manihot utilissima*). Spektrofotometer FT-IR dapat digunakan untuk analisa sampel yang berupa padatan, cairan, dan gas. Spektrum *infrared* dihasilkan dari pentransmisiian cahaya yang melewati sampel kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}).

Untuk pengambilan spectra FT-IR jumlah sampel yang diperlukan antara 1-5 mg, sedangkan bentuk sampel dapat berupa padatan, cairan atau dalam bentuk gas. Analisis gugus fungsi sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorbansi yang terbentuk pada spektrum *infrared* menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding yang sudah diketahui (Anam *et al.*, 2007). Daerah pada spectrum infra merah diatas 1500 cm menunjukkan pita spektrum atau gugus fungsi dalam molekul kimia, sedangkan daerah dibawah 1500 cm menunjukkan daerah sidik jari (Sastrohamidjojo, 1991).

3.3.6. Pembuatan Mikro kapsul

Prosedur kerja dalam pembuatan mikro kapsul dilakukan berdasarkan metode Manojlovic *et al.*, (2010) dan Setijawati *et al.*, (2012).

- Penimbangan sebanyak 2,05 g SRC (1,025 g kappa SRC dan 1,025 g pati) ditambahkan 30 mL akuades.
- Kemudian pemanasan di atas *hot plate* hingga mencapai suhu 97⁰C dan distirrer dengan kecepatan 500 rpm kemudian diangkat dari *hot plate* dan suhunya diturunkan hingga 35-40⁰C sambil terus diaduk agar tidak cepat membentuk gel.
- Kultur *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dimasukkan kedalam mix sol karaginan dan pati ubi kayu, lalu diaduk hingga homogen.
- Campuran sel dan sol dimasukan kedalam larutan 100 mL larutan KCl 3,9 M menggunakan spuit 50 mL dengan jarum berukuran 1 mm, pengadukan dilakukan menggunakan stirrer selama 10 menit.
- Mikro kapsul yang didapat disaring menggunakan kertas saring.
- Mikro kapsul basah

Yield mikroenkapsulasi (efisiensi dari penyalut dengan jumlah bakteri yang mampu bertahan hidup setelah proses mikroenkapsulasi) dihitung sebagai *Encapsulation Yield (EY)* (Chávarri *et al.*, 2010).

$$EY = \frac{N}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

- N = Jumlah sel hidup yang terlepas setelah proses mikroenkapsulasi
N₀ = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

3.3.7. Analisa Volume Bakteri Probiotik dan lama Pengeringan Mikro kapsul

Prosedur kerja dalam pembuatan mikro kapsul dilakukan berdasarkan metode Manojlovic *et al.*, (2010) dan Setijawati *et al.*, (2012). Proses *foam-mat* berdasarkan penelitian Veni (2013) adalah sebagai berikut :

- Perlakuan 1
 - Penimbangan sebanyak 2,05 g SRC (1,025 g kappa SRC dan 1,025 g pati) ditambahkan 30 mL akuades.
 - Kemudian pemanasan di atas *hot plate* hingga mencapai suhu 97^oC dan distirrer dengan kecepatan 500 rpm kemudian diangkat dari *hot plate* dan suhunya diturunkan hingga 35-40^oC sambil terus diaduk agar tidak cepat membentuk gel.
 - Masing-masing 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL kultur *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dimasukkan ke dalam mix sol karaginan dan pati ubi kayu, lalu diaduk hingga homogen.
 - Campuran sel dan sol dimasukan kedalam larutan 100 mL larutan KCl 3,9 M menggunakan spuit 50 mL dengan jarum berukuran 1 mm, pengadukan dilakukan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit.
 - Mikro kapsul yang didapat disaring menggunakan kertas saring.
 - Mikro kapsul basah

- Perlakuan 2
- 1 Buah telur ayam dipisahkan dari kuning telur dan putih telurnya.
 - Putih telur dikocok dengan menggunakan mixer hingga membentuk busa selama \pm 5-7 menit sampai mengembang.
 - Busa putih telur ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.
 - Disiapkan mikrokapsul yang telah dipanen.
 - Mikrokapsul dilapisi busa putih telur dengan konsentrasi sebanyak 17,5 dari total residu%.
 - Mikroenkapsulasi dikeringkan dalam oven dengan suhu 45°C selama 48 dan 72 jam hingga kering dan menjadi serbuk mikrokapsulasi mengandung probiotik.

Pengujian viabilitas mikrokapsul dilakukan setelah proses enkapsulasi selesai. Uji viabilitas menggunakan metode dari penelitian Fardiaz (1989) adalah sebagai berikut :

Prosedur Pengenceran:

- NaCl ditimbang sebanyak 4,05 g dan dihomogenkan dalam aquades sebanyak 450 mL
- Larutan NaCl dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 9 mL kemudian disterilkan sehingga diperoleh Na-fis 0,9% steril
- Na-fis 0,9% steril disiapkan untuk pengenceran 10^1 sampai 10^5
- Tabung reaksi 10^1 diisi sampel mikrokapsul yang telah diberi perlakuan sebanyak 2 g kemudian dihomogenkan dan diulangi prosedur tersebut untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^5 .

Prosedur pembuatan media:

- Media MRSA ditimbang sebanyak 119,232 g dan dihomogenkan dengan akuades sebanyak 1800 mL
- Larutan MRSA dipanaskan pada hotplate selama 15 menit
- Larutan MRSA yang telah mendidih disterilisasi sehingga diperoleh media MRSA steril

Prosedur Penanaman:

- Penanaman dilakukan pada tingkat pengenceran 10^5 dengan cara diambil 1 mL dari tabung reaksi 10^5 untuk dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo yaitu masing-masing pada dua cawan petri diisi sampel sebanyak 1 mL
- Cawan petri yang telah diberi sampel kemudian diberi media ± 15 mL ditunggu sampai dingin atau sampai padat lalu diinkubasi selama 3 hari
- Tahap selanjutnya setelah diinkubasi kemudian diamati dengan menghitung jumlah koloni bakteri tertinggi merupakan hasil dari perlakuan yang terbaik.

Mikrokapsul yang telah diberi perlakuan dilakukan pengujian viabilitas.

Pengujian viabilitas mikrokapsul menggunakan metode dari penelitian Setijawati (2011) adalah sebagai berikut :

- Sampel sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam larutan Na-fis steril 9 mL dan divortex selama 2 menit.
- Diambil 1 mL dan dilakukan pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-5} , diambil 1 mL dan dilakukan penanaman di dalam media MRSA dari pengenceran 10^{-2} sampai 10^{-5} dan seterusnya secara duplo.

- Diinkubasi selama 72 Jam pada suhu 35-37°C kemudian dilakukan perhitungan TPC (Total Plate Count) koloni bakteri (cfu/mL) dengan menggunakan rumus (Fardiaz, 1988) :

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

Perhitungan viabilitas *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dilakukan dengan menggunakan dua kondisi yaitu kondisi yang dikhususkan untuk mengoptimalkan pertumbuhan *L. acidophilus* (anaerob fakultatif) dan kondisi kedua dilakukan untuk mengoptimalkan pertumbuhan *B. bifidum* (anaerob obligath).

3.3.8. Kadar Air

Prinsip penentuan kadar air dengan metode *Thermogravimetri* yaitu menguapkan air yang ada dalam bahan pangan dengan cara pemanasan. Metode ini dilakukan dengan menguapkan air yang ada dalam bahan dengan pemanasan dengan suhu 105 °C selama 3 jam kemudian menimbang bahan sampai didapat berat konstan yang berarti air yang ada dalam bahan telah diuapkan semua (Sudarmadji *et al.*, 2010) . Prosedur kerja dari analisis kadar air adalah sebagai berikut :

- Timbang bahan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya
- Dimasukkan dalam oven bersuhu 100 – 105 °C selama 3 – 5 jam. Kemudian didinginkan dalam eksikator 15 menit dan ditimbang.
- Pengurangan berat bahan merupakan banyaknya air dalam bahan. Persentase kadar air dalam bahan dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Berat basah \% WB} = \frac{(A+B) - C}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

A : berat botol timbang

B : berat sampel

C : berat akhir (botol timbang + sampel) yang telah dikeringkan

3.3.9. Activity Water (A_w)

Prinsip A_w menyatakan rasio tekanan uap air pada kondisi kesetimbangan produk pangan dengan tekanan uap air jenuh pada temperatur yang sama. Nilai A_w tersebut menggambarkan tingkat keterikatan air pada sistem pangan yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Oleh sebab itulah A_w dapat dijadikan indikator untuk memprediksi stabilitas dan keamanan produk pangan. Penggunaan prinsip A_w banyak diadaptasi dalam regulasi pangan diantaranya yang menyangkut pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, standar beberapa produk pangan awetan, dan persyaratan pengemasan.

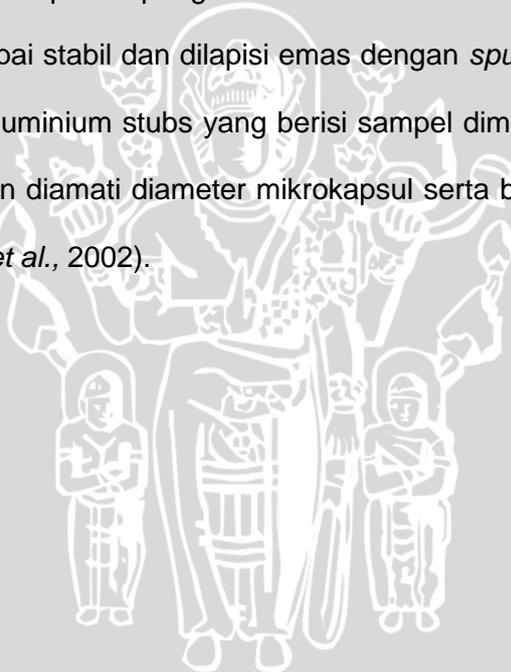
Nilai A_w diperoleh dengan membandingkan tekanan uap air pada produk pangan (P) terhadap tekanan uap air murni (P_0) pada temperatur tertentu yang diberikan. Pengalihan A_w dengan 100 akan memberikan persen equilibrium relative humidity (ERH) atmosfer pada kondisi kesetimbangan pangan.

A_w pada bahan pangan pada umumnya sangat mudah untuk dibekukan maupun diuapkan. Hubungan kadar air dengan A_w ditunjukkan dengan kecenderungan bahwa semakin tinggi kadar air maka semakin tinggi pula nilai A_w . Kadar jair dinyatakan dalam persen (%) pada kisaran skala 0-100, sedangkan nilai A_w dinyatakan dalam angka desimal pada kisaran skala 0-1,0 (Legowo dan Nurwanto, 2004).

3.3.10 SEM (Scanning Electron Microscope)

SEM adalah jenis mikroskop elektron yang menghasilkan gambar dari sampel dengan memindai dengan sinar terfokus elektron. Elektron berinteraksi dengan atom dalam sampel, memproduksi berbagai sinyal yang dapat dideteksi dan yang berisi informasi tentang sampel topografi permukaan dan komposisi.

Berkas elektron umumnya dipindai dalam pola raster scan, dan posisi balok yang dikombinasikan dengan sinyal yang terdeteksi untuk menghasilkan gambar. Diameter dan bentuk dari mikrokapsul diperiksa dengan *Scanning Electron Microscope*, dengan cara mikrokapsul ditempatkan merata pada aluminium stubs yang berupa lempengan berdiameter 6 mm kemudian divakum dengan gas argon sampai stabil dan dilapisi emas dengan *sputter coater* selama 20 detik. Selanjutnya aluminium stubs yang berisi sampel dimasukkan pada alat *electron microscope* dan diamati diameter mikrokapsul serta bentuk mikroskopis dari mikrokapsul (Lian *et al.*, 2002).

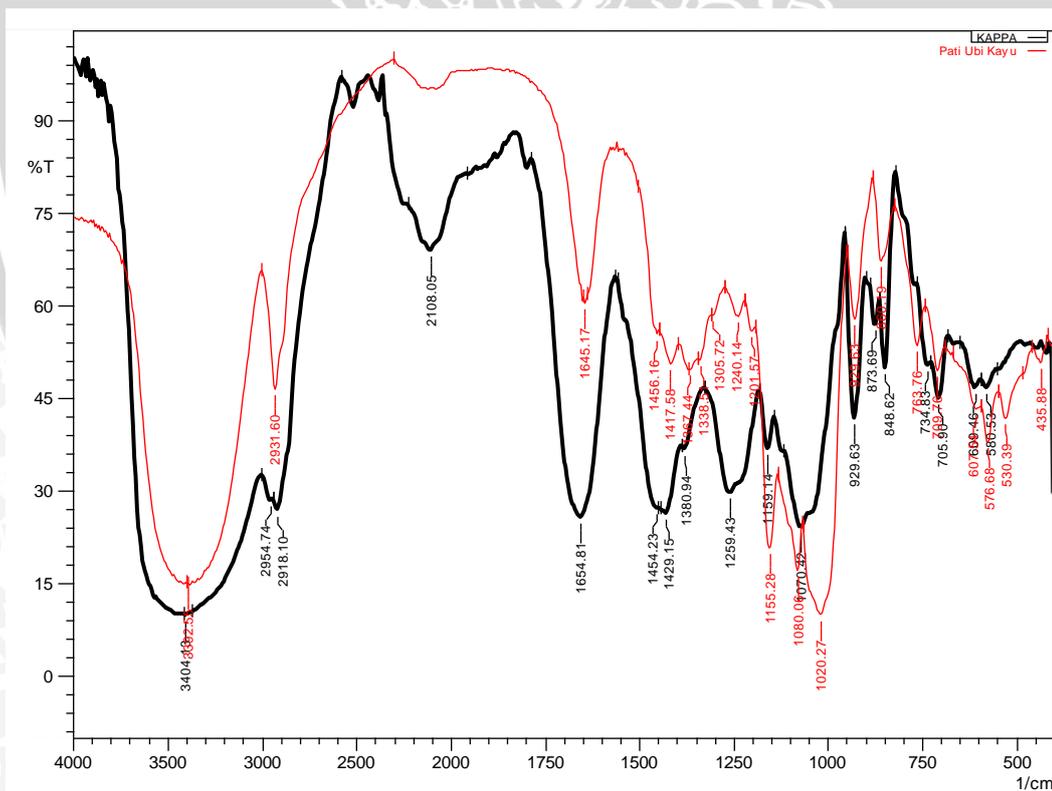


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Spektra FT-IR SRC *E. cottoni* dan Pati Ubi Kayu

4.1.1 FT-IR (Fourier Transform Infrared) *E. cottoni* dan Pati Ubi Kayu

Gugus fungsi menggunakan FT-IR. Prinsip pengujian adalah absorpsi gugus karbonil menggunakan serapan Infra merah. Pengukuran absorpsi radiasi Infra Red pada berbagai panjang gelombang dilakukan dengan spektrofotometer Infra Red Shimadzu model IR-430 (Simorangkir, 2004). Analisa karaginan dari *E. cottoni* menggunakan spektrofotometer FT-IR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari karaginan yang dihasilkan dengan dari proses semi murni (*semi refined*). Hasil analisa spektrofotometer FT-IR *E. cottoni* dan pati ubi kayu dapat dilihat pada Gambar 7.



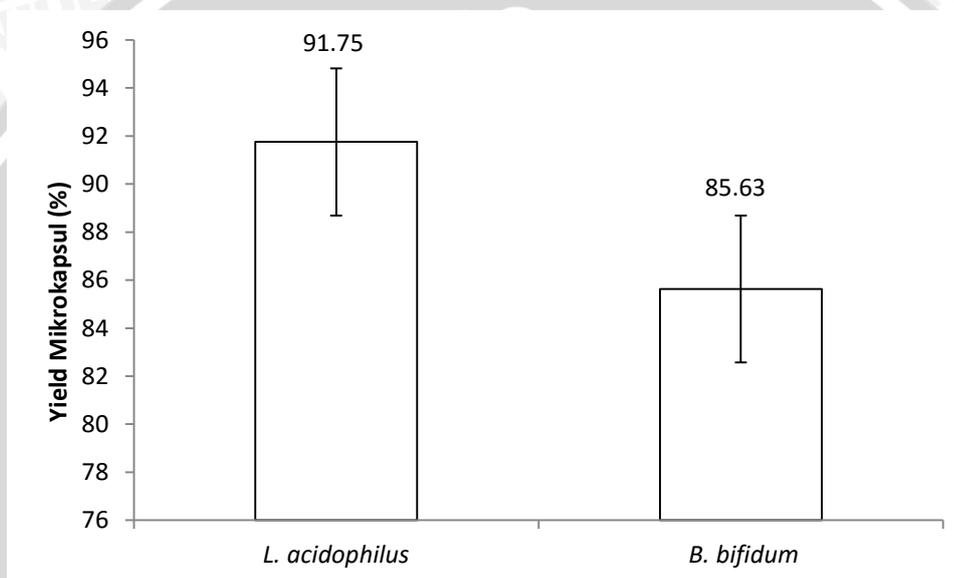
Gambar 7. Spektra FT-IR *E. cottoni* dan Pati Ubi kayu — : Pati ubi kayu
 — : Kappa

Analisa karaginan dari *E. cottoni* gugus fungsi ester sulfat muncul pada bilangan gelombang $1259,43 \text{ cm}^{-1}$ dan ikatan glikosidik berada pada wilayah $1070,42 \text{ cm}^{-1}$. Sampel yang digunakan adalah *E. cottonii* dan banyak diketahui mengandung karaginan jenis *kappa*. *Kappa* karaginan memiliki gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa dan galaktosa 4 sulfat yang tidak dimiliki karaginan jenis lain. Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa dalam spektra infra merah berada pada wilayah $929,63 \text{ cm}^{-1}$ dan galaktosa 4 sulfat berada pada wilayah $848,62 \text{ cm}^{-1}$. Hasilnya adalah perubahan dari kandungan 6 sulfat pada posisi β 1,4 galaktosa menjadi 3,6 anhidrogalaktosa atau 3,6 AG, (Imeson, 1998).

Pada gambar 7 penentuan gugus fungsional karaginan dengan menggunakan metoda FT-IR dapat diketahui bahwa karaginan yang dihasilkan SRC jenis *E. cottonii* memiliki sifat polisakarida yaitu larut dalam air, dimana dapat diketahui dengan adanya gugus hidroksil pada panjang gelombang 3404 cm^{-1} . Menurut FAO (2001), *kappa* karaginan ditandai dengan gugus D-galaktosa-4-sulfat dan 3,6-anhidro-D-galaktosa. Analisa menggunakan spektrofotometer FT-IR, gugus fungsi D-galaktosa-4-sulfat akan muncul pada bilangan panjang gelombang $840-850 \text{ cm}^{-1}$, gugus 3,6-anhidro-D-galaktosa akan muncul pada bilangan gelombang $928-933 \text{ cm}^{-1}$, gugus 3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat akan muncul pada bilangan gelombang $800-805 \text{ cm}^{-1}$ serta gugus fungsi ester sulfat akan muncul pada bilangan gelombang $1220-1260 \text{ cm}^{-1}$. Analisa spektrofotometer FT-IR pati ubi kayu rantai percabangan amilopektin yaitu gugus α -1,6 glikosidik $1020,27 \text{ cm}^{-1}$, dan menyisakan rantai linier heliks amilum yang mempunyai gugus α -1,4 glikosidik $1080,06 \text{ cm}^{-1}$. Perbandingan gugus fungsi *kappa* dan pati dapat dilihat pada Lampiran 5 dan 6.

4. 2 Yield Mikroenkapsulasi

Yield mikroenkapsulasi merupakan persentase perbandingan antara viabilitas sel setelah proses pengeringan mikro kapsul pada suhu 45°C dengan viabilitas awal sel sebelum proses pengeringan. Nilai *yield* tertinggi diperoleh pada bahan terkapsulat *L. acidophilus*. Nilai *yield* mikroenkapsulasi pada masing-masing jenis probiotik dapat dilihat pada Gambar 8 dan perhitungan pada Lampiran 9.



Gambar 8. Yield mikroenkapsulasi probiotik

Gambar 8 memperlihatkan bahwa *yield* tertinggi diperoleh pada bahan terkapsulat *L. acidophilus* yaitu sebesar 91,75% sedangkan *yield* terendah *B. bifidum* sebesar 85.63%. Berdasarkan penelitian (Riska, 2015) didapatkan bahawa *yield* tertinggi antara *B. bifidum* dan *L. acidophilus* kemampuan hidup *L. acidophilus* lebih baik daripada *B. bifidum* hal ini diduga oleh kemampuan hidup bakteri *L. acidophilus* lebih baik karena karena mampu tumbuh dalam keadaan anaerob fakultatif, sedangkan *B. bifidum* anaerob obligath. Ketersediaan oksigen pada mikroenkapsulasi probiotik ini disebabkan karena pada proses pembuatan mikroenkapsulasi menggunakan foam yang dapat menciptakan rongga, hal ini

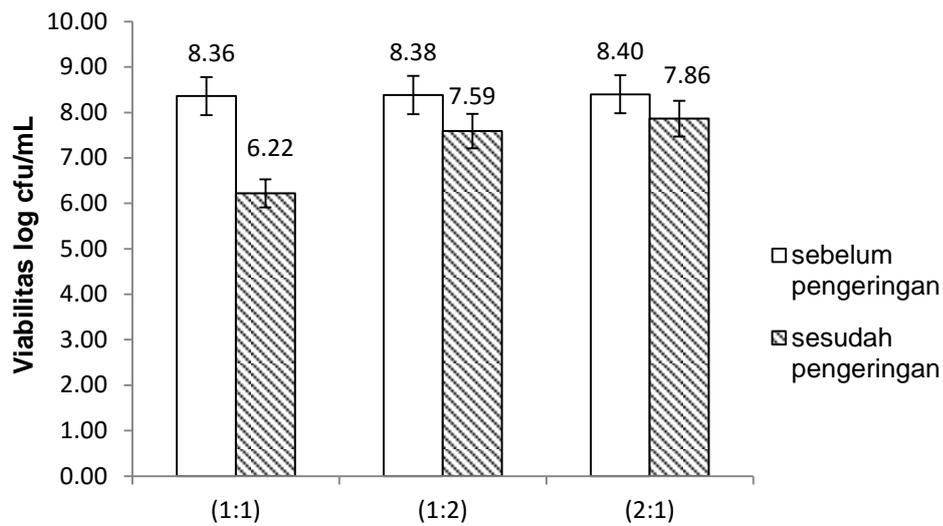
sesuai dengan penelitian Veni, (2012) menjelaskan bahwa mikrokapsul yang dilapisi dengan foam dapat menciptakan rongga pada permukaan sehingga memungkinkan oksigen untuk masuk kedalam mikrokapsul *B. bifidum* dan tidak dapat tumbuh dengan baik. Akan tetapi coating yang utuh bisa mempertahankan viabilitas bakteri tersebut pada saat penyimpanan.

Permukaan yang retak-retak, berongga, tidak rata atau terdapat lipatan pada permukaan mikrokapsul pada saat pengeringan, dan kemampuan hidup bakteri *L. acidophilus* lebih baik seperti yang dinyatakan oleh penelitian Thalib *et al.*, (2002) bakteri anaerob akan mengalami penurunan viabilitas yang sangat nyata apabila pelapis (*coating*) yang digunakan mengalami kerusakan.

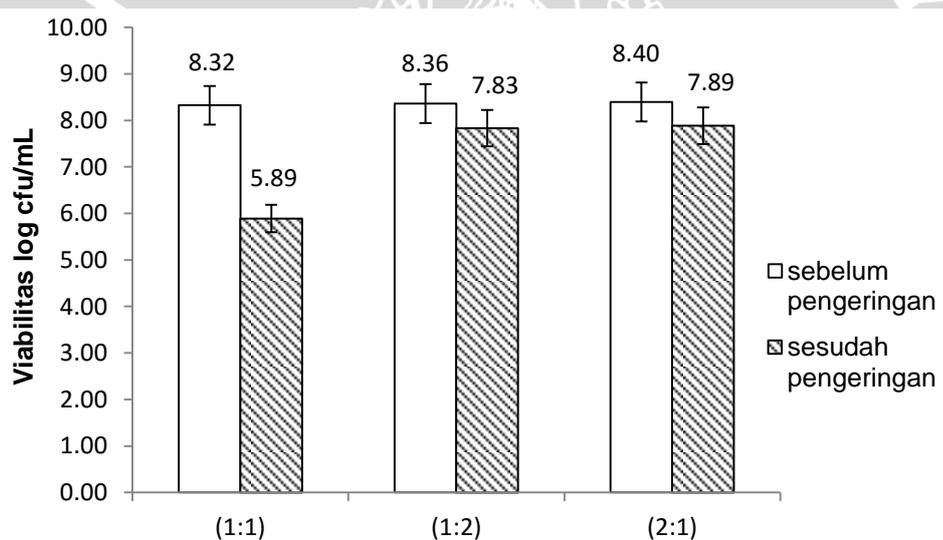
Menurut Setijawati *et al.*, (2012) Viabilitas probiotik terkapsulasi juga dapat mengalami penurunan karena adanya proses pengeringan sampai dengan dua siklus log. Viabilitas probiotik yang terkapsulasi juga dipengaruhi oleh bahan pengkapsulatan yang digunakan. Probiotik yang terkapsulasi dalam karaginan proses murni (*Refined Carageenan*) akan menghasilkan viabilitas probiotik yang lebih baik apabila dibandingkan dengan menggunakan karaginan proses semi murni.

4.3 Viabilitas Probiotik Rasio Mikrokapsul

Hasil data analisa viabilitas rasio mikrokapsul dapat dilihat pada Lampiran 10 dan Gambar rerata hasil viabilitas dilihat pada Gambar 9 dan 10.



Gambar 9. Nilai viabilitas probiotik *L. acidophilus* dengan rasio mikro kapsul yang berbeda



Gambar 10. Nilai viabilitas probiotik *B. bifidum* dengan rasio mikro kapsul yang berbeda

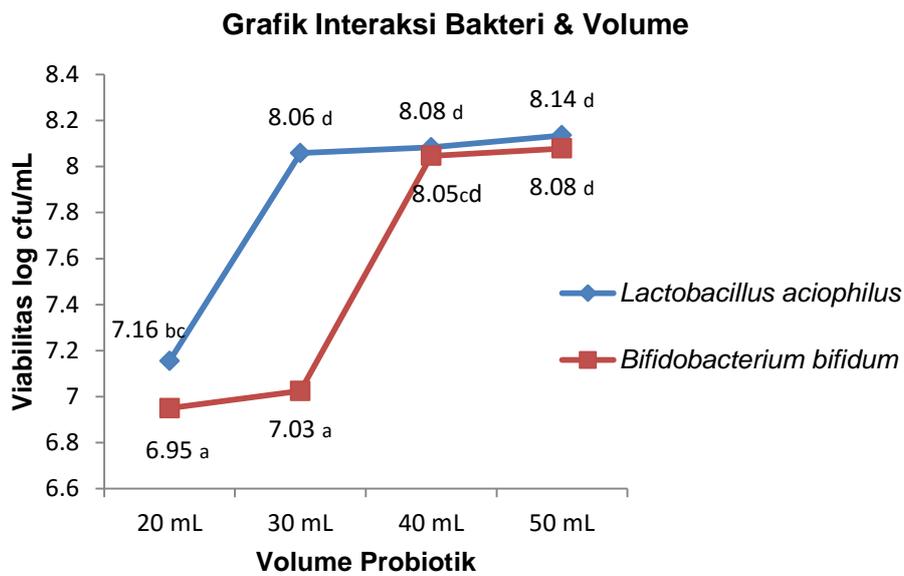
Pada Gambar 9 dan 10, memperlihatkan bahwa viabilitas probiotik pada pembuatan mikro kapsul dengan bahan penyalut rasio yang berbeda yaitu 1:1 = Kappa:Pati, 1:2 = Kappa:Pati, 2:1 = Kappa:Pati didapatkan nilai viabilitas yang tertinggi dari kedua jenis bakteri yaitu 2:1 = Kappa:Pati dengan nilai viabilitas pada mikroenkapsulat *L.acidophilus* yaitu sebelum pengeringan 8,40 log cfu/mL dan setelah pengeringan 7,86 log cfu/mL, sedangkan pada mikroenkapsulat *B.*

bifidum yaitu 8,40 log cfu/mL dan setelah pengeringan 7,89 log cfu/mL. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan bahan penyalut mampu melindungi zat inti. Disamping itu selain penggunaan rasio yang berbeda untuk didapatkan viabilitas yang terbaik digunakan *foam-mat* atau busa putih telur yang bertujuan untuk melindungi zat inti dengan baik. Berdasarkan penelitian Nahariah *et al.*, (2013), juga mengungkapkan bahwa putih telur mampu meningkatkan kenaikan total bakteri karena seperti bahan pangan lainnya putih telur kaya akan nutrisi antara lain karbohidrat, protein, lemak. Senyawa tersebut menghasilkan komponen N, S, O, C, yang dibutuhkan untuk pertumbuhan makhluk hidup termasuk bakteri. Lingkungan yang sesuai termasuk tersedianya nutrisi yang cukup akan meningkatkan viabilitas bakteri.

Pengujian viabilitas dengan rasio yang berbeda adalah untuk mengetahui viabilitas probiotik mana yang terbaik dan untuk mengetahui rasio bahan penyalut yang mampu mempertahankan inti dengan baik pada masing-masing probiotik.

4.4 Analisa Viabilitas Mikrokapsul Volume 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL

Hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi volume yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitas mikrokapsul *L. acidophilus* dan *B. bifidum*. Perhitungan viabilitas mikrokapsul *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dapat dilihat pada Lampiran 11. Viabilitas mikrokapsul *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada berbagai volume probiotik dapat dilihat pada Gambar 11.



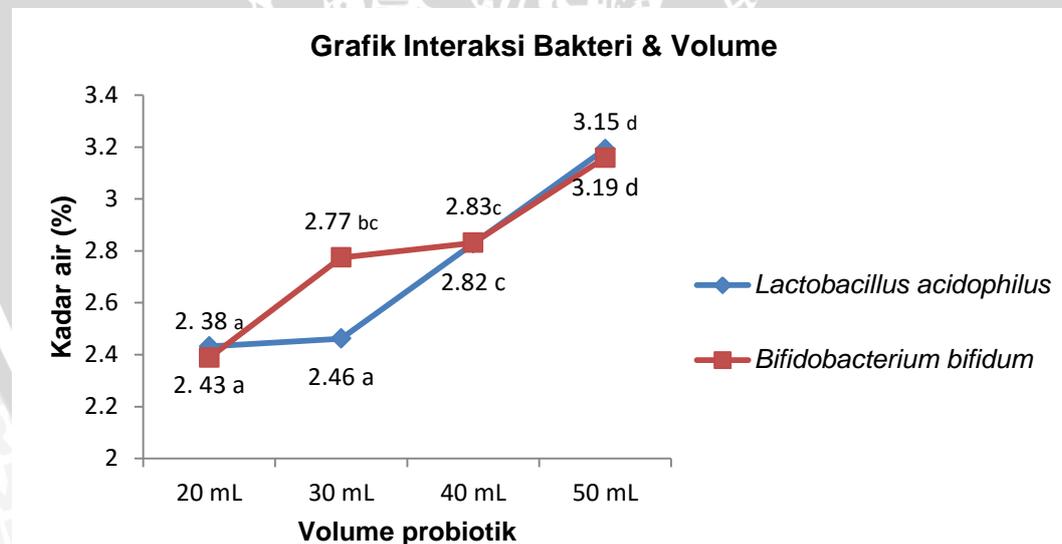
Gambar 11. Nilai viabilitas mikro kapsul probiotik dengan volume 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL

Pada Gambar 11 memperlihatkan bahwa viabilitas pada masing-masing mikro kapsul dengan volume bakteri probiotik yang berbeda volume 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL terjadi peningkatan jumlah viabilitas, dan yang tertinggi didapatkan pada volume 50 mL pada mikroenkapsulat *L. acidophilus* memiliki viabilitas yaitu 8,14 log cfu/mL. Sedangkan pada mikroenkapsulat *B. bifidum* didapatkan viabilitas terendah yaitu 6,95 log cfu/mL. *L. acidophilus* merupakan bakteri anaerob fakultatif sehingga dapat bertahan hidup lebih baik dibandingkan dibandingkan dengan bakteri *B. bifidum* yang bersifat anaerob obligath. Viabilitas yang sesuai dengan standar WHO 10⁷ cfu/ml atau 7 cfu/ml (log). Dalam penelitian Susanti (2013), juga mengungkapkan bahwa metode penambahan volume probiotik sebanyak 2%, 4%, 6% mengalami peningkatan sebesar 1 log. Menurut Setijawati et al., (2012) viabilitas probiotik terenkapsulasi juga dapat mengalami penurunan karena adanya proses pengeringan sampai dengan dua siklus log. Viabilitas probiotik yang terenkapsulasi juga dipengaruhi oleh bahan pengenkapsulat yang digunakan. Probiotik yang terenkapsulasi dalam karaginan

proses murni (*Refined Carageenan*) akan menghasilkan viabilitas probiotik yang lebih baik apabila dibandingkan dengan menggunakan karaginan proses semi murni (*Semi Refined Carageenan*). Menurut Tortora *et al.* (2014) bakteri dari genus *Lactobacillus* merupakan bakteri yang tidak sama dengan bakteri anaerob obligat karena bakteri dari genus *Lactobacillus* merupakan bakteri *aerotolerant* dan mampu tumbuh meskipun dalam kondisi tersedia oksigen.

4.5 Kadar Air Mikrokapsul

Hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi volume probiotik yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar air mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum*. Perhitungan kadar air mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dapat dilihat pada Lampiran 12. Kadar air mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan berbagai volume probiotik dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Rata-rata Kadar air (%) *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan volume yang berbeda

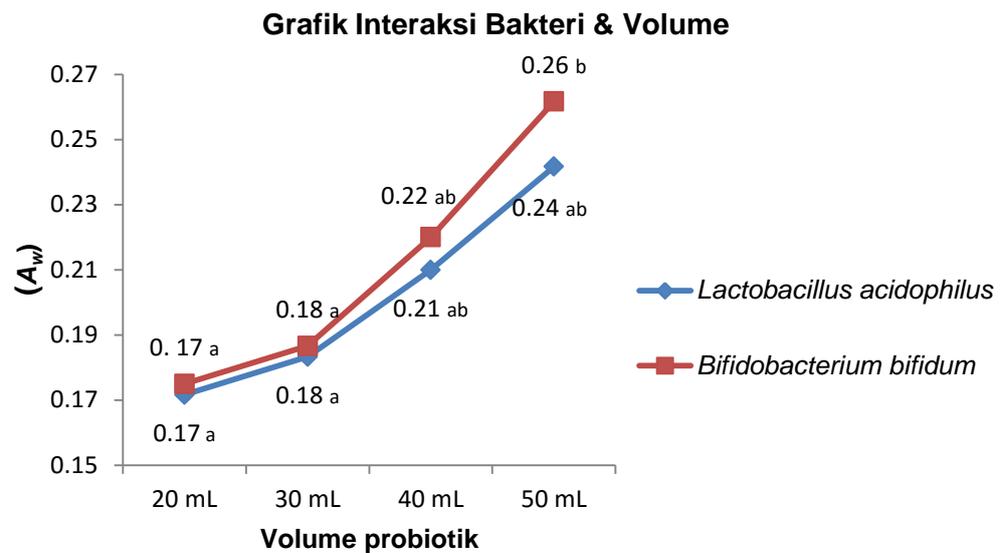
Gambar 12 memperlihatkan bahwa kadar air pada perlakuan volume probiotik 20 mL, 30 mL, 40 mL lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan volume probiotik 50 mL, hal ini diduga karena proses pembuatan

mikroenkapsulat yang dihasilkan lebih kental sedangkan pada volume 50 mL lebih encer karena penambahan volume probiotik yang semakin tinggi. Hasil terendah pada volume 20 mL pada probiotik *B. bifidum* sebesar 2,39%, dan *L. acidophilus* sebesar 2,43%. Berdasarkan penelitian Yuliani et al., (2007), kadar air mikrokapsul berkisar antara rata-rata 1,60-3,27%. Kisaran kadar air yang diperoleh merupakan tipikal kadar air produk mikrokapsul yang diperoleh dari metode ekstruksi (1-6%) (Reineccius, 2001).

Kenaikan kadar air ini kemungkinan karena sifat dari bahan dasar penyalut karaginan yang higroskopis atau mudah menyerap air. Hal ini sesuai dengan penelitian Ulfah, (2009) bahwa karaginan bersifat hidrofilik sehingga mudah menyerap dan larut dalam air. Kadar air mikrokapsul yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah bahan penyalut yang digunakan selain itu, teknik pengeringan, penyimpanan yang digunakan menjadi faktor penting yang mempengaruhi kadar air mikrokapsul yang dihasilkan. Syarief dan Hariyadi, (1993) menyatakan bahwa peranan air dalam bahan pangan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas metabolisme seperti enzim, aktivitas mikroba dan reaksi non-enzimatis, sehingga menimbulkan perubahan sifat-sifat organoleptik dan nilai gizinya, maka semakin tinggi kadar air semakin cepat aktivitas mikroba berkembang dan juga sebaliknya.

4.6 Activity Water (A_w) Mikrokapsul

Hasil analisis data menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi volume tidak berbeda nyata terhadap A_w mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum*. Perhitungan A_w mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dapat dilihat pada Lampiran 13. Rerata A_w mikrokapsulat *L. acidophilus* dan *B. bifidum* pada berbagai volume probiotik dapat dilihat pada Gambar 13.

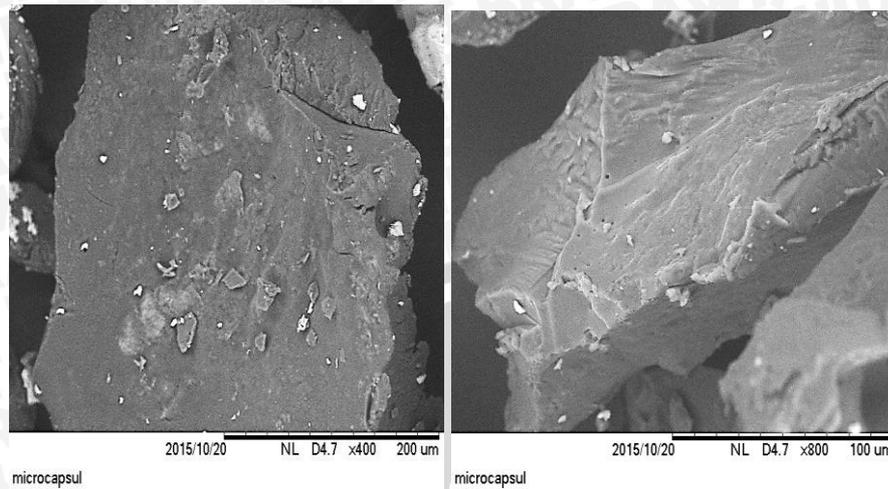


Gambar 13. Rata-rata (A_w) *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dengan volume yang berbeda

Gambar 13 memperlihatkan bahwa A_w terendah pada volume 20 mL pada probiotik *L. acidophilus* sebesar 0,17 dan *B. bifidum* sebesar 0,18. Berdasarkan penelitian Reineccius (2001) kandungan air dan A_w dalam serbuk mikrokapsul berkisar 1–6% dan 0,1-1. Menurut Su *et al.*, (2007) mikroorganisme mampu bertahan lebih baik pada kadar A_w yang rendah meskipun pengeringan yang berlebih mengakibatkan menurunnya viabilitas dari mikroorganisme tersebut. Hasil analisis ragam menunjukkan standart kadar A_w pada mikroenkapsulasi masih tergolong rendah dan aman sebagaimana dilaporkan oleh Waluyo, (2001) aktivitas air juga berbanding lurus dengan nilai kadar air, sehingga semakin tinggi kadar air maka semakin tinggi pula nilai A_w begitu pula sebaliknya.

4.7 SEM (Scanning Electron Microscope)

Hasil SEM dengan Sampel Mikrokapsul probiotik *L. acidophilus* setelah proses pengeringan dapat dilihat pada Gambar 14.

**A. Perbesaran 400x****B. Perbesaran 800x**

Gambar 14. Scanning Electron Microscope Mikrokapsul *L. acidophilus* setelah proses pengeringan

Gambar 14. Menunjukkan pada Gambar A dengan perbesaran 400x dilihat berbentuk pipih dengan permukaan yang tidak rata dan terdapat retakan. Hasil SEM dari mikrokapsul pada Gambar B dengan perbesaran 800x dilihat lebih jelas lagi terdapat rongga yang sangat kecil pada permukaan mikrokapsul dan terdapat lipatan yang bergelombang tidak rata pada permukaannya. Seperti pengamatan yang dilakukan Charpentier *et al.*, (1998), mikrokapsul gum arab, gelatin dan pati terlarut berbentuk pipih yang telah terdehidrasi. Dilain pihak, permukaan mikrokapsul susu skim terlihat berbutir-butir dan retak. Menurut Lian *et al.*, (2002), retak tersebut mungkin memfasilitasi lepasnya panas dari dalam partikel setelah pengeringan, menyebabkan kerusakan akibat panas (heat injury) yang lebih sedikit terhadap mikroorganisme yang terperangkap di dalamnya. Akan tetapi coating yang utuh bisa mempertahankan viabilitas bakteri tersebut pada saat penyimpanan (Thalib *et al.*, 2002).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa viabilitas bakteri probiotik yang telah dienkapsulasi dengan metode gel partikel atau ekstruksi dengan menggunakan penambahan penyalut mix Kappa karaginan dan Pati ubi kayu didapatkan rasio terbaik yaitu perbandingan 2:1 dan volume probiotik sebanyak 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL menghasilkan mikrokapsul probiotik yang memiliki viabilitas tertinggi pada probiotik *L. acidophilus* dengan volume 50 mL dan terendah pada probiotik *B. bifidum* pada volume 20 mL.

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan tentang penggunaan campuran dua jenis bakteri asam laktat dengan bahan pengkapsulat pati dari jenis bahan yang lain, serta metode yang digunakan yang diharapkan untuk mendapatkan hasil mikroenkapsulasi dan memperoleh viabilitas probiotik yang memenuhi standar minimum dalam bahan pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.R., M.O Moss. 2000. **Food Microbiology**. Second Edition. RSC – Royal Society of Chemistry. pp.479.
- Anam, Choirul. Sirojudin dkk. April 2007. **Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji, Bensin Dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FT-IR**. *Berkala Fisika*. Vol 10 no.1. 79 – 85.
- Apriyantono A, D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyo. 1989. **Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan**. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB
- Barbosa, G.V., C.E. Ortega., R.P. Juliano., H.Yan. 2005. **Food Powders, Physical Properties, Processing and Functionality**. Kluwer Academic/ Plenum Publisher. New York. 199-303 hlm
- Benita, S. 2006. **Microencapsulation: methods and industrial application**. (Edisi 2). Boca Raton: CRC Press
- Brenner, Tom, Rando Tuvikene, Alan Parker, and Shingo Matsukawa. 2014. **“Food Hydrocolloids Rheology and Structure of Mixed Kappa-Carrageenan / Iota-Carrageenan Gels.”** *Food Hydrocolloids* 39. Elsevier Ltd: 272–79. doi:10.1016/j.foodhyd.2014.01.024.
- Campo, Vanessa Leiria, Daniel Fabio Kawano, Dilson Braz Da Silva, and Ivone Carvalho. 2009. **“Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis – A Review.”** *Carbohydrate Polymers* 77 (2). Elsevier Ltd: 167-80. Doi:10.1016/j.carbpol.2009.01.020.
- Charpentier, C.A., P. Gadille, B. Digat and J.B. Benoit. 1998. **Microencapsulation of Rhizobacteria by spray drying** : formulation and survival studies. *J Microencapsulation* 15:639–659.
- Copeland L, Blazek J, Salman H, Tang MC 2009. **Form and functionality of starch**. *Food Hydrocolloids* 23:1527-1534
- Ding. W.K., and Shah N.P. 2009. **Effect of Various Encapsulating Materials on the Stability of Probiotic Bacteria**. *Journal Of Food Science*. 74: 100-107.
- Elvis Ferdinand Bosawer . 2010. **Komposisi Dan Karakteristik Fisik Pati Ubi kayu (*Manihot utilissima*) asal distrik Masni Kabupaten Manokwari**. [Skripsi] Jurusan Teknologi Pertanian. Universitas Negeri Papua Manokwari.
- FAO/WHO. 2002. **Guidelines for the evaluation of Probiotics in food**. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1.
- Firdaus M, Setijawati D, Kartikaningsih. 2014. **The Effect of *Lactobacillus Acidophilus* Microcapsule Which Encapsulated by Kappa Caragenan Toward In Vivo Functional Test Processing Technology Laboratory**.

Faculty of Fisheries And Marine Sciences, Brawijaya University journal of life science *E-ISSN : 2355-9926. Vol 01 NO. 01.*

Garrity, George M, Julia A Bell, Timothy G Lilburn, and East Lansing. 2004. ***Taxonomic Outline Of The Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology***. Springer. doi:10.1007/bergeysoutline200405.

Grace, M.R. 1977. **Cassava Processing**. Food and Agriculture Organization of United Nations, Roma.

Guerin, D., Vuilleumard, J.C. and Subirade, M. 2003. **Protection of bifidobacteria encapsulated in polysaccharide-protein gel beads against gastric juice and bile**. *J Food Prot.* 66: 2076–2084.

Hadi M. 2008. **FTIR spectrum of laser dye fluorescein doped polymer PMMA films**. *ISSN : 2249 - 8877 Volume 3 Issue 3*

Hernández-Carmona G., E.Hernández-Garibay. 2013. **Conventional and Alternative Technologies for the Extraction of Algal Polysaccharides**. Woodhead Publishing Limited.

Hood, S.K. and E.A. Zottola. 1998. **Effect of low pH on the ability of Lactobacillus acidophilus to survey and adherence to human intestinal cells**. *Journal of Food Science* 53: 1514-1516

Imeson, 1998. Carrageenan. In G.O., Phillips and P.A William (Eds). **Handbook Of Hydrocolloids**. (pp 87102) cambridge., Woodhead Publishing Ltd.

Jafari, S.M., E. Assadpoor., Y. He., B. Bhandari. 2008. **Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying**. *Drying Technology.* 26:816-835

Kanbe, M. 1992. *Traditional Fermented Milks of The World*. In: Nazakawa, Y., and A. Hosono (ed.). **Function of Fermented Milks** : Challenge for the Health Science. Elsevier SciencePublisher.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. dan Deeth, H. (2003). **Evaluation of encapsulation techniques of probiotic for yoghurt**. *International Dairy Journal* 13: 3-13.

Kurniawati, Y. 2003. **Pengaruh Pemberian Lactobacillus terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih**. Bogor: Jurusan Biokimia FMIPA IPB.

Legowo, A. M. dan Nurwanto. 2004. **Analisis Pangan. Diktat Kuliah Program Studi Teknologi Ternak Fakultas Peternakan UNDIP**. Semarang.

Lian, W.C., H.C.Hsio and C.C. Chou. 2002. **Survival of Bifidobacterium longum after spray drying**. *Int. J. Food Microbiol.* 74:79–86.

Lilie H. A.R., Yunianta., Bambang Dwi Argo. **Pembuatan Pati Tinggi amilosa secara enzimatis dari Pati Ui kayu (Manihot esculenta) dan aplikasinya untuk pembuatan Maltosa**. *Ei-Hayah Vol 1, September 2009*. Pembuatan Pati tinggi amilosa (14-24).

Manojlovic, Verica, Nedovic, and Kasipathy Kailasapathy. 2010. **“Encapsulation of Probiotics for Use in Food Products.”** In *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, edited by N.J. Zuidam and V.A. Nedovic, 269–302. Springer Science+Business Media. doi:10.1007/978-1-4419-1008-0.

Murtaza, G, M Ahmad and G Shahnaz, 2010. **“Microencapsulation of Diclofenac Sodium by Nonsolvent Addition Technique”.** *Tropical Journal of Pharmaceutical Research April 2010*; 9 (2): 187-195.

Napitupulu, R.N.R., T. Yulinery, R. Hardiningsih, E. Kasim, dan N. Nurhidayat. 2003. **Daya ikat kolesterol dan produksi asam organik isolate *Lactobacillus* terseleksi untuk penurun kolesterol.** *Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Bandung, 29-30 Agustus 2003.

Necas, J, and L Bartosikova. 2013. **“Carrageenan : A Review.”** *Vetrinarni Medicina* 58: 187–205.

Nusantoro, B.P., Haryadi B., N dan P. Darmadji, 2003. **Pembuatan tepung Jagung Kuning serta Karakteristik Produknya.** *Agritech* Vol 25, N0.3 Hal. 148-153.

Norsanto, I. 2004. **Pembuatan Minuman Sebagai Usaha Diversifikasi Rumput Laut (*E. cottonii*).** Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor

O’Grady, B., G.R Gibson. 2007. **Microbiota in Human Gut.** In: Tammie, A (Ed) **Probiotic dairy product.** Blackwell Publishing Ltd. United Kingdom. Hal 1-12.

Ooi, Lay-gaik, and Min-tze Liang. 2010. **“Cholesterol-Lowering Effects of Probiotics and Prebiotics : A Review of in Vivo and in Vitro Findings.”** *International Journal of Molecular Science* 11: 2499–2522. doi:10.3390/ijms11062499.

Ostertag, C., 2001. **World Production and Marketing of Starch in Cassava Flour and Starch:** Progress and Research and Development dalam <http://www/fao.org/docrep/X5032E08.GIF>

Pasifico, C.J., W. Wu and M. Fraley. 2001. **Sensitive substance encapsulation.** US Patent 6 281 478.

Prescott, L., Harley, J. and Klein, D.A. 2002. **Microbiology** 5th edition. McGraw-Hil. P 820-950.

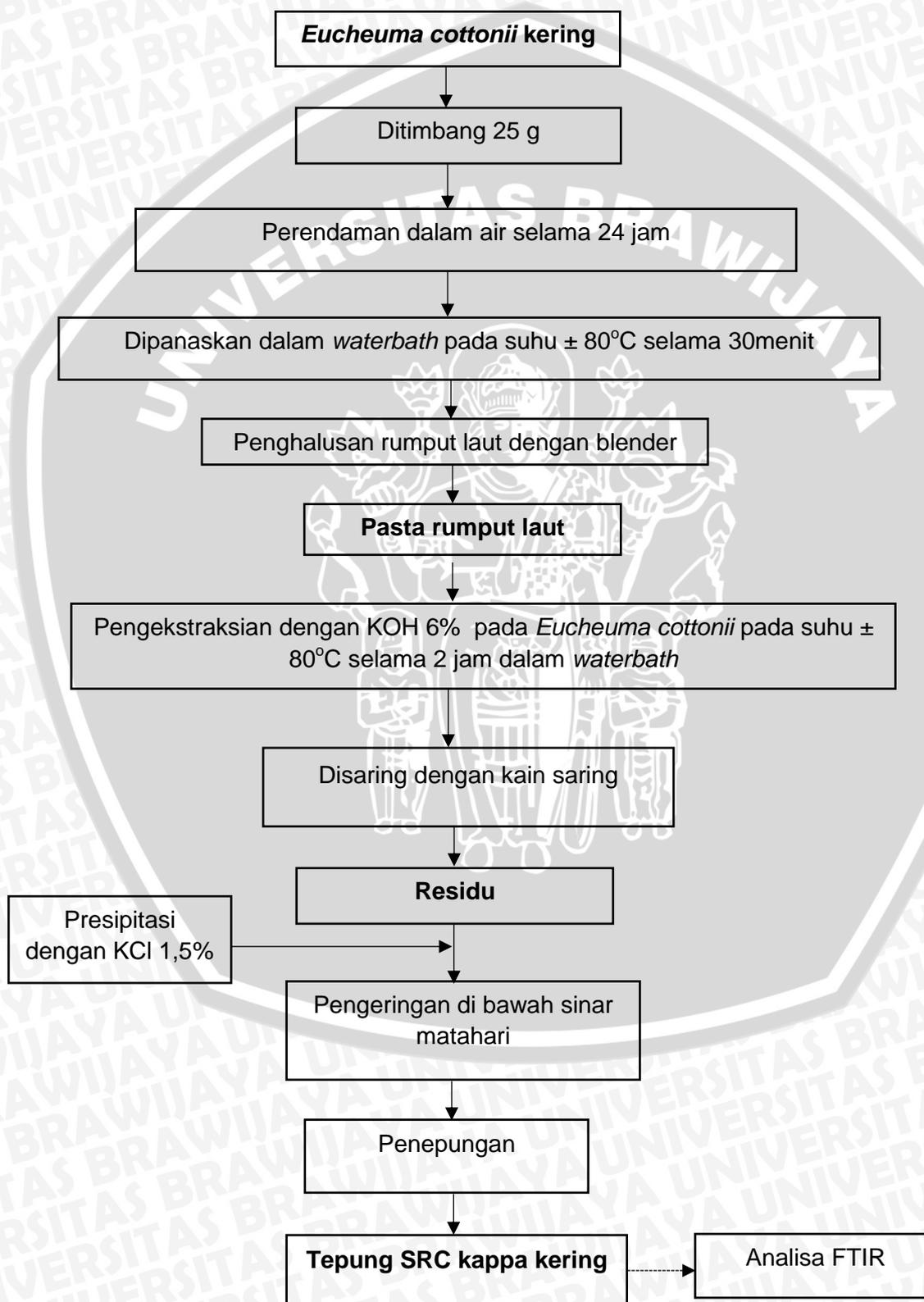
Reineccius, G.A. 2001. **Multiple-Core Encapsulation: The Spray Drying of Food Ingredients.** In: **Vilstrup, P. Microencapsulation of Food Ingredients.** 1st Ed. LFRA Ltd. London

Rismana, E., 2004. **Modifikasi Pati untuk Farmasi** dalam : www.pikiranrakyat.com/cetak/0504/06cakrawala/lainnya03.htm

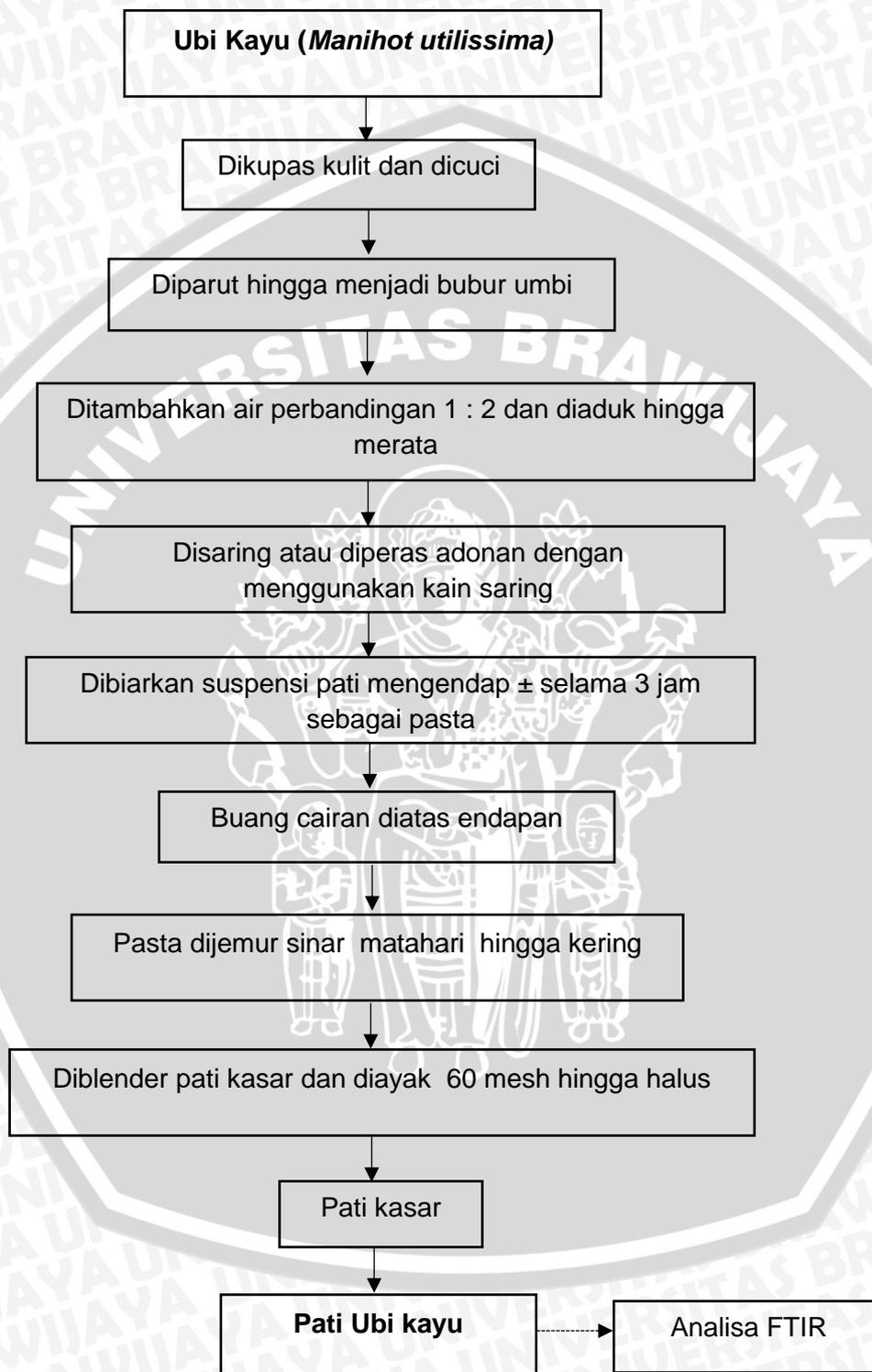
- Rohmah, S. 2013. **Pengaruh Penambahan Natrium Hidroksida (NaOH) Terhadap Kandungan Protein dan Abu pada Karaginan Rumput Laut (*E. cottonii*) Pasca Panen.** Skripsi. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Rowe C Raymond, Paul J Sheskey, Marian EQuinn. (2009). **Hand book of pharmaceutical excipients.** 6th Ed. Hal 110, 549, 564, 682, 685.
- Sanders, M.E., Glenn G., Harshansjit S.G. 2007. **Probiotic: Their Potential to Impact Human Health.** CAST Issue Paper No 36.
- Sastrohamidjojo.H.1991. **Kromatografi.** Yogyakarta : UGM Press
- Setijawati, Susinggih W, and Imam. 2011. **“Viabilitas Dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus Acidophilus* Dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *Eucheuma Cottonii*.”** *Jurnal Teknologi Pangan* 2 (1): 50–67.
- Setijawati D., Susinggih W., Aulaniám., Imam S. 2012. **“Penggunaan Caragenan Dengan Metode Proses Berbeda (src Dan Rc) Sebagai Bahan Pengenkapsulat.”** *Jurnal Teknologi Pangan* 3 (1): 1–12.
- Shah , NP. 2007. **Functional Cultures and Health Benefits.** *International Dairy Journal.* 17: 1262-1277
- Shortt C. 1999. **The probiotic century: historical and current perspectives.** *Review on Trend Food Science and Technology* 10: 411-417.
- Sievert, D. dan Y. Pomeranz. 1989. **Enzyme resistant starch I. Characterisation and Evaluation by Enzymatic, Thermoanalytical, Microscopic Methods.** *Cereal Chem.* 66:342-347
- Syarief., M.D., Herdian,H. 1993. **Teknologi Penyimpanan Pangan.** Kerja sama dengan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Penerbit Arcan. Jakarta.
- Su L.C., Chin-When Lin dan Ming-Ju Chen. 2007. **Development of an Oriental-style Dair product Coagulated by Microcapsules Containing Probiotics and Filtrates from Fermented Rice.** *International J of Dairy Technology.* Vol. 60. No 1: 49-54.
- Susanti, F. I. 2014. **Pengaruh Fortifikasi Mikrokapsul yang Berbeda pada produk Mie Terhadap Viabilitasnya.** Universitas Brawujaya, Malang.
- Thalib A., H Hamid., B Haryanto. 2002. **“Efek Coating Terhadap Kemurnian, Viabilitas Dan Aktivitas Sediaan Bakteri (Probiotik SR) Selama Penyimpanan.”** In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner 2002*, 1–4.
- Tonukari NJ. 2004. **Cassava and the future of starch.** *Electronic Journal of Biotechnology.* Vol. 7 No. 1. Issue of April 15. 2004

- Tortora, G.J., Berdell R.F., Christin L.C. 2014. **Microbiology an introduction. Pearson new international edition.** British Library. Printed in United States of American. Hal 55-328
- Triana, E., dan N. Nurhidayat. 2007. **Seleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16s RNA.** Biota, 12 (55-60).
- Ulfah, M., 2009. **Pemanfaatan Iota Karaginan (*Eucheuma Spinosum*) Dan Kappa Karaginan Sebagai Sumber Serat Untuk Meningkatkan Kekenyalan Mie Kering.** Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB.Bogor.
- Van A. W.B.M., Copley and A.I Morgan.1973. **Food Dehidration.** The AVI Publishing Co., Inc., Wsport. Conecticut. ISSN : 2407-8050 Vol 1 No 2 Hal 278-282.
- Veni, Kartikasari. 2012. **Pengaruh Penggunaan Busa Putih Telur dan Lama Pengeringan dengan metode *foam-mat drying* terhadap viabilitas dan shelf life *L.acidophillus* yang terenkapsulasi RC (Refaine caragenan) campuran kappa iota. [Skripsi].** Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Uiversitas Brawijaya Malang.
- Venkatesan, P., Manavalan, R., & Valliappan, K. 2009. **Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system.** *J. Pharm. Sci. & Res.*, 1, 26-35.
- Waluyo Lud. 2001. **Mikrobiologi Umum Edisi Revisi.** Malang: UMM Press; 2007.h. 319 dan 330.
- Wu W, W.S. Roe, V.G. Gimino, V. Seriburi, D.E. Martin and S.E. Knapp. 2000. **Low Melt Encapsulation with High Laurate Canola Oil.** US. Patent 6 153 326.
- Yuliani, S., Desmawarni and M.S. Rusli 2007. **“Effect of encapsulating material compositions on the properties of Encapsulated ginger oleoresin”** Paper presented on International Seminar on Essential Oil, Jakarta, 7-9 November 2007.
- Yulinery, T., R.N.R. Napitupulu, R. Hardiningsih, E. Kasim, E. Triana, dan N. Nurhidayat. 2004. **Aktivitas *Lactobacillus* sp. sebagai galur probiotik terhadap kadar HDL dan LDL tikus putih hiperkolesterolemia.** *Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.* Semarang. 27-28 Agustus 2004.
- Zubaedah E., Joni K., Ima A., 2003. **Pembuatan Laru Yogurt dengan Metode *Foam-mat Drying* Kajian Penambahan Busa Putih Telur Terhadap Sifat Fisik dan Kimia.** *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* Vo XIV. Hal : 258-261.
- Zuidam N.J. and V.A. Nedović. 2010. **Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing.** Springer Science+Business Media, LLC. Laboratory of Functional Foods, Nutraceuticals and Food Nanoscience, Faculty of Biotechnology and Food Engineering, Technion - Israel Institute of Technology.

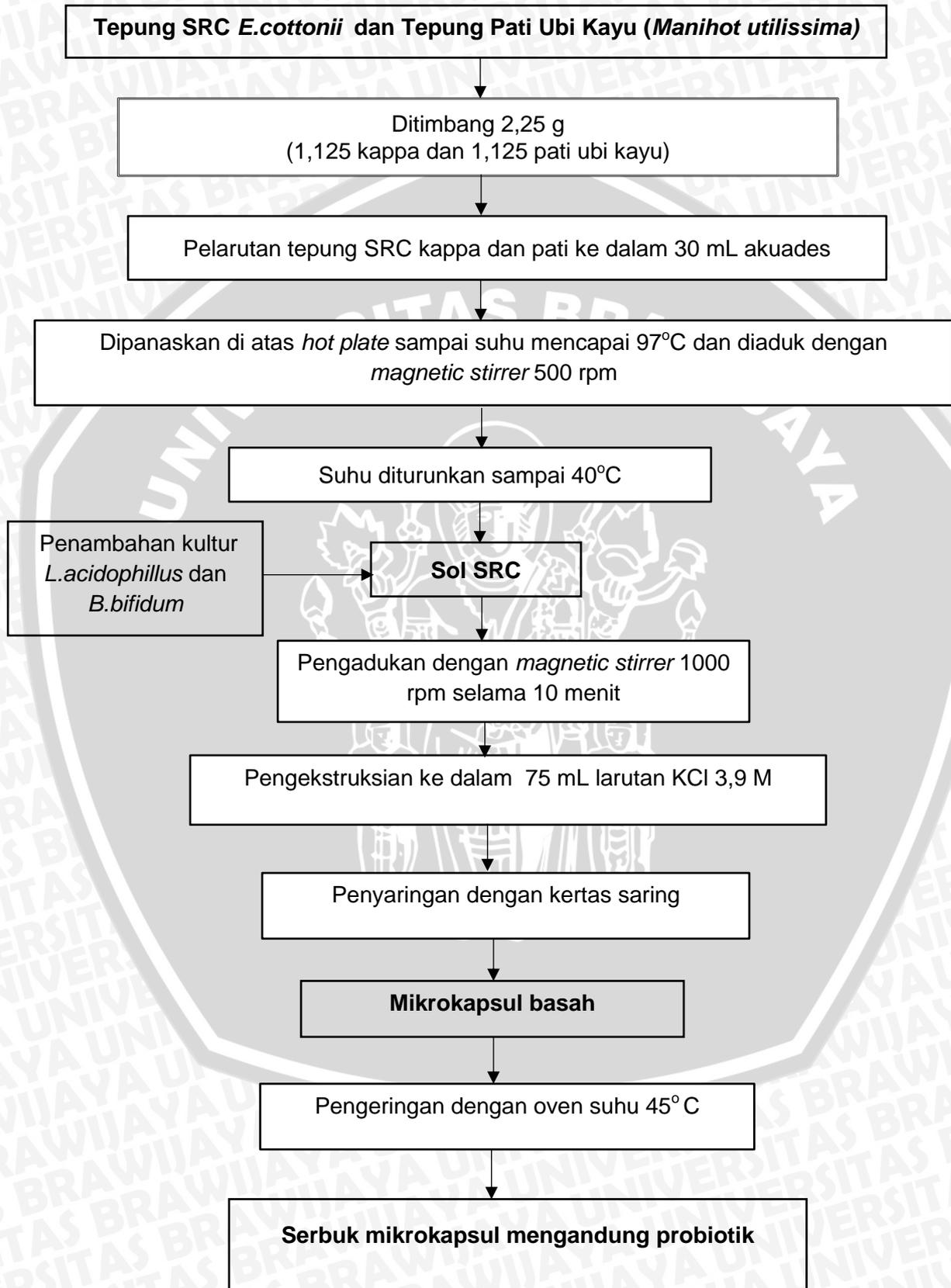
LAMPIRAN

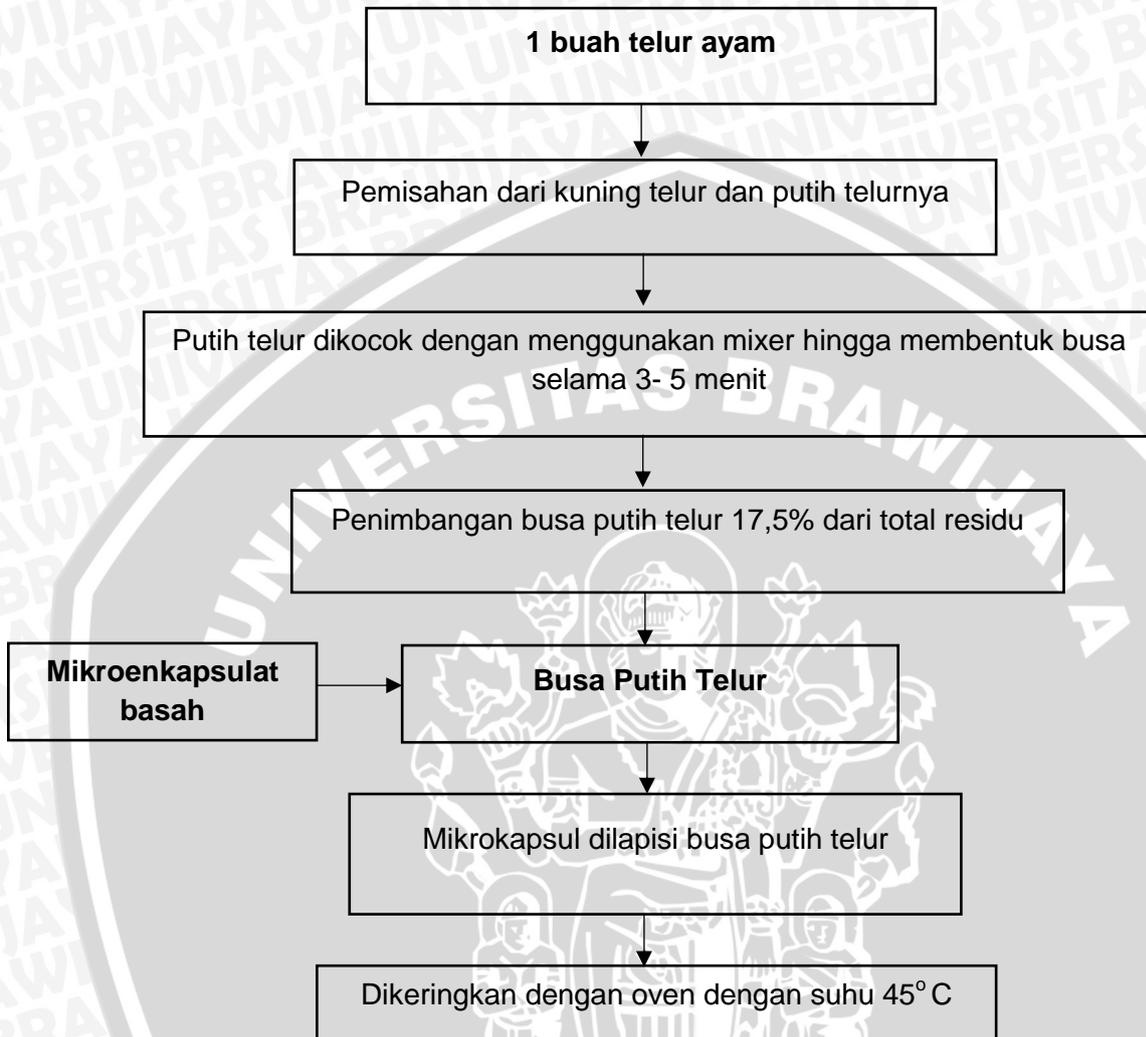
Lampiran 1. Pembuatan *Semi Refined Carageenan (SRC) Eucheuma cottonii* (Setijawati et al.,2012)

Lampiran 2 . Pembuatan Tepung Pati Ubi Kayu *Manihot utilissima* (Elvis, 2010)



Lampiran 3. Pembuatan Mikrokapsul (Manojlovic *et al.*, 2010 dan Setijawati *et al.*, (2012)

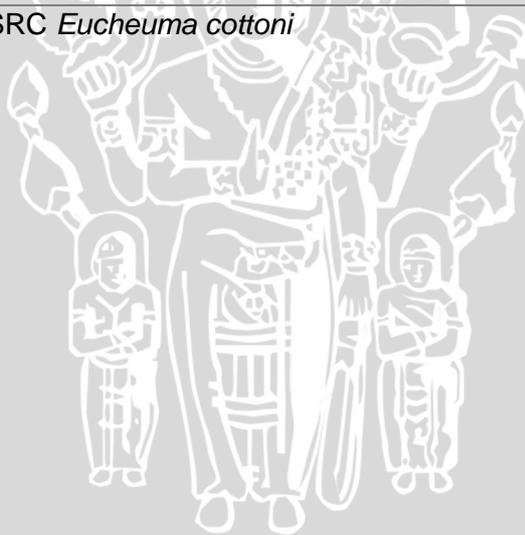


Lampiran 4. Pengeringan *foam-mat drying* (Veni, 2012)

Lampiran 5. Hasil analisa spektrofotometer FT-IR SRC Kappa karaginan
Eucheuma cottonii

NO	Peak	Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	580.53	46.742	594.03	551.6	13.533	0.333
2	609.46	46.798	651.89	594.03	17.463	0.516
3	705.9	45.006	727.11	680.83	14.331	1.539
4	734.83	50.253	763.76	727.11	9.567	0.582
5	848.62	49.948	862.12	819.69	8.826	2.403
6	873.69	56.987	889.12	862.12	6.079	0.505
7	929.63	41.745	954.7	898.77	15.402	6.031
8	1070.42	24.166	1116.71	956.63	72.521	26.103
9	1159.14	36.887	1182.28	1141.78	15.897	1.479
10	1259.43	29.753	1326.93	1182.28	63.311	15.135
11	1380.94	36.747	1386.72	1328.86	21.923	0.278
12	1429.15	26.445	1444.58	1388.65	28.941	1.374
13	1454.23	27.272	1558.38	1452.3	38.266	1.801
14	1654.81	25.773	1785.96	1566.09	76.494	8.406
15	2108.05	68.935	2229.56	1957.61	36.348	0.864
16	2918.1	26.877	2939.31	2578.65	84.841	2.975
17	2954.74	28.504	3001.03	2941.24	31.17	0.414
18	3404.13	10	3411.84	3373.27	38.286	0.133

Spektra FT-IR kappa SRC *Eucheuma cottonii*



Lampiran 6. Hasil analisa spektrofotometer FT-IR Ubi Kayu *Manihot utilissima*

No	Peak	Intensity	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Area
1	435.88	50.761	459.03	418.52	11.388	0.635
2	530.39	41.765	547.75	484.1	21.756	1.246
3	576.68	37.921	594.03	594.67	16.763	1.37
4	607.54	43.361	669.25	594.03	24.335	0.378
5	709.76	49.523	742.54	690.47	13.978	1.101
6	763.76	53.521	823.55	742.54	15.835	2.082
7	860.19	67.206	881.41	823.55	8.187	2.065
8	929.63	57.85	948.91	881.41	11.503	2.879
9	1020.27	10	1066.56	950.84	81.512	36.895
10	1080.06	17.114	1132.14	1068.49	39.751	4.851
11	1155.28	20.756	1193.85	1134.07	29.421	7.43
12	1201.57	55.893	1220.86	1193.85	6.482	0.213

Spektra FT-IR Pati Ubi Kayu (*Manihot utilissima*)

Lampiran 7. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri Mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* sebelum dan sesudah pengeringan

Perlakuan	Pengenceran	Keterangan	Jumlah koloni					
			Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3	
1:1	10 ⁻²	N _o	256	283	288	279	243	275
	10 ⁻³	N _o	180	155	187	188	175	180
	10 ⁻⁴	N _o	136	112	157	140	129	111
	10 ⁻⁵	N _o	100	102	100	97	110	91
1:2	10 ⁻²	N _o	281	267	271	274	264	279
	10 ⁻³	N _o	197	168	175	168	186	168
	10 ⁻⁴	N _o	129	133	141	130	130	136
	10 ⁻⁵	N _o	99	120	99	114	105	105
2:1	10 ⁻²	N _o	285	291	287	284	286	284
	10 ⁻³	N _o	187	182	189	184	184	186
	10 ⁻⁴	N _o	145	136	139	149	153	135
	10 ⁻⁵	N _o	120	96	105	121	119	104
1:1	10 ⁻²	N	72	77	71	70	78	72
	10 ⁻³	N	50	48	49	47	50	48
	10 ⁻⁴	N	44	40	30	33	30	30
	10 ⁻⁵	N	0	0	0	0	0	0
1:2	10 ⁻²	N	75	70	71	74	77	79
	10 ⁻³	N	52	50	51	53	50	54
	10 ⁻⁴	N	44	45	40	42	40	43
	10 ⁻⁵	N	0	30	30	0	33	0
2:1	10 ⁻²	N	83	89	80	84	81	89
	10 ⁻³	N	60	68	61	67	62	67
	10 ⁻⁴	N	50	52	49	47	48	49
	10 ⁻⁵	N	32	30	31	32	3	34

Keterangan :

- N = Jumlah sel hidup yang terlepas setelah proses mikroenkapsulasi
 N_o = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

Lampiran 8. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri Mikroenkapsulasi probiotik *Bifidobacterium bifidum* sebelum dan sesudah pengeringan

Perlakuan	Pengenceran	Keterangan	Jumlah koloni					
			Ulangan 1		Ulangan 2		Ulangan 3	
1:1	10 ⁻²	N ₀	250	254	250	252	251	253
	10 ⁻³	N ₀	160	165	162	166	160	160
	10 ⁻⁴	N ₀	126	129	125	127	122	127
	10 ⁻⁵	N ₀	92	90	91	95	90	91
1:2	10 ⁻²	N ₀	265	260	260	268	266	260
	10 ⁻³	N ₀	175	176	176	170	175	176
	10 ⁻⁴	N ₀	130	134	130	131	132	132
	10 ⁻⁵	N ₀	103	106	103	100	103	100
2:1	10 ⁻²	N ₀	273	270	271	270	277	276
	10 ⁻³	N ₀	180	188	186	183	184	187
	10 ⁻⁴	N ₀	140	146	144	147	149	140
	10 ⁻⁵	N ₀	110	105	108	106	113	116
1:1	10 ⁻²	N	64	66	63	61	66	63
	10 ⁻³	N	53	54	52	55	53	57
	10 ⁻⁴	N	30	34	33	35	35	30
	10 ⁻⁵	N	0	0	0	0	0	0
1:2	10 ⁻²	N	70	70	71	72	73	72
	10 ⁻³	N	56	54	55	52	56	50
	10 ⁻⁴	N	38	40	37	36	36	37
	10 ⁻⁵	N	30	30	30	30	30	30
2:1	10 ⁻²	N	88	89	89	86	83	87
	10 ⁻³	N	64	65	63	62	63	65
	10 ⁻⁴	N	54	53	54	52	53	55
	10 ⁻⁵	N	34	32	33	32	33	33

Keterangan :

N = Jumlah sel hidup yang terlepas setelah proses mikroenkapsulasi
 N₀ = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

Lampiran 9. Yield mikroenkapsulasi

Jenis probiotik	N	No	Yield Mikro kapsul (%)
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	8.57	9.34	91.75
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	7.99	9.33	85.63

- Perhitungan Yield *Lactobacillus acidophilus*

$$\begin{aligned} EY &= \frac{N}{N_0} \times 100\% \\ &= \frac{8,57}{9,34} \times 100\% \\ &= 91,75\% \end{aligned}$$

- Perhitungan Yield *Bifidobacterium bifidum*

$$\begin{aligned} EY &= \frac{N}{N_0} \times 100\% \\ &= \frac{7,99}{9,39} \times 100\% \\ &= 85,63\% \end{aligned}$$



Lampiran 10. Viabilitas mikroenkapsulasi probiotik sebelum dan sesudah proses pengeringan

- Viabilitas Mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* (log CFU/mL)

Perlakuan	Keterangan	Ulangan			Total	Rerata
		1	2	3		
1:1	No	8.36	8.37	8.35	25.08	8.36
1:2	No	8.39	8.38	8.38	25.15	8.38
2:1	No	8.39	8.41	8.4	25.2	8.4
1:1	N	6.26	6.2	6.2	18.66	6.22
1:2	N	7.6	7.54	7.62	22.76	7.59
2:1	N	7.84	7.86	7.89	23.59	7.86

- Viabilitas mikroenkapsulasi probiotik *Bifidobacterium bifidum* (log CFU/mL)

Rasio	Keterangan	Ulangan			Total	Rerata
		1	2	3		
1:1	No	8.32	8.33	8.32	24.97	8.32
1:2	No	8.37	8.36	8.36	25.09	8.36
2:1	No	8.39	8.39	8.41	25.19	8.40
1:1	N	5.88	5.91	5.88	17.67	5.89
1:2	N	7.83	7.83	7.83	23.49	7.83
2:1	N	7.89	7.88	7.89	23.66	7.89

Keterangan :

- N = Jumlah sel hidup yang terlepas setelah proses mikroenkapsulasi
 No = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

- Analisa statistik deskriptif

Jenis bakteri		1:1		1:2		2:1	
		No	N	No	N	No	N
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Mean	8.36	6.22	8.38	7.6	8.4	7.86
	Standar Deviasi	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01	0.02
	Maksimum	8.37	6.26	8.39	7.62	8.41	7.89
	Minimum	8.35	6.2	8.38	7.54	8.39	7.84
	Mean	8.32	5.89	8.36	7.83	8.39	7.88
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Standar Deviasi	0.02	0.01	0.01	0	0.01	0.02
	Maksimum	8.35	5.91	8.37	7.83	8.41	7.89
	Minimum	8.32	5.88	8.36	7.83	8.39	7.88

Lampiran 11. Viabilitas mikroenkapsulasi probiotik dengan volume 20 mL, 30 mL, 40 mL, dan 50 mL

- Viabilitas Mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* (log CFU/mL)

Perlakuan			Ulangan				Total	Rerata
Jenis Bakteri	Volume	Waktu	1	2	3			
A1	B1	C1	8.17	8.12	8.15	24.44	7.155	
		C2	6.18	6.15	6.16	18.49		
	B2	C1	8.22	8.26	8.3	24.78	8.058	
		C2	7.85	7.85	7.87	23.57		
	B3	C1	8.28	8.28	8.28	24.84	8.083	
		C2	7.86	7.89	7.91	23.66		
	B4	C1	8.31	8.31	8.31	24.93	8.135	
		C2	7.96	7.97	7.95	23.88		
A2	B1	C1	8.07	8.05	7.97	24.09	6.950	
		C2	5.88	5.86	5.87	17.61		
	B2	C1	8.09	8.07	8.07	24.23	7.025	
		C2	5.97	5.97	5.98	17.92		
	B3	C1	8.24	8.24	8.25	24.73	8.047	
		C2	7.86	7.84	7.85	23.55		
	B4	C1	8.26	8.26	8.26	24.78	8.078	
		C2	7.90	7.90	7.89	23.69		
	Total			123.1	123.02	123.07	369.19	

Keterangan:

A1 : Probiotik *Lactobacillus acidophilus*

A2 : Probiotik *Bifidobacterium bifidum*

B1 : Volume 20 mL

B2 : Volume 30 mL

B3 : Volume 40 mL

B4 : Volume 50 mL

C1 : Waktu pengeringan 48 jam

C2 : Waktu pengeringan 72 jam

- Analisa statistik deskriptif

Jenis bakteri		48 Jam				72 Jam			
		20	30	40	50	20	30	40	50
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Mean	8.14	8.26	8.28	8.31	6.16	7.85	7.88	7.96
	Standar Deviasi	0.02	0.02	0	0	0.01	0.01	0.02	0.02
	Maksimum	8.17	8.3	8.28	8.31	6.18	7.87	7.91	7.95
	Minimum	8.12	8.22	8.28	8.31	6.15	7.85	7.86	7.97
	Mean	8.03	8.07	8.24	8.26	5.87	5.97	7.85	7.89
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Standar Deviasi	0.05	0.01	0.02	0	0.01	0.02	0.01	0.02
	Maksimum	8.07	8.09	8.25	8.26	5.88	5.97	7.86	7.9
	Minimum	7.97	8.07	8.24	8.26	5.86	5.98	7.84	7.89

➤ ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Penelitian Utama

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.879 ^a	15	2.192	5340.827	.000
Intercept	2839.610	1	2839.610	6918845.487	.000
Bakteri	1.330	1	1.330	3240.614	.000
Volume	8.912	3	2.971	7237.880	.000
Waktu	12.454	1	12.454	30345.305	.000
Bakteri * Volume	2.013	3	.671	1634.983	.000
Bakteri * Waktu	.670	1	.670	1631.924	.000
Volume * Waktu	5.979	3	1.993	4856.438	.000
Bakteri * Volume * Waktu	1.521	3	.507	1235.552	.000
Error	.013	32	.000		
Total	2872.502	48			
Corrected Total	32.893	47			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = .999)

Tidak ada uji lanjutan untuk Bakteri karena terdiri dari 2 jenis Bakteri. Meskipun sudah jelas signifikan, artinya bahwa Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* berbeda satu sama lain, tidak ada pembandingan lain. Sama halnya dengan waktu, hasil yang diperoleh adalah signifikan. Artinya bahwa waktu 48 jam dan 72 jam berbeda satu sama lain. Berikutnya untuk Volume, perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui pasangan volume mana yang memberikan hasil berbeda.

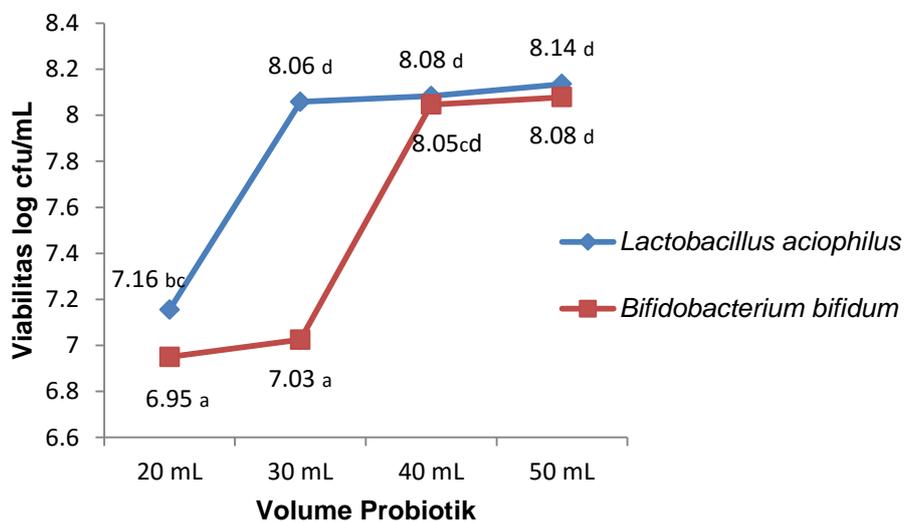
Uji Duncan

ulangan	3
db galat	32
KT galat	0.0004
α	1%

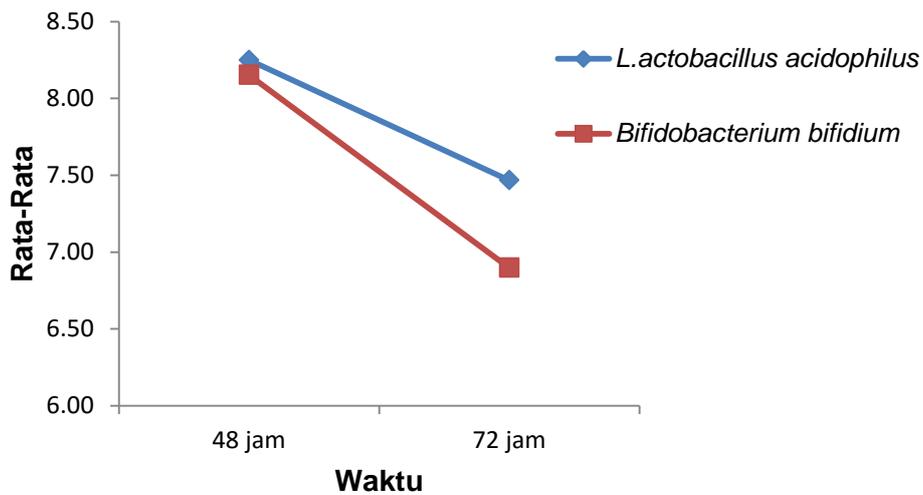
	2	3	4	5	6	7	8
Titik Kritis Duncan	8.26	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321
DMRT	0.0966	0.0973	0.0973	0.0973	0.0973	0.0973	0.0973

No	Volume	Rata-Rata	Notasi
3	A1. B1	7.155	bc
5	A1.B2	8.058	d
7	A1. B3	8.083	d
8	A1. B4	8.135	d
1	A2. B1	6.950	a
2	A2. B2	7.025	a
4	A2. B3	8.047	cd
6	A2. B4	8.078	d

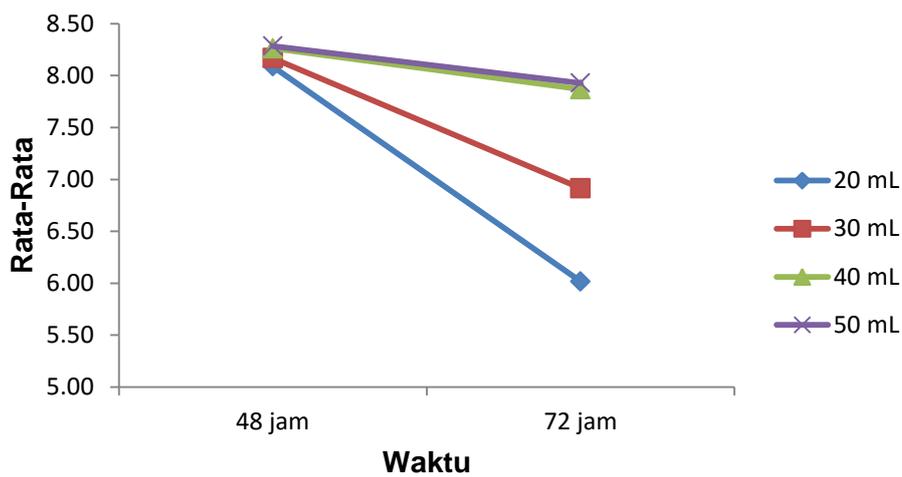
Grafik Interaksi Bakteri & Volume



Grafik Interaksi Bakteri & Waktu



Grafik Interaksi Volume & Waktu



Lampiran 12. Data Analisa Perhitungan Kadar Air Mikro kapsul *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* selama 48 dan 72 jam

- Tabel Data Analisa Kadar Air Mikro kapsul *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* selama 48 dan 72 jam

Perlakuan			Ulangan				Total	Rerata
Jenis Bakteri	Volume	Waktu	1	2	3			
A1	B1	C1	2.46	2.43	2.45	7.34	2.432	
		C2	2.44	2.42	2.39	7.25		
	B2	C1	2.47	2.49	2.48	7.44		2.462
		C2	2.43	2.47	2.43	7.33		
	B3	C1	2.89	2.87	2.88	8.64		2.828
		C2	2.87	2.73	2.73	8.33		
	B4	C1	3.42	3.48	3.42	10.32		3.192
		C2	2.99	2.9	2.94	8.83		
A2	B1	C1	2.42	2.43	2.42	7.259	2.388	
		C2	2.31	2.42	2.34	7.068		
	B2	C1	2.78	2.87	2.76	8.409		2.774
		C2	2.72	2.86	2.66	8.235		
	B3	C1	2.88	2.90	2.87	8.648		2.831
		C2	2.81	2.79	2.74	8.335		
	B4	C1	3.37	3.48	3.37	10.21		3.159
		C2	2.99	2.89	2.87	8.742		
	Total			44.233	44.423	43.73		132.39

Keterangan:

- A1 : Probiotik *Lactobacillus acidophilus*
- A2 : Probiotik *Bifidobacterium bifidum*
- B1 : Volume 20 mL
- B2 : Volume 30 mL
- B3 : Volume 40 mL
- B4 : Volume 50 mL
- C1 : Waktu pengeringan 48 jam
- C2 : Waktu pengeringan 72 jam

➤ (ANOVA)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kadar Air

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.918 ^a	15	.328	135.681	.000
Intercept	365.126	1	365.126	151089.269	.000
Bakteri	.042	1	.042	17.530	.000
Volume	3.841	3	1.280	529.752	.000
Waktu	.358	1	.358	148.186	.000
Bakteri * Volume	.2593	3	.086	35.771	.000
Bakteri * Waktu	.00044	1	.000	.184	.671
Volume * Waktu	.41668	3	.139	57.474	.000
Bakteri * Volume * Waktu	.00079	3	.000	.109	.954
Error	.07733	32	.002		
Total	370.122	48			
Corrected Total	4.996	47			

a. R Squared = .985 (Adjusted R Squared = .977)

Pada hasil ANOVA, interaksi antara bakteri & volume **Sig.** Berikut penjabarannya:

Tidak ada uji lanjutan untuk Bakteri karena terdiri dari 2 jenis Bakteri . Meskipun sudah jelas signifikan, artinya bahwa Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* berbeda satu sama lain, tidak ada pembandingan lain. Sama halnya dengan waktu, hasil yang diperoleh adalah signifikan. Artinya bahwa waktu 48 jam dan 72 jam berbeda satu sama lain. Berikutnya untuk Volume, perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui pasangan volume mana yang memberikan hasil berbeda

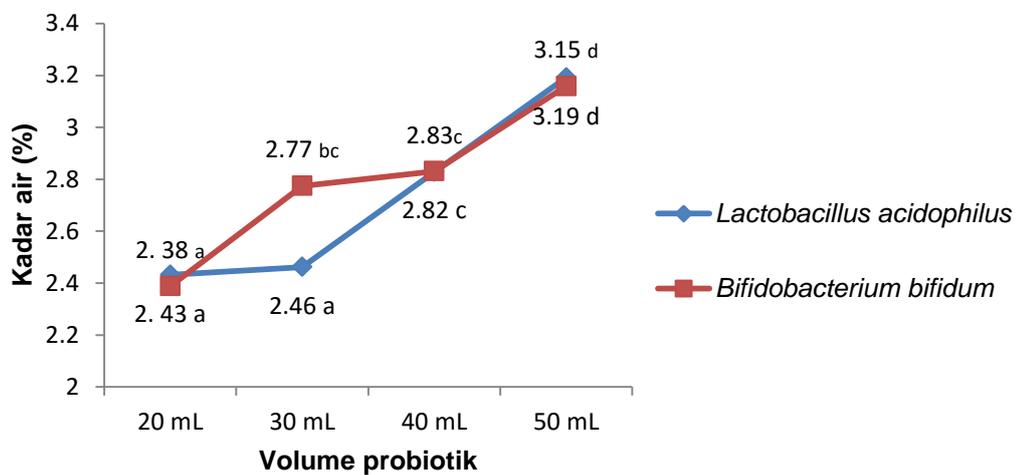
Uji Duncan

Ulangan	3
db galat	32
KT galat	0.002
α	1%

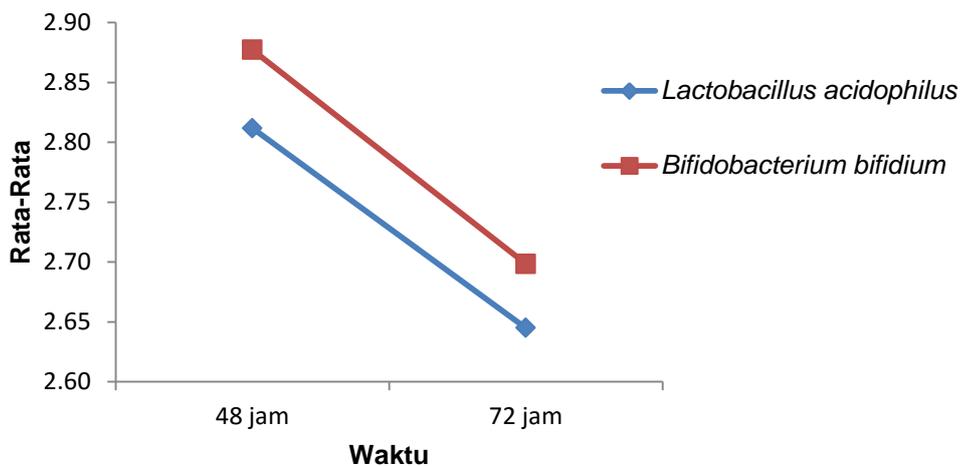
	2	3	4	5	6	7	8
Titik Kritis Duncan	8.26	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321
DMRT	0.2344	0.2362	0.2362	0.2362	0.2362	0.2362	0.2362

No	Volume	Rata-Rata	Notasi
2	A1. B1	2.432	a
3	A1.B2	2.462	a
5	A1. B3	2.828	c
8	A1. B4	3.192	d
1	A2. B1	2.388	a
4	A2.B2	2.774	bc
6	A2. B3	2.831	c
7	A2. B4	3.159	d

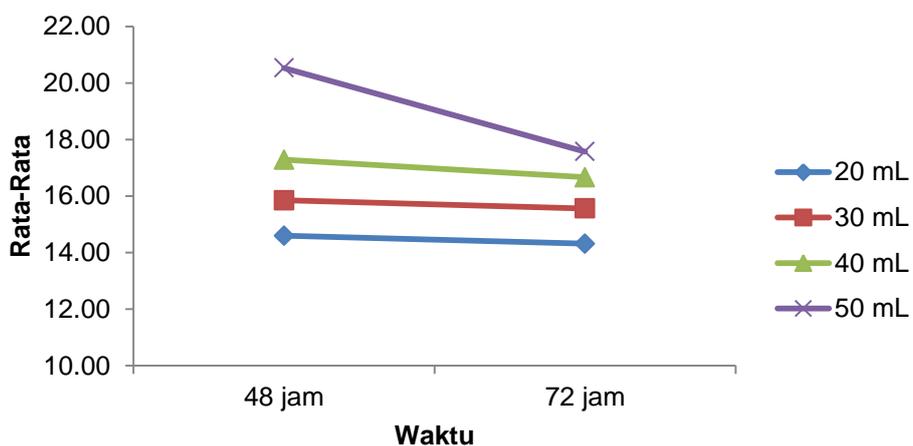
Grafik Interaksi Bakteri & Volume



Grafik Interaksi Bakteri & Waktu



Grafik Interaksi Volume & Waktu



Lampiran 13. Data Analisa Perhitungan (A_w) Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* selama 48 dan 72 jam

- Tabel Data Analisa (A_w) Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* selama 48 dan 72 jam

Perlakuan			Ulangan			Total	Rerata
Jenis Bakteri	Volume	Waktu	1	2	3		
A1	B1	C1	0.18	0.18	0.17	0.53	0.172
		C2	0.17	0.17	0.16	0.5	
	B2	C1	0.19	0.19	0.18	0.56	0.183
		C2	0.18	0.19	0.17	0.54	
	B3	C1	0.23	0.22	0.2	0.65	0.210
		C2	0.21	0.21	0.19	0.61	
	B4	C1	0.27	0.25	0.25	0.77	0.242
		C2	0.24	0.22	0.22	0.68	
A2	B1	C1	0.19	0.20	0.17	0.56	0.175
		C2	0.18	0.17	0.14	0.49	
	B2	C1	0.21	0.21	0.19	0.61	0.187
		C2	0.18	0.18	0.15	0.51	
	B3	C1	0.22	0.27	0.21	0.7	0.220
		C2	0.21	0.22	0.19	0.62	
	B4	C1	0.29	0.29	0.26	0.84	0.262
		C2	0.24	0.26	0.23	0.73	
Total			3.39	3.43	3.08	9.9	

Keterangan:

A1 : Probiotik *Lactobacillus acidophilus*

A2 : Probiotik *Bifidobacterium bifidum*

B1 : Volume 20 mL

B2 : Volume 30 mL

B3 : Volume 40 mL

B4 : Volume 50 mL

C1 : Waktu pengeringan 48 jam

C2 : Waktu pengeringan 72 jam

➤ (ANOVA)

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aktivitas Water

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.053 ^a	15	.004	15.160	.000
Intercept	2.042	1	2.042	8750.893	.000
Bakteri	.001	1	.001	4.321	.046
Volume	.044	3	.015	62.988	.000
Waktu	.00607	1	.006	26.036	.000
Bakteri * Volume	.000558	3	.000	.798	.504
Bakteri * Waktu	.000675	1	.001	2.893	.099
Volume * Waktu	.000492	3	.000	.702	.558
Bakteri * Volume * Waktu	.000158	3	5.278E-5	.226	.877
Error	.007	32	.000		
Total	2.102	48			
Corrected Total	.061	47			

a. R Squared = .877 (Adjusted R Squared = .819)

Pada hasil ANOVA, interaksi antara bakteri & volume **TidakSig**. Maka sebetulnya sudah tidak perlu lagi dicari menggunakan uji lanjutan pada volume mana, kedua bakteri dikatakan berbeda. Berikut penjabarannya:

Tidak ada uji lanjutan untuk Bakteri karena terdiri dari 2 jenis Bakteri . Meskipun sudah jelas signifikan, artinya bahwa Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* berbeda satu sama lain, tidak ada pembandingan lain. Sama halnya dengan waktu, hasil yang diperoleh adalah signifikan. Artinya bahwa waktu 48 jam dan 72 jam berbeda satu sama lain. Berikutnya untuk Volume, perlu dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui pasangan volume mana yang memberikan hasil berbeda.

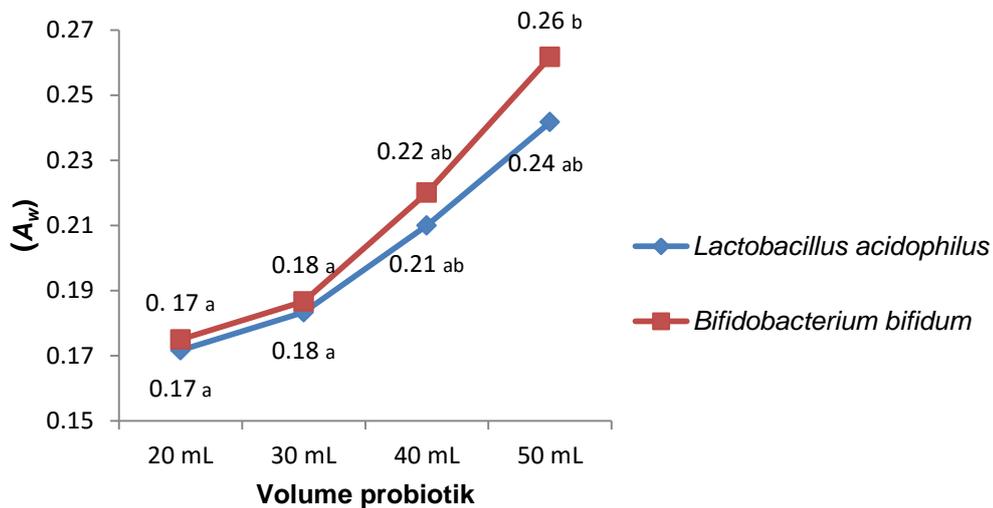
Uji Duncan

Ulangan	3
db galat	32
KT galat	0.00023
α	1%

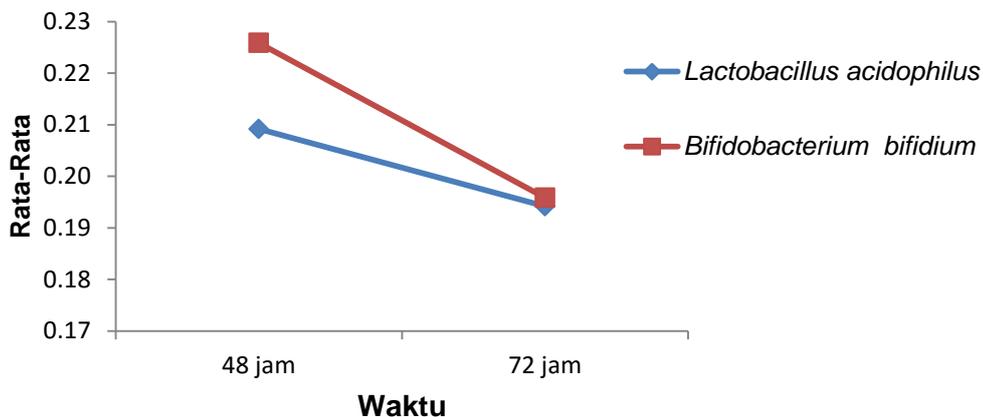
	2	3	4	5	6	7	8
Titik Kritis Duncan	8.26	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321	8.321
DMRT	0.07285	0.07338	0.07338	0.07338	0.07338	0.07338	0.07338

No	Volume	Rata-Rata	Notasi
1	A1. B1	0.172	a
3	A1.B2	0.183	a
5	A1. B3	0.210	ab
7	A1. B4	0.242	ab
2	A2. B1	0.175	a
4	A2.B2	0.187	a
6	A2. B3	0.220	ab
8	A2. B4	0.262	b

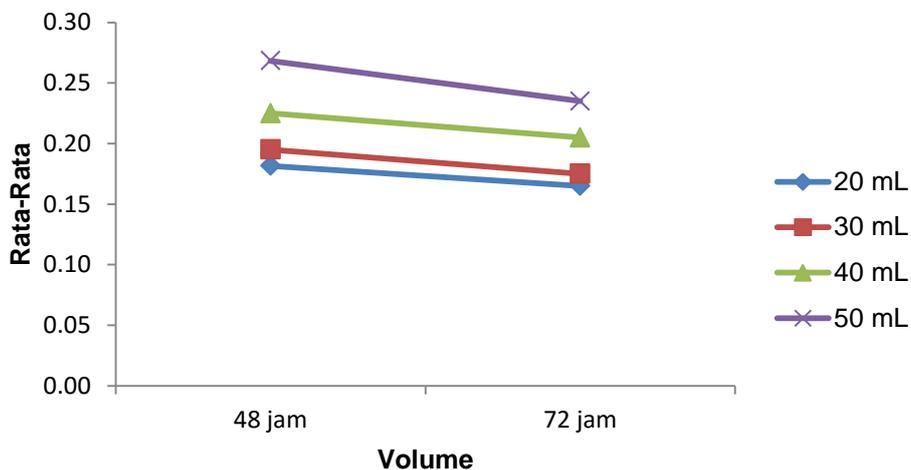
Grafik Interaksi Bakteri & Volume



Grafik Interaksi Bakteri & Waktu



Grafik Interaksi Volume & Waktu



Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian

➤ Pembuatan Tepung pati

1



2



3



4



5



6



7



8



Keterangan :

1. Pengupasan Pati Ubi kayu
2. Diparut menjadi bubur umbi
3. Ditambahkan air perbandingan 1 : 2
4. Disaring dan diperas adonan
5. Dibiarkan mengendap ± 3 jam
6. Buang cairan diatas endapan
7. Diblender
8. Pengayakan 60 mesh hingga halus



➤ Pembuatan Mikrokapsulasi probiotik

1



2



3



4



5



6



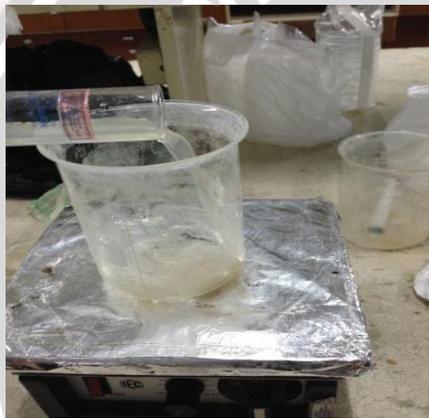
7



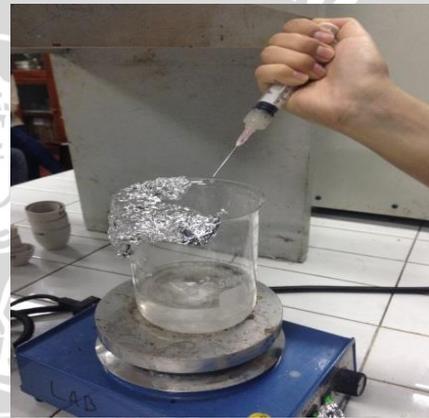
8



9



10



11



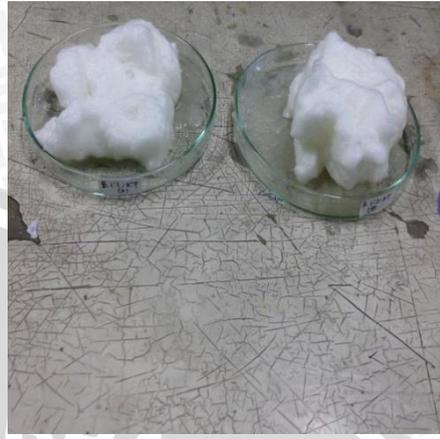
12



13



14



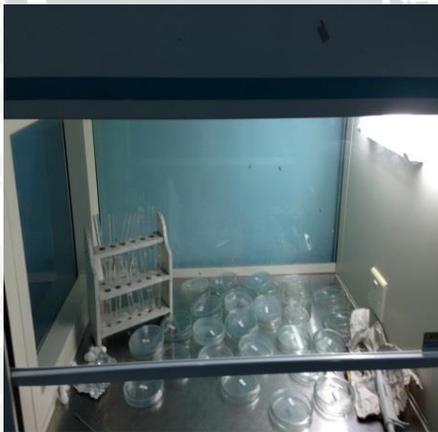
15



16



17



18



19



20



21



22



Keterangan :

1. Pencucian *E. cottoni*
2. Pengeringan rumput laut
3. Ekstraksi karaginan
4. Pembuatan pasta rumput laut
5. Penepungan karaginan
6. Tepung karaginan kering
7. Pembuatan sol karaginan
8. Kultur bakteri probiotik
9. Penambahan kultur dalam sol karaginan
10. Pengekstruksian dalam KCl 3,9 M
11. Penyaringan dengan kertas saring
12. Mikrokapsul basah
13. *Foam-mat*
14. Pelapisan mikrokapsul dengan *foam-mat*

15. Sterilisasi peralatan dan media
16. Pengenceran bertingkat
17. Inokulasi bakteri
18. Penanaman media
19. Penanaman media
20. Inokulum *B.bifidum*
21. Koloni *Lactobacillus acidophillus*
22. Koloni *Bifidobacterium bifidum*