

repository.ub.ac.id

**PENGARUH KONSENTRASI SEMI REFINED CARRAGEENAN IOTA DAN
MALTODEKSTRIN YANG BERBEDA PADA PEMBUATAN
MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

Oleh:

**RIDHO DWI PURWANTO
NIM. 135080301111130**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

**PENGARUH KONSENTRASI SEMI REFINED CARRAGEENAN IOTA DAN
MALTODEKSTRIN YANG BERBEDA PADA PEMBUATAN
MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

SKRIPSI

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

Oleh :

**RIDHO DWI PURWANTO
135080301111130**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

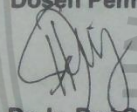
SKRIPSI

PENGARUH KONSENTRASI SEMI REFINED CARRAGEENAN IOTA
DAN MALTODEKSTRIN YANG BERBEDA PADA PEMBUATAN
MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus*

Oleh :
RIDHO DWI PURWANTO
NIM. 135080301111130

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 27 Mei 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

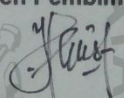
Dosen Pembimbing I



Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes
NIP.19561102 198802 2 001
Tanggal 28 JUN 2019

Menyetujui,

Dosen Pembimbing II



Hefti Salis Yufidasari, S.Pi., MP
NIP. 19810331 201504 2 001
Tanggal : 28 JUN 2019

Mengetahui,

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Muhammad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 28 JUN 2019

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH KONSENTRASI SEMI REFINED CARRAGEENAN IOTA DAN MALTODEKSTRIN YANG BERBEDA PADA PEMBUATAN MIKROKAPSUL TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus***

Nama Mahasiswa : Ridho Dwi Purwanto

NIM : 135080301111130

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes

Pembimbing 2 : Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS

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

Tanggal Ujian : 27 Mei 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

Bismillaahirrohmaanirrohiim, dengan penuh kesadaran saya menyatakan bahwa skripsi yang berhasil saya susun adalah hasil dari kerja keras dan usaha sendiri. Seluruh konten yang ada di laporan skripsi merupakan hasil dari proses penelitian dan belajar. Terkecuali kutipan-kutipan yang telah saya jadikan acuan dan saya cantumkan di dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari didapatkan terdapat konten skripsi yang dinilai ada unsur plagiasi, maka saya bersedia untuk menerima risiko yang pantas saya dapatkan. Terima kasih.

Malang, Mei 2019

Mahasiswa

Ridho Dwi Purwanto
135080301111130

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini tidak akan tersusun dengan baik tanpa adanya bimbingan serta kerjasama dari berbagai pihak yang terkait. Oleh karena itu, rasa hormat dan terimakasih penulis sampaikan kepada :

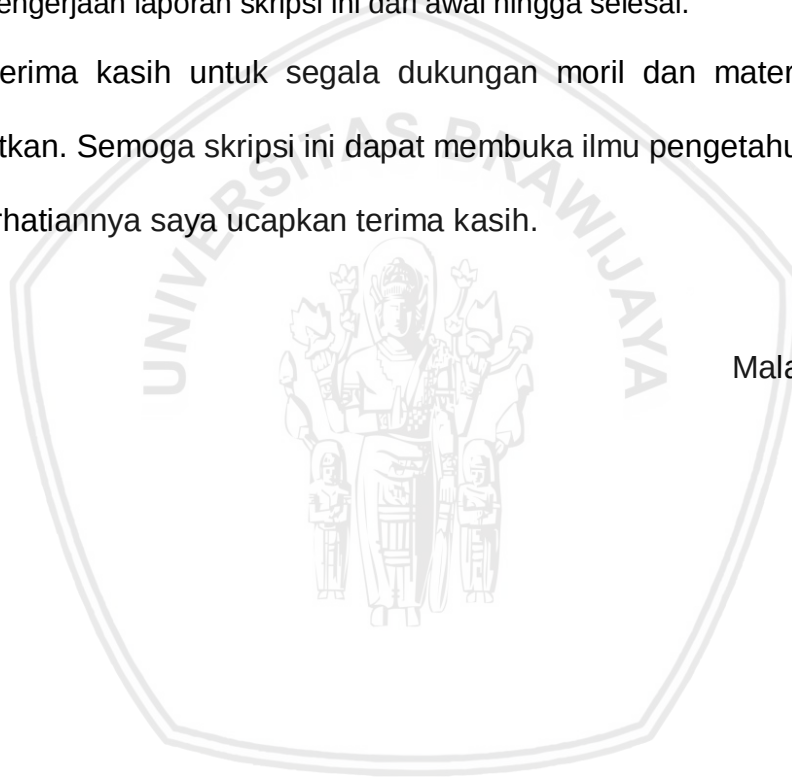
1. Allah SWT yang telah memberikan kesempatan hidup hingga saat ini dan selalu memberikan kesehatan jasmani dan rohani.
2. Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes selaku dosen pembimbing 1 yang banyak memberikan berbagai masukan, arahan, kesabaran serta berbagai bantuan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
3. Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, M.P selaku dosen pembimbing 2 yang banyak memberikan berbagai masukan dan saran yang berarti bagi penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
4. Seluruh dosen Program Studi Teknologi Hasil Perikanan yang telah memberikan ilmunya selama ini kepada penulis.
5. Bapak Hudi Purwanto dan Ibu Yuli Kurniati selaku orang tua penulis yang telah memberikan dukungan baik material maupun non material dan memberikan semangat yang luar biasa dalam setiap langkah penyusunan skripsi ini.
6. Febri Yudi Irianto dan Naura Zahra Salsabila selaku saudara/i kandung penulis yang telah memberikan dukungan yang luar biasa dalam setiap langkah penulisan skripsi.
7. Wuri Patas Sari dan Keluarga besar dari penulis yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doanya sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.

8. Teman-teman sebimbingan Mikrokapsul yang telah memberikan dukungan dan menjadi inspirasi kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Teman-teman kontrakan Mulyodadi dan Program Studi Teknologi Hasil Perikanan 2013 yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama pengerjaan laporan skripsi ini dari awal hingga selesai.

Terima kasih untuk segala dukungan moril dan materil yang telah menguatkan. Semoga skripsi ini dapat membuka ilmu pengetahuan pembaca. Atas perhatiannya saya ucapkan terima kasih.

Malang, Mei 2019

Penulis



RINGKASAN

RIDHO DWI PURWANTO. Pengaruh Konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota Dan Maltodekstrin Yang Berbeda Pada Pembuatan Mikrokapsul Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* (dibawah bimbingan ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes dan Hefti Salis Yufidasari, S. Pi, M.P)

Probiotik adalah mikroba hidup yang sangat menguntungkan bagi sel inang karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora usus. Bakteri probiotik juga merupakan mikroorganisme non patogen yang bila dikonsumsi dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Bakteri yang umum digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* adalah salah satu dari delapan genera umum bakteri asam laktat (BAL) yang dapat menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir. Asam laktat ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen lainnya. Di samping itu bakteri *L. acidophilus* menunjukkan fase stationer yang pendek serta diikuti dengan kehilangan viabilitas sel yang cepat. Viabilitas merupakan kemampuan hidup sel bakteri untuk tumbuh secara normal pada kondisi optimal. Salah satu cara mempertahankan viabilitasnya ini yaitu dengan teknik mikroenkapsulasi. Mikroenkapsulasi adalah suatu proses penyalutan secara langsung terhadap zat aktif dalam bentuk partikel halus dari zat padat, tetesan cairan, dan bentuk terdispersi. Bahan-bahan penyalut yang digunakan pada teknik ini harus mempunyai sifat sebagai bahan pengikat. Bahan yang mempunyai sifat bahan pengikat ini antara lain iota karaginan dan maltodekstrin. Dimana kedua bahan ini merupakan bahan alami yang mudah ditemukan, dan ketersediaannya yang cukup banyak. Iota karaginan merupakan polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut yang berjenis *Eucheuma spinosum*. Sedangkan maltodekstrin didefinisikan sebagai produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin pada pembuatan mikrokapsul terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, laboratorium Teknologi Hasil Perikanan FPIK Universitas Brawijaya, laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Brawijaya, laboratorium Hidrologi FPIK Universitas Brawijaya, dan laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian (FTP) Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni – September 2018.

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode ini dilakukan dengan cara memberikan variabel bebas kepada objek penelitian untuk mengetahui akibatnya terhadap variabel terikat. Dalam hal ini variabel bebasnya meliputi penambahan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi yang berbeda, dan variabel terikatnya yaitu pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Rancangan penelitian yang digunakan

dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 faktor, yaitu faktor pertamanya meliputi penambahan konsentrasi SRC Iota sebesar 4,5% (perlakuan A1), dan 5% (perlakuan A2), dan faktor kedua meliputi penambahan konsentrasi maltodekstrin sebesar 4% (perlakuan B1), 5% (perlakuan B2), dan 6% (perlakuan B3). Untuk mengolah data hasil penelitian ini menggunakan ANOVA yang kemudian akan dilanjutkan dengan uji BNJ 5%.

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh penambahan konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota dan maltodekstrin yang berbeda sebagai penyalut mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitasnya, diameter mikrokapsul, kadar air mikrokapsul, dan aktivitas air mikrokapsul. Penggunaan penyalut Iota 5 % dan maltodekstrin 6 % (perlakuan A2B3) memberikan nilai viabilitas sel tertinggi yaitu sebesar 7,004 log CFU/mL. Sedangkan untuk parameter lain seperti diameter mikrokapsul 107,482 μm , kadar air 8,342 %, dan aktivitas air (a_w) sebesar 0,771.

Saran yang diberikan pada penelitian selanjutnya yaitu perlunya penelitian lebih lanjut tentang penambahan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota dan maltodekstrin sebagai penyalut pada pembuatan mikrokapsul berprobiotik dengan metode yang berbeda, peningkatan konsentrasi sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki kualitas viabilitasnya, serta pengaplikasiannya ke produk pangan.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan ucapan syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “ Pengaruh Konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota Dan Maltodekstrin Yang Berbeda Pada Pembuatan Mikrokapsul Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* “ dengan lancar dan dapat diselesaikan dengan baik. Didalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi bakteri probiotik, bakteri *Lactobacillus acidophilus*, mikroenkapsulasi, karaginan dan maltodekstrin.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 10 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

PERNYATAAN ORISINALITAS	i
UCAPAN TERIMAKASIH	ii
RINGKASAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Probiotik	6
2.1.1 Definisi Probiotik	6
2.1.2 Jenis Bakteri Probiotik	6
2.1.3 Viabilitas Bakteri Probiotik	8
2.1.4 Manfaat Probiotik	9
2.1.5 Syarat Jumlah Bakteri Probiotik	10
2.2 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	11
2.3 Mikroenkapsulasi	13
2.3.1 Definisi Mikroenkapsulasi	13
2.3.2 Metode Mikroenkapsulasi	14
2.3.3 Metode Gel Partikel dengan Oven Vakum	16
2.3.4 Karakteristik Mikroenkapsul	17
2.3.5 Manfaat Mikroenkapsulasi	18
2.4 <i>Eucheuma spinosum</i>	20
2.4.1 Karakteristik	20
2.4.2 Kandungan Kimia	21
2.4.3 Manfaat	22
2.5 Karaginan	23
2.5.1 Pengertian Karaginan	23
2.5.2 Iota Karaginan	24
2.5.3 Karakteristik Iota Karaginan	25
2.5.4 Manfaat Iota Karaginan	28
2.5.5 <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC)	28
2.6 Maltodekstrin	29
3. METODE PENELITIAN	34
3.1 Materi Penelitian	34

3.1.1	Alat Penelitian.....	34
3.1.2	Bahan Penelitian	34
3.2	Metode Penelitian.....	34
3.2.1	Metode	34
3.2.2	Variabel Penelitian.....	35
3.2.3	Rancangan Penelitian	35
3.3	Prosedur Penelitian	37
3.3.1	Penelitian Pendahuluan.....	37
3.3.1.1	Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC).....	37
3.3.1.2	Pengujian <i>Fourier Transform Infrared Spectrometer</i> (FT-IR).....	37
3.3.1.3	Pewarnaan Gram.....	39
3.3.2	Penelitian Utama	39
3.3.2.1	Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel.....	39
3.3.2.2	Pengujian Viabilitas Probiotik.....	40
3.3.2.3	Diameter Enkapsulat.....	41
3.3.2.4	Pengujian Kadar Air	42
3.3.2.5	Pengujian Aktivitas Air (a_w).....	42
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1	Hasil Penelitian Pendahuluan.....	44
4.1.1	Spektrofotometer FT-IR <i>Eucheuma spinosum</i> dan Maltodekstrin	44
4.1.1.1	Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN)	46
4.1.2	Pewarnaan Gram	48
4.2	Hasil Penelitian Utama	49
4.2.1	Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i>	49
4.2.2	Diameter Mikrokapsul.....	51
4.2.3	Kadar Air Mikrokapsul	53
4.2.4	Aktifitas Air (a_w) Mikrokapsul	54
5.	PENUTUP	58
5.1	Kesimpulan.....	58
5.2	Saran.....	58
	DAFTAR PUSTAKA.....	59
	LAMPIRAN.....	69

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Mikroba yang Sering Digunakan sebagai Probiotik	8
2. Beberapa Penelitian Terdahulu Teknik Mikroenkapsulasi	15
3. Beberapa Penelitian Terdahulu Karakteristik Mikrokapsul.....	18
4. Kandungan Senyawa Kimia pada <i>Eucheuma spinosum</i> Kering	21
5. Unit-unit Monomer Karaginan	24
6. Karakteristik Iota dan Kappa Karaginan	26
7. Perbedaan Iota Karaginan dan SRC Iota	29
8. Variabel dan Nilai Standar Mutu Maltodekstrin.....	32
9. Beberapa Penelitian Terdahulu dengan Penggunaan Maltodekstrin	33
10. Model Rancangan Percobaan.....	36
11. Gugus Fungsional Pita Serapan FT-IR SRC Iota	44
12. Gugus Fungsional Pita Serapan FT-IR Maltodekstrin.....	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	12
2. Metode Gel Partikel	17
3. <i>Eucheuma spinosum</i>	20
4. Struktur Karaginan	23
5. Struktur Kimia Iota Karaginan	25
6. Proses Pembentukan Gelasi Iota Karaginan	27
7. Struktur Kimia Maltodekstrin	30
8. Proses Gelasi Maltodekstrin	31
9. Spektrum FT-IR SRC Iota	44
10. Spektrum FT-IR Maltodekstrin	45
11. Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN)	47
12. Bentuk Penjeratan dalam Struktur Jaringan <i>Interpenetrating Polymer Network</i> (IPN).....	47
13. Pewarnaan Gram Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i>	48
14. Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan Bahan Pengenkapsulat (SRC Iota : Maltodekstrin) yang Berbeda.....	49
15. Diameter Mikrokapsul dengan Bahan Pengenkapsulat (SRC Iota : Maltodekstrin) yang Berbeda.....	51
16. Diameter Mikrokapsul	52
17. Kadar Air Mikrokapsul dengan Bahan Pengenkapsulat (SRC Iota : Maltodekstrin) yang Berbeda.....	53
18. Aktivitas Air Mikrokapsul dengan Bahan Pengenkapsulat (SRC Iota : Maltodekstrin) yang Berbeda.....	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. <i>Flow Chart</i> Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) <i>Eucheuma spinosum</i>	69
2. Dokumentasi Pembuatan <i>Semi Refined Carrageenan</i> (SRC) <i>Eucheuma spinosum</i>	70
3. <i>Flow Chart</i> Pembuatan Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	72
4. Dokumentasi Pembuatan Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	73
5. <i>Flow Chart</i> Pengujian Viabilitas Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i>	75
6. Dokumentasi Pengujian Viabilitas Mikrokapsul <i>Lactobacillus acidophilus</i> ..	76
7. <i>Flow Chart</i> Analisa Diameter Mikrokapsul	78
8. Dokumentasi Analisa Diameter Mikrokapsul	79
9. <i>Flow Chart</i> Pengujian Kadar Air Mikrokapsul	80
10. <i>Flow Chart</i> Pengujian Aktivitas Air Mikrokapsul	81
11. <i>Flow Chart</i> Uji Pewarnaan Gram	82
12. Dokumentasi Pewarnaan Gram	83
13. Analisa Data (ANOVA) Viabilitas <i>Lactobacillus acidophilus</i>	86
14. Analisa Data (ANOVA) Diameter Mikrokapsul	90
15. Dokumentasi Hasil Diameter Mikrokapsul	94
16. Analisa Data (ANOVA) Kadar Air Mikrokapsul	95
17. Analisa Data (ANOVA) Aktivitas Air (a_w)	99

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Probiotik adalah mikroba hidup yang sangat menguntungkan bagi sel inang karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora usus. Bakteri probiotik juga merupakan mikroorganisme non patogen yang bila dikonsumsi dapat memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Senyawa hasil metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, bakteriosin, H_2O_2 bersifat antimikroba dan berbagai enzim seperti laktase dapat membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa (Triana *et al.*, 2006). Seleksi mikroba khususnya bakteri asam laktat (BAL) sangat diperlukan untuk mendapatkan *strain-strain* probiotik yang unggul. Hal tersebut dikarenakan tidak semua BAL berpotensi sebagai probiotik (Fuller, 1989). Probiotik diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia, dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba alami yang tinggal di dalam saluran pencernaan makhluk hidup. Efek fungsional probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 10^7 CFU/mL. Mikroflora probiotik yang memproduksi asam laktat biasanya berasal dari golongan *Lactobacilli* (Setijawati *et al.*, 2011). Salah satu jenis yang masuk dalam golongan *Lactobacilli* yaitu *Lactobacillus acidophilus*.

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

penting yang ditemukan dalam saluran usus. Hal ini dikarenakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* membantu menjaga keseimbangan mikroflora di dalamnya (Tenney, 1996). Bakteri ini dapat pula menghasilkan bakteriosin yang dapat merangsang pembentukan antibodi tubuh (Salminen dan Wright, 1998). Bakteri *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan fase stationer yang pendek serta diikuti kehilangan viabilitas sel yang cepat, walaupun disimpan pada suhu beku (Charalampopoulos *et al.* 2002). Pendeknya waktu hidup probiotik ini sebagai alasan bagaimana cara mempertahankan viabilitas probiotik ini agar tetap memberikan efek fungsional. Salah satu cara mempertahankan viabilitasnya yaitu dengan cara mikroenkapsulasi.

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses penyalutan secara langsung terhadap zat aktif dalam bentuk partikel halus dari zat padat, tetesan cairan, dan bentuk terdispersi. Mikroenkapsulasi merupakan teknik yang digunakan untuk menyelimuti suatu senyawa dengan menggunakan bahan penyalut dengan ukuran yang sangat kecil dengan diameter rata-rata 15-20 mikron atau kurang dari setengah diameter rambut manusia (Yoshizawa, 2004). Bahan-bahan penyalut yang digunakan harus berfungsi sebagai bahan pengikat, bahan yang biasa digunakan untuk penggunaan bahan penyalut diantaranya yaitu karaginan, sabun kalsium, sodium maltodekstrin, gum arab, kitosan dan masih banyak lagi. Salah satu bahan alami yang mudah ditemukan, ketersediaannya cukup banyak dan dapat dimanfaatkan menjadi bahan penyalut yaitu karaginan dan maltodekstrin.

Karaginan merupakan senyawa hidrokoloid yang terdiri atas ester kalium, natrium, magnesium, dan kalium sulfat dengan galaktosa 3,6 anhidrogallaktosa kopolimer. Karaginan memiliki sifat *pseudoplastic* yang dapat membentuk mikrokapsul halus dan meningkatkan gaya adhesi antara dinding dan bahan inti serta memiliki viskositas yang tinggi. Struktur karaginan dibagi menjadi 3 fraksi berdasarkan

unit penyusunnya yaitu kappa, iota dan lambda karaginan (Prasetyowati *et al.*, 2008). Karaginan telah banyak digunakan dalam industri pangan sebagai pengental, pengemulsi, pensuspensi, dan faktor penstabil (Winarno, 1996). Karaginan yang biasa digunakan sebagai penyalut mikrokapsul adalah *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota. *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota merupakan polisakarida yang diekstraksi dari rumput laut yang berjenis *Eucheuma spinosum*. Karaginan dipakai sebagai bahan pengenkapsulat sel bakteri agar dapat mempertahankan viabilitas bakteri tersebut. Konsentrasi SRC iota yang biasa digunakan sebagai penyalut adalah dari 1-5 % (Asyifa, 2015), dimana semakin tinggi konsentrasi semakin baik pula bahan itu digunakan sebagai penyalut (Bartkowiak dan Hunkeler, 2001).

Maltodekstrin sebagai produk modifikasi pati yang dihasilkan dari hidrolisis pati oleh enzim α -amilase secara parsial, mempunyai rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_nH_2O$ adalah produk degradasi bahan baku pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang saling berikatan oleh ikatan glikosidik. Produk maltodekstrin yang mempunyai nilai kisaran DE 5-20 memiliki kelebihan dapat bercampur dengan air membentuk cairan koloid bila dipanaskan dan mempunyai kemampuan sebagai perekat, dan tidak bersifat toksik sehingga dapat digunakan dalam pembuatan tablet obat (Jufri, 2004). Produk maltodekstrin telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam industri makanan, minuman, dan obat-obatan (Shuler dan Kargi, 2002). Dalam proses mikroenkapsulasi hal yang perlu diperhatikan adalah jenis penyalut yang digunakan. Maltodekstrin merupakan bahan yang sering digunakan sebagai penyalut mikrokapsul karena memiliki sifat sebagai penyalut yang baik karena kemampuannya dalam membentuk emulsi dan viskositasnya yang rendah (Khrisnan *et al.* 2005 dan Laohasongkram *et al.* 2011). Selain itu, maltodekstrin ini banyak digunakan karena mudah ditemukan, mudah dalam penanganan proses (Moore *et al.* 2005), dapat

mengalami dispersi yang cepat, memiliki kelarutan yang tinggi, mampu membentuk matrik kemungkinan terjadinya pencoklatan rendah, mampu menghambat kristalisasi, memiliki daya ikat kuat, viskositas rendah, dan stabil pada emulsi minyak dalam air (Dickinson, 2003).

Maltodekstrin sebagai bahan penyalut sangat berpengaruh terhadap rendemen dan kadar air yang menentukan kualitas mikro kapsul (Khasanah *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Permatasari *et al.*, (2015), viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* setelah dilakukan mikroenkapsulasi hasil tertinggi dihasilkan oleh mikro kapsul dengan enkapsulan maltodekstrin dengan konsentrasi 30% dari jumlah akuades dengan total bakteri $1,24 \times 10^9$ CFU/g. Berdasarkan penelitian Magfirah *et al.*, (2014) mikroenkapsulasi dengan penyalut maltodekstrin dan gum arab (1:1) menghasilkan jumlah total bakteri sebesar $3,0 \times 10^7$ CFU/g. Berdasarkan penelitian Ula (2016), hasil tertinggi dari viabilitas *Bifidobacterium bifidum* yaitu sebesar 7,80 log CFU/mL yang dienkapsulasi dengan penyalut maltodekstrin dan iota dengan perbandingan berturut-turut 3% dan 3,5%.

Berdasarkan latar belakang tersebut, sehingga perlu adanya penelitian baru untuk mengetahui apakah SRC iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi berbeda mampu meningkatkan viabilitas pada *Lactobacillus acidophilus*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang mendasari penelitian ini adalah apakah *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin pada pembuatan mikrokapsul terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

1.4 Hipotesis

H_0 = Penggunaan SRC iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi berbeda pada pembuatan mikrokapsul tidak memberikan pengaruh terhadap viabilitas *L. acidophilus*.

H_1 = Penggunaan SRC iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi berbeda pada pembuatan mikrokapsul memberikan pengaruh terhadap viabilitas *L. acidophilus*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh perbedaan konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin pada mikrokapsul terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* sehingga dapat digunakan sebagai penunjang untuk pengembangan pengaplikasian mikrokapsul pada produk komersial lainnya di kemudian hari.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan tahap penelitian utama. Penelitian dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Brawijaya, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Nutrisi dan Pakan Ikan FPIK Universitas Brawijaya, Laboratorium Hidrologi FPIK

Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian (FTP) Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan pada bulan Juni - September 2018.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik

2.1.1 Definisi Probiotik

Probiotik merupakan mikroba hidup yang digunakan sebagai pakan imbuhan dan dapat menguntungkan inangnya dengan meningkatkan keseimbangan mikrobial pencernaannya (Haryati, 2011). Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan bagi makhluk hidup apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk ke dalam saluran pencernaan (Shitandi *et al.*, 2007).

Probiotik merupakan mikroba hidup yang memiliki kemampuan terapeutik pada manusia yang mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung bakteri probiotik (Praja, 2011). Cara kerja dari probiotik ini dengan memperbaiki keseimbangan mikroba yang sudah ada di dalam saluran pencernaan manusia (Fuller, 1989).

Prinsip kerja probiotik yaitu dengan memanfaatkan kemampuan organisme tersebut dalam menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein, dan lemak. Kemampuan ini diperoleh karena adanya enzim-enzim khusus yang dimiliki oleh mikroorganisme untuk memecah ikatan. Pemecahan molekul kompleks menjadi molekul sederhana mempermudah penyerapan oleh saluran pencernaan manusia. Di sisi lain, mikroorganisme pemecah ini mendapat keuntungan berupa energi yang diperoleh dari hasil perombakan molekul kompleks (Widiyaningsih, 2011).

2.1.2 Jenis Bakteri Probiotik

Bakteri yang umum digunakan sebagai probiotik yaitu *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria*, kedua jenis bakteri ini dapat mempengaruhi peningkatan kesehatan karena dapat menstimulasi respon imun dan menghambat bakteri patogen. Starter probiotik yang baik yaitu kemampuannya untuk bertahan dalam lingkungan asam pada produk akhir fermentasi secara *in vitro* dan kondisi buruk dalam saluran pencernaan atau *in vivo*. Ketahanan probiotik pada kondisi *in vitro* dapat dipengaruhi adanya pembentukan metabolit oleh starter seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Haryati, 2011).

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan salah satu kelompok bakteri yang telah banyak digunakan sebagai bakteri probiotik, tapi tidak semua BAL termasuk sebagai bakteri probiotik. Bakteri asam laktat adalah bakteri yang membentuk asam laktat sebagai produk utama pada metabolisme karbohidrat. Fuller (1989), melaporkan syarat yang harus dipenuhi agar termasuk bakteri probiotik sebagai berikut :

1. Mempunyai viabilitas yang tinggi sehingga tetap hidup, tumbuh, dan aktif dalam sistem pencernaan.
2. Berasal dari genus bakteri yang aman untuk dikonsumsi.
3. Tahan terhadap asam, garam empedu (*bile salt*), dan kondisi anaerob.
4. Mampu tumbuh dengan cepat dan menempel pada dinding saluran pencernaan.
5. Mampu mendegradasi laktosa dan menurunkan kadar kolesterol.

6. Mampu menghambat bakteri patogen.

Mengacu pada klasifikasi bakteri asam laktat terbaru, terdapat 10 genera kelompok bakteri asam laktat, yaitu *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Streptococcus*, *Vagococcus*, dan *Tetragenococcus* (Adriani, et al. 2008). Semyonov, et al. (2011) menambahkan bahwa *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan spesies yang paling sering digunakan sebagai probiotik dalam pangan karena dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia secara signifikan. Bakteri asam laktat dari kelompok *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* telah digunakan sebagai probiotik dalam produk pangan. Beberapa BAL yang digunakan sebagai probiotik antara lain *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. Johnsonii*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, dan *L. rhamnosus* (Hidayat, 2006). Sebagian besar bakteri yang tergolong sebagai bakteri probiotik berasal dari kelompok bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus* dan *Bifidobacterium* (Saarela, et al. 2002). Mikroba yang sering digunakan sebagai bahan probiotik disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Mikroba yang Sering Digunakan sebagai Probiotik

Bakteri Asam Laktat (BAL)			Selain Spesies BAL
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Spesies BAL Lain	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proptonibacterium freudenreichii</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomices boulardii</i> (ragi)
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Bacillus cereus</i>

<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>		

Sumber : Kholisoh et al. (2016)

2.1.3 Viabilitas Bakteri Probiotik

Viabilitas merupakan kemampuan hidup atau daya tahan hidup sel bakteri untuk tumbuh secara normal pada kondisi optimal. Viabilitas sel probiotik menjadi parameter penting terkait manfaatnya terhadap kesehatan. Viabilitas umumnya dinilai sebagai CFU/g harus dipertahankan pada tingkat yang dapat memberikan efek kesehatan.

Viabilitas adalah kemungkinan untuk dapat hidup (Kamisa, 1997). Viabilitas berarti kelangsungan hidup, aktivitas hidup atau kemungkinan hidup ditunjukkan dengan pertumbuhannya (pada bakteri) (Pritanti, 1995). Viabilitas bakteri probiotik dapat dihitung dengan cara pembagian antara log jumlah sel sebelum produk dengan log jumlah sel sesudah produk. Perhitungan viabilitas digunakan untuk mengetahui kemampuan enkapsulan dalam mempertahankan jumlah sel bakteri probiotik dalam produk.

Viabilitas merupakan jumlah sel hidup yang diperkirakan sebagai ukuran konsentrasi sel yang ada dalam produk. Viabilitas menunjukkan ketahanan yang baik terhadap pengaruh lingkungan. Probiotik harus dapat

mempertahankan kelangsungan hidupnya selama tiga tahap kritis yaitu : (1) pada saat penyimpanan, (2) pada saat proses pembuatan menjadi makanan fungsional, (3) saat transit melalui lambung dan usus kecil. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan viabilitas bakteri probiotik diantaranya kondisi fisiologis, suhu, pH, aktivitas air, dan oksigen. Viabilitas probiotik dalam produk dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, dan pasca-pengasaman (selama penyimpanan). Sejumlah faktor - faktor tersebut dapat diperhatikan untuk mendapatkan efek maksimal dari probiotik yang dikonsumsi (Neha *et al.*, 2012).

2.1.4 Manfaat Probiotik

Berbagai senyawa hasil metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, H_2O_2 , bakteriosin bersifat antimikroba dan berbagai enzim seperti laktase dapat membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, serta *bile salt hydrolase* dapat menurunkan kolesterol. Selain itu, terdapat pula aktivitas antikarsinogenik dan stimulasi sistem imunitas (Nagao, *et al.* 2000). Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa *strain* patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobia lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme *host*, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Manfaat positif probiotik terhadap kesehatan tubuh dapat melalui tiga mekanisme fungsi, antara lain: (1) fungsi protektif, yaitu punya kemampuan dalam menghambat patogen di saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan dapat memunculkan kompetisi lokasi adhesi (penempelan) dan nutrisi antara bakteri probiotik dan bakteri non probiotik, khususnya patogen. Seiring pertumbuhan bakteri probiotik, akan diproduksi berbagai komponen anti bakteri (hidrogen peroksida, asam organik, dan bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen); (2) fungsi sistem imun tubuh, yaitu dengan peningkatan sistem imun tubuh melalui kemampuan probiotik untuk menginduksi pembentukan IgA, aktivitas makrofage, menginduksi *hyporesponsiveness* terhadap antigen yang berasal dari pangan, serta modulasi profil sitokin; (3) fungsi metabolit probiotik, yaitu produk metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, juga kemampuan probiotik mendegradasi laktosa di dalam susu terfermentasi sehingga bisa digunakan oleh penderita *lactose intolerance*.

Probiotik telah banyak dimanfaatkan untuk mengatasi penyakit gastroenteritis seperti diare (Salazar *et al.*, 2007), menstimulasi sistem kekebalan (*immune*) tubuh (Isolauri *et al.*, 2001), menurunkan kadar kolesterol (Pereira *et al.*, 2003).

2.1.5 Syarat Jumlah Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik dapat mengalami kematian apabila energi cadangan dalam sel habis, persediaan nutrisi pada media hidup berkurang, dan

penumpukan asam dan metabolit lainnya pada media. Perubahan metabolit dan pH medium bisa memicu penurunan jumlah sel yang tumbuh pada fase berikutnya dan penurunan kecepatan pembelahan. Pertumbuhan dan perkembangan bakteri asam laktat bisa terus berlangsung apabila asam amino, karbohidrat, dan *nutrient* lainnya selalu tersedia dalam media, komponen racun dihilangkan (Fujita, 2017).

Jumlah bakteri probiotik yang harus masuk ke tubuh kisaran 10^8 - 10^9 CFU/g, minimal 10^6 - 10^7 CFU/g harus mencapai usus besar untuk memastikan efek terapeutik. Namun sebagian besar bakteri probiotik tidak mampu bertahan hidup di tempat yang memiliki pH lambung yang rendah (pH=2) (Nazzaro *et al.*, 2009). Standar Nasional Indonesia SNI 7552: 2009 menyatakan syarat minimum nilai total bakteri probiotik yang baik adalah sebanyak 10^6 kol/mL (Rizal *et al.*, 2013). Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^8 CFU/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlahnya saat melalui saluran pencernaan. Manfaat kesehatan baru akan didapat ketika viabilitas sel bakteri dalam produk probiotik mencapai 10^7 - 10^9 CFU/g (Adib, *et al.* 2013), atau dalam jumlah yang menghasilkan asupan harian 10^8 CFU/g (Chavarri, *et al.* 2010). Probiotik yang mencapai saluran pencernaan hingga 10^7 CFU/g akan menunjukkan efek fungsional probiotik. Kemampuan hidup sel bakteri probiotik dapat mengalami penurunan baik pada proses produksi, penyimpanan, maupun saat melewati sistem pencernaan karena faktor yang mempengaruhi yaitu suhu, pH lambung, dan garam empedu selama pencernaan (Semyonov, *et al.* 2011).

2.2 *Lactobacillus acidophilus*

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

Klasifikasi *Lactobacillus acidophilus* menurut Habibilah (2009) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Monera
Division	: Flimicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Species	: <i>Lactobacillus acidophilus</i>



Gambar 1. *Lactobacillus acidophilus* (Sandine, 1979)

Karakteristik bakteri *L. acidophilus* diantaranya: (1) tidak tumbuh pada suhu 15 °C dan tidak dapat memfermentasi ribosa; (2) suhu optimum untuk pertumbuhannya berkisar antara 35 – 38 °C dan pH optimum 5,5 - 6,0; (3) di dalam susu sapi, bakteri ini memproduksi 0,3 - 1,9 % asam laktat. Asam yang dihasilkan mempunyai kemampuan yang berbeda antar galur; (4) umumnya

membutuhkan nutrisi berupa asetat, riboflavin, asam pantotenat, kalsium, niasin dan asam folat; (5) resisten terhadap asam empedu; dan (6) memproduksi *threonine aldolase* dan *alcohol dehydrogenase* yang mempengaruhi aroma (Kanbe, 1992).

Lactobacillus acidophilus merupakan probiotik yang selama bertahun-tahun banyak digunakan, karena aman dan tidak menimbulkan risiko infeksi berupa bakterimia (Snydman, 2008). *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella thypimurium* yaitu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran cerna yang dikenal dengan nama *salmonellosis* (Xiaodong, et al. 2009). Menurut Taufik (2004), *L. acidophilus* mempunyai populasi $6,9 \times 10^8$ CFU/mL dalam susu fermentasi selama 24 jam. Afriani dan Haris (2011) menambahkan bahwa *L. acidophilus* mempunyai populasi 8.1×10^9 CFU/mL dalam susu fermentasi dengan waktu inkubasi 48 jam.

Lactobacillus acidophilus (*L. acidophilus*) merupakan salah satu strain bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik. Kemampuan *L. acidophilus* untuk tumbuh di dalam sistem pencernaan dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik dan memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam sistem pencernaan sehingga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh. Potensi ini menyebabkan *L. acidophilus* digunakan sebagai probiotik (Mariana dan Hilda, 2012).

L. acidophilus membantu pencernaan laktosa usus, merangsang respon kekebalan tubuh terhadap mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membantu

mengendalikan kadar kolesterol darah, serta menghasilkan zat seperti *lactocidine* atau *acidophiline* yang meningkatkan stamina dan kekebalan (Widiyaningsih, 2011). Bakteri *L. acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri patogen yang terdapat pada saluran pencernaan dalam memproduksi protein yang disebut bakteriosin (Parameswari *et al.*, 2013).

2.3 Mikroenkapsulasi

2.3.1 Definisi Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan proses penggunaan penyalut yang relatif tipis pada partikel-partikel kecil zat padat atau tetesan cairan dan dispersi zat cair dengan ukuran partikel berkisar antara 1-5000 mikrometer (Benita, 2006). Mikroenkapsulasi adalah proses menutupi padatan, cairan ataupun gas dalam bentuk partikel mikroskopis dengan dinding pelapis yang tipis di sekeliling zat (Venkatesan *et al.*, 2009) dan telah digunakan secara meluas di banyak industri, mencakup bidang farmasi, grafik, makanan dan pertanian (Benita, 2006). Penggunaannya dapat meliputi obat lepas lambat atau obat dengan kerja diperpanjang, penutupan rasa tablet kunyah, serbuk dan suspensi, tablet lapis tunggal yang mengandung bahan-bahan yang tidak tercampurkan secara kimia (Lachman, 1994).

Mikroenkapsulasi adalah teknologi untuk menyalut atau melapisi suatu zat inti dengan suatu lapisan dinding polimer, sehingga menjadi partikel-partikel kecil berukuran mikro. Sebuah mikrokapsul tersusun atas *core* (zat inti) dan *coating material* (zat penyalut/enkapsulan). *Core* didefinisikan sebagai material spesifik yang akan disalut, dapat berupa cairan maupun padatan.

Coating material atau zat penyalut harus memiliki kemampuan untuk membentuk lapisan yang kohesif dengan *core*, memiliki kesesuaian dan bersifat non reaktif terhadap *core*, serta memiliki karakteristik *coating* yang diharapkan, seperti kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, dan stabilitas (Umer et al., 2011).

2.3.2 Metode Mikroenkapsulasi

Teknik enkapsulasi dibagi menjadi tiga yaitu metode fisika kimia (*physicochemical*), metode kimia, dan metode fisika. Pertimbangan pemilihan teknik yang akan digunakan berkaitan dengan sensitivitas bahan inti, sifat fisiko-kimia bahan inti dan pelapis, ukuran kapsul yang diinginkan, target produk aplikasi, mekanisme pelepasan bahan inti dan biaya. Berikut ini adalah beberapa teknik enkapsulasi :

- a. Metode fisika, yang meliputi teknik *spray drying*, *spray cooling and chilling*, *fluidized bed coating*, *freeze drying*, dan *co-cryztalization*
- b. Metode kimia, meliputi *molekuler inclusion* dan *interfacial polymerization*
- c. Metode *physicochemical* (fisiko-kimia), meliputi *coacervation*, *organic phase* dan *liposome entrapment*

Spray Drying merupakan yang umum digunakan dalam mengeringkan bahan pakan dalam bentuk cairan melewati gas panas. Pakan dalam bentuk cair dipompa melalui alat-alat atomizer yang menghasilkan tetesan halus (bubuk dengan ukuran 1 μm sampai 150 μm). Gas panas adalah udara, dimana biasanya udara yang digunakan adalah gas O_2 , tetapi ketika bahan aktifnya sensitif maka pengeringannya menggunakan gas N_2 . Bagian utama peralatan *spray drying* terdiri bagian *inlet* (suhu

150-220 °C) dan *outlet* (suhu 50-80 °C) yang diatur untuk menghasilkan bubuk dengan temperatur kurang dari 100 °C (Hidayah, 2016).

Freeze Drying merupakan metode mikroenkapsulasi yang dapat digunakan dalam proses pengeringan pada hampir semua bahan yang sensitif terhadap panas dan aroma. Telah digunakan untuk mengkapsul *essence* yang larut dalam air dan aroma alami. Pada tahap pertama, sampel dibekukan dalam suhu antara -90 dan -40 °C, kemudian pengeringan dengan sublimasi langsung di bawah tekanan rendah sehingga suhunya menurun antara -90 dan -20 °C. Setelah pengeringan sampel yang terbentuk dapat dihancurkan dalam bentuk lebih kecil, apabila perlu dapat melakukan proses penghancuran melalui *grinding*. Kerugian utama metode *freeze drying* adalah penggunaan energi yang tinggi, prosesnya yang lama dan struktur pori yang terbuka yang secara umum kurang bagusnya ikatan yang mengelilingi bahan aktif (Hidayah, 2016). Beberapa penelitian terdahulu dengan metode mikrenkapsulasi serta bahan penyalut yang berbeda disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Beberapa Penelitian Terdahulu Teknik Mikroenkapsulasi

Peneliti	Bakteri/Metode	Penyalut	Viabilitas
Permatasari <i>et al.</i> (2002)	<i>L. rhamnosus</i> SKG 34/ <i>spray drying</i>	Maltodekstrin	$4,78 \times 10^7 \pm 0,31$
Febriyenti <i>et al.</i> (2014)	Karbamazepin/emulsifikasi	Alginat	93,264±4,126 (efisiensi)
Ula (2016)	<i>Bifidobacterium bifidum</i> /oven vakum	Maltodekstrin 3% dan iota karaginan 3,5%	7,8 log cfu/g
Pradipta <i>et al.</i> (2017)	<i>L. murinus</i> , <i>S. thermophilus</i> dan <i>P. acidilactici</i> / <i>spray drying</i>	Maltodekstrin dan susu skim (20% b/v)	83,94%, 90,53% dan 93,89% (efisiensi)

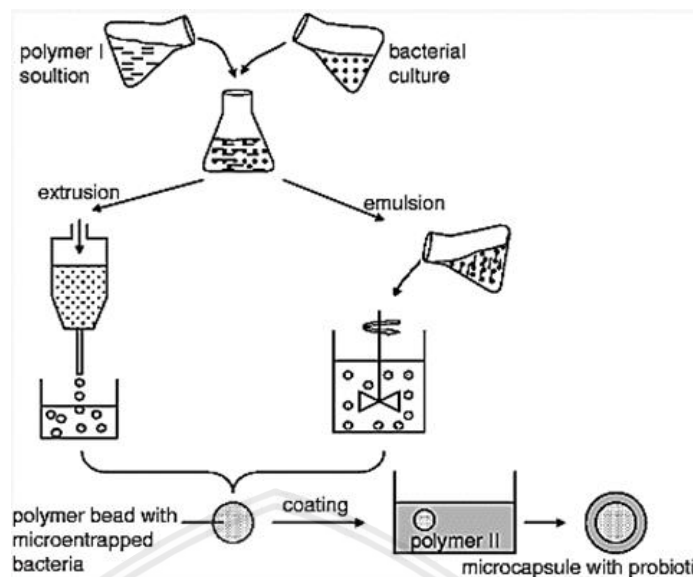
Teknik enkapsulasi untuk bakteri asam laktat dilakukan dengan mudah dan tidak toksik yaitu dengan menggunakan pelapis karaginan. Proses enkapsulasi probiotik dengan karaginan bisa dengan teknik ekstrusi atau

dengan teknik emulsi yang akan membentuk gel hidrokoloid yang berbentuk manik-manik. Diantara kedua teknik tersebut, ekstrusi merupakan teknik yang lebih sederhana dan relatif murah (Krasaekoopt, *et al.* 2003).

2.3.3 Metode Gel Partikel dengan Oven Vakum

Gel partikel merupakan salah satu teknik enkapsulasi dalam pembuatan pelapis pada mikrokapsul yang berisi bakteri probiotik, teknik ini adalah gabungan antara metode ekstrusi dengan metode emulsifikasi. Metode gel partikel dilakukan dengan cara mencampurkan hidrokoloid dengan sel probiotik, campuran antar sel dan hidrokoloid dimasukan ke dalam *ekstruder* dengan jarum suntik membentuk tetesan dari tekanan jarum dan dimasukan ke dalam larutan pembentuk gel, kemudian diaduk secara perlahan (Gbassi *et al.*, 2012). Setelah dilakukan proses ekstruksi dan di dapatkan sel probiotik yang tersalut berupa butiran-butiran, dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven vakum suhu 40⁰ C selama 24 jam. Oven vakum berfungsi untuk mengeringkan sel bakteri yang sudah tersalut. Cara kerja oven vakum adalah menguapkan kadar air dalam bahan dengan cara menekan uap air yang terdapat pada mikrokapsul (Lachman *et al.*, 1994).

Oven vakum merupakan metode yang digunakan untuk produk yang mengandung senyawa volatil. Prinsip dari oven vakum adalah mengeringkan produk yang mudah terdekomposisi di dalam suatu tempat yang dapat menghilangkan udara di dalamnya (vakum). Dengan demikian proses pengeringan dapat berlangsung pada suhu dan tekanan rendah (Legowo *et al.*, 2007). Proses tahapan pembuatan mikrokapsul dengan metode gel partikel dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Metode Gel Partikel (Manojlovic *et al.*, 2010)

Mikroenkapsulasi dengan teknik gel partikel memiliki banyak kelebihan. Kelebihan dari teknik gel partikel adalah tidak membutuhkan peralatan modern yang relatif sulit didapat, biaya lebih murah, serta mudah diaplikasikan (Manojlovic *et al.*, 2010). Teknik gel partikel akan terjadi perubahan fisik bahan enkapsulan akibat tekanan tinggi, terjadi pula perubahan kimia seperti protein terdenaturasi dan pati tergelatinisasi. Metode gel partikel sudah banyak digunakan dalam penelitian mikroenkapsulasi.

2.3.4 Karakteristik Mikrokapsul

Struktur yang menyelimuti bahan mikrokapsul disebut dinding, kulit atau film pelindung yang berguna untuk melindungi inti dari kerusakan dan inti dapat terlepas pada saat kondisi yang memungkinkan (Young *et al.*, 1993). Mikrokapsul memiliki ukuran *submicron* hingga beberapa millimeter dan memiliki berbagai bentuk tergantung pada bahan dan metode yang digunakan

untuk membuatnya. Secara umum mikrokapsul memiliki kemampuan untuk memodifikasi dan meningkatkan bentuk dan sifat substansi.

Sebuah mikrokapsul tersusun atas *core* (zat inti) dan *coating material* (zat penyalut/enkapsulan). *Core* didefinisikan sebagai material spesifik yang akan disalut, dapat berupa cairan maupun padatan. *Coating material* atau zat penyalut harus memiliki kemampuan untuk membentuk lapisan yang kohesif dengan *core*, memiliki kesesuaian dan bersifat non reaktif terhadap *core*, serta memiliki karakteristik *coating* yang diharapkan, seperti kekuatan, fleksibilitas, impermeabilitas, dan stabilitas (Umer *et al.*, 2011).

Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* yang tersalut *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* setelah perlakuan pH 2 diamati dengan CLSM mempunyai diameter sebesar 80 μm dan setelah perlakuan pH 7 adalah 60 μm . Hal ini dapat disimpulkan bahwa bulatan-bulatan yang didapat berukuran mikro karena memiliki ukuran 5000 μm , mikroenkapsulat (0,2 μm – 5000 μm) dan nanomikroenkapsulat (<0,2 μm) (Setijawati *et al.*, 2012). Berikut beberapa penelitian terdahulu dengan teknik mikroenkapsulasi, aplikasi, dan karakteristik dengan hasil berbeda yang disajikan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Beberapa Penelitian Terdahulu Karakteristik Mikrokapsul

Peneliti	Core Material/Metode	Ukuran	Aplikasi	Viabilitas/Efisiensi
Rizqiati, <i>et al.</i> (2009)	<i>Lactobacillus plantarum/spray drying</i>	6 mm	-	1,2-1,9 log cfu/g
Nasrullah (2010)	Oleoresin lada hitam/ <i>spray drying</i>	2-35 μ m	-	98,20% (kelarutan)
Purwijantiningsih (2012)	<i>Bifidobacterium longum/spray drying</i>	5-12 μ m	Permen probiotik	7,58 – 8,09 log cfu/g
Pramestia, <i>et al.</i> (2015)	Karbamazepin/ <i>spray drying</i>	0-798 μ m	Sup krim keping instan	93,264 $\pm$ 4,126
Ula (2016)	n/emulsifikasi <i>Bifidobacterium bifidum/oven vakum</i>	12-29 μ m	-	7,8 log cfu/g

2.3.5 Manfaat Mikroenkapsulasi

Mikroenkapsulasi merupakan proses menutupi padatan, cairan ataupun gas dalam bentuk partikel mikroskopis dengan menggunakan dinding pelapis yang tipis di kelilingi zat dan telah banyak digunakan secara meluas di banyak industri, mencakup bidang farmasi, grafik, makanan dan pertanian (Benita, 2006). Penggunaannya dapat meliputi obat lepas lambat atau obat dengan kerja diperpanjang, penutupan rasa tablet kunyah, serbuk dan suspensi, tablet lapis tunggal yang mengandung bahan-bahan yang tidak tercampurkan secara kimia (Lachman *et al.*, 1994). Hal-hal yang menjadi alasan utama mikroenkapsulasi sering digunakan menurut Muis (2017) yaitu :

a. Dapat melindungi bahan yang tidak stabil atau sensitif terhadap lingkungan.

- b. Dapat memperbaiki sifat kelarutan, kemampuan dispersi atau kemampuan alir.
- c. Dapat mencegah terjadinya oksidasi, dehidrasi.
- d. Dapat terlindungi dari bahan beracun.
- e. Pelepasan terkontrol.
- f. Penanganan cairan menjadi padatan.

Mikroenkapsulasi memiliki beberapa manfaat di industri makanan yaitu: penanganan unggul dari agen aktif (misalnya, konversi agen aktif cair ke bubuk, yang mungkin bebas debu, bebas mengalir, dan mungkin memiliki lebih bau netral), imobilitas agen aktif dalam sistem pengolahan makanan, peningkatan stabilitas pada produk akhir dan selama pemrosesan (mengurangi penguapan agen aktif yang mudah menguap dan tidak ada degradasi atau reaksi dengan komponen lainnya dalam produk makanan seperti oksigen atau air), peningkatan keamanan (mengurangi sifat mudah terbakar dari volatil seperti aroma), menjadi terlihat dan efek tekstur secara isyarat visual, sifat *adjustable* pada komponen aktif (ukuran partikel, struktur, minyak atau larut dalam air, warna), *controlled release* (diferensiasi, rilis oleh stimulus yang tepat) (Iqbal dan Hadiyanto, 2016).

2.4 *Eucheuma spinosum*

2.4.1 Karakteristik *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum merupakan rumput laut dari kelompok *Rhodopyceae* (Alga merah) yang mampu menghasilkan karaginan. Anggadiredja *et al.*, (2006), melaporkan klasifikasi rumput laut *Eucheuma spinosum* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Famili	: Solieracea
Genus	: <i>Eucheuma</i>
Species	: <i>Eucheuma spinosum</i>

Eucheuma spinosum merupakan alga merah yang dapat ditemukan di bawah air surut. Alga ini memiliki bentuk thallus bulat tegak berukuran panjang 5-30 cm, berwarna coklat, dan transparan. Ciri khusus dari *E. spinosum* adalah permukaan thallus tertutup oleh tonjolan yang berbentuk tidak beraturan seperti duri-duri runcing dengan interval yang bervariasi sehingga terbentuk ruas-ruas diantara lingkaran duri (Murdinah, 2011). Rumput laut *E. spinosum* dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. *Eucheuma spinosum* (Murdinah, 2011)

Eucheuma spinosum dapat tumbuh melekat pada terumbu karang, batu karang, benda keras, dan cangkang kerang. *Eucheuma spinosum* memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis sehingga hanya hidup pada lapisan fotik. Habitat khas dari *Eucheuma spinosum* adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, lebih menyukai variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati (Atmadja, 1996).

2.4.2 Kandungan Kimia *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum ialah salah satu jenis rumput laut yang berpotensi karena dapat menghasilkan karaginan. Ada tiga jenis karaginan, yaitu lambda, kappa, dan iota. Karaginan yang dihasilkan oleh *E. spinosum* termasuk ke dalam jenis iota karaginan. Karaginan adalah campuran yang kompleks dari beberapa polisakarida, yaitu suatu senyawa hidrokoloid yang terdiri atas ester kalium, natrium, dan magnesium atau kalsium sulfat dengan galaktosa dan kopolimer 3,6 anhidrogalaktosa (Diharmi *et al.*, 2011).

Komposisi senyawa organik dari rumput laut *Eucheuma spinosum* dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Kandungan Senyawa Kimia pada *Eucheuma spinosum* kering

Komponen	Jumlah
Air (%)	12,90
Protein kasar (%)	5,12
Lemak (%)	0,13
Karbohidrat (%)	13,38
Serat kasar (%)	1,39
Abu (%)	14,21
Kalsium (ppm)	52,85
Besi (ppm)	0,108
Tembaga (ppm)	0,768
Vitamin B1 (mg/100g)	0,21
Vitamin B2 (mg/100 g)	2,26
Vitamin C (mg/100 g)	43,00
Karaginan (%)	65,75

Sumber : Poncomulyo (2006)

Menurut Atmadja *et al.*, (1996), menyatakan beberapa jenis *Eucheuma spinosum* mempunyai kadar karaginan berkisar antara 54-73%, tergantung pada jenis dan lokasi tempat tumbuhnya.

2.4.3 Manfaat *Eucheuma spinosum*

Eucheuma spinosum merupakan rumput laut yang telah dibudidayakan di Indonesia. Rumput laut dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan tepung agar-agar, karaginan, dan alginat (Aslan, 2005). Agar-agar, karaginan dan algin (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. Dalam industri makanan, ketiga produk tersebut (agar-agar, karaginan dan algin/alginat) banyak digunakan untuk pembuatan roti, sup, saus, es krim, *jelly*, permen, keju, puding, selai, bir, anggur, kopi dan cokelat. Dalam industri farmasi bermanfaat sebagai obat pencahar atau peluntur, bahan tambahan

pada pembuatan obat-obatan dan pasta gigi serta bahan campuran pencetak contoh gigi. Dalam industri tekstil dapat digunakan untuk melindungi kemilau sutera. Dalam industri kosmetik bermanfaat dalam pembuatan salep, krim, *lotion*, lipstik, shampo, cat rambut dan sabun (Farnani *et al.*, 2013).

Menurut Anggadiredja *et al.*, (2006) ada 3 manfaat yang terkandung dalam rumput laut yang sangat berguna bagi kehidupan manusia, diantaranya :

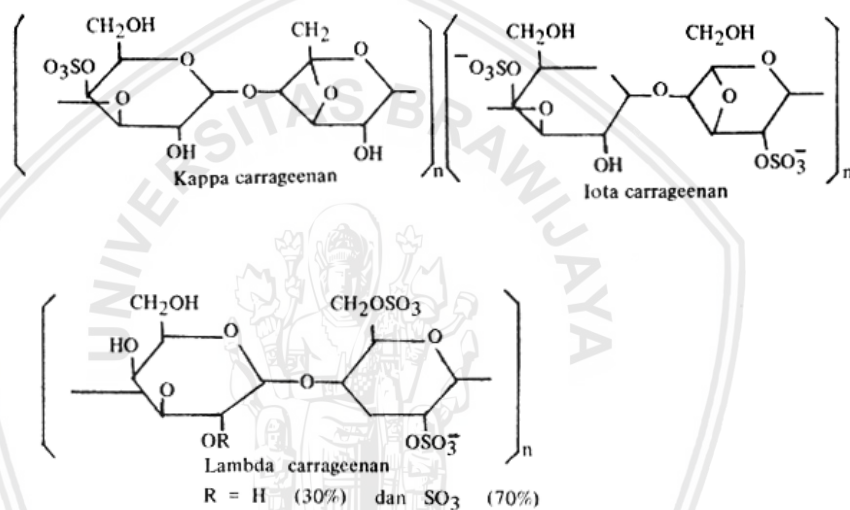
- Rumput laut sebagai bahan pangan : Rumput laut sebagai bahan pangan secara umum dikonsumsi dalam bentuk lalapan, dibuat acar, dimasak sebagai sayur, dan dibuat urap atau ditumis.
- Rumput laut sebagai industri farmasi : Rumput laut dalam industri obat-obatan seperti antiseptik, obat cacing, bronkitis, asma, batuk, bisul, mimisan, gangguan pencernaan, gangguan kekurangan iodium dan obat penyakit urinari. Metabolit primer dari rumput laut merupakan senyawa polisakarida yang bersifat hidrokoloid seperti agar-agar, alginat, karaginan dan fulcelaran.
- Rumput laut sebagai industri makanan : Ekstrak rumput laut dalam industri makanan seperti karaginan, agar, dan alginat. Karaginan sebagai bahan *suspense* dalam yoghurt, penstabil dalam es krim dan pencegah sineresis dalam keju dan agar-agar digunakan dalam pembuatan jelly, es krim dan permen.

2.5 Karaginan

2.5.1 Pengertian Karaginan

Karaginan merupakan polisakarida yang diekstraksi dari beberapa spesies rumput laut atau alga merah (*rhodophyceae*), diantaranya yaitu dari

jenis *Chondrus*, *Eucheuma*, *Gigartina*, *Hypnea*, *Iradea* dan *Phyllophora*. Karaginan merupakan hidrokoloid yang terdiri dari kalium, magnesium, kalsium sulfat, ester galaktosa, dan 3,6 anhidrogalaktosa kopolimer. Karaginan dapat diekstraksi dengan menggunakan larutan garam yang bertujuan untuk pembentukan gel. Karaginan juga dapat dimurnikan dengan menggunakan alkohol, etanol, dan isopropanol (Genu,2001). Struktur dari karaginan dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Struktur Karaginan (Anonim, 2018)

Jenis rumput laut yang menghasilkan karaginan berbeda-beda, seperti *E. cottoni* menghasilkan kappa karaginan, *E.spinosum* menghasilkan iota karaginan dan *Chondrus crispus* menghasilkan lambda karaginan. Kappa karaginan memiliki kandungan sulfat yang kurang dari 28% dan iota lebih dari 30%. Iota karaginan memiliki sifat dapat membentuk gel yang elastis dengan garam kalsium, berwarna kuning dan tidak terjadi sineresis, kappa karaginan membentuk gel yang kuat, berwarna jernih, dan beberapa dapat bersineresis,

sedangkan lambda karaginan tidak dapat membentuk gel karena memiliki viskositas yang tinggi (Peranginangin *et al.*., 2013). Struktur karaginan dapat dibagi menjadi 3 jenis berdasarkan unit penyusunnya yaitu iota, kappa, dan lambda karaginan (Prasetyowati *et al.*, 2008). Unit-unit monomer karaginan dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Unit-unit monomer karaginan

Fraksi Karaginan	Monomer
Kappa	D-galaktosa 4-sulfat 3,6-anhidro-D-galaktosa
Iota	D-galaktosa 4-sulfat 3,6-anhidro-D-galaktosa 2-sulfat
Lambda	D-galaktosa 2-sulfat D-galaktosa 2,6-disulfat

Sumber : Prasetyowati *et al.*, (2008)

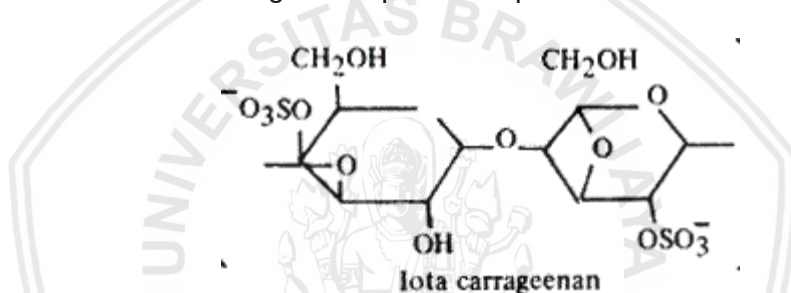
Karaginan dibuat dari rumput laut yang dikeringkan, rumput laut diayak untuk menghilangkan kotoran-kotoran seperti pasir dan kemudian dicuci. Setelah melalui perlakuan dengan larutan basa panas (contohnya 5-8% kalium hidroksida), selulosanya dihilangkan dari karaginan dengan menggunakan proses sentrifugasi dan filtrasi. Larutan karaginan yang didapat dipekatkan melalui evaporasi, kemudian dikeringkan dan dipisahkan lagi menurut spesifikasinya (Raton dan Smooley, 1993).

2.5.2 Iota Karaginan

Iota karaginan merupakan jenis karaginan dengan kandungan sulfat berada diantara lambda dan kappa karaginan. Iota karaginan dapat membentuk gel dengan sifat yang elastis. Iota karaginan ditandai dengan adanya ikatan 1,3-D-galaktosa-4-sulfat dan ikatan 1,4 dari unit 3,6-anhidro-D-galaktosa-2-sulfat. Iota karaginan terbentuk karena hilangnya sulfat pada atom

C6 dari (nu)-karaginan sehingga terbentuk 3,6-anhidro-D-galaktosa yang selanjutnya menjadi iota karaginan (Glicksman, 1983). Gugusan 2-sulfat ester tidak dapat dihilangkan oleh proses pemberian alkali seperti halnya kappa karaginan. Iota karaginan sering mengandung beberapa gugusan 6-sulfat ester yang menyebabkan kurangnya keseragaman molekul yang dapat dihilangkan dengan pemberian alkali (Winarno, 1996).

Menurut FAO (2001), iota karaginan memiliki gugus ester sulfat, gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa, galaktosa-4-sulfat dan gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa-2 sulfat. Struktur kimia iota karaginan dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Struktur Kimia Iota Karaginan (Imenson, 2000)

Menurut Ewing (1982), iota karaginan merupakan karaginan yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut *Eucheuma spinosum*. Iota karaginan memiliki gugus fungsional yang dapat dilihat ketika diamati menggunakan Spektrofotometer FT-IR. FT-IR adalah pengujian yang menghasilkan pentransmisi cahaya sebagai intensitas fungsi energi dari bahan, panjang gelombang (μm) atau dengan bilangan (cm^{-1}).

2.5.3 Karakteristik Iota Karaginan

Sifat-sifat yang dimiliki karaginan antara lain: kelarutan, pH, stabilitas, viskositas, pembentukan gel, dan reaktifitas dengan protein. Sifat-sifat tersebut

sangat dipengaruhi oleh adanya unit bermuatan (ester sulfat) dan penyusun dalam polimer karaginan. Karaginan biasanya mengandung unsur berupa garam sodium dan kalium yang juga berfungsi untuk menentukan sifat-sifat karaginan (Pebrianata, 2006). Karakteristik iota karaginan serta perbedaannya dengan kappa karaginan disajikan pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Karakteristik Iota dan Kappa Karaginan

Karakteristik		Iota	Kappa
Ester sulfat		28-35 %	25-30 %
Kelarutan	Air panas	Larut pada > 70 °C	Larut pada > 70 °C
	Air dingin	Larut Na ⁺	Larut Na ⁺
	Susu panas	Larut	Larut
	Susu dingin +		
	Tetrasodium Pyrophosphate (TSPP)	Kental	Kental
	Larutan gula	Susah larut	Larut (panas)
	Larutan garam	Tidak larut	Tidak larut
	Pelarut organik	Tidak larut	Tidak larut
Gel	Pengaruh kation	Membentuk gel kuat dengan Ca ²⁺	Membentuk gel kuat dengan K ⁺
	Tipe gel	Elastis dan kohesif tanpa sineresis	Kuat dan rapuh dengan sineresis
Stabilitas	pH netral dan basa	Stabil	Stabil
	Asam (3,5)	Terhambat dengan panas	Terhidrolisis
Sinergitas dengan hidrokoloid lain		Tidak	Iya
Stabilitas thawing		Stabil	Tidak stabil

Sumber : Glicksman (1983)

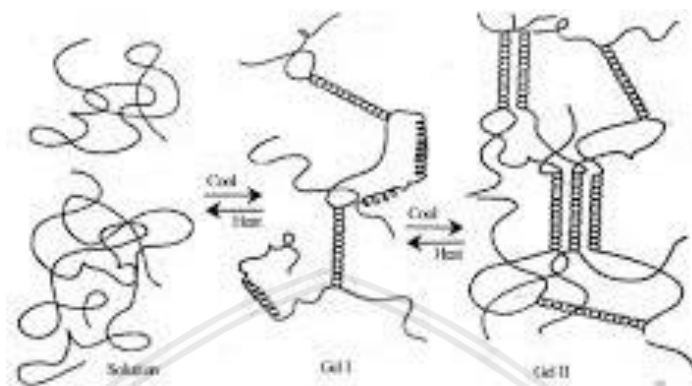
Perbedaan utama antara iota dengan kappa karaginan adalah adanya gugus 2-sulfat pada 3,6-anhidro-D-galaktosa pada iota karaginan yang mempengaruhi sensitivitas terhadap ion kalium. Peningkatan gugus 2-sulfat hingga 25-50% menyebabkan penurunan sensitivitas terhadap ion kalium yang

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 iota karaginan akan membentuk gel yang kuat bila dicampur dengan ion kalsium (Glicksman 1983).

Telah terbukti bahwa ion kalsium (Ca^{2+}) mendukung pembentukan gel dari karaginan iota. Kalsium menjadi ikatan kation divalen sehingga mampu membentuk jembatan intra molekul antara kelompok sulfat yang berdekatan dengan anhidro-D-galaktosa serta residu D-galaktosa dari iota itu sendiri. Setelah pendinginan, struktur kuaterner Ca^{2+} memudahkan untuk membentuk ikatan antar molekul. Respon yang terbentuk dari iota terhadap Ca^{2+} akan membentuk transisi helik sehingga mengalami perubahan fase sol menjadi gel (Trimawithana *et al.*, 2010).

Proses pembentukan gelasi iota dapat dilihat pada **Gambar 6**. Gelasi karaginan umumnya sama tergantung pada kecenderungan kation yang dimiliki. Karaginan iota membentuk gel yang kuat dan stabil pada ion Ca^{2+} yang mengakibatkan terjadinya *cross-linked* melalui proses gelasi eksternal. CaCl_2 ditambahkan ke Na^+ karaginan yang mengemulsi probiotik, gelasi akan terjadi di pinggiran matriks membentuk Ca^{2+} padat dan diikuti oleh difusi Ca^{2+} ke dalam mikrokapsul sampai semua ion Na^+ telah diganti dengan Ca^{2+} . Ion kalsium bereaksi kuat dengan residu L-guluronat untuk membentuk zona persimpangan. Ketika ion Ca^{2+} berpindah ke dalam, rantai karaginan juga akan tertarik sehingga menciptakan ion dengan struktur pori yang dapat melindungi

sel hidup. Semakin tingginya gelasi maka akan meningkatkan pemadatan dari struktur mikrokapsul serta dapat mengurangi kebocoran sel dan untuk meningkatkan perlindungan terhadap sel di dalamnya (Wang *et al.*, 2014).



Gambar 6. Proses Pembentukan Gelasi Iota Karaginan (Thomas, 1997)

2.5.4 Manfaat Iota Karaginan

Karaginan sangat penting peranannya sebagai *stabilizer* (penstabil), *thickener* (bahan pengentalan), pembentuk gel, pengemulsi dan lain-lain. Sifat ini banyak dimanfaatkan dalam industri makanan, obat-obatan, kosmetik, tekstil, cat, pasta gigi dan industri lainnya. Selain itu juga berfungsi sebagai penstabil, pensuspensi, pengikat, protektif (melindungi kolid), film former (mengikat suatu bahan), sineresis inhibitor (mencegah terjadinya pelepasan air) dan mengikat bahan-bahan (*flocculating agent*) (Anggadiredja, 2009).

Karaginan juga dapat digunakan sebagai edibel film karena sifatnya yang kaku, elastis, dan dapat dimakan. Selain itu, karaginan merupakan polisakarida non kalori atau serat makanan (*dietary fiber*) yang sangat baik untuk pencernaan makanan karena kandungan serat kasarnya yang cukup tinggi (Suryaningrum, 2005).

Karaginan iota yang diekstraksi dari rumput laut jenis *Eucheuma spinosum* juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan penyalut. Karena pada iota karaginan terdapat gugus sulfat yang bersifat dapat membentuk gel (Murdinah, 2011).

2.5.5 *Semi Refined Carrageenan (SRC)*

Semi refined carrageenan (SRC) merupakan produk karaginan yang memiliki tingkat kemurnian lebih rendah dari pada *refined carrageenan (RC)*. Hal ini disebabkan karena masih mengandung sejumlah kecil bagian selulosa yang ikut mengendap bersama karaginan. Secara komersial, *Semi Refined Carrageenan (SRC)* diproduksi dari rumput laut jenis *Eucheuma sp* melalui proses ekstraksi menggunakan larutan alkali (Oviantri *et al.*, 2007).

Di pasaran karaginan ditemukan dalam 2 tipe, yaitu *refined carrageenan (RC)* atau juga disebut karaginan murni dan *semi refined carrageenan (SRC)*, karaginan semi murni. Karaginan semi murni dibuat dari spesies rumput laut *Eucheuma* yang banyak terdapat di Indonesia dan Filipina. Karaginan semi murni mengandung lebih banyak bahan yang tidak larut asam (8-15%) dibandingkan karaginan murni (2 %) (Fahmitasari, 2004).

SRC iota merupakan golongan alga merah berjenis *Eucheuma spinosum* yang diperoleh dari ekstraksi rumput laut dengan menggunakan larutan alkali pada temperatur yang tinggi. Perbedaan antara SRC iota dan iota karaginan adalah pada tingkat kemurniannya. SRC masih mengandung sejumlah kecil selulosa yang ikut mengendap bersama karaginan. Karakteristik

SRC iota adalah kenampakan berwarna agak kekuningan, ukuran 100 mesh, total sulfat 15-30%, viskositas > 5 mPa.s, kekuatan gel lemah, pH 8-11. Tingkat kekuatan gel dari SRC iota lebih kecil dibandingkan dengan iota karaginan karena SRC merupakan karaginan semi murni. Tingkat kemurnian karaginan dapat dilihat pada intensitas yang muncul pada pengujian FT-IR (Diharmi *et al.*, 2011). Adapun perbedaan iota karaginan dan SRC iota apabila dilihat dari intensitasnya dapat di lihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Perbedaan Iota Karaginan dan SRC Iota

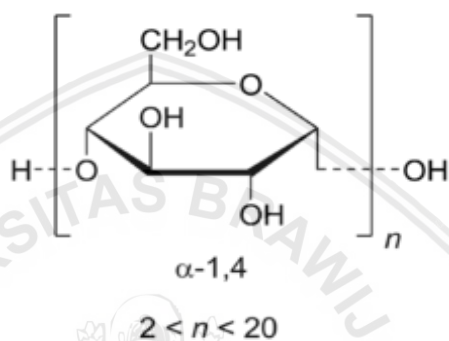
Iota Karaginan		SRC Iota	
Panjang gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas	Panjang gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas
3201.83	Sedang	3427.27	Lemah
1222.83	Kuat	1261.36	Lemah
1070	Sedang	1072.35	Lemah
1029.99	Sedang	1031.85	Lemah
964.41	Sedang	970.13	Sedang
933.55	Kuat	931.55	Lemah
852.54	Kuat	848.62	Lemah
806.25	Kuat	804.26	Sedang

Sumber: Gurning *et al.*, (1998)

2.6 Maltodekstrin

Maltodekstrin didefinisikan sebagai produk hidrolisis pati yang mengandung unit α -D-glukosa yang sebagian besar terikat melalui ikatan 1,4 glikosidik dengan DE kurang dari 20. Rumus umum maltodekstrin adalah $[(C_6H_{10}O_5)_nH_2O]$. Maltodekstrin merupakan campuran dari glukosa, maltosa, oligosakarida, dan dekstrin (Deman, 1993). Maltodekstrin biasanya dideskripsikan dengan DE (*Dextrose Equivalent*). *Dextrose Equivalent* (DE) adalah besaran yang menyatakan nilai total pereduksi pati atau produk

modifikasi pati dalam satuan persen. DE berhubungan dengan derajat polimerisasi (DP). DP menyatakan jumlah unit monomer dalam satu molekul. Unit monomer dalam pati adalah glukosa sehingga maltose memiliki DP 2 dan DE 50 (Wurzburg, 1989). Maltodekstrin dengan DE yang rendah bersifat non-higroskopis, sedangkan maltodekstrin dengan DE tinggi cenderung menyerap air (higroskopis). Struktur kimia maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 7**.

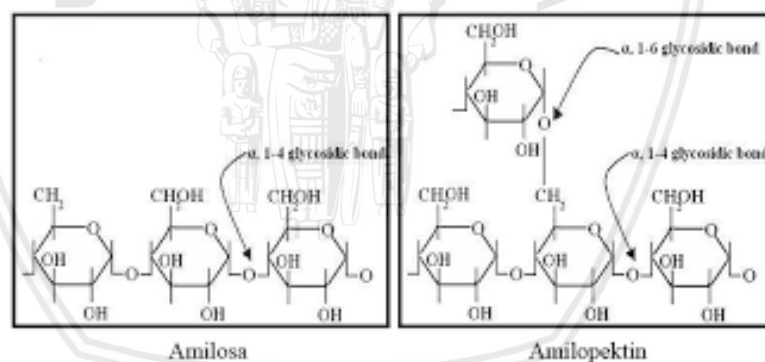


Gambar 7. Struktur Kimia Maltodekstrin (Lubis, 2011)

Maltodekstrin pada dasarnya merupakan senyawa hidrolisis pati yang tidak sempurna, terdiri dari campuran gula-gula dalam bentuk sederhana (mono- dan disakarida) dalam jumlah kecil, oligosakarida dengan rantai pendek dalam jumlah relatif tinggi serta sejumlah 14 kecil oligosakarida berantai panjang. Nilai DE maltodekstrin berkisar antara 3 - 20 (Blanchard, 1995). Maltodekstrin merupakan produk dari modifikasi pati salah satunya singkong (tapioka). Maltodekstrin sangat banyak aplikasinya, seperti halnya pati maltodekstrin merupakan bahan pengental sekaligus dapat sebagai emulsifier. Maltodekstrin memiliki tingkat kelarutan yang tinggi sehingga dapat membentuk gel. Gelasi maltodekstrin dihasilkan dari 2 fase interaksi antara

molekul amilosa dan amilopektin. Sehingga dihasilkan maltodekstrin yang memiliki kecenderungan kuat sebagai penyalut (Kearsley dan Dziedzic, 1995).

Gelasi maltodekstrin ditandai dengan meningkatnya DE (*Dextrose Equivalent*) yang dikarenakan adanya ion Ca^{2+} . Meningkatnya DE akan meningkatkan kekuatan jaringan itu pula, sehingga dapat menyalut dengan sempurna dan dapat melindungi sel hidup dari lingkungan luar (Borza *et al.*, 2010). Proses gelasi berlangsung dengan terbentuknya *double helix* dari amilosa. *Double helix* berinteraksi dengan rantai amilopektin di bagian luarnya yang dihubungkan dengan ikatan hidrat. Amilosa tersusun dalam bentuk heliks di permukaan yang memiliki sifat hidrofilik karena adanya gugus hidroksil dan pada permukaan dalam bersifat hidrofobik karena adanya ikatan hidrogen. Proses gelasi maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 8. Proses Gelasi Maltodekstrin (Ariyani, 2010)

Kelebihan dari maltodekstrin adalah mudah larut dalam air dingin. Maltodekstrin tidak berasa manis dan cenderung memiliki rasa hambar. Maltodekstrin mempunyai sifat humektan yaitu mampu mengikat air namun mempunyai a_w yang rendah, dengan kemampuan mengikat air ini maka

maltodekstrin dapat digunakan sebagai pengatur viskositas suatu produk sesuai keinginan (Ariyani, 2010).

Kualitas maltodekstrin telah ditentukan oleh Badan Standarisasi Nasional pada tahun 1992 sehingga dalam aplikasinya sudah disesuaikan dengan standar yang ditentukan sebagai syarat sebelum pemakaian. Variabel dan nilai standar mutu maltodekstrin menurut Badan Standarisasi Nasional (1992) dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Variabel dan Nilai Standar Mutu Maltodekstrin

Variabel	Aplikasi	
	Pangan	Non Pangan
Warna (visual)	Putih sampai kekuningan	Putih sampai kekuningan
Kadar air (%b/b)	Maks. 11	Maks. 11
Kadar abu (%b/b)	Maks. 0,5	Maks. 0,5
Serat kasar (%b/b)	Maks. 0,6	-
Dekstrosa	Maks. 5	Maks. 7
Derajat keasaman (0,1 N NaOH/100 g bahan)	Maks. 5	Maks. 6
Kehalusan (ayakan 100 mesh)	Min. 90 (lolos)	-

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (1992).

Maltodekstrin sering digunakan sebagai bahan penyalut mikrokapsul karena kemampuannya dalam membentuk emulsi dengan baik dan viskositasnya yang rendah (Laohasongkram, *et al.* 2011). Selain itu maltodekstrin mudah ditemukan, mudah dalam penanganan proses, dapat mengalami dispersi yang cepat, memiliki kelarutan tinggi, mampu membentuk matriks dengan kemungkinan pencoklatan rendah, mampu menghambat kristalisasi, memiliki daya ikat kuat, dan stabil pada emulsi minyak dalam air. Kemampuan maltodekstrin untuk menghambat reaksi oksidasi menyebabkan

mikrokapsul yang dihasilkan memiliki masa simpan lebih panjang dibanding mikrokapsul yang menggunakan gum arab (Gharsalloui, *et al.* 2007). Karinawatie *et al.*, (2008) menyatakan bahwa dekstrin mampu mempertahankan viabilitas BAL yang cukup tinggi yaitu berkisar 7,6 – 9,3 (log CFU/ml). Berikut ada beberapa penelitian terdahulu yang menggunakan maltodekstrin sebagai bahan penyalut dengan bakteri berbeda-beda yang disajikan pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Beberapa Penelitian Terdahulu dengan Penggunaan Maltodekstrin

Peneliti	Bakteri/Metode	Penyalut	Viabilitas
Permatasari <i>et al.</i> (2002)	<i>L. rhamnosus</i> SKG 34/spray	Maltodekstrin	4,78 x 10 ⁷ ±0,31
Sumanti <i>et al.</i> (2016)	drying <i>Lactobacillus plantarum</i> /spray	Maltodekstrin 10% dan susu skim 20%	97,76%
Pradipta <i>et al.</i> (2017)	drying <i>L. murinus</i> , <i>S. thermophilus</i> dan <i>P. acidilactici</i> /spray	Maltodekstrin dan susu skim (20% b/v)	83,94%, 90,53%, dan 93,89%
Ula (2016)	drying <i>Bifidobacterium bifidum</i> /oven vakum	Maltodekstrin 3% dan iota karaginan 3,5%	7,8 log cfu/g
Magfirah <i>et al.</i> (2001)	Isolat probiotik/spray drying	Gum Arab 10% dan Maltodekstrin 10%	4,2 log cfu/g

1. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dari jenis rumput laut *Eucheuma spinosum* adalah baskom, gelas ukur 100 ml, waterbath, *pH paper*, ayakan, spatula, *beaker glass* 1000 ml, oven, loyang, blender, gunting, dan timbangan digital. Alat yang digunakan untuk pembuatan mikroenkapsulasi adalah bola hisap, nampan, spatula, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *oven vacum*, gelas ukur 100ml, spuit 20ml, *beaker glass* 1000ml, *beaker glass* 50ml, dan pipet volume 10ml. Alat yang digunakan untuk pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* adalah rak tabung reaksi, tabung reaksi, bunsen, cawan petri, sprayer alkohol, bola hisap, pipet serologis, autoklaf, *incubator colony*, dan *Laminar Air Flow* (LAF).

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *semi refined carrageenan* (SRC) adalah rumput laut *Eucheuma spinosum* yang didatangkan dari perairan Kabupaten Sumenep Pulau Madura, Jawa Timur. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan SRC adalah KOH 6%, aquadest, CaCl 1,5%, CaOH₂ 6%, lakmus merah, KCl 1.5 %, kertas label, dan air. Pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan Nafis dan MRS A. Bahan utama pembuatan mikroenkapsul *Lactobacillus acidophilus* adalah iota karaginan dan bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahapan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Sugiyono (2008), mengemukakan bahwa metode penelitian eksperimen adalah cara ilmiah untuk mendapatkan data dengan tujuan dan kegunaan tertentu. Metode eksperimen diartikan juga suatu cara untuk mencari hubungan sebab-akibat antara dua faktor yang sengaja ditimbulkan oleh peneliti dengan mengurangi atau menyisihkan faktor-faktor lain yang mengganggu (Arikunto, 2010). Penelitian eksperimen juga merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti. Penelitian ini dilakukan dengan caranya memberikan *treatment* atau perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan suatu kejadian atau keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya. Metode ini dilakukan dengan cara memberikan variabel bebas kepada objek penelitian untuk mengetahui akibatnya terhadap variabel terikat. Variabel-variabel yang digunakan adalah sebagai berikut.

3.2.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel-variabel dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : penambahan *semi refined carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin dengan konsentrasi yang berbeda sebagai bahan pengenkapsulat

Variabel terikat : pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan pengering oven vakum

3.2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian bertujuan untuk mengetahui konsentrasi *semi refined carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin terbaik sebagai bahan pengenkapsulat

pada mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* terhadap viabilitasnya. Menurut Hanafiah (2009), penentuan banyaknya ulangan menggunakan rumus seperti berikut :

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan : t = Treatment / perlakuan

r = Replikasi / ulangan

sehingga banyaknya ulangan pada penelitian ini dapat dihitung sebagai berikut :

$$(6-1) (r-1) \geq 15$$

$$5 (r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 3$$

$$r \geq 4$$

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 2 faktor, 6 perlakuan dan 5 kali ulangan. Adapun desain rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 10.**

Tabel 10. Model Rancangan Percobaan Penelitian

Iota	Maltodekstrin	Ulangan					Total	Rerata
		1	2	3	4	5		
A ₁	B ₁	A ₁ B ₁	A ₁ B ₁	A ₁ B ₁	A ₁ B ₁	A ₁ B ₁		
	B ₂	A ₁ B ₂	A ₁ B ₂	A ₁ B ₂	A ₁ B ₂	A ₁ B ₂		
	B ₃	A ₁ B ₃	A ₁ B	A ₁ B	A ₁ B ₃	A ₁ B ₃		
A ₂	B ₁	A ₂ B ₁	A ₂ B	A ₂ B	A ₂ B ₁	A ₂ B ₁		
	B ₂	A ₂ B ₂	A ₂ B	A ₂ B	A ₂ B ₂	A ₂ B ₂		
	B ₃	A ₂ B ₃	A ₂ B	A ₂ B	A ₂ B ₃	A ₂ B ₃		

Keterangan :

- A₁ : konsentrasi SRC iota 4,5%
- A₂ : konsentrasi SRC iota 5%
- B₁ : konsentrasi maltodekstrin 4%
- B₂ : konsentrasi maltodekstrin 5%
- B₃ : konsentrasi maltodekstrin 6%

Kemudian dilakukan pengujian viabilitas *Lactobacillus acidophilus* lalu data diolah dengan analisa sidik ragam (ANOVA) sehingga diketahui perlakuan terbaik yaitu mikokapsul *Lactobacillus acidophilus* yang menghasilkan viabilitas tertinggi kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ 5%.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penelitian Pendahuluan

3.3.1.1 Persiapan Kultur Bakteri (Harmayani et al., 2001)

Kultur bakteri probiotik yaitu *Lactobacillus acidophilus* diperoleh dari Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Pembuatan biomassa bakteri probiotik mengacu pada Harmayani et al., (2001), kultur bakteri ditumbuhkan pada agar miring MRSA (*De Man, Rogosa, Sharpe Agar*) (Oxoid, Inggris), kemudian diambil sebanyak satu ose probiotik untuk ditumbuhkan pada media MRSB (Oxoid, Inggris) kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya diambil sebanyak 1 mL untuk ditumbuhkan kembali dalam 1000 mL media MRSB yang akan digunakan untuk produksi biomassa. Biomassa yang dihasilkan kemudian dipanen menggunakan alat sentrifugasi 5000 × g selama 20 menit. Selanjutnya, biomassa dicuci dua kali menggunakan 0,1 M buffer fosfat. Konsentrasi biomassa yang dihasilkan adalah 9 Log CFU mL⁻¹. *Flow Chart* pembuatan kultur bakteri dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

3.3.1.2 Pembuatan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota (Setijawati et al., termodifikasi, 2012)

Rumput laut *Eucheuma spinosum* pertama dicuci sampai bersih dengan air yang mengalir lalu dijemur hingga kering. Rumput laut yang sudah kering kemudian ditimbang 20 gr (5% dari akuades) dengan timbangan digital, disiapkan Ca(OH)_2 6% yang dilarutkan dalam akuades 400 mL, lalu diaduk sampai merata menjadi larutan, kemudian rumput laut ditimbang 20 gr lalu diekstraksi ke dalam larutan Ca(OH)_2 6%. Pada proses selanjutnya bahan diekstraksi ke dalam *waterbath* selama 90 menit dengan suhu 70-74°C. Kemudian setelah diekstraksi ditambahkan CaCl_2 3 gr (0,75%). Setelah itu dilakukan pencucian dengan air mengalir sampai bau alkali hilang (pH netral). Lalu dikeringkan dengan oven dengan suhu 60°C hingga kering, kemudian setelah dilakukan pengovenan lalu proses selanjutnya dilakukan penghalusan dengan menggunakan blender. Bahan yang sudah halus kemudian diayak dan menjadi serbuk iota atau *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma spinosum*. *Flow chart* dan dokumentasi pembuatan SRC *Eucheuma spinosum* dapat dilihat pada **Lampiran 2** dan **3**.

3.3.1.3 Pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) (Simorangkir, 2016)

Pengujian *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Tujuan dari pengujian FT-IR adalah untuk mengetahui gugus fungsional yang terdapat pada *semi refined carrageenan* (SRC) iota yang didapatkan dari hasil ekstraksi rumput laut jenis *Eucheuma spinosum*.

Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui hasil spektrum yang dihasilkan oleh transformasi infrared. Sedangkan spektrum infrared sendiri diperoleh dari penstransmisian cahaya yang melewati sampel kemudian diplot sebagai intensitas fungsi energi, panjang gelombang (μm) atau bilangan gelombang (cm^{-1}). Prinsip kerja dari spektrofotometer ini adalah dengan menggunakan metode absorpsi dimana berdasarkan pada perbedaan penyerapan radiasi infrared.

Prosedur kerja analisa *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) yaitu sebagai berikut :

- Dilakukan preparasi sampel dengan menimbang serbuk KBr halus 0,1 g
- Ditimbang sampel padat kering 1% dari berat KBr
- Dicampurkan serbuk KBr dan sampel dalam *mortal agate* sampai halus dan homogen
- Campuran yang sudah homogen kemudian dibuat pellet KBr dengan alat *Mini Hand Press*
- Setelah terbentuk pelet siap dianalisis

Alat yang digunakan untuk pengujian FT-IR adalah Shimadzu FTIR-8400. Cara pengoperasiannya yaitu :

- Dihubungkan dengan sumber listrik kemudian tekan "ON" pada alat dan komputer
- Klik ganda shortcut Shimadzu FTIR-8400, tunggu beberapa saat sampai keluar "dialogbox" klik OK
- Layar komputer akan muncul menu "instrument" lalu klik FTIR 840010

- Untuk memulai pengukuran dengan klik “BKGStart” di layar akan muncul gambar spektra kemudian tunggu sampai spektra hilang
- Pengukuran dilakukan dengan menempatkan sampel siap ukur pada tempat sampel dari alat interferometer
- Kemudian klik “Sample Start” tunggu sampai diperoleh spektra
- Untuk memunculkan bilangan gelombang, klik “Peak Table” pada menu “Calc” tentukan Treshold dan Noise Level untuk pemunculan bilangan gelombang Kemudian klik “Print” pada menu “File” untuk mendapatkan printout.

Hasil pengujian FT-IR dari *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma spinosum* dan Maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 9** dan **Gambar 10**.

3.3.1.4 Pewarnaan Gram (Ibrahim et al., 2015)

Pada Pengujian pewarnaan gram langkah awal adalah membersihkan *preparat glass* dengan alkohol 70% kemudian difiksasi di atas bunsen, setelah itu dipijarkan jarum ose dan dicelupkan ke akuades lalu diberi juga sedikit akuades pada *preparat glass* menggunakan jarum ose, lalu jarum ose dipijarkan kembali dan diambil bakteri dari media MRSA yang telah ditumbuhi bakteri lalu diratakan di atas *preparat glass*, kemudian dikeringkan dan diangin-anginkan preparatnya, dan ditetaskan larutan zat warna *crystal violet* 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya dikeringkan dan diangin-anginkan lagi preparatnya, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, ditetaskan dengan larutan Lugol dan dibiarkan selama 1 menit lalu dicuci dengan air mengalir dan diangin-anginkan. Kemudian dicuci dengan alkohol 95% selama

30 detik, lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan, diberi larutan *basic fuchsin* atau *safranin* selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan kemudian diamati di bawah mikroskop. *Flow chart* dan dokumentasi pewarnaan gram dapat dilihat pada **Lampiran 4** dan **5**.

3.3.2 Penelitian Utama

3.3.2.1 Pembuatan Mikrokapsul dengan Metode Gel Partikel-Oven Vakum (Manojlovic *et al.*, modifikasi 2010)

Proses pembuatan mikrokapsul dengan menggunakan metode gel partikel- oven vakum antara lain :

- Disiapkan alat dan ditimbang SRC iota dan maltodekstrin sesuai dengan perlakuan perbandingan konsentrasi. Penambahan maltodekstrin bertujuan untuk mengurangi kekakuan dan aglomerasi selama penyimpanan serta meningkatkan stabilitas produk
- Ditambahkan 30 mL akuades dan dipanaskan di atas *hot plate* dengan *stirrer* hingga mencapai suhu 80 °C sampai homogen
- Setelah homogen, sol karaginan diangkat dari *hot plate* dan suhunya diturunkan hingga 40°C
- Dimasukkan kultur *Lactobacillus acidophilus* ke dalam sol karaginan sebanyak 30 mL sambil diaduk hingga homogen
- Campuran bakteri dan sol karaginan dimasukkan ke dalam larutan KCl 3,9 M menggunakan spuit 5 mL
- Dilakukan pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit
- Mikrokapsul yang didapat disaring menggunakan kertas saring sampai didapatkan residu

- Dikeringkan menggunakan oven vakum dengan suhu 35-40°C selama 24-48 jam
- Didapatkan serbuk mikrokapsul

Flow chart dan dokumentasi pembuatan mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada **Lampiran 6** dan **7**.

3.3.2.2 Pengujian Viabilitas Probiotik *Lactobacillus acidophilus* (Chavarri et al., modifikasi, 2010)

Pengujian viabilitas sel dilakukan beberapa proses dengan menggunakan MRS agar sebagai media dengan beberapa pengenceran dan metode tuang. Pengujian dilakukan dengan bahan kering mikroenkapsulasi. Pengujian viabilitas dapat dilakukan dengan cara, pertama diambil mikrokapsul sebanyak 1 g. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan NaFis 10 mL. Lalu dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* selama 30 detik. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat sebanyak 7 kali dan dilakukan penanaman secara duplo pada pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-7} dengan menggunakan metode tuang dalam media MRS-A dan dilakukan penambahan *sodium thiosulfate* 1% untuk mikroenkapsulat *Lactobacillus acidophilus*. 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), dengan rumus sebagai berikut :

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

Dengan *Total Plate Count* (TPC), kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba tersebut. *Flow chart* dan dokumentasi pengujian viabilitas dapat dilihat pada **Lampiran 8** dan **9**.

3.3.2.3 Diameter Enkapsulat (Purwaningsih *et al.*, 2010)

Analisa diameter dilakukan dengan menggunakan mikroskop. Langkah-langkah pengujian diameter enkapsulat yang harus dilakukan adalah, *object glass* dan *cover glass* dibersihkan dengan akuades, hal tersebut agar mencegah adanya kotoran pada *object glass* dan *cover glass* yang mempengaruhi hasil perbesaran sampel. Lalu diletakkan serbuk enkapsulat sedikit, kemudian diratakan dengan sendok bahan lalu ditambahkan sedikit akuades. Hal ini dapat bertujuan agar sampel dapat terlihat dengan jelas pada mikroskop. Setelah itu letakkan *cover glass* dengan sudut 45° dengan tujuan agar tidak terjadi gelembung pada preparat, agar tidak terjadi gelembung preparasi. Dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400-1000 kali. Pengamatan diameter dilakukan dengan klik “menu” pilih diameter lalu klik “ok”, lalu sampel diamati hingga muncul gambar yang sesuai, lalu atur diameter sampel dengan cara arahkan kursor pada sampel yang akan diukur kemudian klik “ok”. Foto gambar yang akan dipilih dengan tekan tombol “*Ekspose*” tunggu lampu *ekspose* tersebut menjadi hijau kemudian foto telah disimpan dan dilakukan pengukuran diameter sampel selanjutnya dengan cara klik mode 3x.

Flow chart dan dokumentasi analisa diameter enkapsulat dapat dilihat pada **Lampiran 10** dan **11**.

3.3.2.4 Pengujian Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 2007)

Pada analisa kadar air digunakan untuk dapat mengetahui jumlah air yang terkandung dalam suatu bahan dan produk pangan. Pada pengujian kadar air ditimbang bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya, lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 100 – 105 °C selama 3-5 jam. Setelah itu dikeringkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. *Flow chart* pengujian kadar air dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Dihitung persentase kadar air dalam bahan menggunakan rumus :

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

Dimana:

A = Berat kering botol timbang (g)

B = Berat kering botol timbang dan sampel awal (g)

C = Berat kering botol timbang dan sampel setelah dikeringkan (g).

3.3.2.5 Pengujian Aktivitas Air (a_w) (Susanto, 2009)

Aktifitas air (a_w) adalah air bebas yang terdapat dalam bahan pangan yang bisa dipakai untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri mempunyai a_w minimum yang dapat digunakan untuk pertumbuhannya yaitu pada a_w 0,90. Bahan yang baik untuk penyimpanan yang baik memiliki kadar a_w dibawah 70%. Prosedur kerja pengujian a_w adalah sebagai berikut :

- Dilakukan kalibrasi alat a_w meter dengan cara memasukkan larutan $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan ditutup kemudian dibiarkan selama 3 menit hingga menunjukkan angka 0,9
- Dibuka a_w meter kemudian dimasukkan sampel ke dalamnya
- Ditutup alat dan ditunggu selama 3 menit.
- Dibaca dan dicatat skala a_w meter. Jika skala temperatur diatas 20°C , maka pembacaan skala a_w ditambahkan sebanyak kelebihan temperatur dikalikan dengan faktor koreksi sebesar 0,002, begitu pula dengan temperatur di bawah 20°C . *Flow chart* pengujian aktivitas air (a_w) dapat dilihat pada **Lampiran 13**.



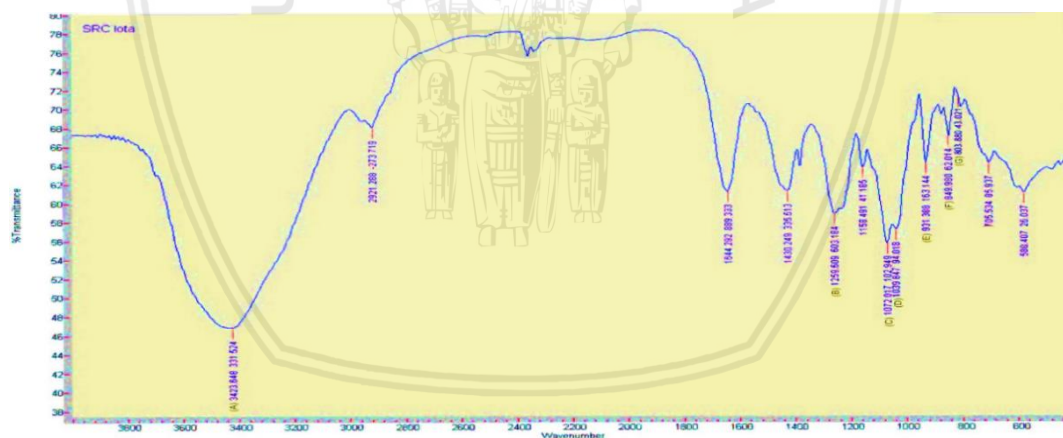
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian Pendahuluan

4.1.1 Spektrofotometer FT-IR SRC *Eucheuma spinosum* dan

Maltodekstrin

Fourier Transformed Infrared (FT-IR) merupakan salah satu alat atau instrumen yang dapat digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran dari sampel yang dianalisis tanpa merusak sampel. Spektra FT-IR pada karaginan *E. spinosum* dan maltodekstrin dilakukan untuk mengetahui gugus fungsional dari *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin. Hasil analisa spektrofotometer dari SRC iota dapat dilihat pada **Gambar 9**.



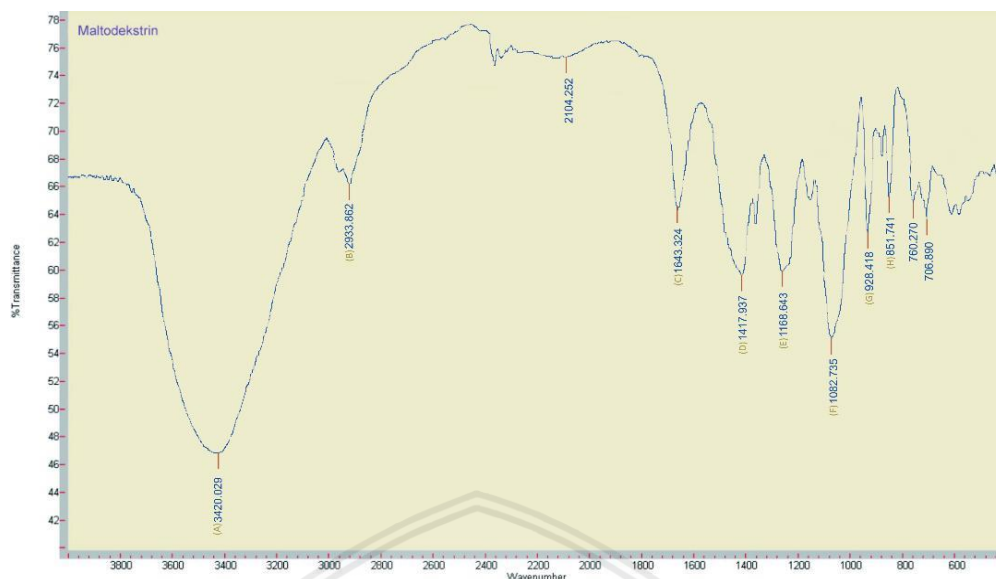
Gambar 9. Spektrum FTIR SRC Iota

Hasil uji FTIR SRC iota menunjukkan spektrum dengan nilai yang berbeda-beda yang telah ditandai dengan kode A, B, C, D, E, F, dan G. Spektrum yang terbaca mewakili gugus-gugus yang ada pada SRC iota. Daftar gugus fungsi yang terbaca dari sampel SRC iota dapat dilihat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR SRC Iota

Kode	Gugus Fungsi	Hasil Penelitian	Diharmi, (2011)
A	Hidroksil (O-H)	3423,648 cm ⁻¹	3201,83 cm ⁻¹
B	Ester sulfat (O-SO ₃ ⁻)	1259,609 cm ⁻¹	1210-1260 cm ⁻¹
C, D	Ikatan glikosidik (-CH ₂)	1072,017; 1039,847 cm ⁻¹	1010-1080 cm ⁻¹
E	3,6-anhidrogalaktosa	931,388 cm ⁻¹	928-933 cm ⁻¹
F	D-galaktosa-4-sulfat	849,980 cm ⁻¹	840-850 cm ⁻¹
G	3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat	803,880 cm ⁻¹	800-805 cm ⁻¹

Absorbansi SRC iota pada gugus hidroksil (O-H) akan muncul pada panjang gelombang 3423,648 cm⁻¹. Gugus fungsi ester sulfat (O-SO₃⁻) akan muncul pada panjang gelombang 1259,609 cm⁻¹. Gugus fungsi glikosidik (-CH₂) muncul pada bilangan 1072,017; 1039,847 cm⁻¹, gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa akan muncul pada panjang gelombang 931,388 cm⁻¹, gugus D-galaktosa-4-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 849,980 cm⁻¹, serta gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa-2-sulfat akan muncul pada panjang gelombang 803,880 cm⁻¹. Berdasarkan hasil yang terdapat pada **Tabel 11**, dapat disimpulkan bahwa karaginan yang dihasilkan oleh rumput laut jenis *Eucheuma spinosum* merupakan jenis iota karaginan. Hal ini karena didapatkannya gugus galaktosa 4-sulfat, 3,6-anhidrogalaktosa serta gugus ester sulfat yang merupakan karakteristik iota. Sehingga hasil penelitian pendahuluan ini dapat digunakan sebagai bahan penyalut pada penelitian utama. Sedangkan hasil identifikasi FTIR dari maltodekstrin dapat dilihat di **Gambar 10**.



Gambar 10. Spektrum FTIR Maltodekstrin

Hasil uji FTIR maltodekstrin menunjukkan spektrum dengan nilai yang bervariasi. Spektrum yang terbaca mewakili gugus-gugus fungsi yang ada di maltodekstrin. Gugus-gugus maltodekstrin dapat dilihat pada **Tabel 12**.

Tabel 12. Gugus Fungsional Pita Serapan FTIR Maltodekstrin

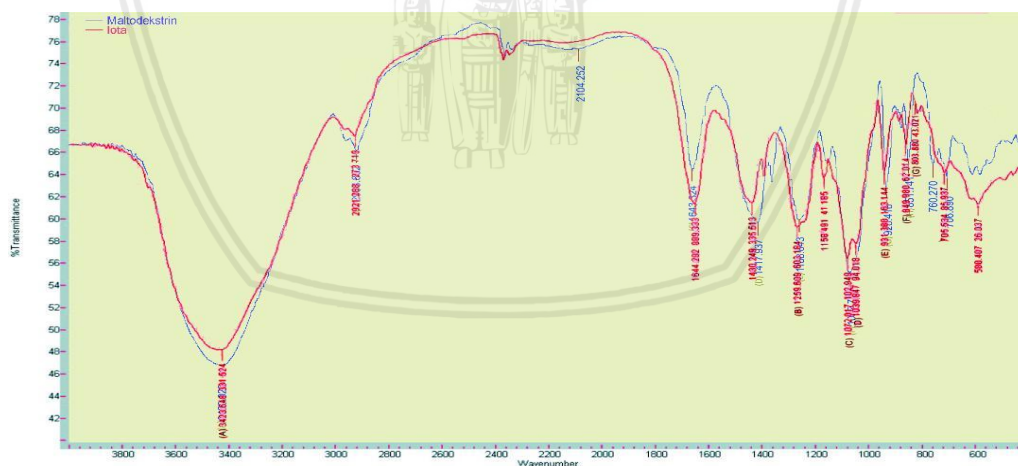
Kode	Gugus Fungsi	Hasil Penelitian	Krishnaiah <i>et al.</i> (2011)
A	O-H	3420,029 cm^{-1}	3345 cm^{-1}
B	C-H	2933,862 cm^{-1}	2936 cm^{-1}
C	C=O	1643,324 cm^{-1}	1647 cm^{-1}
D	-CH ₂	1417,790 cm^{-1}	1413 cm^{-1}
E	C-O	1168,643; 1082,735 cm^{-1}	1150; 1076 cm^{-1}
F, G	=CH; =CH ₂	928,418 cm^{-1}	931 cm^{-1}
H	C-H	851,741 cm^{-1}	854 cm^{-1}

Berdasarkan hasil karakterisasi dengan FT-IR maltodekstrin pada **Tabel 12**, muncul puncak pada serapan 3420,029 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus alkohol O-H, muncul puncak pada serapan 1643,324 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus alifatik C=O, muncul puncak pada serapan 2933,862 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus alkane C-H.

Spektra FTIR pada maltodekstrin dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi dari maltodekstrin dan untuk mengetahui DE (*Dextrose Equivalent*) yang terkandung dalam maltodekstrin. Gugus C-H alkana pada gelombang 3000-2850 cm^{-1} , sedangkan gugus O-H alkohol pada gelombang 3500-3200 cm^{-1} (Radhiyatullah, 2015).

4.1.1.1 Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN)

Jaringan polimer interpenetrasi atau *Interpenetrating Polymer Network* (IPN) adalah polimer campuran dimana kombinasi dari dua jenis polimer atau lebih terikat dalam bentuk jaringan tanpa ikatan kovalen antar jaringan atau dengan kata lain dua atau lebih jaringan tersebut akan terjerat sedemikian rupa dan tidak dapat dipisahkan, tetapi tidak terikat satu sama lain oleh ikatan kimia (hanya terikat secara fisika) (Banerjee et al., 2010). Jaringan polimer interpenetrasi antara SRC Iota dan maltodekstrin ditunjukkan ada **Gambar 11**.

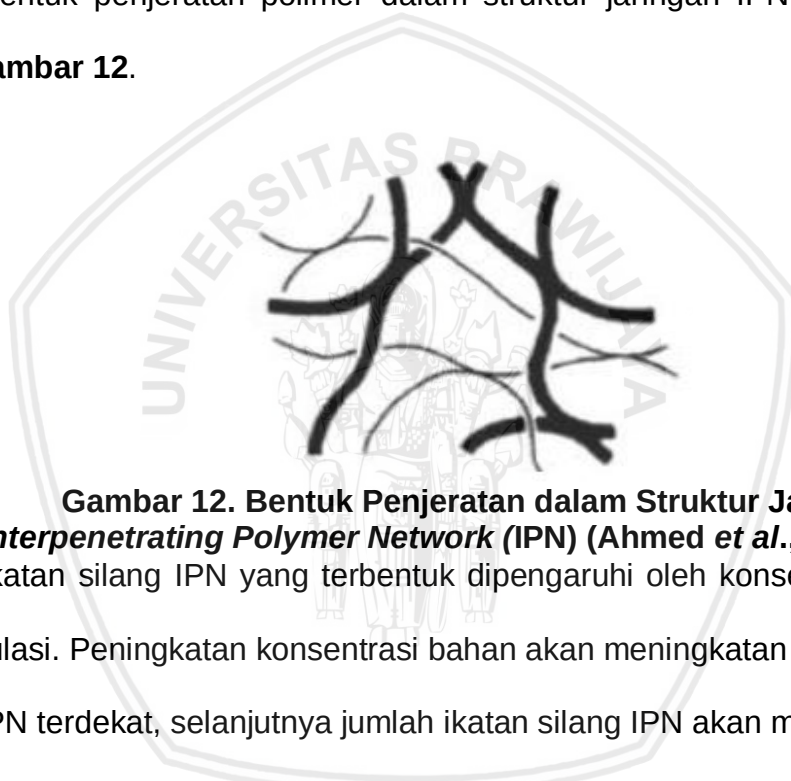


Gambar 11. Jaringan *Interpenetrating Polymer Network*

Pada **Gambar 11**, menunjukkan bahwa *Semi Refined Carrageenan* (SRC) Iota dan maltodekstrin dapat berikatan silang membentuk jaringan

polimer interpenetrasi atau *Interpenetrating Polymer Network* (IPN). Kedua bahan polimer tersebut dapat berinterpenetrating atau saling bertautan satu dengan yang lainnya dan saling mengayam (*entanglement*) membentuk *chain interlocking* (rantai yang saling mengunci). Ula (2016) menyatakan bahwa SRC iota dan maltodekstrin dapat disatukan karena memiliki gugus yang sama yaitu $-CH_2$, $O-H$, dan $C-H$ sehingga menghasilkan penyalut yang kompatibel.

Bentuk penjeratan polimer dalam struktur jaringan IPN dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Bentuk Penjeratan dalam Struktur Jaringan *Interpenetrating Polymer Network* (IPN) (Ahmed *et al.*, 2017)

Ikatan silang IPN yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi bahan enkapsulasi. Peningkatan konsentrasi bahan akan meningkatkan jumlah ikatan silang IPN terdekat, selanjutnya jumlah ikatan silang IPN akan mempengaruhi struktur matriks mikroenkapsulasi. Semakin banyak jumlah ikatan silang maka semakin baik kualitas mikroenkapsulasi yang dihasilkan hal ini dikarenakan adanya ikatan silang IPN yang terbentuk di antara jaringan bahan mampu mengurangi rongga-rongga yang tidak berikatan, sehingga mampu menghambat sineresis dan autohidrolisis ketika menghadapi pH rendah dari lingkungan luar (Setijawati, 2014).

4.1.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram merupakan pewarnaan dengan menggunakan satu macam zat warna dengan tujuan untuk melihat bentuk sel bakteri dan untuk mengetahui morfologi dan susunan selnya. Pewarnaan ini dapat menggunakan pewarnaan basa pada umumnya antara lain kristal violet, *metylen blue*, karbol, fuchsin, dan safranin. Bakteri dibagi menjadi 2 kelompok berdasarkan pewarnaan gramnya, yaitu bakteri gram negatif dan gram positif. Bakteri gram negatif akan menyerap warna merah dari safranin ketika dilakukan gram *staining*, sedangkan gram positif tetap mempertahankan zat warna ungu kristal sehingga waktu diamati di bawah mikroskop akan terlihat bakteri berwarna ungu. Hasil yang didapatkan pada uji pewarnaan gram bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Pewarnaan Gram Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

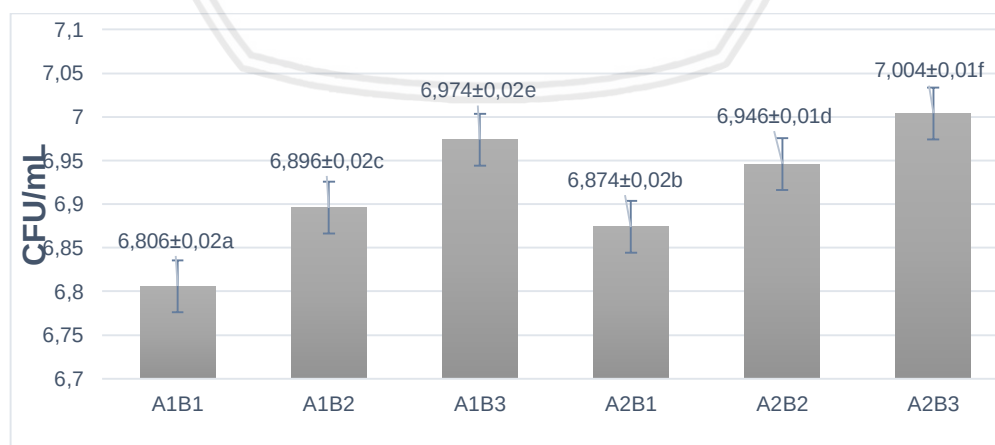
Berdasarkan hasil uji pewarnaan gram pada **Gambar 13** diperoleh bakteri dengan bentuk batang (basil), dan termasuk bakteri gram positif. Hal serupa juga diungkapkan oleh Bull *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa bakteri *Lactobacillus acidophilus* termasuk bakteri gram positif. Menurut

Pelezar dan Chan (2009), *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri gram positif lurus atau lengkung, nonmotil, anaerobik atau aerobik fakultatif. Untuk morfologi bakteri *Lactobacillus acidophilus* antara lain adalah dalam bentuk batang, bervariasi dari panjang dan ramping sampai kokobasilus pendek. Beberapa galur memperlihatkan tubuh-tubuh bipolar, granulasi internal atau penampilan seperti batang dengan reaksi gram atau pewarna biru metilen.

4.2 Hasil Penelitian Utama

4.2.1 Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Berdasarkan hasil sidik ragam (ANOVA) pengaruh penggunaan iota karaginan dan maltodekstrin terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan adanya perbedaan nyata dengan $F_{hitung} > F_{5\%}$, selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 11**. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi karaginan iota dan maltodekstrin yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap viabilitas *L. acidophilus*. Nilai pengaruh penggunaan iota karaginan dan maltodekstrin terhadap viabilitasnya dapat dilihat pada **Gambar 14**.



Gambar 14. Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dengan bahan pengenkapsulat (SRC iota : maltodekstrin) yang berbeda

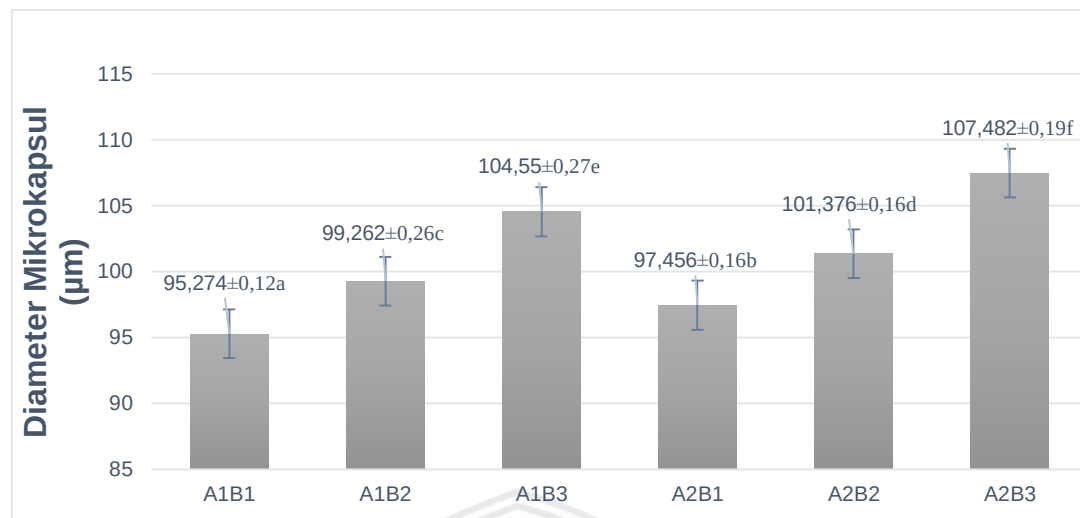
Pada **Gambar 14** memperlihatkan bahwa viabilitas tertinggi yaitu pada perlakuan A2B3 dengan perbandingan konsentrasi SRC iota 5 % dan maltodekstrin 6 % dengan nilai rata-rata viabilitas 7,004 log CFU/ml, sedangkan yang terendah dengan nilai viabilitas rata-rata sebesar 6,806 log CFU/ml ditunjukkan pada perlakuan A1B1 dengan perbandingan konsentrasi SRC iota 4,5 % dan maltodekstrin 4 %. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa viabilitas *Lactobacillus acidophilus* mengalami peningkatan. Peningkatan viabilitas *L. acidophilus* dipengaruhi karena penambahan enkapsulan yang berbeda (Rakhmanda, 2015). Hal ini karena semakin tinggi konsentrasi penyalut yang digunakan maka viabilitas sel yang didapat akan tinggi juga, sebab tingginya konsentrasi penyalut akan mampu melindungi sel dari kondisi lingkungan. Hasil ini sesuai dengan Mandal *et al.* (2006), yang melaporkan bahwa kemampuan probiotik sel jenis *lactobasilli* yang dimikroenkapsulasi mengalami peningkatan kelangsungan hidup terhadap panas dibandingkan dengan sel bebas tanpa mikroenkapsulasi. Selain itu Reddy *et al.* (2009), dan Madhu *et al.* (2011) melaporkan bahwa maltodekstrin yang ditambahkan sebagai bahan penyalut dapat mempertahankan viabilitas dan retensi sifat probiotik terhadap asam dan toleransi empedu.

Hal ini juga disebabkan karena SRC iota dapat membentuk suatu polimerisasi yang dapat melindungi sel hidup, sehingga dapat meningkatkan viabilitas *L. acidophilus*. Peningkatan viabilitas *L. acidophilus* disebabkan

karena proses gelasi yang dimiliki oleh masing-masing bahan penyalut itu sendiri. Kandungan ester sulfat pada iota karaginan pada hasil penelitian didapatkan kandungan sulfat iota karaginan rendah sehingga dapat mempengaruhi kekuatan gel dan viskositas, dengan kadar sulfat yang rendah sehingga dapat menaikkan gelasi pada struktur mikrokapsul. Wang (2014), menyatakan bahwa semakin tingginya gelasi maka dapat meningkatkan pemadatan dari struktur mikrokapsul dan dapat mengurangi kebocoran sel, serta dapat meningkatkan perlindungan terhadap sel yang ada di dalamnya.

4.2.2 Diameter Mikrokapsul

Data pengamatan dan analisa data diameter mikrokapsul dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) diameter mikrokapsul dengan konsentrasi SRC iota dan maltodekstrin yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata dengan $F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$. Pengaruh penambahan konsentrasi SRC iota dan maltodekstrin yang berbeda terhadap diameter enkapsulat *Lactobacillus acidophilus* ditunjukkan dengan diagram batang pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Diameter Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Pengenkapsulat (SRC Iota : Maltodekstrin) yang Berbeda

Gambar 15, menunjukkan bahwa diameter dengan nilai tertinggi pada perlakuan A2B3, dengan perbandingan konsentrasi SRC Iota dan maltodekstrin berturut-turut yaitu 5% dan 6%, yang ditunjukkan dengan hasil rata-rata diameter sebesar 107,482 µm. Sedangkan diameter dengan nilai terkecil didapatkan pada perlakuan A1B1 dengan hasil rata-rata diameter sebesar 95,274 µm yang tersalut SRC Iota dan maltodekstrin dengan perbandingan 4,5% dan 4%. Hasil diameter yang didapatkan bervariasi dan tidak seragam, hal ini dikarenakan jumlah penyalut yang berbeda sehingga menghasilkan diameter yang berbeda pula, selain itu juga dapat dipengaruhi karena faktor pengadukan yang kurang homogen serta penggunaan metode ekstrusi yang dapat menyebabkan ketidakseragaman mikrokapsul yang dihasilkan. Kelemahan metode ekstrusi yaitu *inefisiensi* dalam memproduksi mikrosfer (lebih kecil dari 500 µm) (Rathore *et al.*, 2013). Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran mikrosfer yang dihasilkan meliputi diameter lubang,

viskositas, jarak dari lubang ke larutan, konsentrasi, dan suhu larutan polimer (Andriola *et al.*, 2011). Hasil uji diameter mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada **Gambar 16**.



Gambar 16. Diameter Mikrokapsul

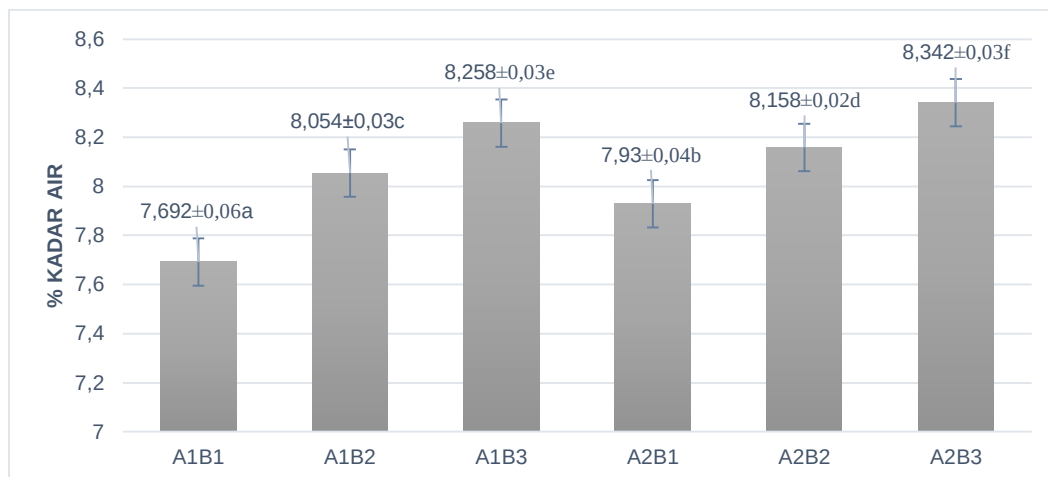
Mikrokapsul yang dihasilkan dalam penelitian cenderung tidak seragam. Hal ini dimungkinkan adanya partikel mikrokapsul yang terglomerasi. Menurut Septevani *et al.*, (2013) menyatakan bahwa penguapan air yang terjadi pada saat pengeringan tidak merata dan lebih lama sehingga partikel cenderung menyatu dan menyebabkan ukuran partikel tidak seragam. Seiring dengan peningkatan konsentrasi SRC iota dan maltodekstrin maka diameter yang dihasilkan semakin besar. Hal ini dimungkinkan karena terjadinya gelasi SRC iota dan maltodekstrin sebagai *coating* sehingga menyebabkan penyalut bertambah tebal. Semakin tinggi konsentrasi penyalut maka semakin besar diameter yang dihasilkan.

Setijawati *et al.*, (2011), membedakan mikroenkapsulat menjadi 3 macam berdasarkan ukurannya, yaitu nano mikroenkapsulat ($<0,2\mu\text{m}$), mikro

enkapsulat ($0,2-5000\mu\text{m}$) dan makro enkapsulat ($>5000\mu\text{m}$). Bentuk mikrokapsul yang dihasilkan keseluruhan berbentuk bulat, hal serupa juga dilaporkan oleh Fahimdanesh (2012) yang melaporkan bahwa ciri fisik mikrokapsul adalah bulat. Mikrokapsul yang terbentuk dapat berupa partikel atau bentuk agregat, dan biasanya memiliki rentang ukuran partikel antara 5 – 5000 μm .

4.2.3 Kadar Air Mikrokapsul

Pengujian kadar air pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kadar air di dalam mikrokapsul yang tersalut SRC Iota dan maltodekstrin yang nantinya akan berdampak pada masa simpan mikrokapsul itu sendiri. Semakin rendah kadar air dari suatu mikroenkapsulat maka peluang mengalami kerusakan akan semakin tinggi. Hasil dari penghitungan berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) pengaruh konsentrasi SRC Iota dan maltodekstrin pada pembuatan mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan $F_{\text{hitung}} > F_{5\%}$ (**Lampiran 13**). Pengaruh penambahan konsentrasi SRC Iota dan maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 17**.



Gambar 17. Kadar air mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan bahan pengenkapsulat (SRC iota : maltodekstrin) yang berbeda

Gambar 17 menunjukkan kadar air tertinggi dengan hasil rata-rata sebesar 8,342 % pada perlakuan A2B3 dengan perbandingan SRC iota dan maltodekstrin yaitu 5 % dan 6 % , sedangkan kadar air terendah pada perlakuan A1B1 dengan hasil rata-rata sebesar 7,692 % yang tersalut SRC iota dengan konsentrasi 4,5 % dan maltodekstrin 4 %. Berdasarkan penelitian Rajam dan Anandharamakhrisnan (2015), menyatakan bahwa kadar air mikrokapsul yang dihasilkan berkisar antara 5,52 – 9,47 g/100g. Arslan *et al.*, (2015), kadar air mikrokapsul yang dihasilkan berkisar antara 6,25 – 8,22 g/100g, tetapi dalam studi yang berbeda diperoleh kadar air mikrokapsul probiotik sebesar 7,4-9,9 g/100 g (Rizqianti *et al.*, 2009).

Kadar air pada perlakuan A2B3 lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dimungkinkan karena rasio konsentrasi penyalut. Konsentrasi penyalut yang digunakan yaitu SRC iota dan maltodekstrin berbanding lurus terhadap nilai kadar air, semakin tinggi konsentrasi bahan penyalut, semakin tinggi pula nilai kadar airnya. Hal ini dapat disebabkan

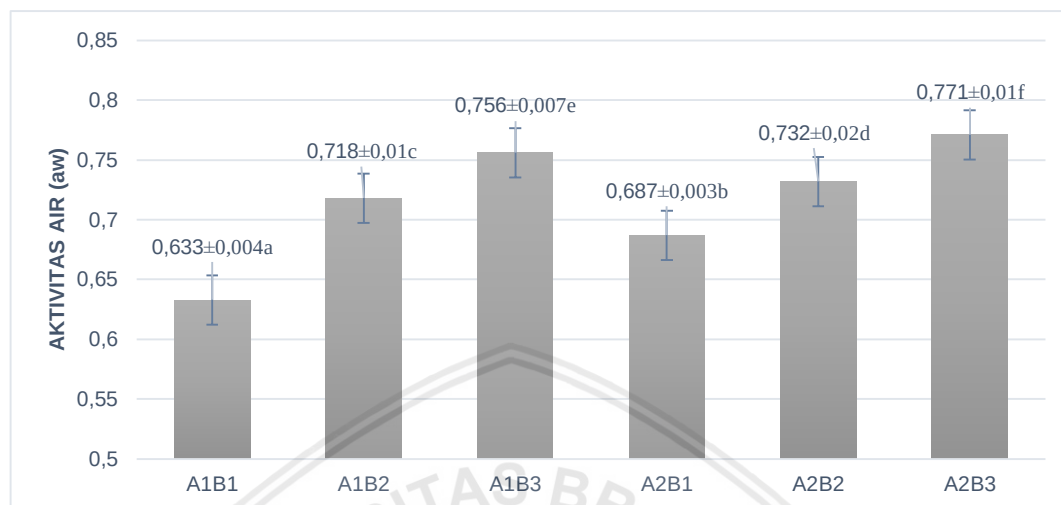
karena tingkat gelasi yang dimiliki oleh SRC iota dan maltodekstrin tersebut. Tripathi, dan Giri (2014) menyatakan bahwa tingginya kekentalan akan menyebabkan air yang terperangkap dalam struktur mikrokapsul semakin tinggi sehingga akan sulit menguap pada proses pengeringan. Kadar air yang dihasilkan juga berbanding lurus dengan hasil viabilitas *Lactobacillus acidophilus*. Apabila kadar air yang dihasilkan terlalu rendah maka dapat menyebabkan terbentuknya rongga pada dinding mikrokapsul sehingga dapat menurunkan laju viabilitas.

4.2.4 Aktivitas Air (a_w) Mikrokapsul

Aktivitas air atau *water activity* (a_w) 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 a_w tinggi pada umumnya cepat mengalami kerusakan, baik akibat pertumbuhan mikroba maupun akibat reaksi kimia tertentu seperti oksidasi dan reaksi enzimatik. Aktivitas air pada bahan pangan pada umumnya sangat mudah untuk dibekukan maupun diuapkan (Tapia *et.al.*, 2007).

Pengujian aktivitas air pada penelitian ini tujuannya untuk mengetahui kandungan aktivitas air (a_w) di dalam mikrokapsul berpenyalut SRC iota dan maltodekstrin yang akan mempengaruhi stabilitas pertumbuhan mikroba di dalamnya. Berdasarkan tabel sidik ragam (ANOVA) aktivitas air pengaruh konsentrasi SRC iota dan maltodekstrin pada pembuatan mikrokapsul terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan adanya perbedaan

yang nyata dengan $F_{hitung} > F_{5\%}$ (**Lampiran 14**). Pengaruh konsentrasi SRC iota dan maltodekstrin dapat dilihat pada **Gambar 18**.



Gambar 18. Aktivitas air mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan bahan pengenkapsulat (SRC iota : maltodekstrin) yang berbeda

Gambar 18, menunjukkan nilai aktivitas air tertinggi diperoleh pada perlakuan A2B3 dengan hasil rata-rata aktivitas air yang diperoleh sebesar 0,771 yaitu dengan perbandingan penyalut SRC iota 5 % dan maltodekstrin 6 %, sedangkan hasil terendah dengan hasil rata-rata 0,633 yang didapatkan pada perlakuan A1B1 yang tersalut SRC iota 4,5 %, dan maltodekstrin 4 %. Kurozawa *et al.*, (2009), menyatakan bahwa aktivitas air yang dihasilkan dari proses mikroenkapsulasi berpenyalut maltodekstrin berkisar antara 0,5 – 0,7. Aktivitas air dengan nilai 0,7 dapat mempengaruhi stabilitas mikrobiologi yang terdapat pada mikrokapsul probiotik sehingga dapat meningkatkan viabilitas bakteri yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian Hernandez *et al.*, (2014) aktivitas air mikrokapsul bakteri probiotik yang baik berkisar antara nilai 0,6 – 0,9.

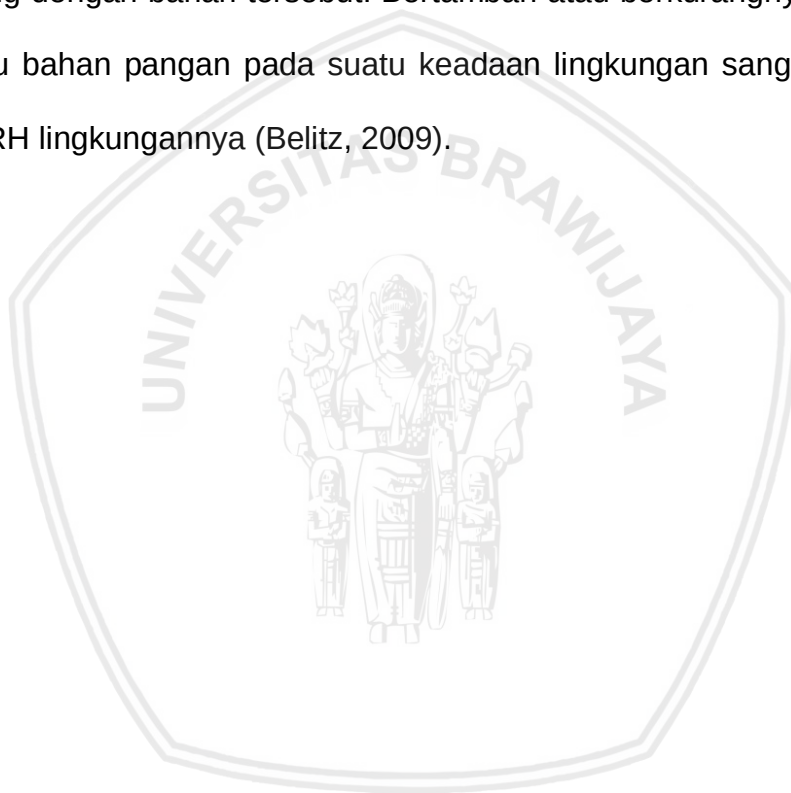
Pada perlakuan A2B3 menghasilkan aktivitas air yang tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini dimungkinkan karena struktur kimia yang terkandung di dalam maltodekstrin banyak mengandung ion H^+ yang dapat mengikat ion OH^- di dalam karaginan. Aktivitas air yang dihasilkan berbanding lurus dengan hasil viabilitas *Lactobacillus acidophilus* yang diperoleh. Hal ini dikarenakan aktivitas air mampu menunjukkan jumlah air bebas yang terkandung di dalam mikrokapsul yang dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroba. Hal tersebut penting untuk *transport nutrien*, membuang bahan sisa, mengadakan reaksi enzimatis, sintesis materi sel, dan mengambil bagian dalam reaksi biokimia lain seperti hidrolisis.

Bakteri gram positif memiliki a_w minimum untuk pertumbuhan pada 0,90. Ketika a_w lebih rendah di bawah level a_w minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme, sel tetap hidup (*viable*) untuk sementara waktu. Akan tetapi apabila a_w turun secara drastis, mikrobia akan kehilangan viabilitasnya secara umum dengan cepat di awal dan terus-menerus perlahan-lahan (Pradipta, 2017). Hubungan antara aktifitas air dan kadar air pada suatu bahan berbanding lurus. Nilai aktivitas air pada bahan yang semakin meningkat menunjukkan bahwa kandungan air pada bahan tersebut juga semakin meningkat. Peningkatan nilai aktifitas air dikarenakan adanya penyerapan uap air dari lingkungan luar (Nugrahani *et al.*, 2012).

Hubungan kadar air dengan aktivitas air (a_w) ditunjukkan dengan kecenderungan bahwa semakin tinggi kadar air maka semakin tinggi pula nilai a_w nya. Kadar air dinyatakan dalam persen (%) pada kisaran skala 0-100,

sedangkan nilai a_w dinyatakan dalam angka desimal pada kisaran skala 0-1,0 (Legowo dan Nurwanto, 2004).

Aktivitas air juga dapat didefinisikan sebagai kelembaban relatif kesetimbangan (*Equilibrium relative humidity* = ERH) dibagi dengan 100 . Aktivitas air menunjukkan sifat bahan baku itu sendiri, sedangkan ERH menggambarkan sifat lingkungan di sekitarnya yang berada dalam keadaan seimbang dengan bahan tersebut. Bertambah atau berkurangnya kandungan air suatu bahan pangan pada suatu keadaan lingkungan sangat tergantung pada ERH lingkungannya (Belitz, 2009).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh penambahan konsentrasi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin yang berbeda sebagai penyalut mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitasnya, diameter mikrokapsul, kadar air mikrokapsul, dan aktivitas air mikrokapsul. Penggunaan penyalut iota 5 % dan maltodekstrin 6 % (perlakuan A2B3) memberikan nilai viabilitas sel tertinggi yaitu sebesar 7,004 log CFU/mL. Sedangkan untuk parameter lain seperti diameter mikrokapsul 107,482 μm , kadar air 8,342 %, dan aktivitas air (a_w) sebesar 0,771.

5.2 Saran

Saran yang diberikan pada penelitian selanjutnya yaitu perlunya penelitian lebih lanjut tentang penambahan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) iota dan maltodekstrin sebagai penyalut pada pembuatan mikrokapsul berprobiotik dengan metode yang berbeda, peningkatan konsentrasi sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki kualitas viabilitasnya, serta pengaplikasiannya ke produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams J.M.F., 2009. Dislipidemia. In: *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 5. Jakarta: Interna Publishing pp. 1987.
- Adib, A., M. H. Wahid, P. Sudarmono, dan I. S. Surono. 2013. *Lactobacillus plantarum* pada Feses Individu Dewasa Sehat yang Mengonsumsi *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dari Dadih. *J. Teknologi Industri Pangan* Vol. **24** No. (2).
- Adriani, L., N. Indrayati., U. H. Tanuwiria., dan N. Mayasari. 2008. Aktivitas *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* Terhadap Kualitas Yoghurt dan Penghambatannya Pada *Helicobacter pylori*. *Jurnal Bionatura*. **10**(2): 129-140.
- Afriani, S. dan L. Haris. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Beberapa Starter Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih Asal Kabupaten Kerinci. *Agrinak*. Vol **01** No. (1) September 2011:36-42.
- Ahmed, J., Pawel P., dan Santanu B. 2017. Advances in Food Rheology and Its Applications. *Woodhead Publishing*.
- Anggadiredja, JT, Zatnika A, Purwanto H, Istini S. 2006. Rumput laut: pembudidayaan, pengelolaan, dan pemasaran komoditas perikanan potensial. Penebar Swadaya. Jakarta.
- _____, JT. 2009. Rumput Laut. Swadaya: Jakarta.
- Anandharamakrishnan C. 2015. Effect of whey protein-alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*. (4): 891-898.
- Andriola, A. K., Brun-graepi, S., Richard, C., Bessodes, M., Scherman, D., dan Merten, O. 2011. Cell Microcarriers and Microcapsules of Stimuli-Responsive Polymers. *Journal of Controlled Release*, **149**(3): 209–224.
- Anonim. 2018. Karagenan. <http://hanan08.student.ipb.ac.id/2010/06/19/karagenan/>. Diakses 02 Agustus 2018.
- Arikunto, S. 2010. Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik. Jakarta: Rineka Cipta.
- Ariyani, Novita. 2010. Formulasi Tepung Campuran Siap Pakai Berbahan Dasar Tapioka. *Skripsi*. Purwokerto : Universitas Jendral Sudirman.
- Arslan, S., M. Erbas., Tontul, dan A. Topuz. 2015. Microencapsulation of Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* with different wall materials by spray drying. *J. Food Science and Technology*. **63**:685-690.
- Aslan, M.L. 2005. *Rumput Laut*. Cetakan VII. KANISIUS. Yogyakarta. Hal. 97.
- Atmadja, W.S 1996. Pengenalan Jenis Algae Merah (*Rhodophyta*). Pengenalan Jenis-jenis rumput laut Indonesia. Puslitbang Osean LIPI.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia. 1992. SNI No 01-2593-1992. Dekstrin untuk Industri Pangan. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Banerjee, S., Gaurav C., Dilipkumar, Ashoke K.G., Santanu K. 2010. Investigation on Crosslinking Density for Development of Novel

- Interpenetrating Polymer Network (IPN) Based Formulation. *J. Sci. Ind. Res.* **69**:777-784
- Bartkowiak dan Hunkeler. 2001. *Carrageenan-oligochitosan Microcapsule: Optimization of The Formation Process. Colloids and Surfaces* **21**: 285-298.
- Belitz, H.D., Grosh, W. Dan Schieberbie., P., 2009. Springer Food chemistry 4th revised and extended edition. *Annual Review Biochemistry*, 79:655-681.
- Benita, S. (2006). *Microencapsulation: methods and industrial application*. (Edisi 2). Boca Raton: CRC Press.
- Blanchard, P.H. dan Katz, F.R. 1995. Starch Hydrolysates in Food Polysaccharides and Their Application. New York: Marcel Dekker Inc.
- Borza, A.D., N.T. Annan., D.I. Moreau., P.M. Wajtas., A. Ghanem., D. Rousseau., A.T. Paulson, and L.T. Hansen. 2010. Microencapsulation in Genipin Cross-Linked Gelatine-maltodextrin Improves Survival of *Bifidobacterium adolescentis* During Exposure to In Vitro Gastrointestinal Condition. *Journal of Microencapsulation* **27**(5): 387-399.
- Bull, M., S. Plummer., J. Marchesi., dan E. Mahenthiralingam. 2013. The Life History of *Lactobacillus acidophilus* as A Probiotic: A Tale of Revisionary Taxonomy, Misidentification and Commercial Success. *FEMS Microbiol Lett.* **349**: 77-87.
- Campo, V.L., Kawano,D.F., Silva Júnior, D.B., Ivone Carvalho, I., 2009, "Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis", *Carbohydrate Polymers*, **77**, 167-180.
- Charalampopoulos, D., S. S. Pandiella, and C. Webb. 2002. Growth Studies of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria In Cereal – Based Substrates. *Journal of Applied Microbiology*. Vol.**92**. p 851 – 859
- Chavarri, M., Maranon, I., Ares, R., dan Villaran, M. 2010. Microencapsulation of A Probiotic and Prebiotic In Alginate-Chitosan Capsules Improves Survival In Simulated Gastro-Intestinal Conditions. *International Journal of Food Microbiology*, **142**(2):185– 189.
- Deman, M.J. 1993. Kimia Makanan. Bandung: ITB.
- Dickinson E. 2003. Hydrocoloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloid* **17**:25-39. DOI. 10.1016/S0268-005X(01)00120-5
- Diharmi A., Dedi F, Nuri A, Endang S, dan Heruwati, 2011. Karakteristik Komposisi Kimia Rumput Laut Merah *Euchema spinosum* yang di Budidayakan dari Perairan Nusa Peninda, Takalar dan Sumenep. *Berkala Perikanan Terubuk* **39** (2) : 61-66.
- Distantina, S. Fadilla, Rochmadi, M. Fahrurrozi, dan Wiratni, 2010. Proses Ekstraksi Karagenan dari *Euchema cottoni*. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. 1411-4216.
- Ewing, W. G. 1982. Instrumental Methods of Chemical Analysis. *Fifth Edition*. New York: Mc Graw-Hill Book Company.

- Fahimdanesh, M. 2012. *Effect of Microencapsulation Plus Resistant Starch on Survival of Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum in Mayonnaise 55 Sauce*. *African Journal of Microbiology Research*. **6**(40). Pp. 6853-6858. DOI: 10.5897/AJMR12.1240.
- Fahmitasari, Y., 2004, Pengaruh Penambahan Tepung Karagenan Terhadap Karakteristik Sabun Mandi Cair. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Farnani HM, Nunik C, Nihla F, 2013. Pengaruh Kedalaman Taman Terhadap Pertumbuhan *Euchema spinosum* Pada Budidaya dengan Metode Rawai **4** (2) : 190-197.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2001. *Carrageenan*. 9. Prepared at the 57th JECFA.
- Fujita, Yoshitaka, Kuramoto, N., Kurano, Y., and Fujii, K. 2017. A Study on An Absolute Measurement of the Viscosity by the Falling Ball Method for a Primary Viscosity Standard : Development of A Velocity Measurement System for Falling Ball, *Int. J. Therm.*, **26**: 430-432.
- Fuller, R. 1989. Probiotics In Man And Animals. *J Appl Bacteriol*. **66**:365-378.
- Gbassi, G.K. and Vandamme, T., 2012. Probiotic encapsulation Technology: from microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics*, Vol. **4**, p. 149-163.
- Genu. 2001. *Carrageenan*. CO Kelko. Denmark.
- Gharsallaoui, A., G. Roudau., O. Chambin., A. Voilley, and R. Saurei. 2007. Applications of Spray-Drying in Microencapsulation of Food Ingredients: An Overview. *Food Research International* **40** : 1107-1121.
- Glicksman. 1983. *Food Hydrocolloid*. Vol **1**. Florida: CRC Press Inc Boca Raton.
- Guerrin, , D., Vuilleumard, J.C. and Subirade, M. 2003. Protection of bifidobacteria encapsulated in polysaccharide-protein gel beads against gastric juice and bile. *J Food Prot*. **66**: 2076–2084.
- Gurning, A, P., P. Cairns., A.R. Kirby., A.N. Round., H.J. Bixler dan V. J. Morris 1998. Characterising Semi-refined Iota-carrageenan Networks by Atomic Force Microscopy. *Carbohydrate Polymers* **36**: 67-72.
- Habibillah, M. F. 2009. Pengaruh Variasi Konsentrasi Starter Mikroba (*Lactobacillus acidophilus*) dan (*Bifidobacterium bifidum*) Terhadap Kualitas Yogurt Susu Kambing. *Skripsi*. Fakultas Sains dan teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Hanafiah, K. A. 2009. Rancangan Percobaan: Teori & Aplikasi. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Haryati T, 2011. Probiotik dan prebiotic sebagai Pakan Imbuhan Nonruminansia. Balai Penelitian Ternak, Bogor.
- Hernandez, P. Carranza., A. Lopez-Malo, dan M. T. Jimenez-Mungula. 2014. Microencapsulation Quality and Efficiency of *Lactobacillus casei* by Spray Drying Using Maltodextrin and Vegetable Extracts. *Journal of Food Research*, **3**(1): 61-69.

- Hidayah, N 2016. Perbandingan Berbagai Teknik Mikroenkapsulasi Pakan dalam Menghasilkan Daging Sapi Sehat. Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Bengkulu, Bengkulu.
- Hidayat, A.A. (2006). *Pengantar Kebutuhan Dasar Manusia: Aplikasi Konsep & Proses Keperawatan*. Jakarta :Salemba Medika.
- Hudha MI, Risa S, dan Suci D, S. 2012. Ekstraksi Karaginan dari Rumput Laut (*Euchema spinosum*) dengan Variasi Suhu Pelarut dan Waktu Operasi. *Teknik Kimia* **1** (1) 134-137.
- Ibrahim, A., Aditya F., dan Fila D. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **1**(2): 159-163.
- Imeson AP. 2000. Carragenan. Di dalam: Phillips GO, Williams PA (Eds). *Handbook of Hydrocolloids*. Boca Raton: CRC Press.
- Iqbal, M.N., dan Hadiyanto, 2016. Pembuatan Mikrokapsul Phycocyanin Menggunakan Maltodekstrin sebagai Bahan Pelapis dengan Metode Spray Drying. Program studi Teknik Kimia. Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro. Semarang.
- Isolauri S, Sutas Y, Kankaanpaa P, Arvilommi H, Salminen S. 2001. Probiotics: effect on immunity. *Am J Clinical Nutrition* **73**: 444s-450s.
- Jufri, M. 2004. Arah dan Perkembangan Liposome Drugs Delivery System. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **1** (2): 59-68.
- Kamisa. 1997. *Kamus Lengkap Bahasa Indonesia*. Surabaya: Kartika
- Kanbe, M. 1992. *Traditional Fermented Milks of The World*. In: Nazakawa, Y., and A. Hosono (ed.). *Function of Fermented Milks : Challenge for the Health Science*. Elsevier Science Publisher.
- Karinawatie, S., Kusnadi, J., dan Martati, E. 2008. *Efektivitas Konsentrat Protein Whey dan Dekstrin Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dalam Starter Kering Beku Yoghurt*. *Jurnal Teknologi Pertanian* **9** (2):121-130.
- Kearsley, M.W. and Dziedzic. 1995. *Handbook of Starch Hydrolysis Product and Their Derivatives*. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Khasanah, L.U., B.K. Anandhito, T. Rachmawati, R. Utami, dan G.J. Manuhara. 2015. Pengaruh Rasio Bahan Penyalut Maltodekstrin, Gum Arab, dan Susu Skim terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Mikrokapsul Oleoresin Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*). *Agritech* **35**(4), 414-421.
- Kholisoh, Gina. 2016. Uji Viabilitas Enkapsulasi Lactobacillus Casei Menggunakan Matriks Kappa Karaginan Terhadap Simulasi Cairan Asam Lambung. Skripsi: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H., 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int. Dairy J.*, Vol. **13**, p.3–13.
- Krisnaiah, D., Sarbatly, R., dan R. Nithyanandam. 2011. Chemical Engineering Research and Design Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. Extract

- by Spray Drying. *Chemical Engineering Research and Design*, **90**(5): 622–632.
- Kurozawa, L. E., K. J. Park, and M. D. Hubinger. 2009. Effect of Maltodextrin and Gum Arabic on Water Soption and Glass Transition Temperature of Spray Dried Chicken Meat Hydrolysate Protein. *Journal of Food Engineering* **91**: 287-296.
- Lachman, L., Lieberman, H.A. & Kanig, J.L. 1994. Teori dan praktek farmasi industri II. Penerjemah: Siti Suyatmi. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Laohasongkram K, Mahamaktudsanee T, Chaiwanichsiri S. 2011. Microencapsulation of macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Sci* **1**: 1660-1665. DOI: 10.1016/j.profoo.2011.09.245.
- Legowo, A. M., Kusrahayu dan S. Mulyani. 2007. *Teknologi Pengolahan Susu*. Semarang :Universitas Diponegoro.
- Madhu, A. N., Awasthi S. P., Reddy K. B. P. K., dan Prapulla S. G. 2011. *Impact of Freeze and Spray Drying on the Retention of Probiotic Properties of Lactobacillus fermentum*: an in vitro evaluation model. *Int J Microbial Res* **2**: 243-251.
- Magfirah., R.G. Budji, dan Sartini. 2014. Uji Viabilitas Isolat Probiotik Asal Saluran Pencernaan Itik Pedaging (*Aces domestiscus*) yang Dienkapsulasi dengan Metode Spray Drying. Fakultas Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Mandal, S., Puniya A. K., dan Singh K. 2006. *Effect of Alginate Concentration on Survival of Microencapsulated Lactobacillus casei NCDC 298*. *Int Dairy J* **16** : 1190-1995. DOI: 10.1016/j.idiaryj.2005.10.005.
- Manojlovic, V., Nedovic V.A., Kailasapathy., dan Zuidam. 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.
- Mariana, E., dan Hilda. 2012. Pengaruh Suplementasi Tepung Terigu Terhadap Pertumbuhan dan Laju Pengasaman Probiotik *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. **4**(3): 14-19.
- Moore G.R.P., do Canto LR, Amante ER, Soldi V. 2005. Cassava and corn starch in maltodextrin production. *Quim Nova* **28**: 596-600. DOI: 10.1590/S0100-40422005000400008.
- Muis, Y. 2017. Mikroenkapsulasi Minyak Ikan Paro-paro (*Mystacoleucus padangensis*) Menggunakan Metode Spray Drying untuk Aplikasi Nutrisi Makanan. *Jurnal Kimia Mulawarman* , Vol. **14**, No. 02, 108-114.
- Murdinah, 2011. Prospek pengembangan produk berbasis rumput laut *Euchema spinosum* dari Nusa Penida, Bali, Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Nagao, F., M. Nakayama, T. Muto and K. Okumura. 2000. Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain shirota on the immune system in healthy human subjects. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **64** (12): 2706-2708.

- Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, Sada A & Orlando P. 2009. Fermentatif Ability of Alginate-prebiotic Encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and Survival under Simulated Gastrintestinal Condition. *Journal of Fungsional Food*. **1**:319-323.
- Neha, Arora, Kamaljit, Singh. Ajay, Bilandi. Tarung, Garg. 2012. Probiotic as Effective Tratment of Disease. *International Research Journal Of Pharmacy : India* ISSN : 2230-8407 : 98.
- Nugrahani, O. P., Siti A. B., dan Amir H. 2012. Stabilitas Mikrokapsul *Spirulina platensis*.
- Oviantri, Vivi, dan Parwata. 2007. Optimalisasi Produksi *Semi Refined Carrageenan* (SRC) dari Rumput Laut *Eucheuma cottoni* dengan Variasi Teknik Pengeringan dan Kadar Air Bahan Baku. Lembaga Penelitian Universitas Pendidikan Ganesha Bali.
- Parameswari, A., Kuntari, dan S., Herawati 2013. Daya Hambat Probiotik Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Fakultas Kedokteran Gigi. Univesritas Airlangga, Surabaya.
- Pebrianata E. 2006. Pengaruh pencampuran kappa dan iota karagenan terhadap kekuatan gel dan viskositas karagenan campuran [skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Pelezar, M. J., dan Chan E. C. S. 2009. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI – Press: Jakarta. Hal. 553.
- Peranginangin, R., E. Sinurat dan M. Darmawan. 2013. Memproduksi Karaginan dari Rumput Laut. PS : Jakarta.
- Pereira, L., Amado, A. M., Critchley, A. T., Velde, F. Van De., dan Ribeiro-claro, P. J. A. 2009. Food Hydrocolloids Identification of Selected Seaweed Polysaccharides (Phycocolloids) by Vibrational Spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). *Food Hydrocolloids*, **23**(7): 1903–1909.
- Permatasari, A.K., A. Nocianitri, dan A.S. Duniaji. 2015. Viabilitas *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 dalam Berbagai Jenis Enkapsulan dan Suhu Pengujian. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana. Denpasar.
- Poncomulyo, T.,. 2006. Budi Daya Dan Pengolahan Rumput Laut. PT Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Pradipta., Monica, S. I., dan Sri Harimurti. 2017. Pengaruh Mikroenkapsulasi Probiotik Bakteri Asam Laktat Indigenous Unggas terhadap Kemampuan Eksklusi Kompetitif pada *Salmonella enteritidis* dan *Escherichia coli* secara In Vitro. *Buletin Peternakan*, **41**(2): 134–141.
- Praja, D.I. 2011. *The Miracle of Probiotics*. DIVA Press. Yogyakarta.
- Prasetyowati., Corrine J.A., dan Devi A. 2008. Pembuatan Tepung Karaginan Dari Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengendapan. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sriwijaya. Palembang.

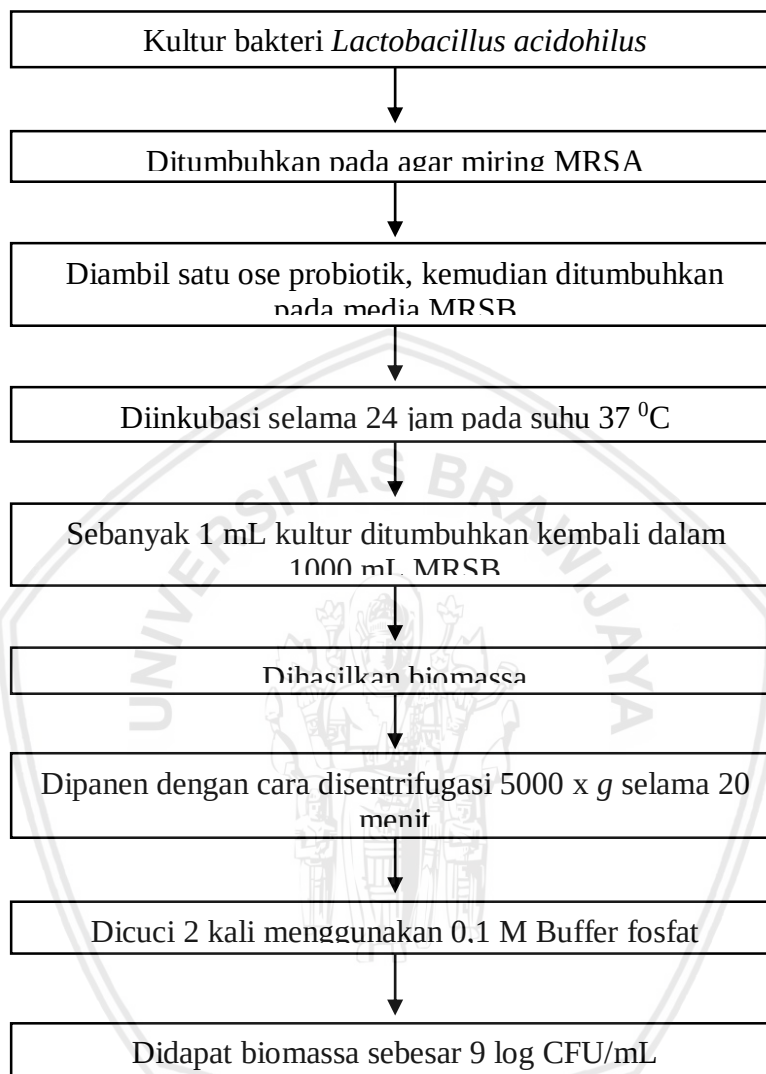
- Pritanti, L. 1995. Uji Viabilitas *Candida Tropicalis*, Strain G XIII 2.A. Terhadap Senyawa Fenol Pada Medium Air Laut Sintetik. Laporan Penelitian Magang Balibang Mikrobiologi. Bogor: LIPI.
- Purwaningsih, W., Prasetya, A., dan Hasokowati, W. 2010. Pengaruh Mikrokapsul dari Urea-Formaldehid: Pengaruh Waktu dan Perbandingan Reaktan pada Pembuatan Resin Terhadap Proses Mikroenkapsulasi. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses 2010*, **5**(2): 1–6.
- Radhiyatullah, A., Indriani, N., dan Hendra, M. G. 2015. Pengaruh Berat Pati dan Volume Plasticizer Gliserol terhadap Karakteristik Film Bioplastik Pati Kentang. *Jurnal Teknik Kimia USU*, **4**(3): 35–39.
- Rakhmanda, A. A. 2015. Pengaruh Konsentrasi Karaginan *Eucheuma spinosum* dan Kitosan Mix sebagai Bahan Pengenkapsulat Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rathore, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W., Wan, P., dan Heng, S. 2013. Microencapsulation of Microbial Cells. *Journal of Food Engineering*, **116**(2): 369–381.
- Raton, F.L Boca and C.K Smoley. 1993. Everything Added to Food in the United States. <http://wikipedia.org/wiki/gellingagent>. Tanggal akses 6 Agustus 2018.
- Reddy G, Altaf MD, Naveena BJ, Venkateshwar M, Kumar EV. 2009. Amylolytic bacterial lactic acid fermentation-A review. *Biotechnology Advances*. **26**(1): 22–34. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.07.04.
- Rizal, S Maria, E., Fibra N, dan Artha, R. T. 2013. Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *J. Kim. Terap. Indones.*, **18** (1) ; 63-71.
- Rizqiaty, H., B S L Jenie., N Nurhidayat, dan C C Nurwitri. 2009. Karakteristik Mikrokapsul Probiotik *Lactobacillus plantarum* yang Dienkapsulasi dengan Susu Skim dan Gum Arab. **34**(2): 139-144.
- Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., dan Mattila-Sandholm, T. 2002. Gut Bacteria and Health Foods - The European Perspective. *International Journal of Food Microbiology*, **78**(1–2): 99–117.
- Salazar, R., L.A. Perez-Lopez, J.L. Arroyo, B.A. Alanis Garza, and N.W. de Torres. 2007. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Plants from Northeast of Mexico. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **41**(2) : 233-236, doi:10.1093/ecam/nep127.
- Salminen, S. dan A. Von-Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects 2nd Ed*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Sandine, W.E., 1976. New Techniques in Handling Lactic Cultures to Enhance Their Performance. *J.Dairy Sci.* **60**(5), 822-828.
- Semyonov D, Ramon O, Kaplun Z, Levin-Brener L, Gurevich N, and Shimoni E. 2011. Microencapsulation of *Lactobacillus paracasei* by Spray Freeze Drying. *Food Res Int* **43** : 193-202. DOI:10. 1016/j.foodres.2009.09.028.

- Septevani, A., D. Sondari, dan M. Ghozali. 2013. Pengaruh Teknik Pengering Semprot (*Spray Drying*) dalam Mikroenkapsulasi Asiaticoside dan Ekstrak Jahe. *Jurnal Sains Materi Indonesia*. **14**(4) : 248-252.
- Setijawati, D., Susinggih., Aulaniam., dan Imam . 2011. Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* dengan Bahan Penyalut Karaginan Semi Murni Jenis *Eucheuma cottoni*. *Jurnal Teknologi Pangan*. **2**(1): 50-67.
- _____, S. Wijana, Aulani'am, dan I. Santosa. Juni, 2012. Penggunaan Carrageenan dengan Metode Proses Berbeda (SRC dan RC) sebagai Bahan Pengenkapsulat *Lactobacillus acidophilus* terhadap Viabilitas dan Struktur Mikrokapsul secara in Vitro. *Jurnal Teknologi Pangan* **3**(1). Universitas Brawijaya, Malang.
- _____. 2014. Carrageenan from *Eucheuma sp* and Concentration Difference As Encapsulation Material Toward *Lactobacillus acidophilus* Viability At Simulation GI Tract pH Condition. *J. Basic. Sci. Res.* **4**(6): 261-268.
- Shitandi, A., M. Alfred, and M. Symon. 2007. Probiotic characteristic of lactococcus strain from local fermented *Amaranthus hybridus* and *Solanum nigrum*. *African Corp Science Confrence Proceedings* **8**:1809-1812.
- Shuler, M. dan Kargi, F., 2002, *Bioprocess Engineering Basic Concepts 2nd Ed.*, Prentice Hall, New Jersey
- Simorangkir, M., Barus, T., Surbakti, R., dan Simanjuntak, P. 2016. Isolation and Toxicity of Steroidal Alkaloid Glycoside from Fruits of Ranti Hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume). *Asian Journal of Chemistry*, **28**(1): 203–206.
- Snydman, D. 2008. The Safety of Probiotics. *Clinical Infectious Diseases*: (46): S104–11.
- Sudarmadji, S., Harono, B. dan Suhardi. 2007. Analisis Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Sugiyono. 2008. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung : ALFABETA
- Suryaningrum, Th.D. 2005. Kajian Sifat-sifat Mutu Komoditi Rumput Laut Budidaya Jenis *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum*. Tesis. Program Pascasarjana. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB, Bogor.
- Susanto, A., 2009. Uji Korelasi Kadar Air, Kadar Abu, Water activity dan Bahan Organik pada Jagung di Tingkat Petani, Pedagang pengumpul dan Pedagang Besar.Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Hal 835.
- Tapia, M.S, Alzamora, S.M, and Chairife, J. 2007. Effect of water activity (aw) on microbial stability : As a hurdle in Food Prevervation. In : *water Activity in Foods : Fundamentals and Applications*. Barbosa-Canovas. Blackwell Publishing. Iowa. USA.

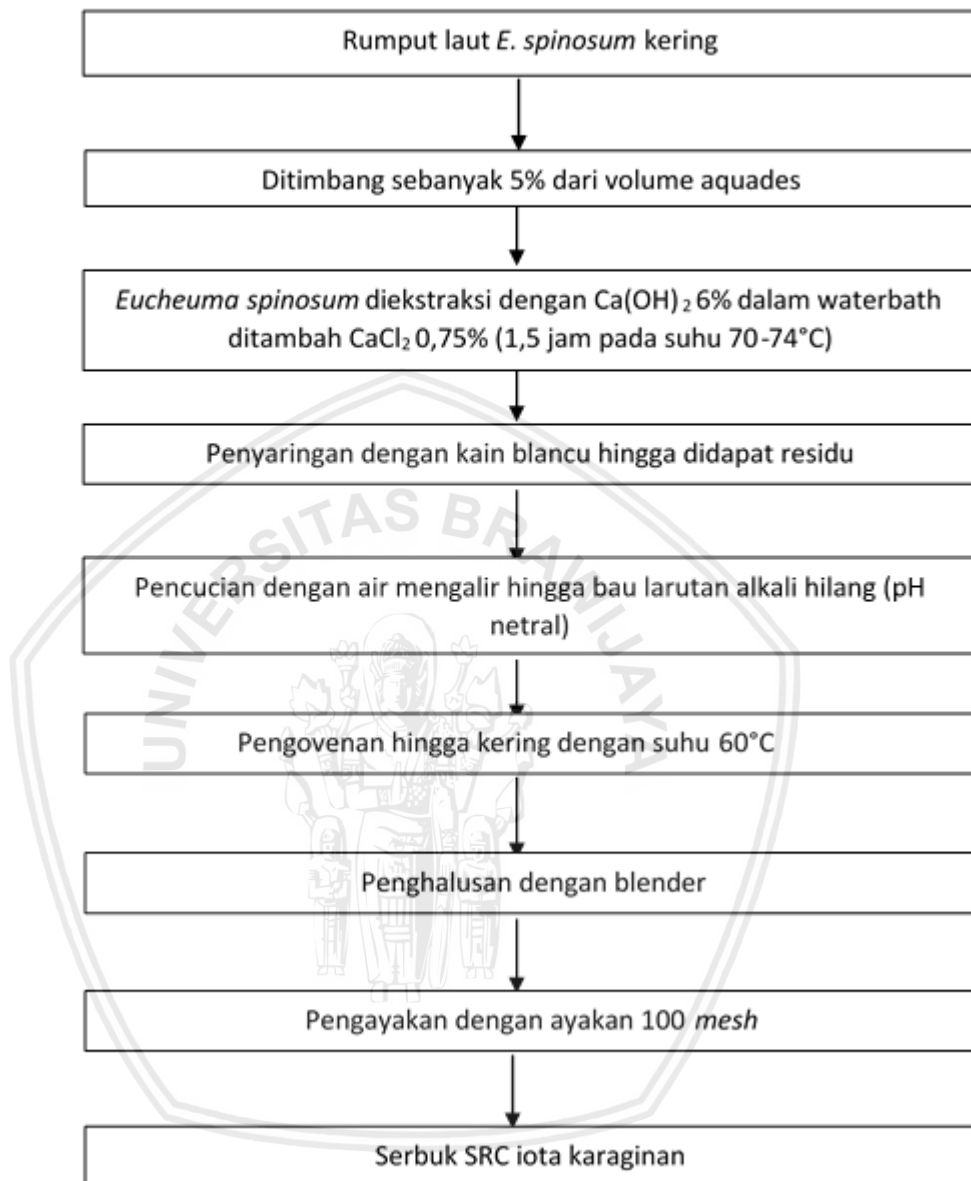
- Taufik, E. 2004. Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Berbagai Starter Bakteri Probiotik yang Disimpan pada Suhu Rendah: Karakteristik Kimiawi. *Med. Petern.* **27**: 88-100.
- Tenney, D. 1996. *Acidophilus*. Woodland Publishing. Pleasant Grove.
- Thomas, W. R. 1997. Konjac Gum di dalam Thickening and Gelling Agents for Food. A. P. Imeson (ed.). Blackie Academic and Professional, London.
- Triana, E., dan N. Nurhidayat. 2006. Seleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16s RNA. *Biota*, **12**: 55-60.
- _____. 2007. Viability of encapsulated *Lactobacillus* sp. Mar 8. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*, **7**(2), 114–117.
- Trimawithana, T.R., S. Young., D.E. Dunstan, dan R.G. Alany. 2010. *Texture and Rheological Characterization of Kappa and Iota Carrageenan in The Presence of Counter Ions. Carbohydrate Polymers* **82**(1): 69-77.
- 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.
- Ula, N. 2016. Pengaruh Konsentrasi Semi Refined Carrageenan Iota dan Maltodekstrin pada Pembuatan Mikrokapsul terhadap Viabilitas *Bifidobacterium Bifidum*. Skripsi. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Brawijaya Malang.
- Umer, H., Nigam H., Tamboli A.M., dan Nainar M.S.M. 2011. *Microencapsulation : Process, Techniques, and Applications*. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences ISSN : 2229-3701.
- Venkatesan, P., Manavalan, R., & Valliappan, K. (2009). Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *J. Pharm. Sci. & Res.*, **1**, 26-35.
- Wang, R., Tian, Z. and Chen, L. 2014. A novel process for microencapsulation of fish oil with barley protein. *Food Research International* **44**(9): 2735-2741
- Widiyaningsih, E N. 2011. Peran Probiotik untuk Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, **4**(1) : 14-20.
- Winarno F.G. 1996. Teknologi Pengolahan Rumput Laut. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- _____. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta. Gramedia Pustaka Utama.
- Xiaodong, P. F., Tianxing, C., Honggang, W., and Zhanyu, Z. T. 2009. The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, **20**, pp 598–602.
- Yoshizawa, H. 2004. Trends in Microencapsulation Research. *KONA* **22**: 23-31.
- Young, S.L., X. Sarda, and M. Rosenberg, 1993. Microencapsulating Properties of Why Proteins1. Microencapsulation of Anhydrous Milk Fat. *Journal Dairy Science*, **76**.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Flow Chart Pembuatan Kultur Bakteri (Harmayani *et al.*, 2001)



Lampiran 2. *Flow Chart* Pembuatan Semi Refined Carrageenan (SRC) *Eucheuma spinosum* (Setijawati et al., termodifikasi, 2012)



Lampiran 3. Dokumentasi Pembuatan Semi Refined Carrageenan (SRC)
Eucheuma spinosum



Rumput laut *E. Spinosum* ditimbang sebanyak 5% dari volume aquades



Rumput laut *E. Spinosum* di Ekstraksi



Pengovenan dengan suhu 60 °C



Pencucian dengan air mengalir



Penghalusan dengan blender



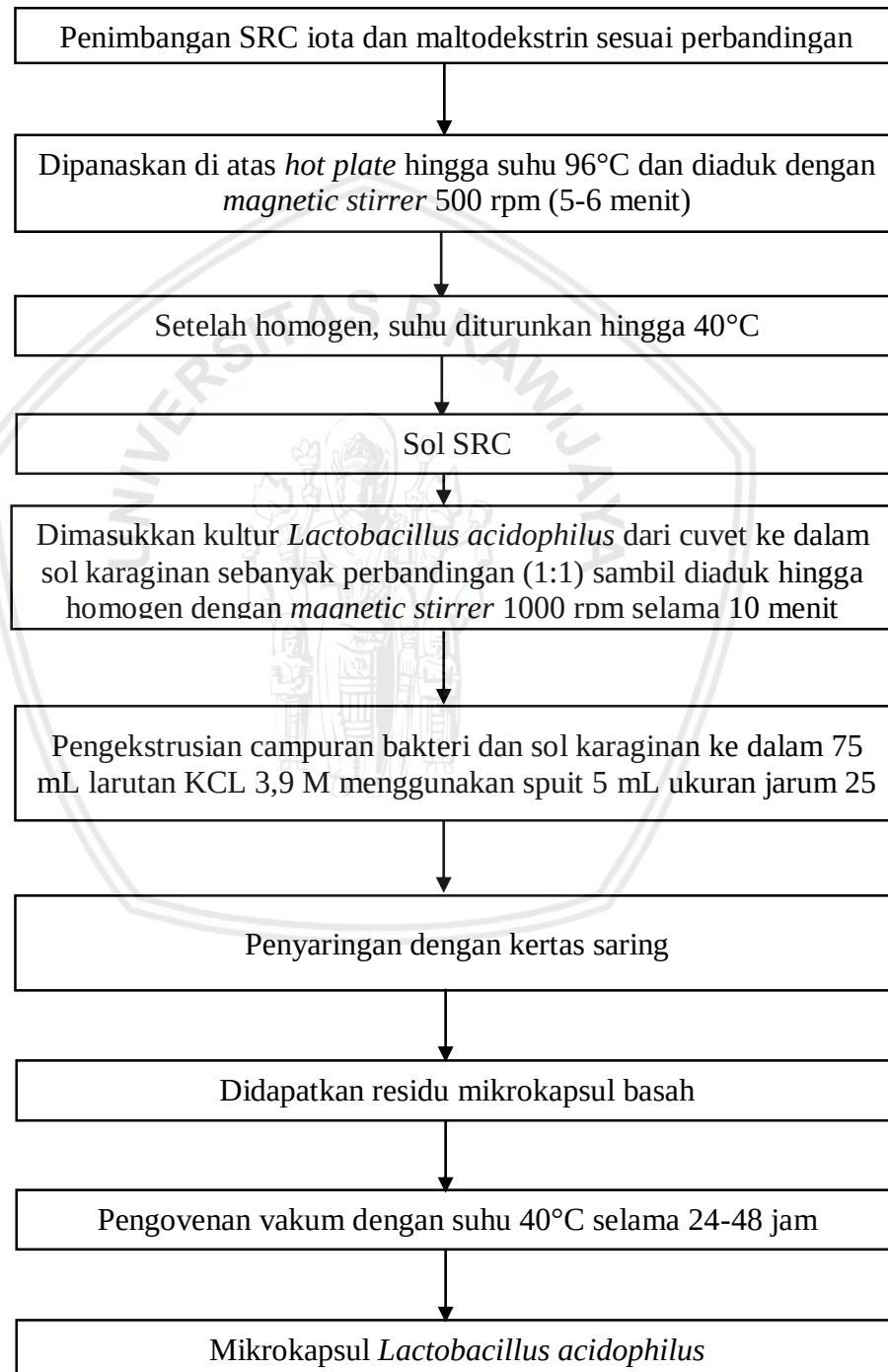
Pengayakan



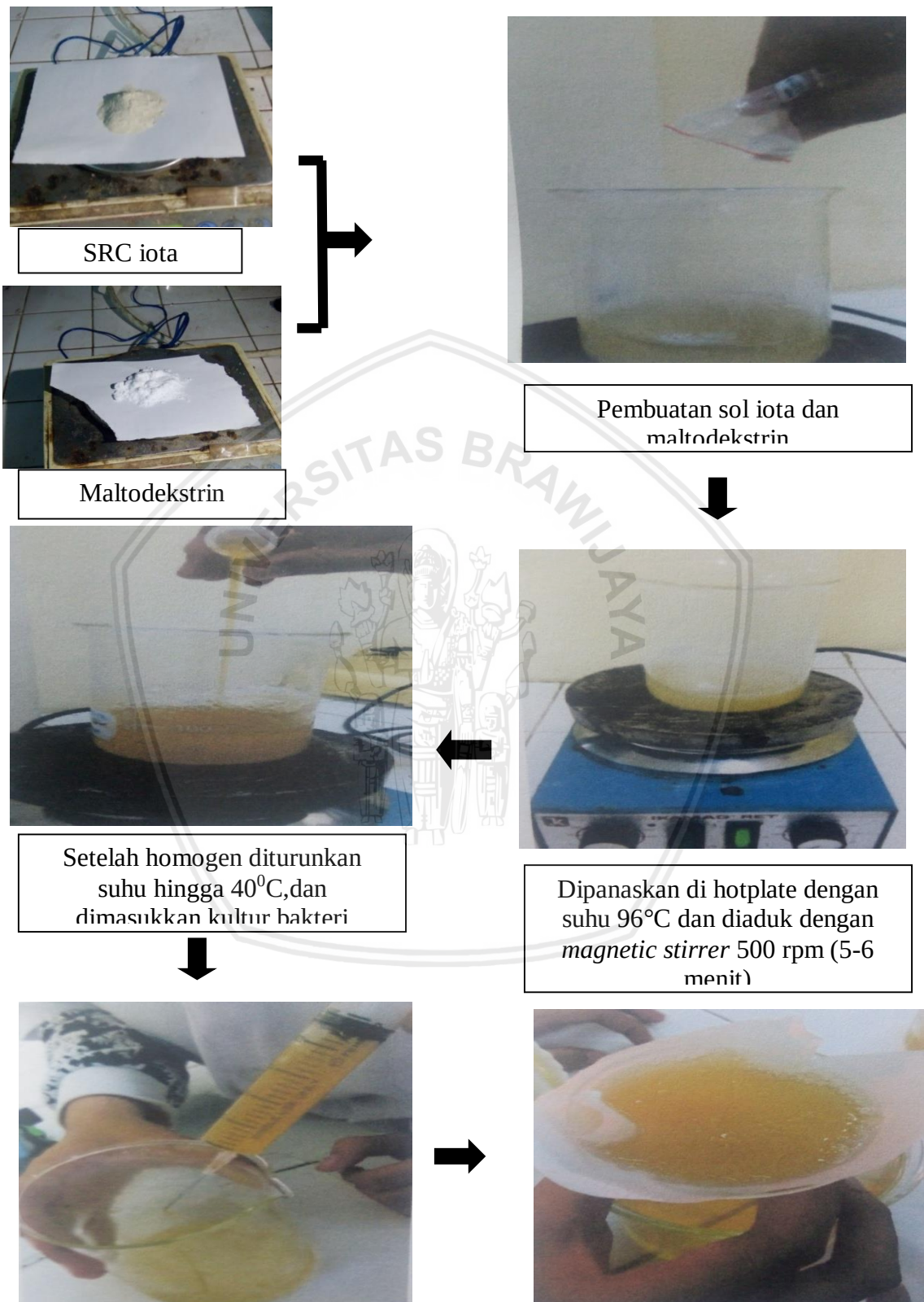
Serbuk SRC iota karaginan



Lampiran 4. Flow Chart Pembuatan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus* (Manojlovic et al., modifikasi, 2010)



Lampiran 5. Dokumentasi Pembuatan Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*



Pengekstrusian dalam KCl 3,9 M



Residu mikrokapsul basah

Penyaringan dengan kertas saring

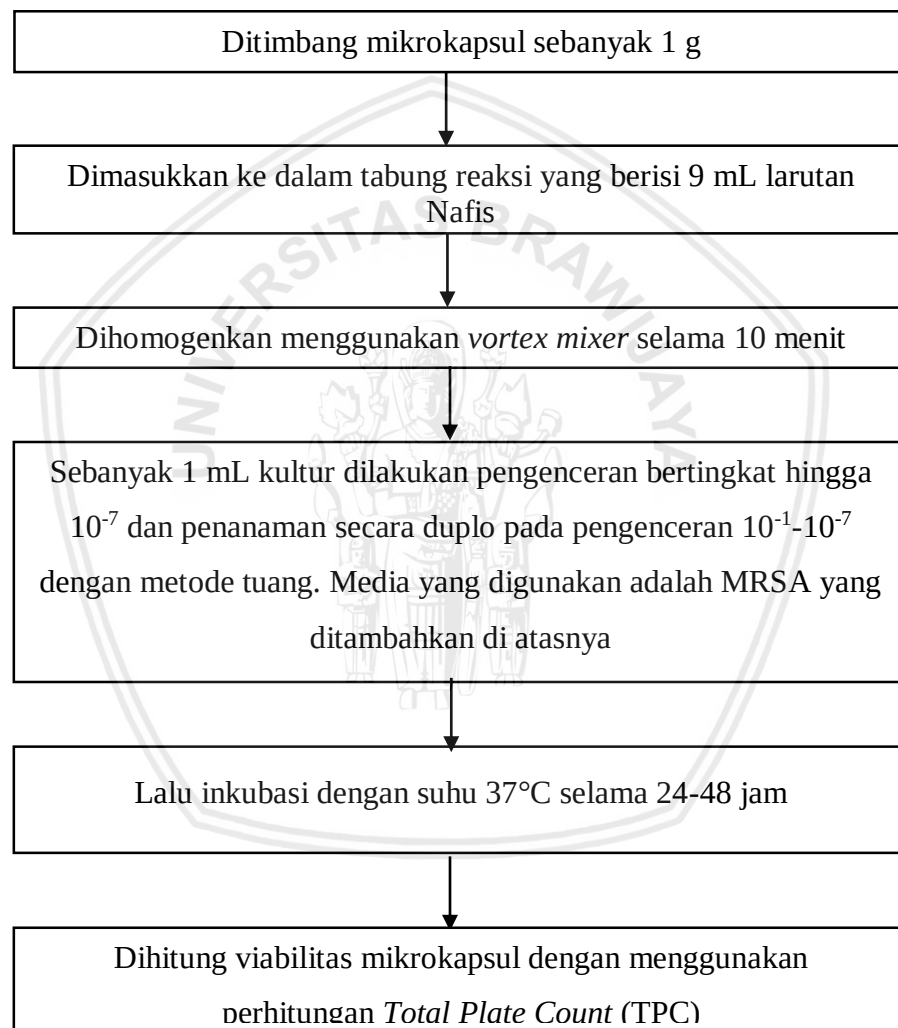


Pengovenan Vakum suhu 40 °C



Mikrokapsul *Lactobacillus acidophilus*

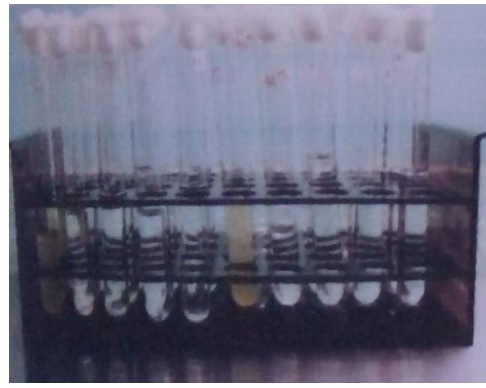
Lampiran 6. Flow Chart Pengujian Viabilitas Mikro kapsul *Lactobacillus acidophilus* (Chavarri et al., modifikasi, 2010)



Lampiran 7. Dokumentasi Pengujian Viabilitas Mikro kapsul *Lactobacillus acidophilus*



Penimbangan mikro kapsul
sebanyak 1 g



Nafis 9 ml



Pengenceran



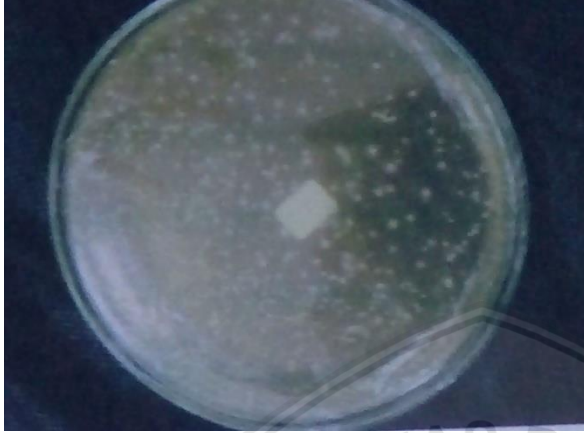
Penghomogenan dengan vortex
mixer



Inkubasi suhu 37 °C selama 24-
48 jam



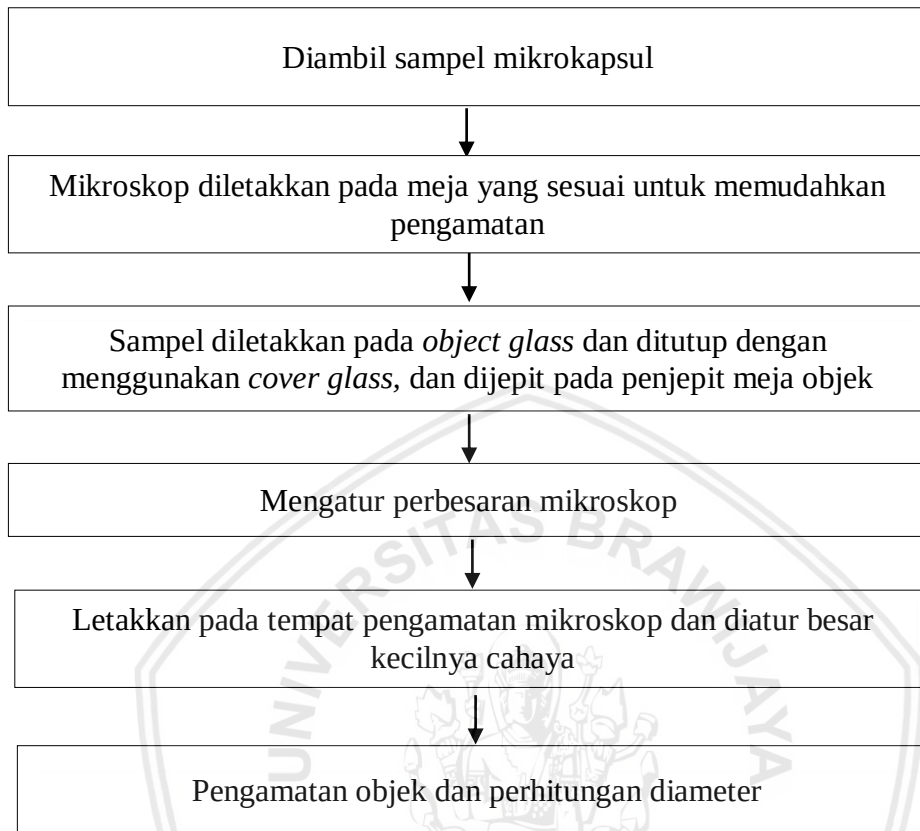
Penanaman



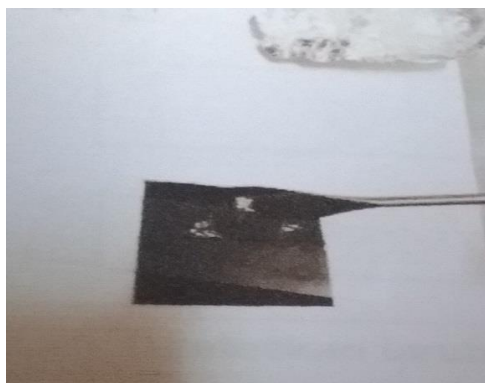
Hasil Pengamatan dan dilakukan
perhitungan TPC



Lampiran 8. *Flow Chart Analisa Diameter Enkapsulat* (Purwaningsih et al., 2010)



Lampiran 9. Dokumentasi Analisa Diameter Enkapsulat



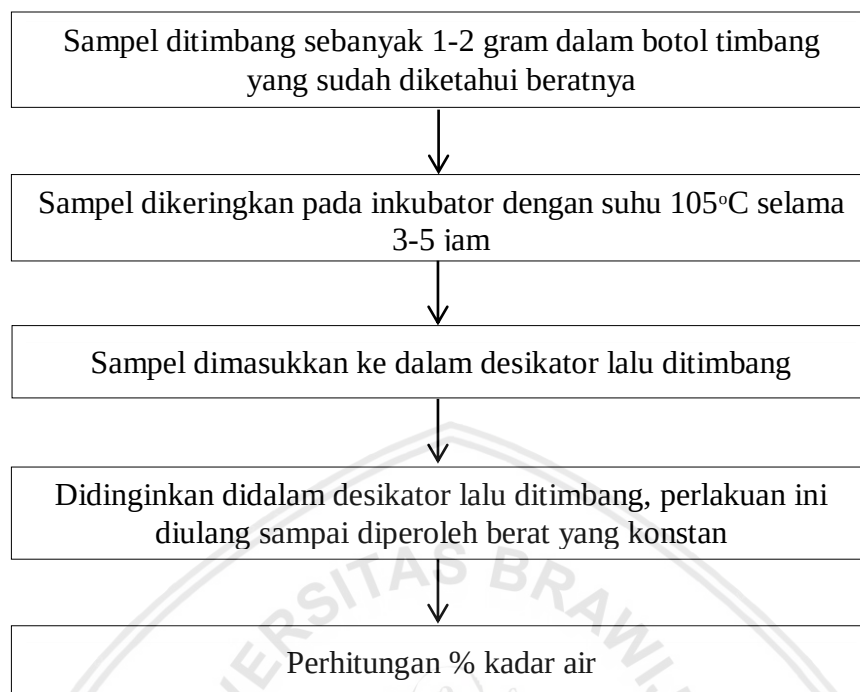
Sampel diletakkan pada *object glass*

Object glass ditutup dengan menggunakan *cover glass*



Cover glass diletakkan pada mikroskop lalu diatur pencahayaannya serta perbesarannya dan diamati

Lampiran 10. *Flow Chart* Pengujian Kadar Air (Sudarmadji *et al.*, 2007)



Rumus untuk perhitungan kadar air yaitu:

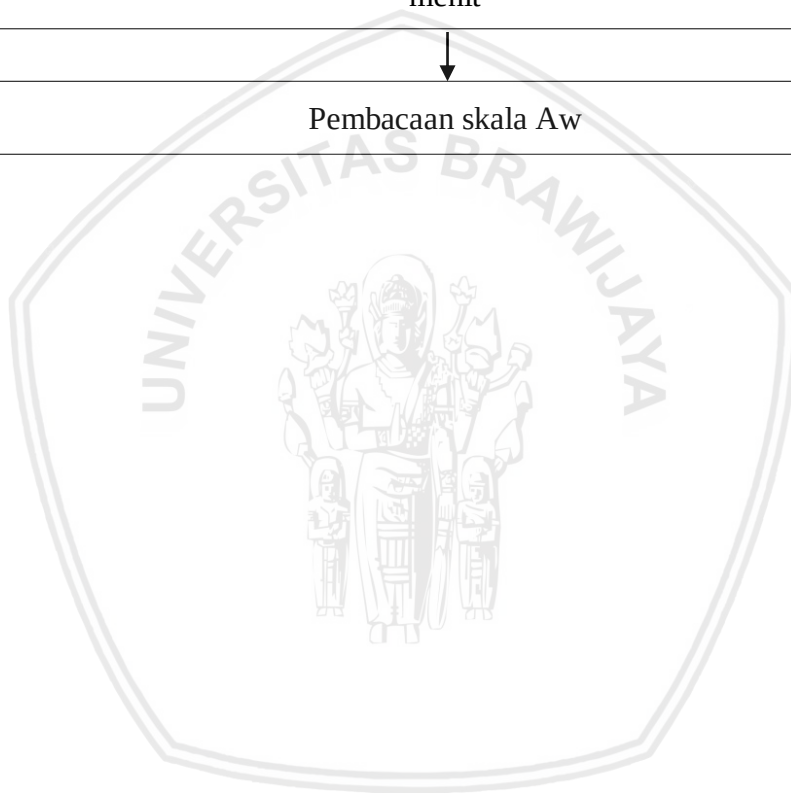
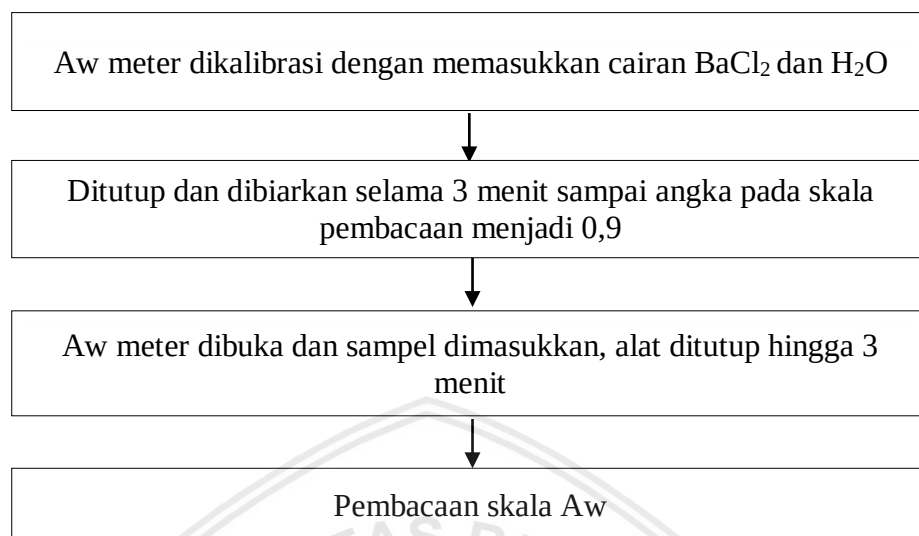
$$\% \text{ Kadar air} = \frac{(A+B)-C}{B} \times 100\%$$

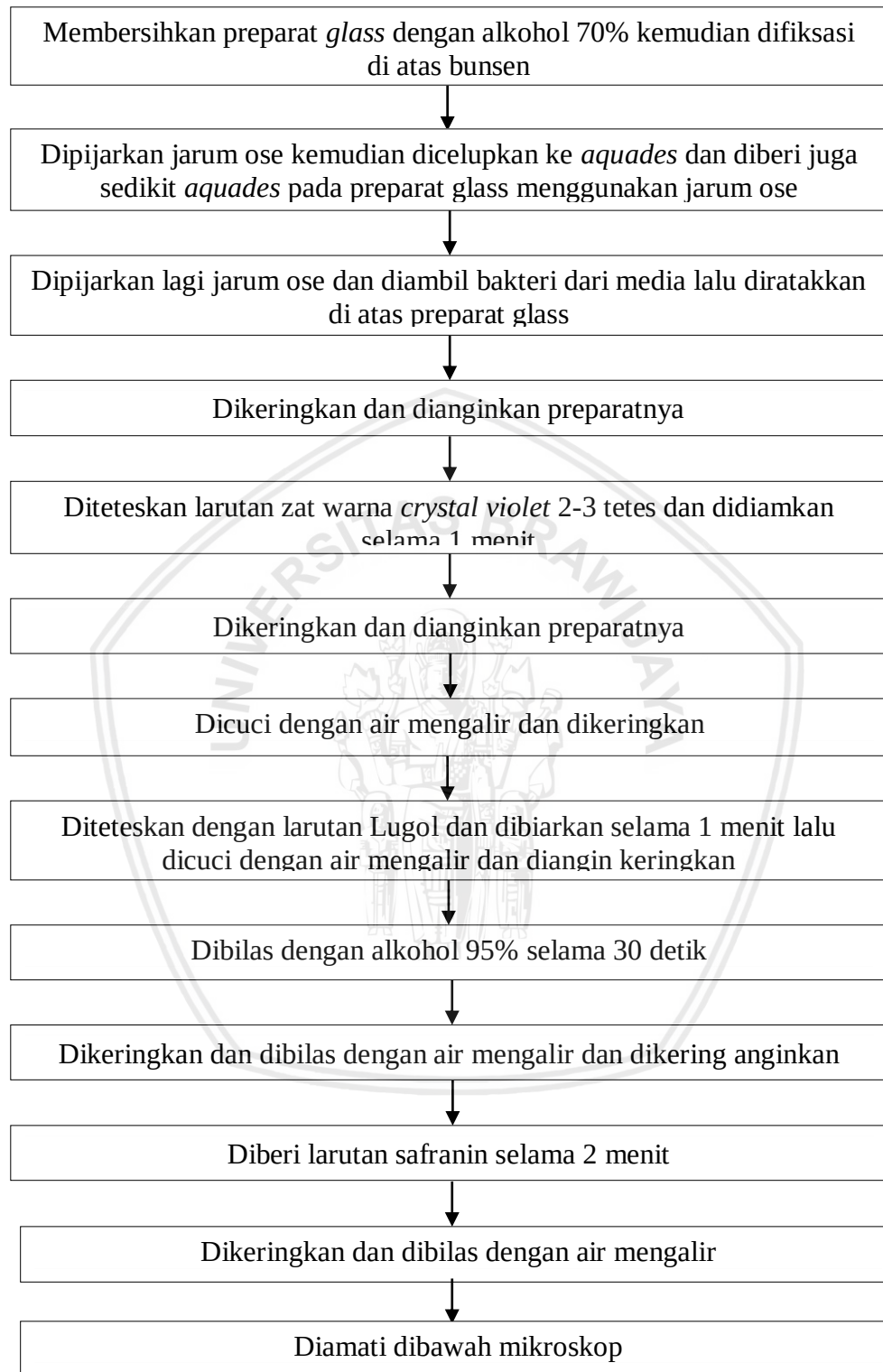
Keterangan :

A = Berat botol timbang

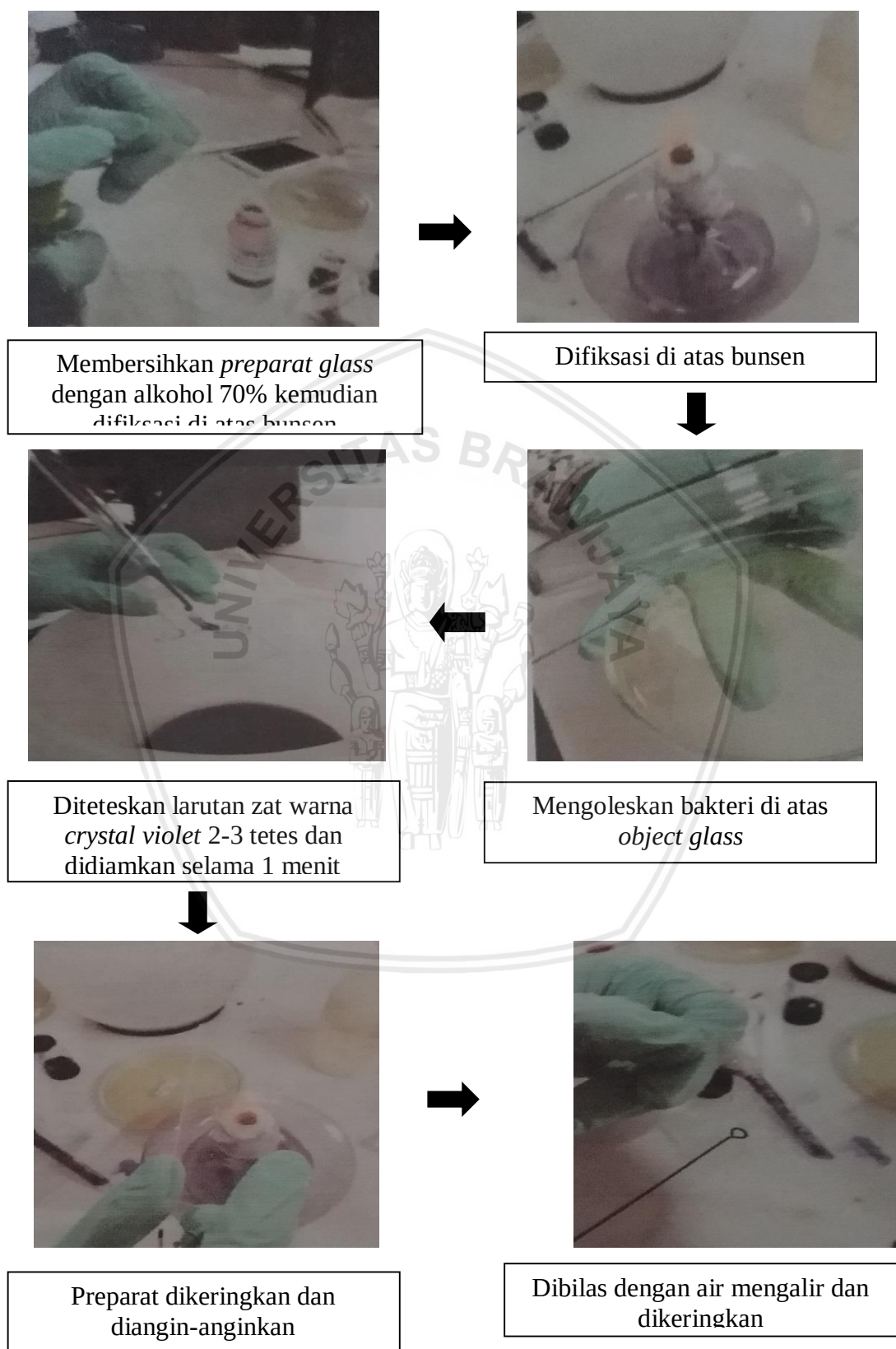
B = Berat sampel

C = Berat botol timbang dan sampel sesudah diinkubasi

Lampiran 11. Flow Chart Pengujian Aktivitas Air (a_w) (Susanto, 2009)

Lampiran 12. Flow Chart Uji Pewarnaan Gram (Ibrahim et al., 2015)

Lampiran 13. Dokumentasi Pewarnaan Gram







Diteteskan larutan lugol 2-3 tetes dan dibiarkan selama 1 menit



Dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan



Dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan



Diberi larutan safranin selama 2 menit



Dibilas dengan alkohol 95% selama 30 detik

Dibilas dengan air mengalir dan dikering anginkan





Diamati di bawah mikroskop



Lampiran 14. Analisa Data (ANOVA) Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

1. Data Viabilitas

Tabel 1. Data Viabilitas

lota	r	Maltodekstrin			Σ lota
		4%	5%	6%	
4,50%	1	6,8	6,9	6,97	20,67
	2	6,8	6,9	6,98	20,68
	3	6,8	6,9	6,96	20,66
	4	6,82	6,89	6,98	20,69
	5	6,81	6,89	6,98	20,68
Σ Maltodekstrin		34,03	34,48	34,87	103,38
5%	1	6,86	6,94	7	20,8
	2	6,86	6,95	7	20,81
	3	6,88	6,96	7,02	20,86
	4	6,88	6,94	7	20,82
	5	6,89	6,94	7	20,83
Σ Maltodekstrin		34,37	34,73	35,02	104,12
		68,4	69,21	69,89	207,5

2. Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Derajat Bebas (db)

- Derajat bebas total (dbt) $= (a \times b \times r) - 1 = (2 \times 3 \times 5) - 1 = 29$
- Derajat bebas perlakuan (dbp) $= (a \times b) - 1 = (2 \times 3) - 1 = 5$
- Derajat bebas faktor A (dba) $= a - 1 = 2 - 1 = 1$
- Derajat bebas faktor B (dbb) $= b - 1 = 3 - 1 = 2$
- Derajat bebas interaksi faktor AB (dba*b) $= (a-1)(b-1) = (2-1)(3-1) = 2$
- Derajat bebas galat (dbg) $= dbt - dbp = 29 - 5 = 24$

2.2 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma}{a \times b \times r} = \frac{207,5^2}{30} = 1435,2083$$

3. Jumlah Kuadrat

3.1 Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = 6,8^2 + 6,8^2 + \dots + 7^2 - FK = 1435,3418 - 1435,2083 = 0,1335$$

3.2 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{34,03^2 + 34,48^2 + \dots + 35,02^2}{5} - FK = 1435,3397 - 1435,2083 = 0,01314$$

3.3 Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)

$$JKA = \frac{103,38^2 + 104,12^2}{b \times r} - FK = 1435,2266 - 1435,2083 = \mathbf{0,0183}$$

3.4 Jumlah Kudrat Faktor B (JKB)

$$JKB = \frac{68,4^2 + 69,21^2 + 69,89^2}{a \times r} - FK = 1435,3196 - 1435,2083 = \mathbf{0,1113}$$

3.5 Jumlah Kuadrat Interaksi A*B (JKA*B)

$$JKA*B = JKP - JKA - JKB = 0,1314 - 0,0183 - 0,1113 = \mathbf{0,0018}$$

3.6 Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP = 0,1335 - 0,1314 = \mathbf{0,0021}$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

4.1 Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = JKP/dbp = 0,1314 / 5 = \mathbf{0,02628}$$

4.2 Kuadrat Tengah Faktor A (KTA)

$$KTA = JKA/dba = 0,0183 / 1 = \mathbf{0,0183}$$

4.3 Kuadrat Tengah Faktor B (KTB)

$$KTB = JKB/dbb = 0,1113 / 2 = \mathbf{0,05565}$$

4.4 Kuadrat Tengah Interaksi Faktor AB (KTA*B)

$$KTA*B = JKA*B/dba*b = 0,0018 / 2 = \mathbf{0,0009}$$

4.5 Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = JKG/dbg = 0,0021 / 24 = \mathbf{0,0000875}$$

5. Frekuensi Hitung (F-hit)

$$F\text{-hit } P = KTP/KTG = 0,02628 / 0,0000875 = \mathbf{300,343}$$

$$F\text{-hit } A = KTA/KTG = 0,0183 / 0,0000875 = \mathbf{209,143}$$

$$F\text{-hit } B = KTB/KTG = 0,05565 / 0,0000875 = \mathbf{636}$$

$$F\text{-hit } A*B = KTA*B/KTG = 0,0009 / 0,0000875 = \mathbf{10,286}$$

6. Tabel ANOVA

Tabel 2. Analisis Ragam Konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F-tabel	
					5%	1%
P	5	0,1314	0,02628	300,343	2,62	3,90
A	1	0,0183	0,0183	209,143	4,26	7,82
B	2	0,1113	0,05565	636	3,40	5,61
A*B	2	0,0018	0,0009	10,286	3,40	5,61
G	24	0,0021	0,0000875			
Total	29	0,133				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{1\%} \longrightarrow$ signifikan pada taraf 1% ($p < 0,01$)

7. Interpretasi

- Secara umum, perlakuan (dalam hal ini) penambahan konsentrasi iota atau maltodekstrin menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit $P > F$ -tabel 1% ($p < 0,01$)
- Faktor A (konsentrasi iota) mempengaruhi nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)
- Faktor B (konsentrasi maltodekstrin) mempengaruhi nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)
- Terdapat interaksi antara penambahan konsentrasi iota (faktor A) dengan penambahan maltodekstrin (faktor B) terhadap nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)

8. Uji Lanjut dengan BNJ 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ kombinasi iota dan Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= Q_{0,05(6;24)} \times \sqrt{\frac{0,0000875}{5}} \\
 &= 4,37 \times 0,00418 = \mathbf{0,0183}
 \end{aligned}$$

Tabel 3. Kolom Notasi BNJ Kombinasi iota dan Maltodekstrin

Perlakuan		Rata-rata	Rata-rata + BNJ 5%	Notasi
lota	Maltodekstrin			
4,5 % (A1)	4 % (B1)	6,806	6,8243	a
5 % (A2)	4 % (B1)	6,874	6,8923	b
4,5 % (A1)	5 % (B2)	6,896	6,9143	c
5 % (A2)	5 % (B2)	6,946	6,9643	d
4,5 % (A1)	6 % (B3)	6,974	6,9923	e
5 % (A2)	6 % (B3)	7,004		f
BNJ_{0,05} = 0,0183				

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk iota} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{\text{maltodekstrin} \times r}} \\
 &= Q_{0,05(2;24)} \times \sqrt{\frac{0,0000875}{3 \times 5}} \\
 &= 2,92 \times 0,0024 = \mathbf{0,007}
 \end{aligned}$$

Tabel 4. Kolom Notasi BNJ Untuk Iota

Perlakuan Iota	Total	Rata-rata	Notasi
4,5%	103,38	$103,38/(3 \times 5) = 6,892$	a
5%	104,12	$104,12/(3 \times 5) = 6,941$	b
BNJ_{0,05} = 0,007			

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p:db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{iota \times r}} \\
 &= Q_{0,05(3:24)} \times \sqrt{\frac{0,0000875}{2 \times 5}} \\
 &= 3,53 \times 0,003 = \mathbf{0,0106}
 \end{aligned}$$



Tabel 5. Kolom Notasi BNJ Untuk Maltodekstrin

Perlakuan Maltodekstrin	Total	Rata-rata	Notasi
4%	68,4	$68,4/(2 \times 5) = 6,84$	a
5%	69,21	$69,21/(2 \times 5) = 6,921$	b
6%	69,89	$69,89/(2 \times 5) = 6,989$	c
BNJ_{0,05} = 0,0106			

9. Kesimpulan

Dari uji yang dilakukan menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dapat disimpulkan bahwa dari masing-masing perlakuan berbeda nyata. Dari faktor Iota dan Maltodekstrin, konsentrasi dengan hasil viabilitas tertinggi terdapat pada konsentrasi Iota 5%, dan konsentrasi maltodekstrin 6%.



Lampiran 15. Analisa Data (ANOVA) Diameter Mikrokapsul

1. Data Diameter Mikrokapsul

Tabel 1. Data Diameter Mikrokapsul

Iota (Faktor A)	r	Maltodekstrin (Faktor B)			Total
		4%	5%	6%	
4,5%	1	95,15	99,02	104,36	298,53
	2	95,34	99,21	104,85	299,4
	3	95,26	99,7	104,77	299,73
	4	95,17	99,23	104,21	298,61
	5	95,45	99,15	104,56	299,16
Subtotal		476,37	496,31	522,75	1495,43
5%	1	97,35	101,28	107,65	306,28
	2	97,67	101,33	107,23	306,23
	3	97,47	101,42	107,69	306,58
	4	97,53	101,22	107,45	306,2
	5	97,26	101,63	107,39	306,28
Subtotal		487,28	506,88	537,41	1531,57
		963,65	1003,19	1060,16	3027

2. Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Derajat Bebas (db)

- Derajat bebas total (dbt) $= (a \times b \times r) - 1 = (2 \times 3 \times 5) - 1 = 29$
- Derajat bebas perlakuan (dbp) $= (a \times b) - 1 = (2 \times 3) - 1 = 5$
- Derajat bebas faktor A (dba) $= a - 1 = 2 - 1 = 1$
- Derajat bebas faktor B (dbb) $= b - 1 = 3 - 1 = 2$
- Derajat bebas interaksi faktor AB (dba*b) $= (a-1)(b-1) = (2-1)(3-1) = 2$
- Derajat bebas galat (dbg) $= dbt - dbp = 29 - 5 = 24$

2.2 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma}{axb \times r} = \frac{3027^2}{30} = 305424,3$$

3. Jumlah Kuadrat

3.1 Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = 95,15^2 + 95,34^2 + \dots + 107,39^2 - FK = 305940,606 - 305424,3 = 516,306$$

3.2 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{476,37^2 + 496,31^2 + \dots + 537,41^2}{5} - FK = 305939,639 - 305424,3 = 515,339$$

3.3 Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)

$$JKA = \frac{1495,43^2 + 1531,57^2}{b \times r} - FK = 305467,837 - 305424,3 = 43,537$$

3.4 Jumlah Kudrat Faktor B (JKB)

$$JKB = \frac{963,65^2 + 1003,19^2 + 1060,16^2}{axr} - FK = 305895,072 - 305424,3 = 470,772$$

3.5 Jumlah Kuadrat Interaksi A*B (JKA*B)

$$JKA*B = JKP - JKA - JKB = 515,339 - 43,537 - 470,772 = 1,03$$

3.6 Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP = 516,306 - 515,339 = 0,967$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

4.1 Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = JKP/dbp = 515,339 / 5 = 103,0678$$

4.2 Kuadrat Tengah Faktor A (KTA)

$$KTA = JKA/dba = 43,537 / 1 = 43,537$$

4.3 Kuadrat Tengah Faktor B (KTB)

$$KTB = JKB/dbb = 470,772 / 2 = 235,386$$

4.4 Kuadrat Tengah Interaksi Faktor AB (KTA*B)

$$KTA*B = JKA*B/dba*b = 1,03 / 2 = 0,515$$

4.5 Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = JKG/dbg = 0,967 / 24 = 0,04029$$

5. Frekuensi Hitung (F-hit)

$$F\text{-hit P} = KTP/KTG = 103,0678 / 0,04029 = 2558,15$$

$$F\text{-hit A} = KTA/KTG = 43,537 / 0,04029 = 1080,59$$

$$F\text{-hit B} = KTB/KTG = 235,386 / 0,04029 = 5842,29$$

$$F\text{-hit A*B} = KTA*B/KTG = 0,515 / 0,04029 = 12,782$$

6. Tabel ANOVA

Tabel 2. Analisis Ragam Konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F-tabel	
					5%	1%
P	5	515,339	103,0678	2558,15	2,62	3,90
A	1	43,537	43,537	1080,59	4,26	7,82
B	2	470,772	235,386	5842,29	3,40	5,61
A*B	2	1,03	0,515	12,782	3,40	5,61
G	24	0,967	0,04029			
Total	29	516,306				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{1\%}$ → signifikan pada taraf 1% ($p < 0,01$)

7. Interpretasi

- Secara umum, perlakuan (dalam hal ini) penambahan konsentrasi iota atau maltodekstrin menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit $P > F$ -tabel 1% ($p < 0,01$)
- Faktor A (konsentrasi iota) mempengaruhi nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)
- Faktor B (konsentrasi maltodekstrin) mempengaruhi nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)
- Terdapat interaksi antara penambahan konsentrasi iota (faktor A) dengan penambahan maltodekstrin (faktor B) terhadap nilai viabilitas *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0,01$)

8. Uji Lanjut dengan BNJ 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ kombinasi iota dan Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= Q_{0,05(6;24)} \times \sqrt{\frac{0,04029}{5}} \\
 &= 4,37 \times 0,0898 = \mathbf{0,392}
 \end{aligned}$$

Tabel 3. Kolom Notasi BNJ Kombinasi iota dan Maltodekstrin

Perlakuan		Rata-rata	Rata-rata + BNJ 5%	Notasi
lota	Maltodekstrin			
4,5 % (A1)	4 % (B1)	95,274	95,666	a
5 % (A2)	4 % (B1)	97,456	97,848	b
4,5 % (A1)	5 % (B2)	99,262	99,652	c
5 % (A2)	5 % (B2)	101,376	101,768	d
4,5 % (A1)	6 % (B3)	104,55	104,942	e
5 % (A2)	6 % (B3)	107,482		f
BNJ_{0,05} = 0,392				

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk iota} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{\text{maltodekstrin} \times r}} \\
 &= Q_{0,05(2;24)} \times \sqrt{\frac{0,04029}{3 \times 5}} \\
 &= 2,92 \times 0,05183 = \mathbf{0,1513}
 \end{aligned}$$

Tabel 4. Kolom Notasi BNJ Untuk iota

Perlakuan iota	Total	Rata-rata	Notasi
----------------	-------	-----------	--------

4,5%	1495,43	$1495,43/(3 \times 5) = 99,6953$	a
5%	1531,57	$1531,57/(3 \times 5) = 102,105$	b
BNJ_{0,05} = 0,1513			

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p:db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{iota \times r}} \\
 &= Q_{0,05(3:24)} \times \sqrt{\frac{0,04029}{2 \times 5}} \\
 &= 3,53 \times 0,06347 = \mathbf{0,224}
 \end{aligned}$$



Tabel 5. Kolom Notasi BNJ Untuk Maltodekstrin

Perlakuan Maltodekstrin	Total	Rata-rata	Notasi
4%	963,65	$963,65/(2 \times 5) = 96,365$	a
5%	1003,19	$1003,19/(2 \times 5) = 100,319$	b
6%	1060,16	$1060,16/(2 \times 5) = 106,016$	c
$BNJ_{0,05} = 0,224$			

9. Kesimpulan

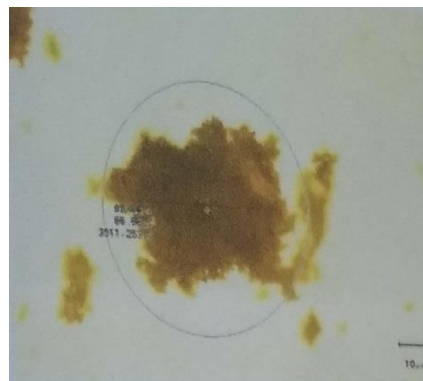
Dari uji yang dilakukan menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dapat disimpulkan bahwa dari masing-masing perlakuan berbeda nyata. Dari faktor Iota dan Maltodekstrin, konsentrasi dengan hasil diameter enkapsulat tertinggi terdapat pada konsentrasi Iota 5%, dan konsentrasi maltodekstrin 6%.



Lampiran 16. Dokumentasi Hasil Diameter Mikro kapsul



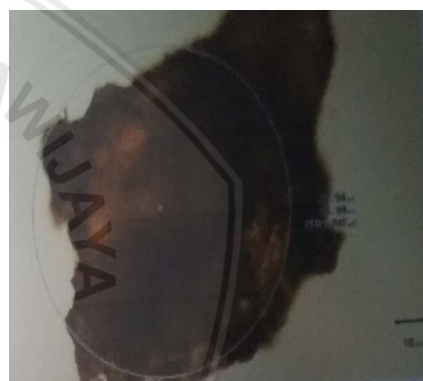
A1B1
(SRC Iota 4,5% : Maltodekstrin)



A2B1
(SRC Iota 5% : Maltodekstrin 4%)



A1B2
(SRC Iota 4,5% : Maltodekstrin)



A2B2
(SRC Iota 5% : Maltodekstrin 5%)



A1B3
(SRC Iota 4,5% : Maltodekstrin)



A2B3
(SRC Iota 5% : Maltodekstrin 6%)

Lampiran 17. Analisa Data (ANOVA) Kadar Air Mikrokapsul

1. Data Kadar Air Mikrokapsul

Tabel 1. Data Kadar Air Mikrokapsul

Iota (Faktor A)	r	Maltodekstrin (Faktor B)			Total
		4%	5%	6%	
4,5%	1	7,78	8,04	8,24	24,06
	2	7,64	8,07	8,26	23,97
	3	7,72	8,1	8,22	24,04
	4	7,65	8,05	8,28	23,98
	5	7,67	8,01	8,29	23,97
Subtotal		38,46	40,27	41,29	120,02
5%	1	7,9	8,14	8,32	24,36
	2	7,99	8,13	8,31	24,43
	3	7,92	8,19	8,33	24,44
	4	7,93	8,17	8,39	24,49
	5	7,91	8,16	8,36	24,43
Subtotal		39,65	40,79	41,71	122,15
		78,11	81,06	83	242,17

2. Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Derajat Bebas (db)

- Derajat bebas total (dbt) = $(a \times b \times r) - 1 = (2 \times 3 \times 5) - 1 = 29$
- Derajat bebas perlakuan (dbp) = $(a \times b) - 1 = (2 \times 3) - 1 = 5$
- Derajat bebas faktor A (dba) = $a - 1 = 2 - 1 = 1$
- Derajat bebas faktor B (dbb) = $b - 1 = 3 - 1 = 2$
- Derajat bebas interaksi faktor AB (dba*b) = $(a-1)(b-1) = (2-1)(3-1) = 2$
- Derajat bebas galat (dbg) = $dbt - dbp = 29 - 5 = 24$

2.2 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma}{axb \times r} = \frac{242,17^2}{30} = 1954,88$$

3. Jumlah Kuadrat

3.1 Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = 7,78^2 + 7,64^2 + \dots + 8,36^2 - FK = 1956,31 - 1954,88 = 1,43$$

3.2 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{38,46^2 + 40,27^2 + \dots + 41,71^2}{5} - FK = 1956,28 - 1954,88 = 1,4$$

3.3 Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)

$$JKA = \frac{120,02^2 + 122,15^2}{b \times r} - FK = 1955,03 - 1954,88 = 0,15$$

3.4 Jumlah Kudrat Faktor B (JKB)

$$JK_B = \frac{78,11^2 + 81,06^2 + 83^2}{axr} - FK = 1956,09 - 1954,88 = 1,21$$

3.5 Jumlah Kuadrat Interaksi A*B (JKA*B)

$$JKA*B = JKP - JKA - JKB = 1,4 - 0,15 - 1,21 = 0,04$$

3.6 Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP = 1,43 - 1,4 = 0,03$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

4.1 Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = JKP/dbp = 1,4 / 5 = 0,28$$

4.2 Kuadrat Tengah Faktor A (KTA)

$$KTA = JKA/dba = 0,15 / 1 = 0,15$$

4.3 Kuadrat Tengah Faktor B (KTB)

$$KTB = JKB/dbb = 1,21 / 2 = 0,605$$

4.4 Kuadrat Tengah Interaksi Faktor AB (KTA*B)

$$KTA*B = JKA*B/dba*b = 0,04 / 2 = 0,02$$

4.5 Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = JKG/dbg = 0,03 / 24 = 0,00125$$

5. Frekuensi Hitung (F-hit)

$$F\text{-hit } P = KTP/KTG = 0,28 / 0,00125 = 224$$

$$F\text{-hit } A = KTA/KTG = 0,15 / 0,00125 = 120$$

$$F\text{-hit } B = KTB/KTG = 0,605 / 0,00125 = 484$$

$$F\text{-hit } A*B = KTA*B/KTG = 0,02 / 0,00125 = 16$$

6. Tabel ANOVA

Tabel 2. Analisis Ragam Konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F-tabel	
					5%	1%
P	5	1,4	0,28	224	2,62	3,90
A	1	0,15	0,15	120	4,26	7,82
B	2	1,21	0,605	484	3,40	5,61
A*B	2	0,04	0,02	16	3,40	5,61
G	24	0,03	0,00125			
Total	29	1,43				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{1\%} \rightarrow$ signifikan pada taraf 1% ($p < 0,01$)

7. Interpretasi

- Secara umum, perlakuan (dalam hal ini) penambahan konsentrasi iota atau maltodekstrin menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit $P > F$ -tabel 1% ($p < 0,01$)
- Faktor A (konsentrasi iota) mempengaruhi nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)
- Faktor B (konsentrasi maltodekstrin) mempengaruhi nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)
- Terdapat interaksi antara penambahan konsentrasi iota (faktor A) dengan penambahan maltodekstrin (faktor B) terhadap nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)

8. Uji Lanjut dengan BNJ 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ kombinasi Iota dan Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= Q_{0,05(6;24)} \times \sqrt{\frac{0,00125}{5}} \\
 &= 4,37 \times 0,0158 = \mathbf{0,069}
 \end{aligned}$$

Tabel 3. Kolom Notasi BNJ Kombinasi Iota dan Maltodekstrin

Perlakuan		Rata-rata	Rata-rata + BNJ 5%	Notasi
Iota	Maltodekstrin			
4,5 % (A1)	4 % (B1)	7,692	7,761	a
5 % (A2)	4 % (B1)	7,93	7,999	b
4,5 % (A1)	5 % (B2)	8,054	8,123	c
5 % (A2)	5 % (B2)	8,158	8,227	d
4,5 % (A1)	6 % (B3)	8,258	8,327	e
5 % (A2)	6 % (B3)	8,342		f
BNJ_{0,05} = 0,069				

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Iota} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{\text{maltodekstrin} \times r}} \\
 &= Q_{0,05(2;24)} \times \sqrt{\frac{0,00125}{3 \times 5}} \\
 &= 2,92 \times 0,00913 = \mathbf{0,0266}
 \end{aligned}$$

Tabel 4. Kolom Notasi BNJ Untuk Iota

Perlakuan Iota	Total	Rata-rata	Notasi
4,5%	120,02	$120,02/(3 \times 5) = 8,00133$	a
5%	122,15	$122,15/(3 \times 5) = 8,14333$	b
BNJ_{0,05} = 0,0266			

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{iota \times r}} \\
 &= Q_{0,05(3;24)} \times \sqrt{\frac{0,00125}{2 \times 5}} \\
 &= 3,53 \times 0,01118 = \mathbf{0,0395}
 \end{aligned}$$

Tabel 5. Kolom Notasi BNJ Untuk Maltodekstrin

Perlakuan Maltodekstrin	Total	Rata-rata	Notasi
4%	78,11	$78,11/(2 \times 5) = 7,811$	a
5%	81,06	$81,06/(2 \times 5) = 8,106$	b
6%	83	$83/(2 \times 5) = 8,3$	c
BNJ_{0,05} = 0,0395			



9. Kesimpulan

Dari uji yang dilakukan menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dapat disimpulkan bahwa dari masing-masing perlakuan berbeda nyata. Dari faktor Iota dan Maltodekstrin, konsentrasi dengan hasil kadar air tertinggi terdapat pada konsentrasi Iota 5%, dan konsentrasi maltodekstrin 6%.



Lampiran 18. Analisa Data (ANOVA) Aktivitas Air (a_w) Mikro kapsul

1. Data Aktivitas Air Mikro kapsul

Tabel 1. Data Aktivitas Air Mikro kapsul

Iota (Faktor A)	r	Maltodekstrin (Faktor B)			Total
		4%	5%	6%	
4,5%	1	0,637	0,714	0,752	2,103
	2	0,63	0,703	0,749	2,082
	3	0,629	0,716	0,767	2,112
	4	0,638	0,732	0,752	2,122
	5	0,631	0,725	0,76	2,116
Subtotal		3,165	3,59	3,78	10,535
5%	1	0,687	0,747	0,768	2,202
	2	0,692	0,744	0,771	2,207
	3	0,688	0,713	0,78	2,181
	4	0,683	0,745	0,754	2,182
	5	0,685	0,711	0,782	2,178
Subtotal		3,435	3,66	3,855	10,95
		6,6	7,25	7,635	21,485

2. Analisa Sidik Ragam (ANOVA)

2.1 Derajat Bebas (db)

- Derajat bebas total (dbt) $= (a \times b \times r) - 1 = (2 \times 3 \times 5) - 1 = 29$
- Derajat bebas perlakuan (dbp) $= (a \times b) - 1 = (2 \times 3) - 1 = 5$
- Derajat bebas faktor A (dba) $= a - 1 = 2 - 1 = 1$
- Derajat bebas faktor B (dbb) $= b - 1 = 3 - 1 = 2$
- Derajat bebas interaksi faktor AB (dba*b) $= (a-1)(b-1) = (2-1)(3-1) = 2$
- Derajat bebas galat (dbg) $= dbt - dbp = 29 - 5 = 24$

2.2 Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{\sigma}{axb \times r} = \frac{21,485^2}{30} = 15,3868$$

3. Jumlah Kuadrat

3.1 Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = 0,637^2 + 0,63^2 + \dots + 0,782^2 - FK = 15,4526 - 15,3868 = 0,0658$$

3.2 Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{3,165^2 + 3,59^2 + \dots + 3,855^2}{5} - FK = 15,4499 - 15,3868 = 0,0631$$

3.3 Jumlah Kuadrat Faktor A (JKA)

$$JKA = \frac{10,535^2 + 10,95^2}{b \times r} - FK = 15,3926 - 15,3868 = 0,0058$$

3.4 Jumlah Kudrat Faktor B (JKB)

$$JK_B = \frac{6,6^2 + 7,25^2 + 7,635^2}{axr} - FK = 15,4416 - 15,3868 = 0,0548$$

3.5 Jumlah Kuadrat Interaksi A*B (JKA*B)

$$JKA*B = JKP - JKA - JKB = 0,0631 - 0,0058 - 0,0548 = 0,0025$$

3.6 Jumlah Kuadrat Galat (JKG)

$$JKG = JKT - JKP = 0,0658 - 0,0631 = 0,0027$$

4. Kuadrat Tengah (KT)

4.1 Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = JKP/dbp = 0,0631 / 5 = 0,0126$$

4.2 Kuadrat Tengah Faktor A (KTA)

$$KTA = JKA/dba = 0,0058 / 1 = 0,0058$$

4.3 Kuadrat Tengah Faktor B (KTB)

$$KTB = JKB/dbb = 0,0548 / 2 = 0,0274$$

4.4 Kuadrat Tengah Interaksi Faktor AB (KTA*B)

$$KTA*B = JKA*B/dba*b = 0,0025 / 2 = 0,00125$$

4.5 Kuadrat Tengah Galat (KTG)

$$KTG = JKG/dbg = 0,0027 / 24 = 0,0001125$$

5. Frekuensi Hitung (F-hit)

$$F\text{-hit } P = KTP/KTG = 0,0126 / 0,0001125 = 112$$

$$F\text{-hit } A = KTA/KTG = 0,0058 / 0,0001125 = 51,556$$

$$F\text{-hit } B = KTB/KTG = 0,0274 / 0,0001125 = 243,556$$

$$F\text{-hit } A*B = KTA*B/KTG = 0,00125 / 0,0001125 = 11,111$$

6. Tabel ANOVA

Tabel 2. Analisis Ragam Konsentrasi *Lactobacillus acidophilus*

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F _{hitung}	F-tabel	
					5%	1%
P	5	0,0631	0,0126	112	2,62	3,90
A	1	0,0058	0,0058	51,556	4,26	7,82
B	2	0,0548	0,0274	243,556	3,40	5,61
A*B	2	0,0025	0,00125	11,111	3,40	5,61
G	24	0,0027	0,0001125			
Total	29	0,0658				

Kesimpulan : $F_{hitung} > F_{1\%}$ → signifikan pada taraf 1% ($p < 0,01$)

7. Interpretasi

- Secara umum, perlakuan (dalam hal ini) penambahan konsentrasi iota atau maltodekstrin menunjukkan pengaruh yang nyata dilihat dari nilai F-hit $P > F$ -tabel 1% ($p < 0,01$)
- Faktor A (konsentrasi iota) mempengaruhi nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)
- Faktor B (konsentrasi maltodekstrin) mempengaruhi nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)
- Terdapat interaksi antara penambahan konsentrasi iota (faktor A) dengan penambahan maltodekstrin (faktor B) terhadap nilai kadar air mikro kapsul ($p < 0,01$)

8. Uji Lanjut dengan BNJ 5%

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ kombinasi Iota dan Maltodekstrin} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{r}} \\
 &= Q_{0,05(6;24)} \times \sqrt{\frac{0,0001125}{5}} \\
 &= 4,37 \times 0,00474 = \mathbf{0,0207}
 \end{aligned}$$

Tabel 3. Kolom Notasi BNJ Kombinasi Iota dan Maltodekstrin

Perlakuan		Rata-rata	Rata-rata + BNJ 5%	Notasi
Iota	Maltodekstrin			
4,5 % (A1)	4 % (B1)	0,633	0,6537	a
5 % (A2)	4 % (B1)	0,687	0,7077	b
4,5 % (A1)	5 % (B2)	0,718	0,7387	c
5 % (A2)	5 % (B2)	0,732	0,7527	d
4,5 % (A1)	6 % (B3)	0,756	0,7767	e
5 % (A2)	6 % (B3)	0,771		f
BNJ_{0,05} = 0,0207				

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Iota} &= Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{\text{maltodekstrin} \times r}} \\
 &= Q_{0,05(2;24)} \times \sqrt{\frac{0,0001125}{3 \times 5}} \\
 &= 2,92 \times 0,00274 = \mathbf{0,008}
 \end{aligned}$$

Tabel 4. Kolom Notasi BNJ Untuk Iota

Perlakuan Iota	Total	Rata-rata	Notasi
4,5%	10,535	$10,535/(3 \times 5) = 0,7023$	a
5%	10,95	$10,95/(3 \times 5) = 0,73$	b
BNJ_{0,05} = 0,008			

$$\text{BNJ}_{0,05} \text{ untuk Maltodekstrin} = Q_{0,05(p;db)} \times \sqrt{\frac{KTG}{\text{iota} \times r}}$$

$$= Q_{0,05(3:24)} \times \sqrt{\frac{0,0001125}{2 \times 5}}$$

$$= 3,53 \times 0,00335 = \mathbf{0,0118}$$

Tabel 5. Kolom Notasi BNJ Untuk Maltodekstrin

Perlakuan Maltodekstrin	Total	Rata-rata	Notasi
4%	6,6	$6,6/(2 \times 5) = 0,66$	a
5%	7,25	$7,25/(2 \times 5) = 0,725$	b
6%	7,635	$7,635/(2 \times 5) = 0,7635$	c
BNJ_{0,05} = 0,0118			



9. Kesimpulan

Dari uji yang dilakukan menggunakan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) dapat disimpulkan bahwa dari masing-masing perlakuan berbeda nyata. Dari faktor Iota dan Maltodekstrin, konsentrasi dengan hasil kadar air tertinggi terdapat pada konsentrasi Iota 5%, dan konsentrasi maltodekstrin 6%.

