

**OPTIMASI FORMULA MIKROENKAPSULASI BERBAHAN *SEMI REFINED*
CARRAGEENAN IOTA DAN MALTODEKSTRIN DENGAN *COATING*
KITOSAN TERHADAP VIABILITAS *Bifidobacterium bifidum***

SKRIPSI

Oleh:

SEPTIEN INDRIENA INTAN AULIA ROCHMA

NIM. 145080307111011



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

MALANG

2018

OPTIMASI FORMULA MIKROENKAPSULASI BERBAHAN *SEMI REFINED CARRAGEENAN IOTA* DAN *MALTODEKSTRIN* DENGAN *COATING* *KITOSAN* TERHADAP VIABILITAS *Bifidobacterium bifidum*

SKRIPSI

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



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

MALANG

2018

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mikroenkapsulasi merupakan suatu proses pembungkusan suatu bahan inti (bakteri probiotik) dengan menggunakan bahan penyalut tertentu untuk mempertahankan viabilitasnya dan melindungi probiotik dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Rizqiati *et al.*, 2015). Fungsi dari mikroenkapsulasi bakteri adalah untuk menjaga bakteri agar dapat bertahan hingga masuk kedalam usus. Mikroenkapsulasi dikatakan berhasil jika bahan yang dienkapsulasi memiliki viabilitas bakteri probiotik yang relatif tinggi dengan sebelum dienkapsulasi (Triana, 2006).

Probiotik merupakan suatu mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inang baik itu pada hewan maupun manusia (Widiyaningsih, 2011). Bakteri probiotik dapat melancarkan keseimbangan mikroba dalam sistem pencernaan manusia (Bijanti *et al.*, 2009). Bakteri *Bifodobacterium bifidum* termasuk salah satu bakteri probiotik. *B. bifidum* dikategorikan sebagai bakteri anaerob obligat dan memiliki daya tahan hidup yang rendah didalam produk makanan maupun saluran pencernaan. Oleh karena itu, dilakukan pembuatan mikroenkapsulasi untuk melindungi viabilitas bakteri probiotik tersebut (Holkem *et al.*, 2017). Salah satu cara untuk mempertahankan viabilitas perlu adanya suatu lapisan atau bahan penyalut (Martín *et al.*, 2015).

Bahan penyalut yang digunakan dalam enkapsulasi dapat terdiri hanya satu jenis penyalut atau penggabungan dari jenis penyalut yang berbeda. Hal ini berkaitan dengan karakterisasi mikrokapsul yang diinginkan, kestabilan mikrokapsul, bahan inti yang disalut dan metode enkapsulasi yang digunakan (Jayanudin & Rochmadi, 2017). Penggunaan jenis penyalut yang berbeda dapat

berpengaruh dalam jumlah bakteri yang tersalut. Penyalut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin.

Karaginan merupakan polisakarida galaktan yang diekstraksi dari rumput laut merah (*Rhodophyceae*). Karaginan memiliki tiga bentuk yaitu kappa, iota dan lambda karaginan. *Semi Refined Carrageenan* merupakan salah satu produk karaginan. *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota merupakan bahan pengenkapsulat sel bakteri agar dapat mempertahankan viabilitas bakteri tersebut. Sifat gel *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota adalah tidak keras, lembut, elastis dan cenderung stabil. SRC iota dengan konsentrasi 4,5 dapat digunakan sebagai penyalut mikrokapsul dan mampu menjaga viabilitasnya hingga 7,72 log cfu/mL (Wulandari & Putranto, 2010). Secara umum nilai minimum yang harus dipenuhi sekitar 10^6 - 10^7 cfu (*colony forming units*)/gram bakteri dalam sediaan probiotik (Firdaus *et al.*, 2014). Menurut Kusuma, (2017) sifat *semi refined carrageenan* iota yang memiliki gel yang lembut maka akan mudah mengalami keretakan oleh karena itu ditambahkan maltodekstrin sebagai bahan penyalut lain.

Maltodekstrin merupakan salah satu produk hasil hidrolisa pati yang terdiri dari campuran glukosa, maltosa, oligosakarida, dan dekstrin (Husniati, 2009). Maltodekstrin mempunyai sifat mudah larut dalam air, mampu membentuk film, mempunyai kemampuan sebagai perekat mempunyai daya ikat yang kuat, tidak bersifat toksik dan tidak berasa (Purnamayati *et al.*, 2016). Maltodekstrin berfungsi sebagai sumber oligosakarida bagi pertumbuhan bakteri probiotik dan pertumbuhannya dan menguntungkan perkembangbiakan bakteri probiotik sehingga dapat memperlancar proses degradasi oleh bakteri probiotik yang berlangsung dalam saluran pencernaan (Husniati, 2009). Penambahan maltodekstrin sebagai penyalut 3% mampu meningkatkan viabilitas *B. Adolescentis* sebesar 0,8 log cfu/mL dari 5,2 log cfu/mL menjadi 6 log cfu/mL. Maltodekstrin dapat menjaga viabilitas sel bakteri *B. bifidum* dan dapat melindungi

membran sel selama proses mikroenkapsulasi (Borza *et al.*, 2010). Bahan penyalut *semi refined carrageenan* iota dan maltodektrin masih dirasa belum dapat mendukung daya tahan hidup dari bakteri *Bifidobacterium bifidum* yang bersifat anaerob obligat, maka dari itu perlu dilakukan proses *coating* atau pelapisan. Bahan yang dapat digunakan sebagai *coating* adalah kitosan.

Kitosan merupakan senyawa turunan dari hasil proses deasetilasi kitin yang banyak terkandung didalam hewan laut seperti udang dan kepiting (Thariq *et al.*, 2016). Kitosan merupakan suatu polimer yang bersifat polikationik. Kitosan juga dapat membentuk sebuah membran yang memiliki fungsi sebagai zat padat yang dapat menyerap fluida pada waktu terjadinya pengikatan zat organik maupun zat anorganik (Agustina *et al.*, 2015).

Dari penjelasan latar belakang diatas, perlu dilakukan adanya penelitian mengenai optimasi formula mikroenkapsulasi berbahan *semi refined carrageenan* iota dan maltodektrin dengan *coating* kitosan untuk mampu meningkatkan viabilitas *B. bifidum*.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu apakah formula yang optimum dari *semi refined carrageenan* iota dan maltodektrin dengan *coating* kitosan dapat berpengaruh terhadap viabilitas *Bifidobacterium bifidum* ?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui formula yang optimum dari *semi refined carrageenan* iota dan maltodektrin dengan *coating* kitosan dapat berpengaruh terhadap viabilitas *Bifidobacterium bifidum*

1.4 Hipotesa penelitian

Hipotesa yang mendasari penelitian ini adalah:

H_0 = Formula *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan yang optimum tidak berpengaruh terhadap viabilitas *Bifidobacterium bifidum*

H_1 = Formula *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan yang optimum dapat berpengaruh terhadap viabilitas *Bifidobacterium bifidum*

1.5 Kegunaan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai formulasi yang optimum pada mikroenkapsulasi berbahan SRC iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan terhadap viabilitas bakteri *Bifidobacterium bifidum* sehingga dapat digunakan sebagai pengembangan metode mikroenkapsulasi bakteri probiotik dimasa yang akan datang.

1.6 Tempat dan waktu penelitian

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

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan suatu proses penyalutan secara tipis partikel padat, tetesan cairan dan dispersi zat cair oleh bahan penyalut. Mikrokapsul sebagai hasil dari proses mikroenkapsulasi mempunyai ukuran antara $1\mu\text{m}$ - $5.000\mu\text{m}$, memiliki kelarutan dan stabilitas yang lebih baik. Mikrokapsul dibuat dari inti tunggal atau lebih dalam bentuk padat atau cairan yang dikelilingi oleh dinding kapsul. Dinding kapsul merupakan matriks polimer yang didalamnya dienkapsulasi dengan bahan yang terdispersi secara homogen. Keunikan dari mikrokapsul adalah kecilnya partikel yang tersalut dan dapat digunakan lebih lanjut untuk berbagai bentuk sediaan farmasi. Kegunaan teknik ini antara lain untuk mengendalikan pelepasan senyawa aktif dari bahan, menyebabkan senyawa aktif lebih aman, melindungi bahan yang peka terhadap lingkungannya, melindungi pengaruh efek yang tidak diinginkan karena pengaruh cahaya, kelembaban dan oksigen (Nugraheni *et al.*, 2015).

Mikroenkapsulasi melibatkan dua bahan, yaitu inti dan penyalut. Inti adalah zat yang akan disalut. Penyalut adalah zat yang digunakan untuk menyelimuti inti dengan tujuan tertentu (Fasikhatun, 2010). Pembuatan mikrokapsul diperlukan suatu bahan penyalut. Bahan penyalut yang digunakan sebaiknya mempunyai karakteristik secara kimiawi kompatibel dan tidak bereaksi dengan bahan inti, memiliki kekuatan, tidak berasa, tidak higroskopis, viskositas rendah, ekonomis, dapat melarut dalam media *aqueous* atau dalam pelarut yang sesuai atau dapat melebur, tidak rapuh, keras, tipis, dan stabil. Selain itu suatu bahan penyalut mikrokapsul harus dapat digunakan secara luas dalam metode pembuatan mikrokapsul (Srifiana *et al.*, 2014)

Proses enkapsulasi dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode pengeringan semprot (*spray drying*), *fluid bed coating*, pendinginan semprot (*spray chilling*), *melt injection*, *melt extrusion*, emulsi, dan metode pengeringan beku (*freeze drying*) atau pengeringan vakum (Zuidam & Shimoni, 2010). Pemilihan metode yang akan digunakan tergantung dari beberapa faktor, antara lain komponen pangan yang akan dienkapsulasi, bahan enkapsulan, serta biaya yang akan dikeluarkan (Astuti, 2008).

Mikroenkapsulasi memiliki tujuan untuk melindungi bahan inti, mengurangi kehilangan nilai gizi, menstabilkan bahan aktif, memudahkan pengendalian pelepasan bahan aktif dan melindungi komponen aktif dari pengaruh lingkungan. Enkapsulasi diterapkan pada probiotik dengan tujuan untuk melindungi probiotik agar tetap dapat bertahan hidup pada kondisi ekstrim, akibat proses pengeringan, penyimpanan maupun cairan saluran pencernaan. Keberhasilan enkapsulasi probiotik tergantung pada bahan penyalut yang digunakan (Firdaus *et al.*, 2014).

2.1.1 *Coating* Mikroenkapsulasi

Coating merupakan suatu lapisan yang tipis digunakan untuk melapisi suatu bahan pangan atau bahan inti (Baldwin, 2012). *Coating* adalah suatu metode pemberian lapisan kedua pada permukaan bahan pangan yang telah diberi coating yang berguna untuk menghambat keluarnya zat aktif, sehingga proses penyimpanan dapat bertahan lebih lama. Pembuatan mikrokapsul dengan *coating* alginat dan kitosan dapat dilakukan dengan dua tahap. Prosedur pertama mikrokapsul di *coating* dengan menggunakan alginat, kemudian mikrokapsul tersebut dipindahkan ke dalam larutan kitosan untuk membentuk membran pada permukaan mikrokapsul alginat (Gaserod dan Skjak, 1998).

2.2 Probiotik

Probiotik merupakan mikroba hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroba yang ada dalam usus. Probiotik adalah produk yang tersusun oleh biakan mikroba atau pakan alami yang bersifat menguntungkan dan memberikan dampak bagi peningkatan keseimbangan mikroba saluran usus hewan inang. Probiotik diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen jenis enteropatogenik seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhimurium*. Probiotik mampu menghasilkan zat antibakteri dalam saluran pencernaan manusia sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri jahat, seperti pada bakteri penyebab diare (Astawan *et al.*, 2011).

Bakteri probiotik termasuk dalam bakteri asam laktat yang merupakan bakteri gram positif berfungsi untuk menjaga mikroflora usus (Meryandini *et al.*, 2009). Manfaat bakteri probiotik dalam meningkatkan kesehatan dapat terjadi bila kultur dikonsumsi dalam keadaan hidup dan mampu bertahan dalam saluran pencernaan (Sumanti *et al.*, 2016). Keuntungan probiotik adalah kemampuannya untuk mencegah reaksi bakteri patogen, mensuplai enzim untuk membantu mencerna beberapa bahan makanan, detoksikasi beberapa komponen makanan yang merugikan dan mengeluarkannya dan saluran pencernaan dan merangsang aktivitas peristaltik usus (Bijanti *et al.*, 2009).

Syarat bakteri probiotik adalah tidak bersifat patogen dan aman jika dikonsumsi. Probiotik juga harus tahan dan tetap hidup selama proses pengolahan makanan dan penyimpanan, mudah diaplikasikan pada produk makanan, tahan terhadap proses psikokimia pada makanan, mempunyai sensori yang baik dan tidak meningkatkan angka keasaman selama masa penyimpanan (Widiyaningsih, 2011). Beberapa probiotik umum meliputi berbagai spesies dari *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* seperti: *L. Acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus*

plantarum, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus GG*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* dan *Bifidobacterium bifidum* (Manin, 2010).

2.2.1 *Bifidobacterium bifidum*

Bifidobacterium bifidum merupakan salah satu jenis bakteri asli penghuni saluran pencernaan. Bakteri ini termasuk ke dalam jenis bakteri asal laktat (BAL). *Bifidobacterium bifidum* termasuk ke dalam bakteri probiotik karena mampu memberikan efek yang positif bagi tubuh. Manfaat *Bifidobacterium bifidum* adalah mencegah perkembangbiakan bakteri patogen, memproduksi asam laktat dan asam asetat, yang dapat menurunkan pH dalam usus, dan merangsang penyerapan mineral bagi tubuh (Habibillah, 2009).

Menurut Garrity *et al.*, (2004), pada bakteri *Bifidobacterium bifidum* yang termasuk genus *bifidobacteria* ini adalah bakteri probiotik yang dapat hidup pada usus besar atau saluran pencernaan manusia. Bakteri ini digunakan baik untuk tubuh manusia dengan fungsi menjaga keseimbangan mikroflora yang hidup dalam tubuh. Klasifikasikan bakteri *Bifidobacterium bifidum* sebagai berikut:

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

Bifidobacterium memiliki bentuk batang, bersifat anaerob, gram positif, tidak berspora, heterofermentatif, dan suhu optimal pertumbuhan 36°C - 37°C.

Bifidobacterium tidak tumbuh pada pH diatas 8,0 atau dibawah 4,5. (Fitriani *et al.*, 2017). Penelitian dengan menggunakan bakteri asam laktat seperti *Bifidobacterium* spp, menurut Maheswari *et al.*, (2008) karena bakteri tersebut berpotensi sebagai probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, khususnya *E. coli*.

2.3. Bahan Penyalut Mikroenkapsulasi

2.3.1 *Eucheuma spinosum*

Rumput laut merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman dan obat-obatan, beberapa hasil olahan rumput laut seperti agar-agar, alginat dan karagenan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri. Sebagian besar rumput laut di Indonesia diekspor dalam bentuk kering. Bila ditinjau dari segi ekonomi, harga hasil olahan rumput laut seperti karagenan jauh lebih tinggi dari pada rumput laut kering oleh karena itu, untuk meningkatkan nilai tambah dari rumput laut dan mengurangi impor akan hasil-hasil olahannya, maka pengolahan rumput laut menjadi karagenan di dalam negeri perlu dikembangkan (Diharmi *et al.*, 2011)



Gambar 1. Rumput laut *Eucheuma spinosum* (Alam, 2011)

Menurut (Alam, 2011) *Eucheuma spinosum* termasuk dalam kelas *Rhodophyceae* atau alga merah dengan klasifikasi sebagai berikut..

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

Kandungan utama rumput laut segar adalah air yang mencapai 80% sampai 90%, sedangkan kadar protein dan lemaknya sangat kecil. Walaupun kadar lemak rumput laut sangat rendah, susunan asam lemaknya sangat penting bagi kesehatan. Lemak rumput laut mengandung asam lemak omega-3 dan omega-6 dalam jumlah yang cukup tinggi. Kedua asam lemak ini merupakan asam lemak yang penting bagi tubuh, terutama sebagai pembentuk membran jaringan otak, syaraf, retina mata, plasma darah dan organ reproduksi. Seratus (100) gram rumput laut kering mengandung asam lemak omega-3 berkisar 128 μg –1.629 μg dan asam lemak omega-6 berkisar 188 μg –1.704 μg (Podungge *et al.*, 2018).

Eucheuma spinosum merupakan rumput laut telah dibudidayakan di Indonesia. Rumput laut dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan tepung agar-agar, keraginan dan alginat. Agar-agar, karaginan dan alginat banyak dimanfaatkan dalam industri tekstil, kosmetik, dan lain-lain. Fungsi utamanya adalah sebagai bahan pemantap, bahan pengemulsi, bahan pengental, bahan pengisi dan bahan pembuat gel (Farnani *et al.*, 2013).

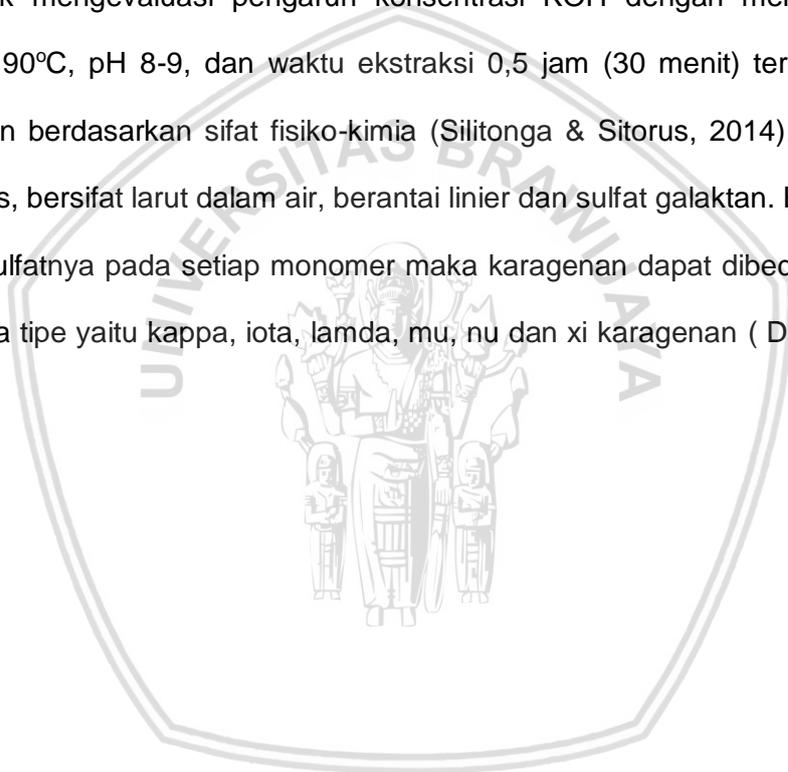
2.3.2 Karaginan

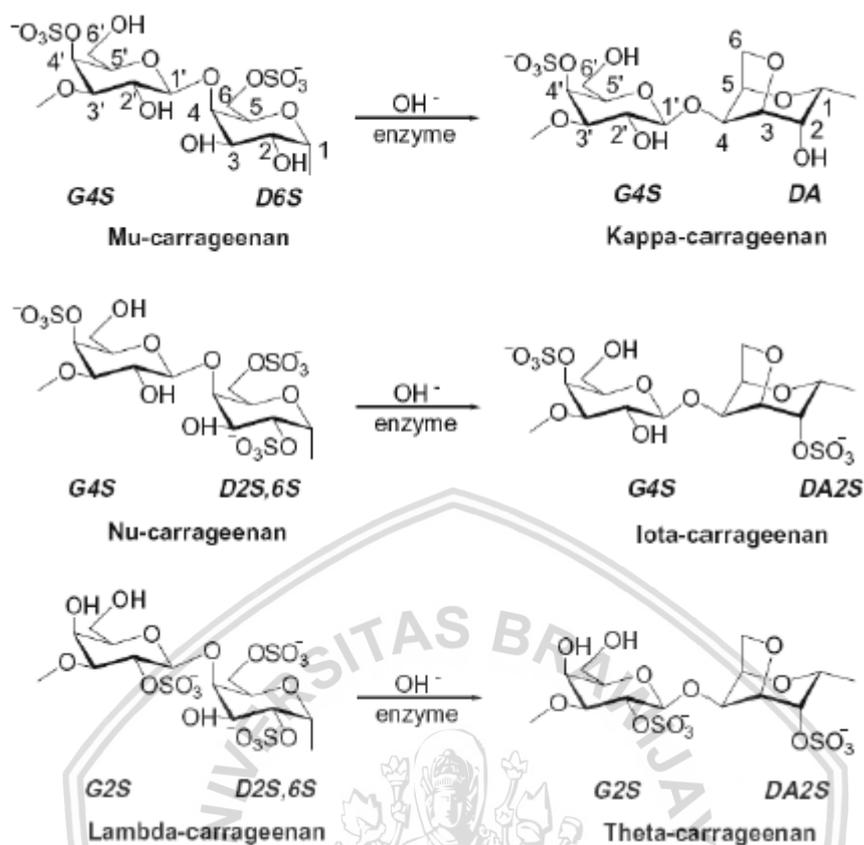
Karaginan merupakan getah rumput laut yang diekstraksi dengan air atau larutan alkali dari spesies tertentu dari kelas *Rhodophyceae* (alga merah). Karaginan berfungsi untuk pengental, pengemulsi, pensuspensi, dan faktor penstabil. Karaginan juga dipakai dalam industri pangan untuk memperbaiki penampilan produk kopi, bir, sosis, salad, es krim, susu kental, coklat, jeli. Industri farmasi memakai karaginan untuk pembuatan obat, sirup, tablet, pasta gigi, sampo dan sebagainya. Industri kosmetika menggunakannya sebagai pembentuk gel atau pengikat (Ega *et al.*, 2016).

Karagenan merupakan senyawa yang termasuk kelompok polisakarida galaktosa hasil ekstraksi dari rumput laut. Sebagian besar karagenan mengandung natrium, magnesium, dan kalsium yang dapat terikat pada gugus ester sulfat dari galaktosa dan kopolimer 3,6- anhydro-galaktosa. Pada karagenan banyak digunakan pada sediaan makanan, sediaan farmasi dan kosmetik sebagai bahan pembuat gel, perenyah, pengental atau penstabil. Karagenan dapat diekstraksi dari protein dan lignin rumput laut dan dapat digunakan dalam industri pangan karena karakteristiknya yang dapat berbentuk gel, bersifat mengentalkan, dan menstabilkan material utamanya. Karagenan sendiri tidak dapat dimakan oleh manusia dan tidak memiliki nutrisi yang diperlukan oleh tubuh. Oleh karena itu, karagenan hanya digunakan dalam industri pangan karena fungsi karakteristiknya yang dapat digunakan untuk mengendalikan kandungan air dalam bahan pangan utamanya, mengendalikan tekstur, dan makanan (Agustin *et al.*, 2017)

Ekstraksi karaginan dilakukan dengan menggunakan air panas atau larutan alkali panas. Suasana alkali dapat diperoleh dengan menambahkan larutan basa misalnya larutan NaOH, Ca(OH)₂, atau KOH. Penggunaan alkali mempunyai dua fungsi, yaitu membantu ekstraksi polisakarida menjadi lebih sempurna dan

mempercepat eliminasi 6-sulfat dari unit monomer menjadi 3,6- anhidro-D-galaktosa sehingga dapat meningkatkan kekuatan gel dan reaktivitas produk terhadap protein. Dari beberapa larutan alkali yang digunakan untuk mengekstrak rumput laut maka digunakan kalium hidroksida (KOH), ini berpengaruh terhadap kenaikan rendemen dan mutu karaginan yang dihasilkan. Semakin lama waktu ekstraksi maka kekuatan gel akan menurun. Waktu ekstraksi 0,5 jam akan menghasilkan rendemen karaginan tertinggi yaitu 68,29%. Tujuan dari penelitian ini, untuk mengevaluasi pengaruh konsentrasi KOH dengan mengatur suhu konstan 90°C, pH 8-9, dan waktu ekstraksi 0,5 jam (30 menit) terhadap mutu karaginan berdasarkan sifat fisiko-kimia (Silitonga & Sitorus, 2014). Karagenan kompleks, bersifat larut dalam air, berantai linier dan sulfat galaktan. Berdasarkan gugus sulfatnya pada setiap monomer maka karagenan dapat dibedakan dalam beberapa tipe yaitu kappa, iota, lamda, mu, nu dan xi karagenan (Diharmi *et al.*, 2011) .





Gambar 2. Struktur karaginan (Distantina *et al.*, 2010)

2.3.2.1 Semi Refined Carrageenan (SRC) Iota

Eucheuma denticulatum adalah nama dagang dari *Eucheuma spinosum* merupakan spesies utama yang digunakan untuk menghasilkan SRC iota. SRC iota memiliki sifat dapat membentuk gel yang elastis dengan garam kalsium dan cenderung stabil tanpa sineresis (Diharmi *et al.*, 2011). Kemampuan dalam pembentukan gel pada SRC iota terjadi pada saat larutan panas yang dapat dibiarkan menjadi dingin, dikarenakan mengandung gugus 3,6-anhidro-D-galaktosa. Proses ini bersifat *reversible*, artinya gel akan mencair bila dipanaskan dan apabila didinginkan akan membentuk gel kembali. Adanya perbedaan jumlah, tipe dan posisi sulfat serta adanya ion-ion yang akan mempengaruhi proses pembentukan gel. *Semi refined carrageenan* iota membentuk gel yang kuat dan

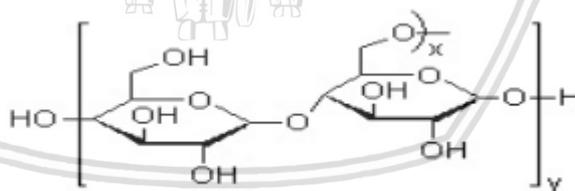
stabil bila ada ion Ca^{2+} adanya gugus 2-sulfat pada 3,6-anhidro-D-galaktosa pada *semi refined carrageenan* iota yang mempengaruhi sensitivitas terhadap ion kalsium. Peningkatan gugus 2-sulfat hingga 25% sampai 50% menyebabkan penurunan sensitivitas terhadap ion kalsium yang juga mengakibatkan penurunan kekuatan gel yang terbentuk. Walaupun demikian, adanya gugus 2-sulfat ester hingga 80% akan menyebabkan peningkatan sensitivitas terhadap ion kalsium. Hal inilah yang akan menyebabkan SRC iota akan membentuk gel yang kuat bila dicampur dengan ion kalsium (Ulfah, 2009). Salah satu sifat fisik yang penting pada *semi refined carrageenan* iota adalah kekuatan untuk membentuk gel yang disebut sebagai kekuatan gel. Sifat inilah yang berhubungan dengan kemampuannya sebagai bahan penyalut (Setijawati *et al.*, 2011).

Semi Refined Carrageenan (SRC) atau karaginan semi murni merupakan salah satu produk yang dihasilkan dari pengolahan rumput laut yang potensial untuk dikembangkan. Produksi total SRC pada tahun 2009 mencapai 50% dari total produksi rumput laut di dunia, dengan pasar mencakup Eropa, Amerika, Asia-Pasifik, dan Cina (Bixler dan Porse, 2011). Menurut Serowik *et al.*, (2017) produksi *semi refined carrageenan* dari rumput laut pada dasarnya meliputi proses pemanasan menggunakan larutan alkali dan proses pemisahan serta proses pengeringan *semi refined carrageenan*. Proses pengeringan SRC iota bertujuan untuk mengurangi kadar air pada *semi refined carrageenan* iota, sehingga dapat memudahkan dalam distribusi, penggunaan dan penyimpanannya. Pengeringan *semi refined carrageenan* iota biasanya dilakukan secara konvensional yaitu menggunakan sinar matahari atau dengan menggunakan oven (*oven drying*). Proses pengeringan *semi refined carrageenan* iota menggunakan sinar matahari memiliki beberapa kelemahan diantaranya memerlukan lahan yang luas untuk proses pengeringan, sangat bergantung dengan kondisi cuaca, dan memungkinkan terjadinya kontaminasi dari lingkungan.

Metode *vacuum drying* atau pengeringan vakum merupakan salah satu metode yang dapat digunakan dalam pengeringan *semi refined carrageenan* iota. Penggunaan metode pengeringan vakum pada bahan pangan dapat meningkatkan kualitas dan meminimalkan kerusakan kandungan gizi pada bahan pangan serta dapat mempertahankan karakteristik bahan pangan. Penggunaan metode pengeringan vakum lebih cepat dalam mengeringkan bahan pangan dibanding dengan penggunaan metode pengeringan konvensional menggunakan sinar matahari (Sumic *et al.*, 2016).

2.3.3 Maltodekstrin

Maltodekstrin didefinisikan sebagai produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik. Rumus umum maltodekstrin adalah $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$ (Fasikhatun, 2010). Maltodekstrin merupakan campuran dari glukosa, maltosa, oligosakarida dan dekstrin (Srihari *et al.*, 2010). Rumus kimia maltodekstrin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rumus kimia Maltodekstrin (Hizatulloh, 2017).

Maltodekstrin memiliki fungsi yaitu mudah ditemukan, mudah dalam penanganan proses, dapat mengalami dispersi dengan cepat, memiliki kelarutan yang tinggi, mampu membentuk matriks, dan menghambat kristalisasi (Sumanti *et al.*, 2016). Ditambahkan menurut Silitonga & Sitorus (2014) Pada penggunaan maltodekstrin sebagai penyalut dipembuatan mikrokapsul dikarena kemampuannya

dalam membentuk emulsi dan viskositasnya rendah. Maltodekstrin dapat bercampur dengan air dan membentuk cairan koloid bila di panaskan dan mempunyai kemampuan sebagai perekat, tidak memiliki warna dan bau yang tidak enak serta tidak toksik .

2.3.4 Kitosan

Kitosan merupakan biopolimer yang diperoleh dari deasetilasi kitin. Akhir-akhir ini kitosan banyak dimanfaatkan dalam beragam industri dengan alasan limbah industri makanan laut begitu besar dan perlu untuk diolah menjadi sesuatu yang berguna selain itu karena sifat-sifat kitosan yang tidak beracun dan *biodegradable*. Proses utama dalam pembuatan kitosan, meliputi penghilangan protein dan kandungan mineral melalui proses deproteinasi dan demineralisasi, yang masing-masing dilakukan dengan menggunakan larutan basa dan asam. Selanjutnya, kitosan diperoleh melalui proses deasetilasi dengan cara memanaskan dalam larutan basa (Kurniasih & Kartika, 2011).



Gambar 4. Struktur Kitosan (Dompeipen *et al.*, 2016)

Kitosan adalah senyawa yang berbentuk padatan yang tidak memiliki titik lebur yang melebar berwarna putih kekuningan, memiliki sifat polielektrolit. Kitosan biasanya larut dalam asam organik, memiliki pH sekitar 4 sampai 6,5, tidak larut dengan pH yang lebih rendah maupun yang lebih tinggi (Dompeipen *et al.*, 2016). Kitosan adalah suatu rantai linear dari D – Glukosamin dan N – Asetil D –

Glukosamin yang terangkai pada posisi β (1-4). Kitosan adalah suatu kitin N – deasetilasi yaitu biomaterial yang mempunyai sifat biologi yang efektif seperti

aktivitas bakteri, biodegradable, biokompatibel, dan tidak beracun (Sashiwa et al., 2003), karena adanya gugus amino, kitosan merupakan polielektrolit kationik ($pK_a \approx 6,5$) hal yang sangat jarang terjadi secara alami. Sifat yang basa ini menjadikan kitosan yaitu, dapat larut dalam media asam encer membentuk larutan yang kental sehingga dapat digunakan dalam pembuatan gel. Dalam beberapa variasi konfigurasi seperti butiran, membrane, pelapis kapsul, serat dan spons. Membentuk kompleks yang tidak larut dengan air dengan polianion yang dapat juga digunakan untuk pembuatan butiran gel, kapsul, dan membran. Dapat digunakan sebagai pengkhat ion logam berat dimana gelnya menyediakan sistem produksi terhadap efek destruksi dari ion (Meriaty, 2005).

2.4 Metode Gel Partikel

Metode yang digunakan dalam pembuatan mikroenkapsulasi adalah metode gel partikel. Metode gel partikel merupakan metode gabungan antara metode ekstruksi dan metode emulsifikasi. Metode ekstruksi dapat melindungi bakteri yang dibutuhkan pada kondisi yang merugikan dengan hasil yang lebih baik (Tsen *et al.*, 2004). Teknik ekstruksi ini dapat mencampurkan hidrokoloid dengan sel probiotik, campuran antar sel dan hidrokoloid dimasukkan kedalam ekstruder dengan jarum suntik membentuk tetesan dari tekanan jarum dan dimasukkan kedalam larutan pembentuk gel dan diaduk secara perlahan. Metode emulsifikasi dilakukan dengan bahan baku tambahan seperti fase minyak dan agen pengemulsi untuk menstabilkan emulsi (Gbassi & Vandamme, 2012).

Metode gel partikel merupakan metode pada pembuatan mikroenkapsulasi dengan menggunakan penyalut untuk melindungi bakteri probiotik didalamnya. Metode gel partikel terdiri dari emulsi dan ekstruksi. Adapun proses pembuatan mikrokapsul adalah mencampur kultur bakteri probiotik dengan bahan pengenkapsulat kemudian sel yang sudah tersalut diambil dan disemprotkan

dengan *sput* dengan diameter lubang 0,3-3 mm kedalam larutan pembentuk gel sehingga akan menghasilkan butiran-butiran mikrokapsul dengan diameter sesuai dengan lubang jarum yang telah digunakan (Zuidam & Shimoni, 2010). Metode gel partikel memiliki beberapa keuntungan diantaranya proses pembuatan yang mudah, membutuhkan peralatan yang sederhana, biaya rendah untuk skala kecil serta kondisi formulasi yang sesuai akan menghasilkan viabilitas yang tinggi (Manojlovic *et al.*, 2010).

2.5 Response Surface Methodology Design Expert .

Optimasi merupakan serangkaian proses untuk mendapatkan gugus kondisi yang diperlukan untuk mendapatkan hasil terbaik dalam situasi tertentu. Berdasarkan pendekatan normal, dapat diketahui bahwa optimasi mengindikasikan. Metode yang digunakan adalah *Response Surface Methodology* (RSM). RSM adalah suatu metodologi yang dapat digunakan untuk menentukan titik optimum pada pengaturan mesin yang bertujuan untuk menghasilkan produk yang sesuai dengan standar yang telah ditetapkan dan tidak mengandung kecacatan sama sekali (Melati, 2012).

RSM adalah kumpulan statistik dan matematika teknik yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses, di mana respon dipengaruhi oleh beberapa faktor (variabel independen). Gagasan utama dari metode ini adalah mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respon, mendapatkan model hubungan antara variabel bebas dan respon serta mendapatkan kondisi proses yang menghasilkan respon terbaik. Di samping itu, keunggulan metode RSM ini di antaranya tidak memerlukan data-data percobaan dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan waktu lama. Aplikasi RSM *Design Expert* 11 dengan menggunakan metode *Box-Behnken* memberikan solusi

dari nilai optimasi yang disarankan. Optimasi menjadi bagian paling penting yang diperhatikan untuk mendapatkan formulasi yang paling optimal dari rancangan penelitian. Penelitian yang menggunakan optimasi pada prosesnya akan dipengaruhi variabel tidak bebas (*Response*) dan variabel bebas (faktor). Kegiatan optimasi ini diharapkan dapat berlangsung dengan memanfaatkan fasilitas yang ada dengan biaya yang dikeluarkan cukup minimum dan relatif terjangkau (Nurmiah *et al.*, 2013).

Karakteristik utama dari metode RSM adalah bahwa metode ini merupakan suatu paket komplit dalam desain statistika yang merupakan gabungan antara desain eksperimen dan regresi. Desain yang paling terkenal dan sering digunakan dalam penelitian antara lain adalah *Central Composite Design* (CCD) dan desain *Box-Behnken*. Desain *box-behnken* memiliki kelebihan dibandingkan dengan CCD. Kelebihan tersebut adalah bahwa desain ini lebih efisien dengan jumlah *runs* percobaan lebih sedikit, terutama untuk percobaan dengan 3 atau 4 faktor (Nurmaya *et al.*, 2013)

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *waterbath*, termometer, baskom, nampan, talenan, ayakan 100 *mesh*, loyang, *stopwatch*, *beaker glass*, *blander*, oven, gelas ukur, cawan petri, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, *sprayer*, spektrofotometer, *hotplate stirrer*, spatula, sendok bahan, pipet serologis, botol timbang, *crushable tank*, desikator, timbangan digital, oven, sendok bahan, *object glass*, *cover glass*, dan kaca arloji.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Eucheuma spinosum* yang diperoleh dari perairan Madura, kulit udang, Ca(OH)_2 , CaCl_2 , pH paper, kain blacu, *Bifidobacterium bifidum* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, air, maltodekstrin, akuades, alkohol, CaCO_3 , alumunium foil, kertas label, plastik klip, larutan HCl 1N, NaOH, Medium *de Mann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB), kapas, *plastic wrap*, asam asetat 1%, Medium *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), kertas koran, NaCl, tali, dan spirtus.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yang terbagi dalam dua tahapan penelitian yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan acuan data, agar penelitian utama mendapatkan hasil yang valid. Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan meliputi penelitian eksperimen untuk menentukan konsentrasi bahan yang akan digunakan untuk penelitian utama. Perlakuan pada penelitian pendahuluan meliputi penentuan konsentrasi serbuk *semi refined carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin sebagai bahan penyalut dan kitosan sebagai *coating* pada pembuatan mikroenkapsulasi. Konsentrasi *semi refined carrageenan* iota, maltodekstrin dan kitosan didapatkan dari penelitian sebelumnya.

Pada penelitian pendahuluan dilakukan pembuatan SRC iota dan pembuatan kitosan, selanjutnya dilakukan pembuatan mikrokapsul dengan konsentrasi bahan SRC iota 4,5% dan 5,5% dan maltodekstrin 3% dengan *coating* kitosan 2% untuk mengetahui perlakuan terbaik. Konsentrasi SRC iota didapatkan dari penelitian Wulandari, (2016). Konsentrasi maltodekstrin didapatkan dari penelitian Ula, (2016). Konsentrasi kitosan didapatkan dari penelitian Lujeng, (2017). Berikut ini tabel rancangan penelitian pendahuluan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Model Rancangan Perlakuan dan Ulangan Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A1	(A1) ₁	(A1) ₂	(A1) ₃
A2	(A2) ₁	(A2) ₂	(A2) ₃

Keterangan:

A1 = konsentrasi SRC iota 4,5%, maltodekstrin 3% dan kitosan 2%

A2 = konsentrasi SRC iota 5,5%, maltodekstrin 3% dan kitosan 2%

Setelah didapatkan perlakuan terbaik berdasarkan nilai viabilitasnya maka konsentrasi *semi refined carrageenan* iota tersebut yang digunakan sebagai acuan dalam penelitian utama pembuatan mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum*.

3.3.1.1 Pembuatan Semi Refined Carragenan (SRC) *Eucheuma spinosum* (Setijawati et al., 2011) Dimodifikasi

Rumput laut *Eucheuma spinosum* yang digunakan diambil dari Madura. Rumput laut *Eucheuma spinosum* kering ditimbang 20 gram, dicuci sampai bersih dan dihilangkan kotorannya. Disiapkan Ca(OH)_2 6% yang dilarutkan di dalam 400ml akuades. Rumput laut *Eucheuma spinosum* ditambah larutan Ca(OH)_2 6% diekstraksi di dalam *waterbath* selama 2 jam dengan suhu 72°C . Rumput laut *Eucheuma spinosum* dicuci dua kali menggunakan larutan CaCl_2 1,5% yang ditambah akuades 200 ml, kemudian disaring. Pencucian ketiga dengan air mengalir sampai pH netral. Dikeringkan di dalam oven sampai kering, selanjutnya dihaluskan menggunakan *diskmill*, kemudian di ayak menggunakan ayakan 100 *mesh* dan menjadi serbuk *semi refined carragenan* iota. Diagram alir pembuatan *semi refined carrageenan* Iota dapat dilihat pada Lampiran 9.

3.3.1.2 Pembuatan Kitosan (Hanafi et al., 2000).

Kulit udang kering dihaluskan dan dilakukan proses demineralisasi dengan penambahan larutan asam klorida 1 N (1:10), diaduk di atas *hotplate* pada suhu sekitar 75°C selama 1 jam, kemudian disaring. Residu dicuci dengan air dan akuades hingga netral, dan ditambahkan larutan basa NaOH dengan konsentrasi 3 N sebanyak 6 kali bahan baku (1:6) dan dipanaskan pada suhu sekitar 75°C selama 1 jam, filtrat kemudian dibuang dengan cara disaring dan menghasilkan kitin. Kitin yang dihasilkan dicuci dengan akuades hingga netral, kemudian dilakukan proses deasetilasi dengan menambahkan larutan NaOH 50% sebanyak 5 kali bahan baku kulit udang (1:5) lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, dicuci dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven selama 6

jam pada suhu 50°C. Diagram alir pembuatan kitosan dapat dilihat pada Lampiran 12.

3.3.1.3 Uji *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) (Rafi et al., 2016)

Pada pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya dengan tujuan untuk mengetahui gugus fungsional yang terdapat pada SRC iota yang telah didapatkan dari hasil ekstraksi rumput laut *E. Spinosum*, maltodekstrin dan kitosan. *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) adalah metode yang biasa digunakan sebagai alat untuk mengetahui hasil spektrum yang dihasilkan oleh transformasi *infrared*. Prinsip kerja FTIR adalah mengenali gugus fungsi suatu senyawa dari absorbansi inframerah yang dilakukan terhadap senyawa tersebut. Pola absorbansi yang diserap oleh tiap-tiap senyawa berbeda-beda, sehingga senyawa-senyawa dapat dibedakan dan dikuantifikasikan.

Prosedur kerja pada analisis uji *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) adalah Sampel dimasukkan ke dalam wadah sampel dengan aksesoris ATR yang ditempatkan dalam spektrofotometer FTIR. Detektor yang digunakan yaitu *deuterated triglycine sulphate*. Pengukuran dilakukan pada kisaran bilangan gelombang 1000-4000 cm^{-1} dengan resolusi 8 cm^{-1} dan kecepatan payar 72 payar/menit. Peranti lunak OPUS 7.2.139.1.24 digunakan untuk menampilkan spektrum FTIR. Data spektrum FTIR disimpan dalam bentuk file xls untuk pengolahan selanjutnya secara kemometrik. Pengelompokan contoh dilakukan dengan analisis gerombol, analisis komponen utama, dan analisis diskriminan. Sebagai variabel digunakan data absorbans pada spektrum FTIR yang terukur dikisaran bilangan gelombang 1215-2007 cm^{-1} dan 3467-3989 cm^{-1} .

3.3.2 Penelitian Utama

Pada penelitian utama ini dilakukan optimasi pembuatan mikroenkapsulasi dengan bahan penyalut *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan dari hasil yang diperoleh pada penelitian pendahuluan. Penelitian utama dilakukan 4 tahapan, yaitu 1. Pembuatan rancangan formulasi dan respon, 2. Formulasi, 3. Analisis respon, 4. Optimasi.

3.3.2.1 Pembuatan Rancangan Formulasi dan Respon

Pada pembuatan rancangan formulasi dan respon menggunakan *Response Surface Methodology Box Behnken* dengan aplikasi *Design Expert* versi 11 agar dapat menentukan variabel bebas dan variabel respon. Pada *Response Surface Methodology (RSM)* adalah metode gabungan dari teknik statistik dan matematika yang digunakan agar dapat membuat model dan menganalisa suatu respon yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas untuk mengoptimalkan respon tersebut. Faktor atau variabel bebas yang ditentukan adalah konsentrasi *semi refined carrageenan* (SRC) iota (A), konsentrasi maltodekstrin (B) dan konsentrasi kitosan (C). Pada variabel respon dengan menggunakan viabilitas, diameter, aktivitas air (A_w), *yield* dan kadar air. Pemilihan batas minimum faktor diperoleh berdasarkan penelitian sebelumnya dan kemudian menggunakan titik tengah maupun batas maksimum yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Formulasi

Komponen	Faktor	Unit	Batas Minimum	Titik Tengah	Batas Maksimum
A	SRC iota	%	4,5	6,5	8,5
B	Maltodekstrin	%	3	5	7
C	Kitosan	%	2	4	6

Dengan menggunakan 1 titik tengah, 1 batas minimum dan 1 batas maksimum akan menghasilkan 13 kombinasi untuk perlakuan masing-masing, dengan tujuan untuk mengetahui kondisi optimum terhadap viabilitas, diameter,

Aktivitas air, *yield* dan kadar air. Rancangan percobaan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rancangan Pembuatan Mikroenkapsulasi Berbahan SRC Iota dan Maltodekstrin dengan Coating Kitosan

Perlakuan	SRC Iota	Maltodekstrin	Kitosan
1.	4,5	7	4
2.	4,5	5	6
3.	4,5	3	4
4.	4,5	5	2
5.	6,5	7	6
6.	6,5	5	4
7.	6,5	3	6
8.	6,5	7	2
9.	6,5	3	2
10.	8,5	7	4
11.	8,5	5	6
12.	8,5	3	4
13.	8,5	5	2

3.3.2.2 Tahap Formulasi

Pada tahap formulasi ini adalah tahapan pembuatan mikroenkapsulasi dengan penyalut *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan sesuai pada proses pembuatan pada Tabel 3. Prosedur pembuatan mikrokapsul metode gel partikel oven vakum (Manojlovic, 2010, dimodifikasi). Konsentrasi SRC Iota, maltodekstrin dan kitosan didapat dari penelitian sebelumnya. Setelah ditimbang kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* berukuran 100 mL dan ditambahkan akuades sebanyak 30 mL. Kemudian larutan diaduk hingga homogen dan dipanaskan diatas *hot plate stirrer* dengan suhu 90°C, *beaker glass* yang berisi larutan diangkat dari *hot plate stirrer* diturunkan suhunya menjadi 40°C dan diaduk, hal itu bertujuan agar larutan tidak cepat membentuk gel. Disiapkan kultur *Bifidobacterium bifidum* yang telah di

sentrifuge dengan kecepatan 1000 rpm dengan lama waktu 10 menit, dan endapan dicuci menggunakan NaFis 0,9 steril sebanyak 0,1 mL dan diaduk dengan menggunakan jarum ose sehingga didapatkan kultur bakteri *Bifidobacterium bifidum*, kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* yang telah berisi larutan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin lalu diaduk sampai homogen dengan *magnetic stirrer* kecepatan 100 rpm. Setelah itu, siapkan larutan CaCl_2 3.9 M sebanyak 75 mL dan masukkan campuran *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota, maltodekstrin beserta larutan kultur bakteri yang telah homogen kedalam larutan CaCl_2 3.9 M menggunakan spuit 5 mL dengan jarum diameter 1 mm. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapatkan residu dari mikroenkapsulasi. Mikro kapsul basah yang telah berisi bakteri *Bifidobacterium bifidum*, SRC iota dan maltodekstrin dimasukkan ke dalam larutan kitosan dengan konsentrasi yang ada di Tabel 3 dengan menggunakan larutan asam asetat 1% sambil terus diaduk dengan kecepatan 300 rpm dan didiamkan selama 2 jam. Mikro kapsul dikeringkan pada oven vakum dengan suhu 40°C selama 24 jam–48 jam dan didapatkan mikroenkapsulasi *Bifidobacterium bifidum*. Diagram alir pembuatan mikroenkapsulasi *Bifidobacterium bifidum* dengan metode gel partikel oven vakum dapat dilihat pada Lampiran 14.

3.3.1.3 Analisis Respon

Pada parameter respon dalam penelitian ini yaitu, viabilitas, kadar air, aktivitas air (A_w), *yield* dan diameter dimana kelimanya diasumsikan telah terpenuhi maka ANOVA akan dinyatakan valid. Dari variabel respon tersebut akan dianalisa dengan ANOVA satu persatu. Pada perhitungan ANOVA yang digunakan dapat dipilih yang sesuai oleh saran program yang memiliki nilai tertinggi dan menghasilkan nilai signifikan pada ANOVA. ANOVA yang terdapat pada *design* ini adalah Kuadratik, *Linier*, *Cubic*, spesial *cubic*, dan 2FI. *Program design*

expert akan memberikan signifikan pada ANOVA dan tidak signifikan pada *lack of fit* yang dipilih untuk menganalisis variabel. Program *design expert* juga dapat memberikan dapat menampilkan dengan *countour-plot* dengan bentuk dua dimensi dan tiga dimensi (Kumari *et al.*,2008).

3.3.1.4 Optimasi

Tahapan optimasi ini ditentukan oleh persamaan matematika dari masing-masing respon yaitu, viabilitas, kadar air, Aktivitas air (A_w), *yield* dan diameter untuk digunakan dalam menentukan kriteria *desirability* atau selang kepercayaan dalam *Design Expert 11*. Kriteria *desirability* atau selang kepercayaan telah dilakukan maka tahap selanjutnya akan dilakukan optimasi sesuai dengan data respon dan data variabel yang telah ditentukan.

3.3.2 Analisa Parameter Uji

Pada penelitian ini terdapat beberapa pengujian yang dilakukan diantaranya yaitu adanya pengujian viabilitas dan *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) pada penelitian pendahuluan dan pada penelitian utama dilakukan pengujian viabilitas, pengujian diameter, pengujian kadar air, *yield* dan pengujian aktivitas air.

3.3.2.1 Viabilitas Probiotik *Bifidobacterium bifidum* (Belmont *et al.*, 2015)

Pengujian viabilitas dilakukan di laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Uji viabilitas sel dilakukan beberapa proses dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan MRS agar sebagai media dengan beberapa pengenceran dan metode tuang. Pengujian viabilitas dilakukan dengan tujuan untuk menghitung banyaknya

sel atau bakteri yang masih hidup, menentukan mikroba yang tumbuh serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba. Pada pengujian ini akan menggunakan mikrokapsul yang telah kering. Pada pengujian viabilitas pertama-tama dilakukan pengambilan mikrokapsul sebanyak 1 g, mikrokapsul tersebut dimasukkan kedalam 10 mL larutan Na-fis. Larutan tersebut selanjutnya dihomogenkan dengan menggunakan *vortex mixer* selama 10 menit. Tahap selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sebanyak 7 kali dan dilakukan penanaman secara *duplo* pada pengenceran 10^{-4} hingga 10^{-7} dengan menggunakan metode *Pour Plate* dalam media MRS-A. Kemudian diinkubasi dalam kondisi anaerob pada suhu 37°C selama 48 jam. Selanjutnya dihitung jumlah total bakteri yang diperoleh. Setelah diinkubasi dapat dilakukan perhitungan jumlah probiotik dengan perhitungan *Total Plate Count* (TPC). Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembangbiak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Rizqiati *et al.*, 2015). Perhitungan angka lempeng total menurut SNI (2006), adalah dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N = Jumlah koloni produk (koloni/g)

$\sum C$ = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 = Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 = Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = Pengenceran pertama yang dihitung

3.3.2.2 Uji Diameter Mikroenkapsulasi (Rahmadevi *et al.*, 2013)

Diameter partikel diukur dengan menggunakan *Mikroskop Inverted Zeiss Axiovert 40 CFL*. Caranya dengan mendispersikan zat uji dalam paraffin di kaca objek kemudian di tutup dengan cover gelas dan diamati di bawah mikroskop sebanyak 1000 partikel. Partikel dikelompokkan dengan ukuran tertentu berdasarkan diameter, dan ditentukan jumlahnya. Kemudian dihitung diameter rata-rata partikel dari zat uji, serta ditentukan distribusi ukuran partikel dan frekuensi kumulatifnya.

3.3.2.3 Kadar Air (Rachmania *et al.*, dimodifikasi 2013)

Pada pengukuran kadar air mikroenkapsulasi *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin dengan *coating* kitosan menggunakan metode thermogravitasi yaitu dengan cara menguapkan air didalam bahan pangan dengan cara pemanasan, cawan porselen dikeringkan di dalam oven pada suhu 100°C selama 1 jam, lalu didinginkan di dalam desikator. Cawan porselen tersebut kemudian ditimbang. Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan dalam cawan porselen kering dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam hingga diperoleh berat konstan. Cawan berisi sampel tersebut didinginkan dalam desikator. Proses selanjutnya adalah penimbangan cawan yang berisi sampel setelah dikeringkan. Kadar air bahan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{B2 - B1}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

B = Berat sampel (g)

B1 = Berat (sampel+cawan) sebelum dikeringkan (g)

B2 = Berat (sampel+cawan) setelah dikeringkan (g)

3.3.2.4 Yield (Chavvari et al., 2010)

Yield mikrokapsul merupakan efisiensi dari penyalut dengan jumlah bakteri yang dapat mampu bertahan hidup setelah melalui proses mikroenkapsulasi. *Yield* dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

N = Jumlah sel hidup yang terlepas dari mikrokapsul setelah proses pengeringan

N_0 = Jumlah sel hidup yang ditambahkan (kepadatan awal)

3.3.2.5 Aktivitas Air (A_w) (Susanto, 2009)

Aktivitas Air adalah air bebas yang terkandung pada bahan yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri. Bahan yang baik memiliki kadar A_w dibawah 70% untuk penyimpanan. Pada prosedur pengujian aktivitas air sebagai berikut :

- Pengukuran aktivitas air dengan menggunakan alat A_w meter.
- Alat yang digunakan dikalibrasi dengan memasukkan cairan $BaCl_2 \cdot H_2O$ dan ditutup dibiarkan selama 3 menit sampai angka pada skala pembacaan menjadi 0.9.
- A_w meter dibuka dan sampel dimasukkan dan alat ditutup ditunggu hingga 3 menit, dan setelah 3 menit skala A_w dibaca dan dicatat, perhatikan skala temperatur dan faktor koreksi.
- Skala temperatur jika di atas $20^\circ C$, maka pembacaan skala A_w ditambahkan sebanyak kelebihan temperatur dikalikan faktor koreksi sebesar $0.002^\circ C$, begitu pula dengan temperatur di bawah $20^\circ C$.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan dijelaskan hasil dan pembahasan dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Pada penelitian pendahuluan dilakukan percobaan untuk menentukan batas minimum dari SRC *iota*, sedangkan pada konsentrasi batas minimum dari maltodekstrin dan kitosan didapatkan dari penelitian sebelumnya. Pada penelitian utama terdiri atas analisa masing-masing dari respon yaitu viabilitas, diameter, kadar air, aktivitas air dan *yield*. Berdasarkan pada interaksi dari beberapa formula yang telah dilakukan dengan menggunakan program *Design Expert* 11.0 optimasi kondisi formula. Hasil dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama akan dibahas sebagai berikut.

4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan

Pada hasil penelitian pendahuluan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pembuatan mikroenkapsulasi adalah konsentrasi SRC *iota*, konsentrasi maltodekstrin dan konsentrasi kitosan. Pada penelitian pendahuluan ini ditentukan batas minimum konsentrasi SRC *iota* berdasarkan hasil dari uji viabilitas. Sedangkan hasil konsentrasi maltodekstrin dan konsentrasi kitosan didapatkan dari penelitian sebelumnya yaitu 3% maltodekstrin dan 2% kitosan .

4.1.1 Penentuan Konsentrasi SRC *iota*

Pada penentuan konsentrasi SRC *iota* terbaik dari 4,5% dan 5,5% dengan menghitung uji viabilitasnya. Hasil uji viabilitas dapat dilihat pada Tabel 4.

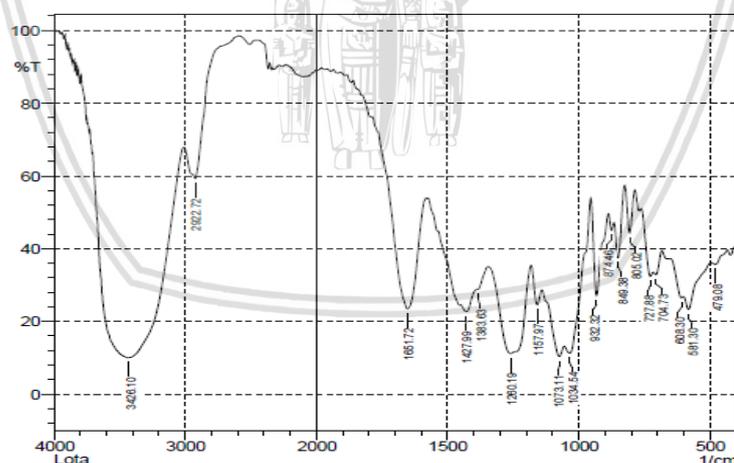
Tabel 1. Hasil Uji Viabilitas

Perlakuan	Konsentrasi SRC <i>iota</i>	Ulangan 1 (Log cfu/g)	Ulangan 2 (Log cfu/g)	Ulangan 3 (Log cfu/g)	Hasil Rata-Rata	Standar Deviasi
A1	4,5%	6,99	6,88	6,94	6,94	0,05
A2	5,5%	6,96	7	6,84	6,93	0,08

Dapat dilihat dari Tabel 4 diatas dapat diketahui bahwa perlakuan pada mikroenkapsulasi dapat memberikan nilai viabilitas yang cukup tinggi, dimana diduga sel pada mikrokapsul terlindungi dengan baik. Dari hasil diatas menunjukkan bahwa mikrokapsul dengan konsentrasi *semi refined carrageenan* iota 4,5% memiliki viabilitas yang lebih tinggi yaitu sebesar 6,94 log cfu/g, mikokapsul dengan konsentrasi 5,5% senesar 6,93 log cfu/g, sehingga ditentukannya batas minimum variabel konsentrasi *semi refined carrageenan* iota adalah 4,5%.

4.1.2 Analisa Spektrofotometer FT-IR SRC Iota, Maltodekstrin dan Kitosan

Spektra FT-IR pada *semi refined carrageenan* iota dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari *semi refined carrageenan* iota. Hasil analisa spektrofotometer dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 1. Spektra FT-IR SRC Iota

SRC iota memiliki hasil gugus fungsi ester sulfat yang muncul pada bilangan gelombang 1260.19 cm^{-1} . Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa muncul pada gelombang 932.32 cm^{-1} . Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa-4-sulfat muncul pada bilangan gelombang 849.38 cm^{-1} . Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa-2-

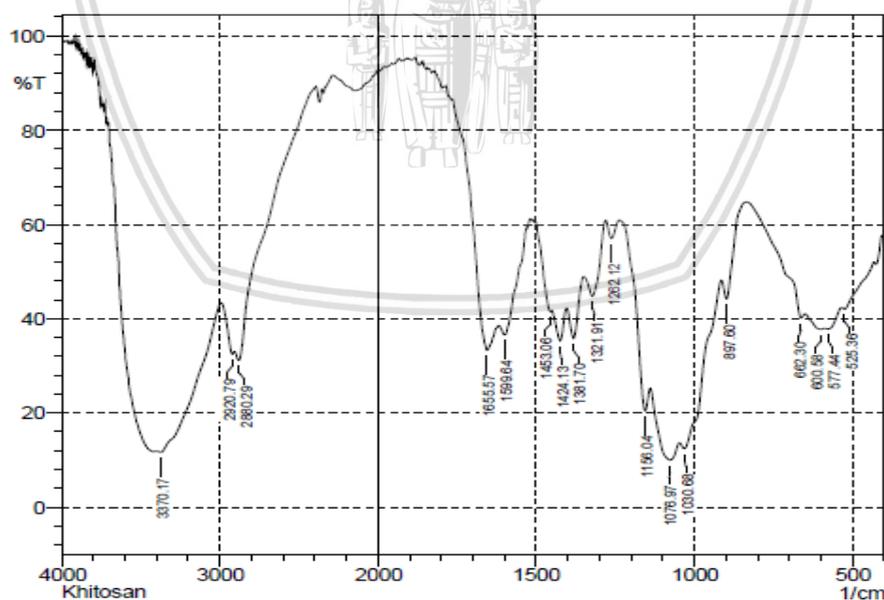
sulfat muncul pada panjang gelombang 805.02 cm^{-1} . Hasil gugus fungsional spektrum Infra merah pada SRC iota dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 2. Gugus Fungsional Spektrum Infra Merah Pada SRC Iota

Gugus Dugaan	Diharmi <i>et al.</i> , 2011 (cm^{-1})	Hasil (cm^{-1})
Alkohol O-H	3201.83	3426
3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat	806.25	805.02
3,6-anhidrogalaktosa-4-sulfat	852.54	849.38
Ikatan glikosidik	1029.99	1034
Ester sulfat S=O	1222.87	1260.19
3,6-anhidrogalaktosa	933.55	932.32

Menurut Tabel 5 hasil identifikasi dengan spektrokopi inframerah dan uraian dari bilangan gelombang maka dapat disimpulkan karagenan yang dianalisis adalah tipe iota. Hal ini didapatkan dengan adanya 3,6-anhidrogalaktosa 2-sulfat dan 4-sulfat, 3,6-anhidrogalaktosa serta adanya gugus ester sulfat.

Kitosan yang dihasilkan dari cangkang udang dikarakterisasi dengan spektroskopi infra merah. Spektrum FTIR kitosan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 2. Spektra FT-IR Kitosan

Berdasarkan hasil FTIR kitosan pada Gambar 6, muncul pada puncak 1321.91 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-N amina atau amida. Pada

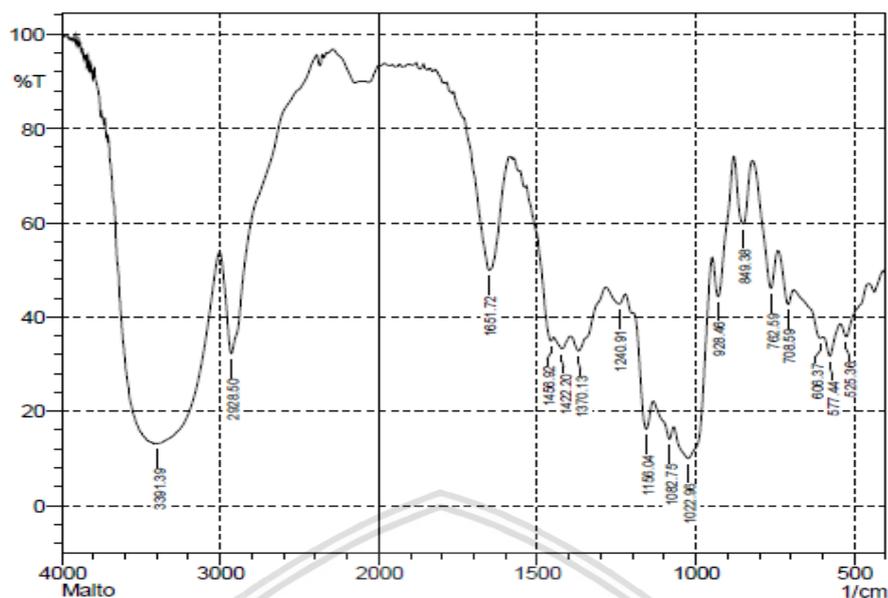
gelombang 1076 cm^{-1} sampai 1262 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C-O. Pada serapan 897.60 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H alkana tetapi dengan intensitas yang rendah atau lemah, ini menunjukkan telah terjadi proses deasetilasi yang menyebabkan hilangnya sebagian besar gugus metil, serta muncul puncak serapan 3370.17 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus O-H alkohol ikatan hidrogen. Pita serapan $-\text{CH}_3$ pada gelombang 1381.70 cm^{-1} muncul dengan intensitas lemah, hal ini menunjukkan telah terjadi proses deasetilasi yang menyebabkan hilangnya sebagian besar gugus metil. Hasil Gugus Fungsi Spektrum Infra Merah pada kitosan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 3. Gugus Fungsi Spektrum Infra Merah Pada Kitosan

Gugus Fungsi	Hasil (cm^{-1})	Setijawati <i>et al.</i> , 2017 (cm^{-1})
C-O	1262	1050-1300
C-N Amina/amida	1321	1180-1360
O-H Hidrogen	3370	3232-3263
C-H Alkana	897	675-995

Menurut Tabel 6 dari hasil identifikasi dengan spektrokopi infarmerah dan uraian dari bilangan gelombang maka dapat disimpulkan bahwa yang dianalisis adalah kitosan. Hal ini didapatkannya adanya gugus C-O, C-N amina/amida dan gugus C-H alkana serta gugus O-H alcohol ikatan hidrogen. Perhitungan Derajat Deasetilasi (DD) kitosan dapat ditentukan berdasarkan spektrum FT-IR dengan metode *base line*. Pada Kitosan yang dibuat didapatkan (DD) 81,96%. Nilai DD tersebut menunjukkan bahwa polimer tersebut adalah kitosan. Menurut Kusumaningsih *et al.*, (2004), bahwa nilai derajat deasetilasi kitosan berkisar antara 70%-100%.

Spektrum FTIR maltodekstrin dapat dilihat pada Gambar 7.



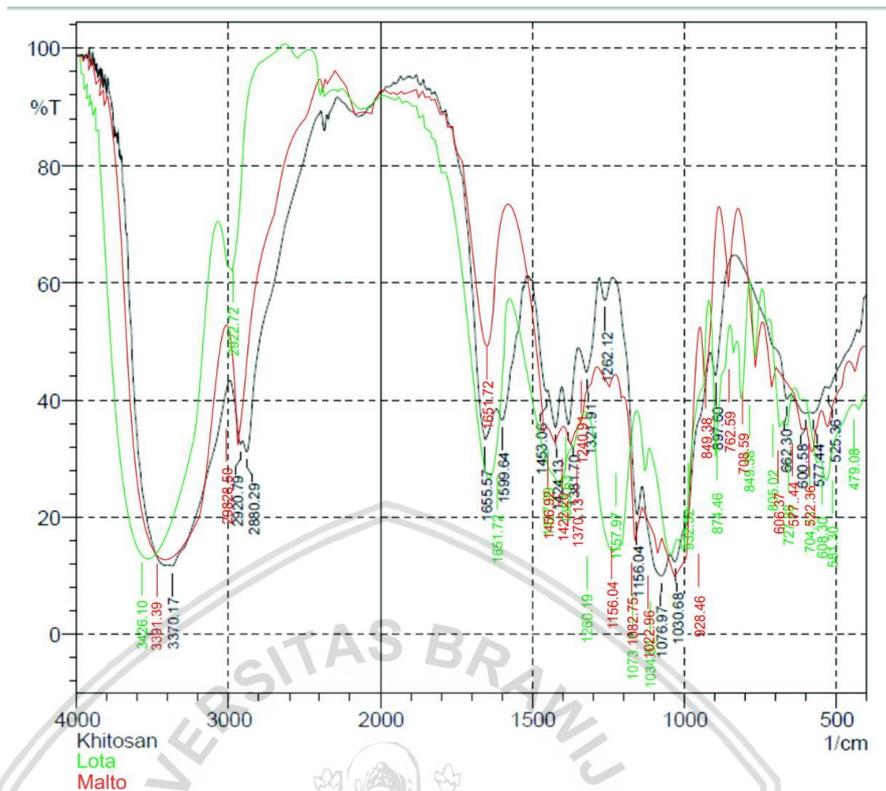
Gambar 3. Spektra FT-IR Maltodekstrin

Berdasarkan hasil FTIR maltodekstrin pada Gambar 7, menunjukkan gugus O-H pada bilangan gelombang 3391.39 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 2928.5 cm^{-1} menunjukkan gugus C-H. Pada bilangan gelombang 1651.72 cm^{-1} menunjukkan gugus C=C. Hasil Gugus Fungsi Spektrum Infra Merah pada maltodekstrin dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 4. Gugus Fungsi Spektrum Infra Merah Pada Maltodekstrin

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

Menurut Tabel 7, dari hasil identifikasi dengan spektrokopi infarmerah dan uraian dari bilangan gelombang maka dapat disimpulkan bahwa yang dianalisis adalah maltodekstrin. Hal ini didapatkannya adanya gugus O-H alkohol, C-H alkana dan gugus C=C alifatik.



Gambar 4. Spektra FT-IR Gabungan SRC iota, Maltodekstrin dan Kitosan

Gambar 8 menunjukkan bahwa *semi refined carrageenan* iota, maltodekstrin dan kitosan mampu digunakan sebagai bahan mikroenkapsulasi karena bahan tersebut memiliki gugus fungsi yang sama diantaranya yaitu gugus C-H yang dimiliki oleh *semi refined carrageenan* iota dengan panjang gelombang 2922, maltodekstrin dengan panjang gelombang 2928.5, dan kitosan pada panjang 1381.7, gugus O-H yang dimiliki oleh *semi refined carrageenan* iota dengan panjang gelombang 3426, maltodekstrin dengan panjang gelombang 3391 dan kitosan dengan panjang gelombang 3370.17 (Ula,2016). Gugus fungsi O-H (hidroksil) pada *semi refined carrageenan* iota yang terbaca di panjang gelombang 3201.83 cm^{-1} serta gugus $-\text{CH}_2$ (metilena) pada maltodekstrin di panjang gelombang 928.46 cm^{-1} membuat *semi refined carrageenan* iota dan maltodekstrin dapat menyatu dengan membentuk lapisan penyalut yang dapat berinteraksi. SRC iota yang memiliki gugus O-H (hidroksil) bereaksi dengan gugus $-\text{CH}_2$ (metilena)

dari maltodekstrin akan membentuk hidroksimetil (HOCH_2). *semi refined carrageenan* iota maltodekstrin dan kitosan dapat disatukan karena dapat memiliki gugus yang sama sehingga dapat menghasilkan mikrokapsul yang kompatibel (Mahmud,2018).

4.2 Analisa Penelitian Utama

Pada desain eksperimen menggunakan *Respon Surface Methodology Box-Behnken* dengan tujuan untuk menentukan titik optimal respon terhadap variabel bebas dengan menggunakan bantuan *software Design expert* versi 11. Sebelumnya telah ditetapkan tiga variabel bebas yaitu konsentrasi SRC iota (A) 4,5%, konsentrasi maltodekstrin (B) 3% dan konsentrasi kitosan (C) 2%. Variabel respon dalam penelitian ini adalah viabilitas, diameter, kadar air, aktivitas air dan *yield*. Berdasarkan tiga variabel bebas ditentukan nilai-nilai tiap level untuk menentukan batas minimum dan batas maksimum perlakuan pada setiap faktor atau variabel bebas terdapat pada Tabel 8.

Tabel 5. Penentuan level batas *Box-Behnken*

Komponen	Faktor	Unit	Batas Minimum	Titik tengah	Batas Maksimum
A	SRC iota	%	4,5	6,5	8,5
B	Maltodekstrin	%	3	5	7
C	Kitosan	%	2	4	6

Pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa batas minimum yang dipergunakan pada konsentrasi SRC iota adalah 4,5%, titik tengah 6,5% dan batas maksimum 8,5%. Pada konsentrasi maltodekstrin batas minimum 3%, titik tengah 5% dan batas maksimum 7%. Sedangkan pada konsentrasi kitosan batas minimum 2%, titik tengah 4% dan batas maksimum 6%.

4.2.2 Optimasi Formula Respon

Hasil dari pengaruh pembuatan mikroenkapsulasi dengan SRC iota, maltodekstrin dan kitosan sebagai *coating* berdasarkan desain eksperimen formula yang telah ditentukan oleh *Design Expert* 11 terhadap variabel respon viabilitas, diameter, kadar air, *yield* dan aktivitas air dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 6. Hasil Formulasi dan Variabel Respon

Formula	X1	X2	X3	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
1	4,5	7	4	6,38 ± 0,03	35,2 ± 0,26	7,3 ± 0,23	49,8 ± 0,18	0,27 ± 0,01
2	4,5	5	6	6,22 ± 0,14	35,38 ± 0,07	7 ± 0,20	51,11 ± 0,96	0,31 ± 0,02
3	4,5	3	4	5,98 ± 0,21	31,5 ± 0,32	6,3 ± 0,86	55,56 ± 0,07	0,4 ± 0,04
4	4,5	5	2	5,98 ± 0,33	32,03 ± 0,05	9 ± 0,19	59,12 ± 0,06	0,43 ± 0,02
5	6,5	7	6	6,28 ± 0,03	41,01 ± 0,02	9,2 ± 0,33	61,24 ± 0,09	0,33 ± 0,03
6	6,5	5	4	5,9 ± 0,23	40,48 ± 0,09	8,67 ± 0,40	56,67 ± 0,05	0,38 ± 0,04
7	6,5	3	6	6,41 ± 0,33	40,13 ± 0,03	7,3 ± 0,82	65,1 ± 0,65	0,36 ± 0,02
8	6,5	7	2	6,24 ± 0,06	40,13 ± 0,03	8,3 ± 0,43	63,7 ± 0,22	0,28 ± 0,03
9	6,5	3	2	5,95 ± 0,19	34,5 ± 0,19	7,67 ± 0,13	63,4 ± 0,10	0,25 ± 0,02
10	8,5	7	4	6,46 ± 0,41	42,06 ± 0,04	6,67 ± 0,93	66,15 ± 0,04	0,51 ± 0,01
11	8,5	5	6	6,37 ± 0,39	41,18 ± 0,07	9,3 ± 0,54	56,67 ± 0,17	0,47 ± 0,05
12	8,5	3	4	6,4 ± 0,08	38,19 ± 0,09	8,67 ± 0,25	55,26 ± 0,09	0,46 ± 0,05
13	8,5	5	2	6,27 ± 0,24	38,72 ± 0,04	9,2 ± 0,26	52,59 ± 0,09	0,39 ± 0,02

Keterangan : X1=Konsentrasi SRC iota
 X2=Konsentrasi Maltodekstrin
 X3=Konsentrasi Kitosan
 Y1=Uji Viabilitas
 Y2=Uji Diameter
 Y3=Uji Kadar Air
 Y4=Uji *Yield*
 Y5=Uji Aktivitas Air

Hasil formulasi dan variabel respon pada Tabel 9 didapatkan bahwa nilai uji viabilitas (Y1) yang terbentuk pada proses ini berkisar antara 5,9 log cfu/g-6,46

log cfu/g, diameter (Y2) antara 31,5 μm - 42,06 μm , kadar air antara 6,3%-9,3%, *yield* (Y4) antara 71,11%-86,15% dan aktivitas air (Y5) antara 0,25%-0,51%.

Nilai tertinggi viabilitas didapat 6,46 log cfu/g dengan konsentrasi SRC iota 8,5% maltodekstrin 7%, kitosan 4%. Nilai tertinggi dari diameter didapat 42,06 μm dengan konsentrasi SRC iota 8,5%, maltodekstrin 5%, kitosan 6%. Nilai tertinggi dari kadar air didapat 9,3% dengan konsentrasi SRC iota 8,5%, 5% maltodekstrin dan 6% kitosan. Nilai tertinggi *yield* didapat 66,15% dengan konsentrasi SRC iota 8,5%, maltodekstrin 5% dan kitosan 6%. Nilai tertinggi aktivitas air (*Aw*) didapat 0,51 dengan konsentrasi SRC iota 8,5% maltodekstrin 7% dan kitosan 4%.

Hasil ANOVA Lampiran 13 menunjukkan bahwa model terpilih untuk respon viabilitas dan diameter adalah model kuadratik, karena model ini memiliki nilai yang signifikan dengan nilai $p < 0,05$ yaitu viabilitas 0,0408 dan diameter 0,0010. Sementara pada kadar air, *yield* dan aktivitas air terpilih model kuadratik tetapi tidak signifikan karena $p > 0,05$ yaitu kadar air 0,0658, *yield* 0,2850 dan aktivitas air 0,2560. Hasil ANOVA juga menunjukkan bahwa masing-masing komponen yaitu konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan kitosan berpengaruh terhadap respon viabilitas dan diameter, tidak berpengaruh terhadap respon kadar air, *yield*, dan aktivitas air.

4.2.3 Analisa Respon

Hasil uji ANOVA dan model matematika analisis respon menurut (Waziroh, 2013) yang didapatkan dari mikroenkapsulasi berbahan SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan dari masing respon dapat dikatakan signifikan jika nilai *p-value* < 0.05 dan yang tidak signifikan jika nilai *p-value* > 0.05

4.2.3.1 Analisis Respon Viabilitas

Viabilitas adalah jumlah sel probiotik yang hidup dalam bahan yang menunjukkan ukuran konsentrasi sel. Ada beberapa cara metode pengujian viabilitas pada sel bakteri salah satunya dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Viabilitas pada sel bakteri probiotik yang bertahan diartikan bahwa probiotik tahan dalam kondisi lingkungan probiotik tersebut (Yulinery *et al.*, 2006). Analisis RSM untuk optimasi pembuatan mikroenkapsulasi terhadap respon viabilitas dapat dilihat pada Tabel 10.

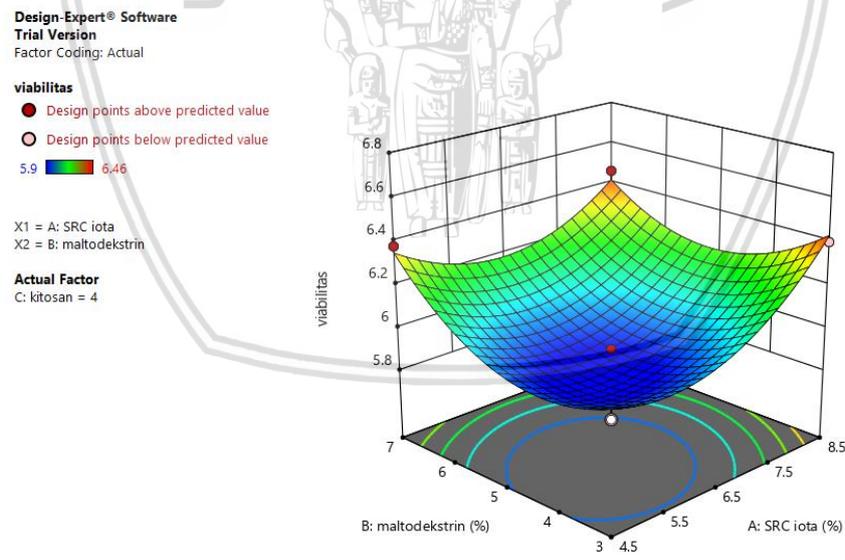
Tabel 7 . Analisis Respon Viabilitas

Respon	Model	Persamaan Linier	Significant <i>P</i> <0,05
Viabilitas	Kuadratik	$Y = 5,90 + 0,0175A + 0,0775B - 0,1050C + 0,0850AB - 0,0350AC - 0,1050BC - 0,1975A^2 + 0,0075B^2 + 0,0125C^2$	0.0408
Keterangan = A : SRC iota B : Maltodekstrin C : Kitosan			

Pada analisis respon viabilitas diatas menunjukkan model kuadratik dengan nilai *p-value* <0,05 yang artinya respon viabilitas termasuk signifikan atau formula mikroenkapsulasi dengan konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan mempengaruhi viabilitas. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon viabilitas akan meningkat dengan peningkatan konsentrasi antara interaksi SRC iota dan maltodekstrin, hal ini dengan ditunjukkannya nilai konstanta positif tertinggi. Pada respon viabilitas akan meningkat karena adanya interaksi antara SRC iota dengan maltodekstrin karena SRC iota memiliki gugus OH (hidroksil) yang akan menyatu dengan gugus CH₂ (metilena) yang dimiliki maltodekstrin akan menghasilkan penyalut yang kompatibel sehingga dapat membentuk mikrokapsul yang tidak mudah mengalami keretakan. Mikrokapsul yang tidak mudah

mengalami keretakan akan dapat meningkatkan viabilitas *Bifidobacterium bifidum* (Mahmud, 2018).

Data respon viabilitas menunjukkan menyebar normal karena nilai aktual dan nilai prediksi mendekati garis normal pada grafik kenormalan residual respon viabilitas yang dapat dilihat pada Lampiran 7. Grafik *contour plot* respon viabilitas yang dapat dilihat pada Lampiran 8, menunjukkan bagaimana kombinasi antar komponen saling mempengaruhi respon viabilitas. Warna-warna yang berbeda pada grafik *contour plot* menunjukkan nilai respon viabilitas terendah dengan warna biru, yaitu 5,9. Warna merah menunjukkan respon viabilitas tertinggi, yaitu 6,46. Garis-garis yang terdiri dari titik-titik pada grafik *contour plot* menunjukkan kombinasi dari ketiga komponen dengan jumlah berbeda yang menghasilkan respon viabilitas yang sama. Bentuk permukaan dari hubungan interaksi ini dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 5. Grafik Tiga Dimensi Hasil Uji Viabilitas

Berdasarkan Gambar 9 menunjukkan bahwa grafik tersebut membentuk cekungan yang diketahui bahwa kondisi tersebut adalah optimum dan minimum.



Nilai uji viabilitas tertinggi yaitu 6,46 log cfu/g pada konsentrasi SRC iota 8,5%, maltodekstrin 7% dan kitosan 4%, sedangkan nilai viabilitas terendah yaitu 5,9 log cfu/g pada konsentrasi SRC iota 6,5%, maltodekstrin 5% dan kitosan 4%. Hal ini dapat menunjukkan viabilitas *B. bifidum* mengalami peningkatan. Pada keberhasilan dari proses mikroenkapsulasi itu bergantung kepada pemilihan bahan penyalut yang digunakan (Setijawati *et al.*, 2011).

Pada nilai viabilitas penelitian ini telah mencapai standar nilai viabilitas yang ditetapkan untuk diaplikasikan pada pangan. Standar untuk semua makanan kesehatan yang mengandung probiotik harus mengandung kurang lebih 10^6 - 10^7 cfu/g (Firdaus *et al.*, 2014). Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa dengan penambahan matodekstrin dan kitosan sebagai *coating* ini mampu melindungi viabilitas sel *B. bifidum* dapat terlihat dari hasil penelitian.

4.2.3.2 Analisis Respon Diameter

Pada keuntungan mikroenkapsulasi adalah mikroenkapsulasi terdiri atas membran yang semipermeabel, bulat (melingkar), tipis, dan kuat sehingga sel bakteri dapat tertahan dengan mikroenkapsulasi. Jika dibandingkan dengan penjerapan matriks, dan diameter yang kecil membantu menurunkan keterbatasan perpindahan massa sel (Kailasapathy, 2002). Analisis RSM untuk optimasi proses pembuatan mikroenkapsulasi terhadap respon diameter dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 8. Analisis Respon Diameter

Respon	Model	Persamaan Linier	Significant <i>P</i> <0,05
Diameter	Kuadrat	$Y = 38,19 - 3,87A + 1,10B + 0,8362C - 0,7075AB - 0,3550AC + 1,67BC - 1,19A^2 + 0,4850B^2 - 0,0425C^2$	0,0010

Keterangan : = A: SRC iota
 B: Maltodekstrin
 C: Kitosan

Pada analisis respon diameter diatas menunjukkan model kuadratik dengan nilai $p\text{-value} < 0,05$ yang artinya respon diameter termasuk signifikan atau formula mikroenkapsulasi dengan konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan mempengaruhi diameter. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon diameter akan meningkat dengan peningkatan interaksi antara maltodekstrin dan kitosan, yang menunjukkan nilai konstanta positif tertinggi. Peningkatan interaksi antara maltodekstrin dan kitosan disebabkan adanya gugus OH (hidroksil) pada maltodekstrin yang dapat menyatu dengan kitosan yang mengandung gugus amin sehingga akan meningkatkan pemadatan struktur mikrokapsul serta mengurangi keretakan mikrokapsul (Wang *et al.*, 2011).

Data respon diameter menunjukkan bahwa menyebar normal dikarenakan nilai aktual dan nilai prediksi mendekati garis normal pada grafik normal plot respon diameter yang dapat dilihat pada Lampiran 7. Grafik *contour plot* respon diameter yang dapat dilihat pada Lampiran 8, menunjukkan kombinasi antar komponen saling mempengaruhi diameter. Warna-warna yang berbeda pada grafik *contour plot* menunjukkan nilai diameter terendah, yaitu $31,5\mu\text{m}$. Warna merah menunjukkan respon diameter yang tertinggi, yaitu $42,06\mu\text{m}$. Garis-garis yang terdiri atas titik-titik pada grafik *contour plot* menunjukkan kombinasi antara ketiga komponen dengan jumlah berbeda akan menghasilkan respon diameter yang sama. Bentuk permukaan dari hubungan interaksi ini dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 10.

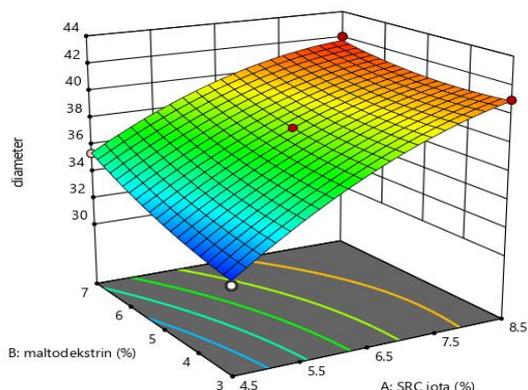
Design-Expert® Software
Trial Version
Factor Coding: Actual

diameter

- Design points above predicted value
 - Design points below predicted value
- 31.5  42.06

X1 = A: SRC iota
X2 = B: maltodekstrin

Actual Factor
C: kitosan = 4



Gambar 6. Grafik Tiga Dimensi Hasil Uji Diameter

Berdasarkan Gambar 10 nilai diameter minimum adalah $31,5\mu\text{m}$ dengan konsentrasi 4,5% SRC iota, 3% maltodekstrin, dan 4% kitosan. Nilai optimum diameter adalah $42,06\mu\text{m}$ dengan konsentrasi 8,5% SRC iota, 7% maltodekstrin dan 4% kitosan. Hal ini menunjukkan bahwa dengan semakin bertambahnya konsentrasi penyalut maka akan semakin tebal pula diameter enkapsulasinya. Ukuran diameter mikroenkapsulasi ini masih berada kisaran ukuran partikel yang dapat dikatakan sebagai mikroenkapsulasi, karena ukuran partikel bisa dikatakan mikro apabila memiliki ukuran partikel sebesar $1,0\text{-}5000\ \mu\text{m}$ (Susanto, 2009). Hasil perbedaan ukuran diameter diatas disebabkan karena meningkatnya jumlah konsentrasi kitosan yang digunakan, ukuran jarum yang digunakan, jarak antara jarum dengan larutan pengeras, jumlah sel probiotik yang terjerap pada mikroenkapsulasi dan dapat disebabkan oleh nilai viskositasnya (Pradikaningrum, 2015).

4.2.3.3 Analisis Respon Kadar Air

Kadar air adalah persentase kandungan air suatu bahan yang dapat dinyatakan berdasarkan berat basah atau berdasarkan berat kering . Analisis RSM

untuk optimasi kondisi pembuatan mikroenkapsulasi terhadap respon kadar air dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 9. Analisis Respon Kadar Air

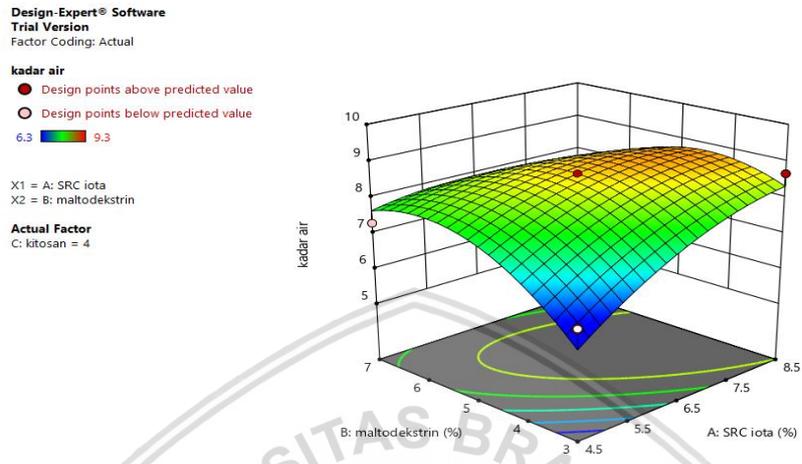
Respon	Model	Persamaan Linier	Significant P<0,05
Kadar Air	Kuadratik	$Y = 8,67 + 0,5300A + 0,1912B - 0,1713C + 0,7500AB - 0,5250AC + 0,3175BC - 0,4637A^2 - 0,9712B^2 + 0,4187C^2$	0,0658

Keterangan = A: SRC iota
B: Maltodekstrin
C: Kitosan

Pada analisis respon kadar air diatas menunjukkan model kuadratik dengan nilai *p-value* >0,05 yang artinya respon kadar air termasuk tidak signifikan atau formula mikroenkapsulasi dengan konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan tidak mempengaruhi respon kadar air. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon kadar air akan meningkat dengan peningkatan interaksi antara SRC iota dan maltodekstrin dengan ditunjukkan nilai konstanta positif tertinggi, pada maltodekstrin banyak mengandung ion H⁺ yang dapat mengikat OH⁻ didalam SRC iota. Maltodekstrin dan SRC iota memiliki sifat hidrofilik yang menyebabkan kandungan air pada mikrokapsulnya tinggi, karena dapat mengikat air dalam jumlah besar (Sumanti *et al.*, 2016).

Data respon kadar air menunjukkan bahwa menyebar normal dikarenakan nilai aktual dan nilai prediksi mendekati garis normal pada grafik Normal Plot respon kadar air yang dapat dilihat pada Lampiran 7. Grafik *contour plot* respon kadar air yang dapat dilihat pada Lampiran 8, menunjukkan kombinasi antar komponen saling mempengaruhi kadar air. Warna-warna yang berbeda pada grafik *contour plot* menunjukkan nilai kadar air terendah, yaitu 6,3. Warna merah menunjukkan respon kadar air yang tertinggi, yaitu 9,3. Garis-garis yang terdiri atas titik-titik pada grafik *contour plot* menunjukkan kombinasi antara ketiga

komponen dengan jumlah berbeda akan menghasilkan respon kadar air yang sama. Bentuk permukaan dari hubungan interaksi ini dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 7. Grafik Tiga Dimensi Hasil Uji Kadar Air

Berdasarkan Gambar 11 nilai kadar air minimum adalah 6,3 dengan konsentrasi 4,5% SRC Iota, 3% maltodekstrin, dan 4% kitosan. Nilai optimum kadar air adalah 9,3% dengan konsentrasi SRC Iota 8,5%, maltodekstrin 5% dan kitosan 6%. Menurut Rajam dan Anandharamakrishnan, (2015) menyatakan bahwa kadar air mikro kapsul yang dihasilkan berkisar antara 5,52 – 9,47 g/100g. Apabila kadar air semakin rendah maka akan dapat menyebabkan terbentuknya rongga pada dinding mikro kapsul sehingga dapat menurunkan laju viabilitas (Tripathi dan Giri, 2015).

4.2.3.1 Analisis Respon Yield

Analisis RSM untuk optimasi kondisi proses pembuatan mikroenkapsulasi terhadap respon *yield* dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 10. Analisis Respon Yield



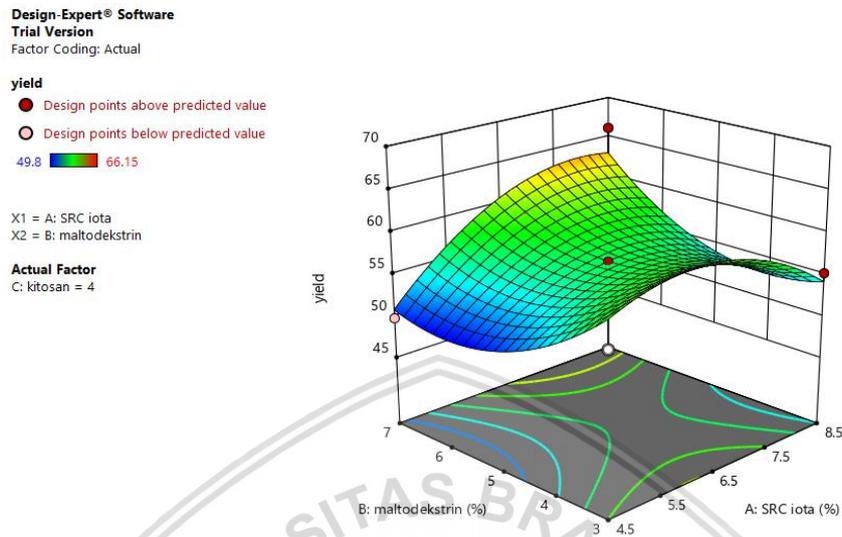
Respon	Model	Persamaan Linier	Significant $p < 0,05$
Yield	Kuadratik	$Y = 756,67 + 1,88A + 0,1962B - 0,5863C + 4,16AB + 3,02AC - 1,04BC - 4,23A^2 - 4,26B^2 + 2,43C^2$	0.2850

Keterangan = A: SRC iota
B: Maltodekstrin
C: Kitosan

Pada analisis respon *yield* diatas menunjukkan model kuadratik dengan nilai $p\text{-value} > 0,05$ yang artinya respon *yield* termasuk tidak signifikan atau formula mikroenkapsulasi dengan konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan tidak mempengaruhi *yield*. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon *yield* akan meningkat dengan peningkatan interaksi antara SRC iota dengan maltodekstrin yang ditandai dengan konstanta positif tertinggi. Nilai *yield* yang tinggi disebabkan adanya interaksi antara SRC iota dan maltodekstrin dimana pada gugus OH (hidroksil) pada SRC iota akan menyatu dengan gugus CH₂ (metilena) pada maltodekstrin sehingga akan menjadi penyalut yang kompatibel, dengan adanya interaksi tersebut menyebabkan mikrokapsul semakin rapat dan tidak akan terjadi keretakan, sehingga mikrokapsul dapat melindungi bakteri probiotik dengan baik (Mahmud, 2018).

Data respon *yield* menunjukkan menyebar normal karena nilai aktual dan nilai prediksi mendekati garis normal pada grafik kenormalan residual respon *yield* yang dapat dilihat pada Lampiran 7. Grafik *contour plot* respon *yield* yang dapat dilihat pada Lampiran 8, menunjukkan kombinasi antar komponen saling mempengaruhi *yield*. Warna-warna yang berbeda pada grafik *contour plot* menunjukkan nilai *yield* terendah, yaitu 49,8 log cfu/g. Warna merah menunjukkan respon *yield* yang tertinggi, yaitu 6,15 log cfu/g. Garis-garis yang terdiri atas titik-titik pada grafik *contour plot* menunjukkan kombinasi antara ketiga komponen dengan jumlah berbeda akan menghasilkan respon *yield* yang sama. Bentuk

permuakaan dari hubungan interaksi ini dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 8. Grafik Tiga Dimensi Hasil Uji Yield

Berdasarkan Gambar 12 menunjukkan bahwa nilai *yield* tertinggi pada konsentrasi SRC Iota 8,5%, maltodekstrin 7% dan kitosan 4% yaitu 66,15 log cfu/g. Nilai terendah pada konsentrasi SRC Iota 4,5%, maltodekstrin 7% dan kitosan 4% yaitu 49,8 log cfu/g. *Yield* enkapsulasi dikatakan berhasil apabila lebih dari 40% sesuai dengan (Chavarri *et al.*, 2010) bahwa uji *yield B. bifidum* sebesar 40,2%. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu bertahan hidup setelah mengalami proses mikroenkapsulasi dan pengeringan. Semakin tinggi presentase dari *yield* maka akan semakin baik karena bakteri yang bertahan hidup semakin banyak.

4.2.3.5 Respon Aktivitas Air (Aw)

Aktivitas air atau *water activity* (*aw*) sering disebut juga air bebas, karena mampu membantu aktivitas pertumbuhan mikroba dan aktivitas reaksi-reaksi kimiawi pada bahan pangan. Bahan pangan yang mempunyai kandungan atau

nilai aw tinggi pada umumnya cepat mengalami kerusakan, baik akibat pertumbuhan mikroba maupun akibat reaksi kimia tertentu seperti oksidasi dan reaksi enzimatis. Aktivitas air pada bahan pangan pada umumnya sangat mudah untuk dibekukan maupun diuapkan (Legowo dan Nurmanto, 2004). Analisis RSM untuk optimasi kondisi proses pembuatan mikroenkapsulasi terhadap respon aktivitas air dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 11. Analisis Respon Aktivitas Air

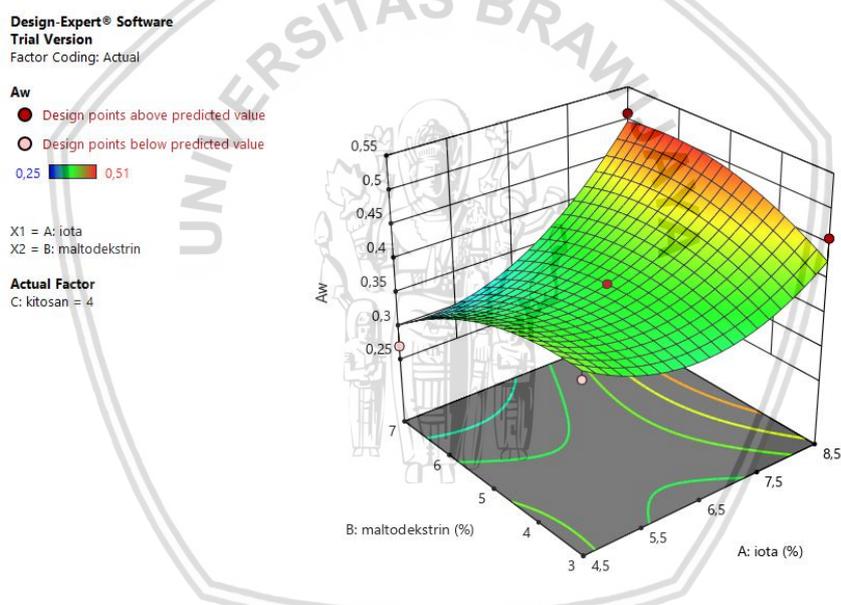
Respon	Model	Persamaan Linier	Significant $p < 0,05$
Aktivitas Air	Kuadratik	$Y = 0,3800 - 0,0525A + 0,0100B + 0,0150C + 0,0450AB - 0,0500AC + 0,0150BC - 0,0625A^2 - 0,0325B^2 - 0,0425C^2$	0.2560

Keterangan = A: SRC iota
B: Maltodekstrin
C: Kitosan

Pada analisis respon aktivitas air diatas menunjukkan model kuadratik dengan nilai $p\text{-value} > 0,05$ yang artinya respon aktivitas air termasuk tidak signifikan atau formula mikroenkapsulasi dengan konsentrasi SRC iota, maltodekstrin dan *coating* kitosan tidak mempengaruhi aktivitas air. Persamaan tersebut menunjukkan bahwa respon aktivitas air akan meningkat dengan peningkatan SRC iota dengan ditunjukkan nilai konstanta positif tertinggi, pada maltodekstrin banyak mengandung ion H^+ yang dapat mengikat OH^- didalam SRC iota. Maltodekstrin dan SRC iota memiliki sifat hidrofilik yang menyebabkan kandungan air pada mikrokapsulnya tinggi, karena dapat mengikat air dalam jumlah besar. Aktivitas air berbanding lurus dengan kadar air (Sumanti et al., 2016). Semakin tinggi kadar air maka akan semakin tinggi aktivitas air (legowo et al., 2005).

Data respon aktivitas air menunjukkan menyebar normal karena nilai aktual dan nilai prediksi mendekati garis normal pada grafik kenormalan residual respon

aktivitas air yang dapat dilihat pada Lampiran 7 Grafik *contour plot* respon aktivitas air yang dapat dilihat pada Lampiran 8, menunjukkan kombinasi antar komponen saling mempengaruhi aktivitas air. Warna-warna yang berbeda pada grafik *contour plot* menunjukkan nilai aktivitas air terendah, yaitu 0,25. Warna merah menunjukkan respon aktivitas air yang tertinggi, yaitu 0,51. Garis-garis yang terdiri atas titik-titik pada grafik *contour plot* menunjukkan kombinasi antara ketiga komponen dengan jumlah berbeda akan menghasilkan respon aktivitas air yang sama. Bentuk permukaan dari hubungan interaksi ini dapat dilihat lebih jelas pada grafik tiga dimensi yang ditunjukkan pada Gambar 13.



Gambar 9. Grafik Tiga Dimensi Hasil Uji Aktivitas Air

Berdasarkan Gambar 13 nilai aktivitas air tertinggi pada konsentrasi SRC iota 8,5%, maltodekstrin 7% dan kitosan 4% yaitu 5,1. Nilai terendah pada konsentrasi SRC iota 6,5%, maltodekstrin 3% dan kitosan 2% yaitu 0,25. Semakin rendahnya konsentrasi bahan inti maka akan semakin rendah nilai aktivitas air yang dihasilkan oleh suatu produk, begitu pula dengan sebaliknya. Produk dengan

bahan inti yang memiliki tinggi air maka akan lebih susah diuapkan selama proses pengeringan. Sebagai akibatnya kadar air produk dan nilai aw menjadi lebih tinggi (Supriyadi & Rujita, 2013).

Aktivitas air (Aw) untuk mikrokapsul diperoleh diatas adalah dalam kisaran normal untuk produk mikrokapsul dan juga dengan dalam batas yang direkomendasikan untuk memastikan stabilitas mikrobiologi (Favaro-Trindade *et al.*, 2010). Aktivitas air yang dihasilkan dari proses mikroenkapsulasi berpenyalut maltodekstrin berkisar antara 0,2-0,7 (Kurozawa *et al.*, 2009). Secara umum, mikroorganismenya bertahan terbaik dengan aktivitas air rendah. Namun, kelebihan pengeringan dapat mengurangi stabilitas dan kelangsungan hidup mikroorganismenya (Li *et al.*, 2011).

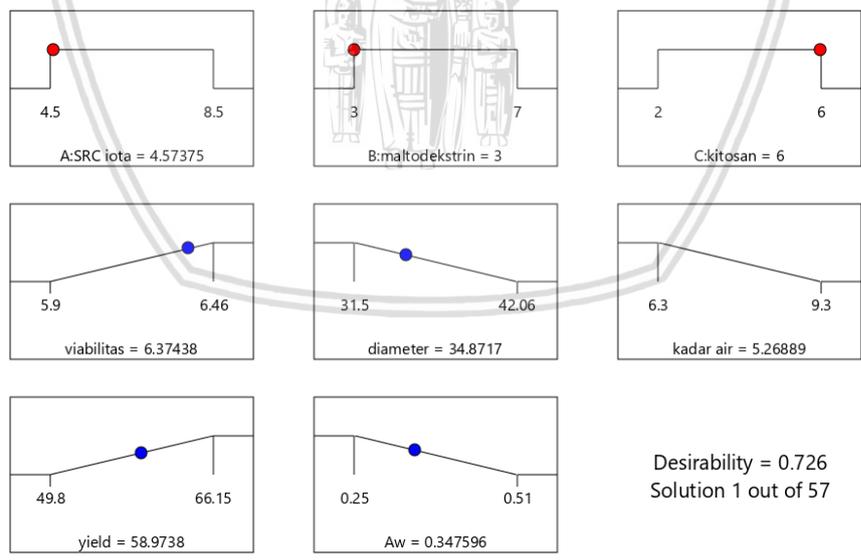
4.2.4 Optimasi Kondisi Proses Pembuatan Mikroenkapsulasi

Optimasi dilakukan setelah didapatkan model matematika untuk masing-masing respon. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan respon yang diinginkan. Tujuan dari optimasi untuk meminimumkan usaha atau biaya operasional dan memaksimalkan hasil yang diinginkan. Program *Design Expert 11* akan memberikan solusi yang sesuai dengan apa yang diinginkan berdasarkan model matematika yang telah diketahui dari masing-masing respon. Kriteria yang diinginkan dapat dilihat dari Tabel 15.

Tabel 12. Kriteria Optimasi Respon

Komponen Respon	Target	Batas Bawah	Batas atas
A: Iota	<i>In range</i>	4,5	8,5
B: Maltodekstrin	<i>In range</i>	3	7
C: Kitosan	<i>In range</i>	2	6
Viabilitas	Maksimal	5,9	6,46
Diameter	Minimal	31,5	42,06
Kadar air	Minimal	6,3	9,3
<i>Yield</i>	Maksimal	49,8	66,15
Aktivitas air	Minimal	0,2	0,51

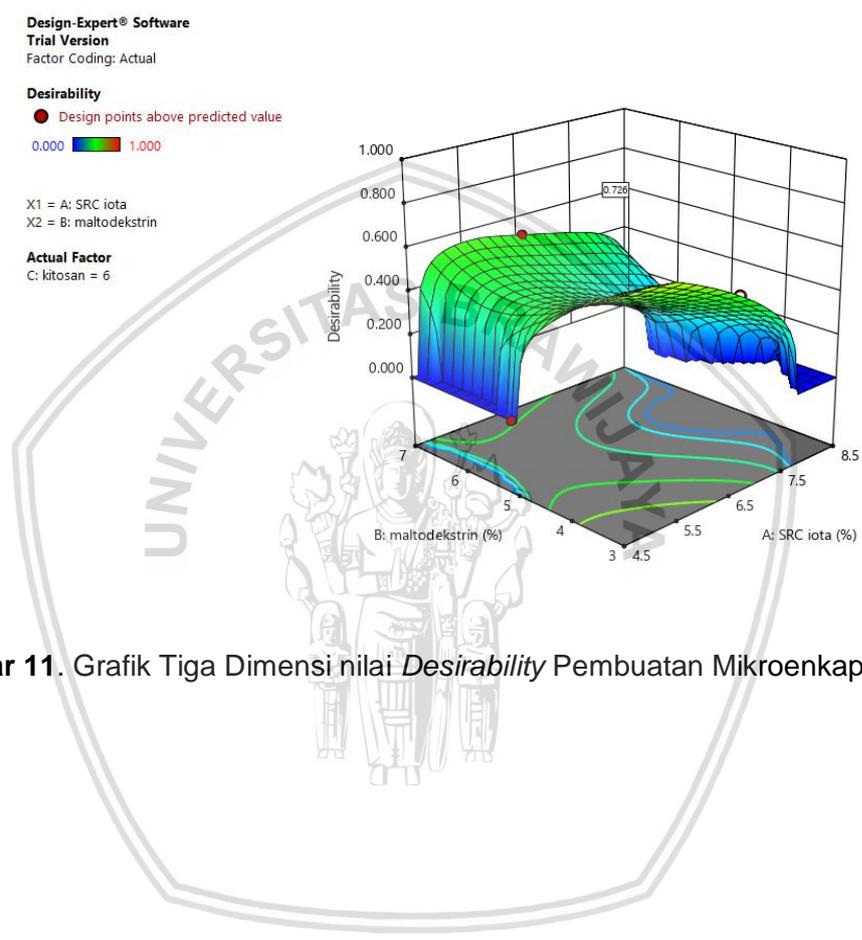
Kriteria pada pembobotan respon viabilitas diberikan nilai pembobotan yang maksimal karena semakin tinggi nilai viabilitasnya maka mikrokapsul akan semakin baik untuk melindungi bakteri probiotik. Diameter diberikan nilai pembobotan minimal karena semakin kecil diameternya maka akan semakin rapat kepadatan pada mikrokapsul tersebut sehingga mengurangi keretakan mikrokapsul. Kadar air diberikan nilai pembobotan nilai minimal karena semakin tinggi kadar airnya maka akan semakin lama pengeringan yang akan menyebabkan kematian pada bakteri. *Yield* diberikan nilai yang maksimal karena semakin tinggi nilai *yield* maka semakin banyak bakteri yang terperangkap dalam mikrokapsul. Aktivitas air diberikan nilai pembobotan minimal karena jika aktivitas air tinggi maka kadar air juga tinggi dan mengakibatkan proses pengeringan lama dan bakteri yang berada dalam mikrokapsul akan semakin banyak yang mati. Penentuan tahap optimasi yang dimunculkan oleh program *Design Expert* 11 pada gambar 14.



Gambar 10. Optimasi Formula Mikroenkapsulasi

Dari kriteria tersebut program *Design Expert* 11 memberikan 1 solusi dari 57 solusi yang paling mendekati target tersebut yaitu dengan konsentrasi SRC Iota

4,57%, maltodekstrin 3 % dan kitosan 6% akan menghasilkan nilai viabilitas 6,37 log cfu/g, diameter 34,87 μ m, kadar air 5,27%, *yield* 58,97 % dan aktivitas air 0,35 yang menghasilkan nilai desirability atau selang kepercayaan 0,726 atau 70%. Grafik tiga dimensi nilai *Desirability* Optimasi pembuatan Mikroenkapsulasi dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 11. Grafik Tiga Dimensi nilai *Desirability* Pembuatan Mikroenkapsulasi

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan bahwa formula optimum yang disarankan oleh program *Design Expert* 11 adalah SRC iota 4,57%, maltodekstrin 3 % dan kitosan 6% akan menghasilkan nilai viabilitas 6,37 log cfu/g, diameter 34,87 μ m, kadar air 5,27%, *yield* 58,97 % dan aktivitas air 0,35 yang menghasilkan nilai *desirability* atau selang kepercayaan 0,726 dan dapat memberikan pengaruh terhadap viabilitas *Bifidobacterium bifidum*.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lanjutan menggunakan bahan penyalut dan menggunakan metode yang sama, dengan konsentrasi *semi refined carrageenan* iota, maltodekstrin dan kitosan yang semakin besar, sehingga dapat menghasilkan formula yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, Anes, Aprillia Intan Saputri, H. 2017. Optimasi Pembuatan Karagenan dari Rumput Laut Aplikasinya untuk Perenyah Biskuit. *Inovasi Teknik Kimia*, **2**(2):42-47
- Agustina, Sry; Swantara, I Made Diria; Suartha, I. N. 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, **9**, 271–278.
- Alam, A. A. 2011. Kualitas Karaginan Rumput Laut Jenis *Euclima spinosum* di Perairan Desa Punaga Kabupaten Takalar. Universitas Hasanuddin.
- Astuti, S. M. 2008. Teknik Pengeringan Bawang Merah dengan Cara Perlakuan Suhu dan Tekanan Vakum, **13**(2), 79–82.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006a. [SNI] Standar Nasional Indonesia. Cara Uji Mikrobiologi Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan. (SNI 01-2332.3-2006), Jakarta.
- Baldwin, E.A., R.D. Hagenmaier and J. Bai. 2012. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality: Second Edition. CRC Press, New York
- Belmont, Isela A. Flores, Enrique Palou, Aurelio Lopez-Malo, and M. T. J.-M., & Ia. 2015. Simple and double microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with chitosan using spray drying. *International Journal of Food Studies*, **4**(9), 188–200.
- Bixler H.J, Porse H. 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology*. **23**: 321-335.
- Bijanti, R., Retno S.W, & Gandul A.Y. 2009. Suplementasi probiotik pada pakan ayam komersial terhadap produk metabolik dalam darah ayam. *Jurnal Penelitian*, **8**(3), 178–184.
- Borza, A. D., Annan, N. T., Moreau, D. L., Allan-Wojtas, P. M., Ghanem, A., Rousseau, D., Hansen, L. T. 2010. Microencapsulation in genipin cross-linked gelatine-maltodextrin improves survival of *Bifidobacterium adolescentis* during exposure to in vitro gastrointestinal conditions. *Journal of Microencapsulation*, **27**(5), 387–399.
- Chavarri, M., Maranon, I., Ares, R., Ibanez, F. C., Marzo, F., & Villarán, M. del C. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, **142**(1–2), 185–189.
- Diharmi, A., D. Fardiaz, N. Andarwulan, dan E. S. Herawati. 2011. Karakteristik Karagenan Hasil Isolasi *Euclima spinosum* (Alga Merah) dari Perairan Semenep Madura. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **16**(1): 117-124.

- Distantina, Sperisa, F., , Rochmadi Fahrurrozi, M., & Wiratni. 2010. Proses Ekstraksi Karagenan Dari *Eucheuma cottonii*. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, 4–5.
- Dompeipen, E. J., Kaimudin, M., & Dewa, R. P. 2016. Isolasi kitin dan kitosan dari limbah kulit udang. *Majalah BIAM*, **12**(1), 32–38.
- Ega, L., Cynthia G.C.L, & Firat M. 2016. Kajian Mutu Karaginan Rumput Laut *Eucheuma cottonii* Berdasarkan Sifat Fisiko-Kimia pada Tingkat Konsentrasi Kalium Hidroksida (KOH) yang Berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, **5**(2), 39.
- Farnani, Y. H., Cokrowati, N., & Farida, N. 2013. Pengaruh Kedalaman Tanam terhadap Pertumbuhan *Eucheuma spinosum* pada Budidaya dengan Metode Rawai. *Kelautan*, **6**(1), 75–86.
- Fasikhatun, T. 2010. Pengaruh Konsentrasi Maltodekstrin Dan Gum Arab Terhadap Karakteristik Mikroenkapsulat Minyak Sawit Merah Dengan Metode Spray Drying. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Favaro-Trindade, C. S., Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., & Netto, F. M. 2010. The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, **24**(4), 336–340.
- Firdaus, M., D. Setijawati, & Kartikaningsih. 2014. The Effect of *Lactobacillus acidophilus* Microcapsule Which Encapsulated by Kappa Caragenan Toward In Vivo Functional Test. *Journal Of Life Science*. **01**(01) : 27–36.
- Fitriani, I., Kusharyati, D., & Hendrati, P. M. 2017. Pengaruh Lama Inkubasi Soyghurt Menggunakan Inokulan dengan Penambahan *Bifidobacterium* sp. terhadap Daya Hambat *Bacillus cereus*. *Biosfera*, **33**(1), 5.
- Gaserod, O., Smidsrod, O., & Skjak-Braek, G. 1998. Microcapsules of Alginate-Chitosan I A Quantitative Study of the Interaction Between Alginate and Chitosan. *Biomaterials*, **19**, 1815-1825
- Gbassi, G.K. and Vandamme, T., 2012. Probiotic encapsulation Technology: from microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, **4**: 149-163
- Garrity, G. M., Bell, J. a, Lilburn, T. G., & Lansing, E. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, **2**(5), 1–399.
- Habililah, M.F. 2009. Pengaruh Variasi Konsentrasi Perbandingan Starter Bakteri (*Lactobacillus acidophilus*) dan (*Bifidobacterium bifidum*) Terhadap Kualitas Yoghurt Susu Kambing. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, Halaman 1-95
- Hanafi, M., Syahrul A., Efrina D., dan B. Suwandi. 2000. Pemanfaatan Kulit Udang untuk Pembuatan Kitosan dan Glukosamin. **10**(2): 17-21
- Hizatulloh, M. S. 2017. Pengaruh Formulasi Tepung Beras dan Tepung Mocaf Dengan Penambahan Maltodekstrin Terhadap Penilaian Organoleptik dan

Kandungan Gizi Keripik Bayam (*Amaranthus spp*).Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Masyarakat, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

- Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Barin, J. S., Moraes Flores, É. M., Muller, E. I., Codevilla, C. F., de Menezes, C. R. 2017. Production of microcapsules containing *Bifidobacterium BB-12* by emulsification/internal gelation. *LWT - Food Science and Technology*, **76**, 216–221.
- Husniati. 2009. Studi Karakterisasi Sifat Fungsi Maltodekstrin dari Pati Singkong. *Jurnal Riset Industri*. **3**(2): 133-138
- Irianto, H. E. dan Ijah. M. 2011. Proses dan aplikasi nanopartikel kitosan sebagai penghantar obat. *Squalen*. **6**(1):1–8
- Jayanudin, J., & Rochmadi, R. 2017. Pengaruh Perbedaan Bahan Penyalut Terhadap Efisiensi. *Jurnal Penelitian Kimia*, **13** (2) , Hal. 275-287
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Current Issues Interest of Microbiology*. **3**(2): 39–48
- Kompiang, I. P. 2009. Pemanfaatan mikroorganiesm sebagai probiotik untuk meningkatkan produksi ternak unggas di Indonesia Putu Kompiang. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, **2**(3), 177–191.
- Kurniasih, M., & Kartika, D. 2011. Synthesis and physicochemical characterization of chitosan. *Journal of Inovation*, **5**(1), 42–48.
- Kumari, K. S., I.S. Babu, & G.H. Rao .2008. Process optimization for citric acid production from raw glycerol using response surface methodology. *Indian Journal of Biotechnology*. **7**(4): 496–501.
- Kurozawa, L. E., Park, K. J., & Hubinger, M. D. 2009. Effect of maltodextrin and gum arabic on water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken meat hydrolysate protein. *Journal of Food Engineering*, **91**(2), 287–296.
- Kusuma, muhammad nurjatmiko wijaya. 2017. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kitosan Pada *Double Coating* Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum* Tersalut *Semi Refined Carrageenan* Iota Terhadap Viabilitas. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, universitas brawijaya.
- Kusumaningsih, T., Abu M., dan Usman A. 2004. Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*). *Journal of Natural Product Biochemistry*. **2**(2): 64-68
- legowo, anang M., Nurwantoro, S. 2005. *Analisis Pangan*. Analisis Pangan. Program Studi Teknologi Hasil Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro Semarang
- Li, X. Y., Chen, X. G., Sun, Z. W., Park, H. J., & Cha, D. S. 2011. Preparation of alginate/chitosan/carboxymethyl chitosan complex microcapsules and application in *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Carbohydrate Polymers*, **83**(4), 1479–1485.

- Lujeng, Ngestreni, Charta Chartusi. 2017. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Kitosan Pada Double Coating Mikrokapsul *Bifidobacterium Bifidum* Tersalut Semi Refined Carrageenan (SRC) Kappa-Iota Terhadap Viabilitas. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang
- Maheswari RRA, Wiryawan IKG, Maduningsih GL. 2008. Stability of two probiotics bacteria of goat milk yoghurt in rat digestive tract. *Journal Microbiology*. 2: 124-130
- Mahmud. 2018. Pengaruh Penambahan Mikrokapsul *Bifidobacterium bifidum* Terhadap Viabilitas *B. bifidum* dan Karakteristik Organoleptik Permen Coklat. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Brawijaya Malang.
- Manin, F. 2010. Potensi *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus fermentum* dari saluran pencernaan sebagai sumber probiotik. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*. 8(5): 23-29
- Manojlovic V., Nedovic V.A., Kailasapathy K., Zuidam N.J. 2010. Encapsulation of Probiotics for use in Food Products. In: Zuidam N., Nedovic V. (eds) Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. Springer, New York, NY
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. 2015. Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 27, 15–25.
- Melati, N. sekar. 2012. Aplikasi Response Surface Methodology (Rsm) Dalam Optimasi Parameter Proses Pada Mie Instan Divisi Noodle Cabang Jakarta . Fakultas Teknologi Pertanian.
- Meryandini, A., Wahyu W., Besty M., Titi C. S., Nisa R. dan Hasrul. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal*. IPB. Bogor
- Meriaty. 2005. Pembuatan dan Karakterisasi Membran Kalsium Alginat. Tesis. Medan
- Nugraheni, A., Yunarto, N., & Sulistyningrum, N. 2015. Optimasi Formula Mikroenkapsulasi Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) dengan Penyalut Berbasis Air, 5(2), 98–105.
- Nurmaya, U. M., S. Sunaryo, Irhamah, & M.S.Akbar. 2013. Optimasi Multirespon Dengan Menggunakan Metode Hybrid Fuzzy Goal Programming Dan Genetic Algorithm. *Prosiding Seminar Nasional Manajemen Teknologi*, 1–11.
- Nurmiah, S., Syarif, R., Peranginangin, R., & Nurtama, B. 2013. Aplikasi Respon Surface Methodology Pada Optimalisasi Kondisi Proses Pengolahan Alkali Treated Cottonii (ATC). *JPB Kelautan dan Perikanan*, 8 (1): 9–22.
- Podungge, A., Damongilala, L. J., & Mewengkang, H. W. 2018. Kandungan Antioksidan Pada Rumput Laut *K Eucheuma spinosum* Yang diekstrak

- dengan Pelarut Metanol dan Etanol. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, **6**(1), 197–201.
- Pradikaningrum, H. 2015. Uji viabilitas mikroenkapsulasi *Lactobacillus casei* Menggunakan Matrik Kitosan. Univeritas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Radhiyatullah, Afiifah, Novita Indriani, M. H. S. G. 2015. Pengaruh Berat Pati Dan Volume Plasticizer Gliserol Terhadap Karakteristik Film Bioplastik Pati Kentang. *Teknik Kimia*, **4**(3), 35–39.
- Rahmadevi, Erizal Z, & Auzal H. 2013. Penggunaan Eudragit L 100 Dalam Formulasi Mikrokapsul Natrium Diklofenak Dengan Metodologi. *Jurnal Farmasi*, **1**(4), 24–29.
- Rajam, R., Kumar, S. B., Prabhasankar, P., & Anandharamakrishnan, C. 2015. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* MTCC 5422 in fructooligosaccharide and whey protein wall systems and its impact on noodle quality. *Journal of Food Science and Technology*, **52**(7), 4029–4041
- Rachmania, R. A., Nisma, F., & Mayangsari, E. 2013. Ekstraksi Gelatin dari Tulang Ikan Tenggiri Melalui Proses Hidrolisis Menggunakan Larutan Basa Gelatin EXtraction From Mackerel Bone Hidrolisis Processes Used Alkaline Solution. *Media Farmasi* **10**(2), 18–28.
- Rizqiati, H., B.S.L. Jenie, N. Nurhidayat, C. C., Nurwitri. 2015. Microcapsul Characteristics of Probiotic *Lactobacillus plantarum* Encapsulated by Skim dan Gum Arab. *J.Indon.Trop.Anim.Agric.* **34** [2]. Fakultas Peternakan UNDIP.
- Sashiwa, H., Yamamori, N., Ichinose, Y., Sunamoto, J., & Aiba, S. 2003. Chemical Modification of Chitosan, 17a Michael Reaction of Chitosan with Acrylic Acid in Water. *Macromolecular Bioscience*. **3**(5), 231–23
- Septevani, A., D. Sondari dan M. Ghozali. 2013. Pengaruh Teknik Pengering Semprot (Spray Drying) dalam Mikroenkapsulasi Asiaticose dan Ekstrak Jahe. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. Vol. 14 No 4 : 248-252
- Serowik M, Figiel A, Nejman M, Pudlo A, Chorazyk D, Kopec W. 2017. Drying characteristics and some properties of spouted bed dried semi-refined carrageenan. *Journal of Food Engineering*. 194: 46-57.
- Setijawati, D., Susinggih W, Aulaniam1, & Imam S. 2011. Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *Eucheuma cottonii*. *Jurnal Teknologi Pangan*, **2**(1), 50–61.
- Setijawati, Dwi, Susinggih Wijana, Aulani'am, Imam Santosa. Juni, 2012. Penggunaan Caragenan dengan Metode Proses Berbeda (SRC dan RC) sebagai Bahan Pengekapsulan *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul secara in Vitro. *Jurnal Teknologi Pangan* Vol.3 No.1. Universitas Brawijaya, Malang.
- Setijawati, D. 2017. Penggunaan *Eucheuma Sp* Dan Chithosan Sebagai Bahan Edible Film Terhadap Kualitasnya, Progam Studi Teknologi Hasil Perikanan .

6–14. Universitas Brawijaya, Malang

- Silitonga, P., & Sitorus, B. 2014. Enkapsulasi Pigmen Antosianin Dari Kulit Terong Ungu. *Jkk*, **3**(3), 49–54.
- Srifiana, Y., Surini, S., & Yanuar, A. 2014. Mikroenkapsulasi Ketoprofen dengan Metode Koaservasi dan Semprot Kering Menggunakan Prigelatinisasi Pati Singkong Ftalat sebagai Eksipien Penyalut (Encapsulation of Ketoprofen with Coacervation and Spray Drying Methods Using Pregelatinized Cassava Starch. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indoneisa*, **12**(2), 162–169.
- Srihari, E., F. S. Lingganingrum, R.Hervita, & H. Wijaya. 2010. Pengaruh Penambahan Maltodekstrin pada Pembuatan Santan Kelapa Bubuk. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. ISSN : 1411-4216.
- Sumanti, D. M., Lanti, I., Hanidah, I.-I., Sukarminah, E., & Giovanni, A. 2016. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Maltodekstrin Sebagai Penyalut Terhadap Viabilitas dan Karakteristik Mikroenkapsulasi Suspensi Bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan metode freeze drying. *Jurnal Penelitian Pangan (Indonesian Journal of Food Research)*, **1**(1), 7–13.
- Sumic Z, Vakula A, Tepic A, Cakarevic J, Vitas J, Pavlic B. 2016. Modeling and optimization of red currants vacuum drying process by response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*. **203**: 465-475.
- Supriyadi, & Rujita, A. S. 2013. Karakteristik Mikrokapsul Minyak Atsiri Lengkuas Dengan Maltodekstrin Sebagai Enkapsulan. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, **24**(2), 201–208.
- Susanto, A. 2009. Uji Korelasi Kadar Air Kadar Abu Water Activity dan Bahan Organik. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, 826–836.
- Thariq, M. Reizal Ath , Ahmad Fadli, Annisa Rahmat, R. H. 2016. Pengembangan Kitosan Terkini pada Berbagai Aplikasi Kehidupan. Jurusan Teknik kimia, Fakultas Teknik, Universitas Riau, 1–2.
- Triana, E. 2006. Viability of encapsulated *Lactobacillus* sp. Mar 8. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, **7**(2), 114–117.
- Tripathi, M. K., and S. K. Giri. 2014. Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics during Processing and Storage. *Journal of Functional Foods*. **9**(1): 225–41
- Tsen, J. H., Lin, Y. P., & King, V. A. E. 2004. Fermentation of Banana Media by using Carrageenan Immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Food Microbiology*, **91**(2), 215–220.
- Ulfah, M. (2009). Pemanfaatan Iota Karaginan (*Eucheuma spinosum*) dan Kappa Karaginan (*Kappaphycus alvarezii*) Kekenyalan Mie Kering, 1–111.
- Wang, R., Tian, Z., & Chen, L. 2011. A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. *Food Research International*, **44**(9), 2735–2741.

- Waziroh, Elok. 2013. Optimasi Pembuatan Minuman Fungsional Berbasis Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus* Bl.Miq) Pada Skala Pilot Plant. Thesis. Institut Pertanian Bogor
- Widiyaningsih, E. N. 2011. Peran Probiotik Untuk Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, **4**(1), 14–20.
- Wulandari, E., W.S. Putranto. 2010. Karakteristik Stirred Yogurt Mangga (*Mangifera indica*) dan Apel (*Malus domestica*) Selama Penyimpanan (Characteristics of mango (*Mangifera indica*) dan Apple (*Malus domestica*) Sitted Yogurt During Storage). *Jurnal Ilmu Ternak*, **10** (1): 14-16
- Wulandari, Yuni. 2016. Pengaruh Semi Rfined Carrageenan Iota dengan Konsentrasi Berbeda Sebagai Bahan Pengenkapsulat Terhadap Viabilitas *Bifidobacterium bifidum*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Univeristas Brawijaya, Malang
- Yulinery, T., E. Yulianto, N. Nurhidayat, N. 2006. Uji fisiologis probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang telah dienkapsulasi dengan menggunakan Spray Dryer untuk menurunkan kolesterol. *Biodiversitas*, **7**(2): 118-122
- Zuidam, N. J., Nedovic, V. A., Bainbridge, W. S., Koç, B., Sakin-Yilmazer, M., Kaymak-Ertekin, F., Mcsweeney, P. L. H. (1998). Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing. *Dairy Chemistry and Biochemistry* (Vol. 3).
- Zuidam, N. J., & Shimoni, E. 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In: Zuidam, N.J., Nedovic, V. (Eds.), *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, 3–30.